

AKTIVITAS AIR PERASAN, MINYAK ATSIRI DAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH TERHADAP BAKTERI YANG DIISOLASI DARI SAPI MASTITIS SUBKLINIS

(Activity Water Extract, of Essential Oil and Ethanol Extraction of Piper Bittle Leaves Against Bacteria Isolated from Sub Clinical Mastitis Cattle)

MASNIARI POELOENGAN¹, IYEP KOMALA², SUSAN M. NOOR¹, ANDRIANI¹ dan SOUFINA RININTA PANDU RIANTI³

¹ Balai Penelitian Veteriner, Jl. R.E. Martadinata No. 30, Bogor 16114

² Pakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor

³ Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta

ABSTRACT

Extraction of piper bittle leaves did not produced an inhibition zone at concentration of 50%, 25%, 12,5% and 6,25% against three bacteria gram positive (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidrmidis* and *Staphylococcus agalactiae*) isolated from subclinical mastitis in milk. Ethanol extraction at concentration 50, 25, 12, 5 and 6,25% can inhibit *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* but only inhibit *Staphylococcus agalactiae* at concentration Of 12.5, 50%. Fifty percent of ethanol extraction and essential oil of piper bittle leaves gave the biggest inhibition zone against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus agalactiae* isolated from subclinical mastitis. Reaction of antimicroba against tetracycline is bigger than 50% ethanol extraction of essential oil of piper bittle leaves.

Key Words: Essential Oil, Ethanol Extract, Piper Bittle, Mastitis

ABSTRAK

Air perasan daun sirih tidak memberikan zona hambat pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dan 6,25% terhadap ketiga bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus agalactiae*) hasil isolasi dari susu sapi yang terkena mastitis subklinis. Ekstrak etanol daun sirih pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dan 6,25% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, tetapi hanya menghambat bakteri *Streptococcus agalactiae* pada konsentrasi 12,5 – 50%. Minyak atsiri daun sirih pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus agalactiae*, tetapi hanya dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25% dan 50%. Konsentrasi 50% ekstrak etanol dan minyak atsiri daun sirih memberikan zona hambat paling besar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus agalactiae* hasil isolasi dari susu mastitis subklinis. Daya antibakteri antibiotika tetrasiklin lebih besar dibandingkan konsentrasi 50% ekstrak etanol dan minyak atsiri daun sirih, terbukti dengan membarikan zona hambat yang lebih besar, karena tetrasiklin memiliki sifat sensitif terhadap bakteri uji.

Kata Kunci: Air Perasan, Minyak Atsiri, Ekstrak Etanol, Daun Sirih, Mastitis

PENDAHULUAN

Susu merupakan salah satu bahan makanan utama yang berkualitas sangat baik karena memiliki komponen-komponen yang sangat penting untuk pertumbuhan, kesehatan dan kecerdasan. Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi susu antara lain mutu genetik, tata laksana dan juga penyakit. Susu merupakan sumber zat makanan yang baik bagi kuman.

Penyakit yang paling sering terjadi pada sapi perah yang disebabkan oleh kuman (bakteri) yaitu peradangan pada ambing (mastitis).

Mastitis adalah suatu reaksi peradangan ambing yang dapat disebabkan oleh kuman, zat kimia, luka termis (bakar) ataupun luka karena mekanis. Peradangan ini menyebabkan bertambahnya protein dalam darah dan sel-sel darah putih di dalam tenunan ambing. Umumnya radang ambing disebabkan oleh

bakteria *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli* dan *Streptococcus disgalactiae*. Secara klinis terdapat dua macam mastitis yaitu mastitis subklinis dan mastitis klinis. Mastitis sub klinis memiliki ciri-ciri ambing tidak bengkak, tidak sakit dan tidak panas, tetapi terdapat kelainan tertentu pada susunya, sedangkan pada mastitis yang klinis, terdapat suatu gejala abnormalitas pada ambing dan susu yang dihasilkan. Susu terlihat menggumpal atau cair seperti air, terdapat darah atau nanah pada susunya. Mastitis klinis dapat dibedakan menjadi dua macam yaitu mastitis akut, dan mastitis khronis. Mastitis akut ditandai dengan adanya pembengkakan pada ambing, ambing terasa panas bila diraba, keras dan terasa sakit. Kadang-kadang diikuti dengan gejala demam, sapi kelihatan lemah dan nafsu makannya hilang. Mastitis khronis ditandai dengan terdapat pembengkakan pada ambing, terasa keras tetapi tidak terasa sakit dan tidak panas.

Pengobatan terhadap penyakit mastitis ini masih menggunakan antibiotika. Antibiotika yang biasa digunakan dalam pengobatan penyakit mastitis ini diantaranya penisilin, sefalosporin, eritromisin, neomisin, novobiosin, tetrasiklin dan streptomisin. Pengobatan dengan menggunakan antibiotika ini dapat menyebabkan resistensi kuman dan juga menyebabkan kontaminasi atau residu pada air susu sapi yang dapat membahayakan konsumen, diantaranya bisa terjadi keracunan, alergi gangguan pencernaan.

Seiring dengan tumbuhnya kesadaran akan dampak buruk produk-produk kimiawi, maka tumbuh pula kesadaran akan pentingnya produk-produk alami termasuk dalam kesehatan (pengobatan), karena produk alam ini dianggap lebih aman, murah dan sedikit memiliki efek samping. Salah satu tumbuhan yang dikenal sebagai tanaman obat yaitu daun sirih (*Piper betle* Linn.).

Penggunaan daun sirih sebagai obat biasanya diberikan dalam bentuk godogan, daun segar yang dimemarkan atau ditumbuk halus, ekstrak ataupun dalam bentuk minyak atsiri. Minyak atsiri dan ekstrak daun sirih ini berfungsi sebagai fungisida dan bakterisida (memiliki aktivitas terhadap beberapa bakteri Gram positif dan Gram negatif).

Daun sirih banyak digunakan untuk pengobatan beberapa macam penyakit maupun

perawat kecantikan (SOEDIBJO, 1991). Pasta gigi dengan minyak daun sirih dinyatakan mempunyai antiseptika yang tinggi terhadap koloni bakteri *Streptococcus alfa* (SUNDARI *et al.*, 1991).

Menurut KOMALA (2003) ekstrak daun sirih dengan menggunakan pelarut metanol absolut pada konsentrasi 50 dan 25% memiliki daya antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan *bacitracin* 10 U, *chloramphenicol* 30 µg, *stroptomycin* 10 µg, *sulfanomides* 300 µg dan *vancomycin* 30 µg.

Mengacu kepada daya antibakteri yang dimiliki oleh daun sirih, maka pada penelitian ini diujikan manfaat daun sirih sebagai antimikroba alami yang diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu alternatif pengobatan mastitis. Hasil penelitian ini diharapkan dapat langsung diaplikasikan oleh peternak sapi perah. Bentuk sediaan yang diteliti yaitu air perasan ekstrak etanol dan minyak atsiri yang dianggap pembuatannya lebih sederhana.

MATERI DAN METODE

Penelitian dalam bentuk isolasi, identifikasi dan pengujian daya antibakteri dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, Balitvet, sedangkan pembuatan ekstrak daun sirih dilakukan di Laboratorium Balitro, Bogor, Jawa Barat. Tahapan penelitian yang dilakukan yaitu isolasi dan seleksi koloni bakteri dari sapi perah yang menderita mastitis subklinis, identifikasi isolat bakteri yang diperoleh dari sapi perah yang menderita mastitis subklinis, peremajaan stok isolat koloni bakteri hasil isolasi ke media agar darah, pembuatan air perasan, ekstrak etanol serta penyulingan minyak atsiri dari daun sirih dan pengujian potensi antimikroba air perasan, ekstrak etanol serta minyak atsiri daun sirih terhadap bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi dengan metode kertas cakram dengan pembanding antibiotika tetrasiklin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan identifikasi bakteri

Bakteri yang didapat dari hasil isolasi yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus*

epidermidis, sedangkan *Streptococcus agalactiae* yang berasal dari sapi yang menderita mastitis subklinis di daerah Citayam Bogor Jawa Barat, seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan dari 5 (lima) sapi yang terkena mastitis subklinis bakteri penyebab mastitis terbanyak yaitu *Streptococcus agalactiae* disusul oleh *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Bakteri hasil isolasi kemudian diidentifikasi. Hasil identifikasi yaitu berupa karakteristik morfologi dapat dilihat pada Tabel 2.

Staphylococcus aureus pada perbenihan agar darah menunjukkan koloni bakteri

berbentuk bulat, berwarna putih agak kekuningan dengan permukaan cembung. Hasil pewarnaan gram sel bakteri bersifat gram positif dan berbentuk bulat, serta menunjukkan reaksi positif pada uji katalase dan koagulase dan memfermentasi manitol. Koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* pada perbenihan agar darah berbentuk bulat, berwarna transparan dengan permukaan cembung, pada pewarnaan gram bakteri ini bersifat gram positif dan berbentuk bulat. Koloni bakteri *Staphylococcus epidermidis* berbentuk bulat, berwarna abu-abu sampai putih dengan permukaan cembung, bakteri ini bersifat koagulase negatif dan tidak hemolitik.

Tabel 1. Hasil isolasi bakteri dari susu sapi yang terkena mastitis subklinis

No dan identifikasi	No puting	Jenis bakteri		
		<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
9A Laktasi ke: 1 Umur : 3 tahun	1	+	-	-
	2	+	-	-
	3	+	-	-
	4	-	-	-
6C Laktasi ke: 2 Umur: 3 tahun	1	-	-	+
	2	+	-	-
	3	-	-	+
	4	-	-	-
8C Laktasi ke: 3 Umur: 3,5 tahun	1	+	-	-
	2	-	+	-
	3	+	-	-
	4	+	+	-
11 B Laktasi ke: 1 Umur: 3 tahun Hamil: 2 bulan	1	-	-	-
	2	-	-	-
	3	-	+	-
	4	-	+	-
3B Laktasi ke: 2 Umur: 7 tahun	1	+	-	-
	2	-	+	-
	3	+	-	-
	4	-	-	-
5B Laktasi ke: 7 Umur: 12 tahun Hamil: 3 bulan	1	-	-	+
	2	+	-	-
	3	-	-	-
	4	-	+	-

+ = ditemukan adanya bakteri

- = tidak ditemukan adanya bakteri

Tabel 2. Karakteristik morfologi koloni bakteri pada perbenihan agar darah

Bentuk	Warna	Permukaan	Hemolisis	Bakteri
Bulat	Putih agak kekuningan	Cembung	(+)	<i>Staphylococcus aureus</i>
Bulat	Putih transparan	Cembung	(-)	<i>Streptococcus agalactiae</i>
Bulat	Putih keabuan	Cembung	(-)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

Aktivitas antibakteri air perasan daun sirih

Dilihat dari ukuran diameter daerah hambat masing-masing dari air perasan daun sirih tidak menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, sedangkan *Streptococcus agalactiae*, hal ini disebabkan zat aktif yang bersifat sebagai antibakteri tidak tersari sehingga tidak menghambat pertumbuhan bakteri uji. Tetrasiklin yang digunakan sebagai kontrol menunjukkan sensitif terhadap ketiga jenis bakteri tersebut, dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan diameter zona hambat (mm) perasan daun sirih dengan kontrol tetrasiklin

Konsentrasi	Diameter zona hambat		
	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>
	----- (mm) -----		
Perasan daun sirih			
50%	0,0	0,0	0,0
25%	0,0	0,0	0,0
12,5%	0,0	0,0	0,0
6,25%	0,0	0,0	0,0
Tetrasiklin	22,0	27,3	30,7

Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih

Minyak atsiri daun sirih pada konsentrasi 50, 25 dan 12,5% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Staphylococcus epidermidis*, tetapi pada konsentrasi 50 dan 25% hanya menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Tetrasiklin memiliki daya hambat lebih baik dibandingkan dengan minyak atsiri daun sirih terhadap bakteri penyebab mastitis (Tabel 4).

Tabel 4. Rataan diameter zona hambat (mm) minyak atsiri daun sirih dengan kontrol tetrasiklin

Konsentrasi	Diameter zona hambat		
	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>
	----- (mm) -----		
Minyak atsiri			
50%	17,7	14,0	10,3
25%	10,7	11,7	8,0
12,5%	8,3	8,0	0,0
6,25%	0,0	0,0	0,0
Tetrasiklin	21,3	30,3	37,7

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih

Ekstrak etanol pada konsentrasi 50, 25, 12,5 dan 6,25% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, sedangkan *Streptococcus agalactiae* hanya dapat dihambat pada konsentrasi 50, 25 dan 12,5%. Tetrasiklin memiliki daya hambat yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol daun sirih (Tabel 5). Semakin besar konsentrasi maka zona hambat yang terbentuk semakin besar pula, karena semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula zat aktif yang terdapat di dalamnya, sehingga menyebabkan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri juga semakin besar. Ekstrak etanol memiliki zona hambat terbesar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, sedangkan *Streptococcus agalactiae* dibandingkan dengan air perasan dan minyak atsiri daun sirih, hal ini dimungkinkan karena zat aktif yang bersifat sebagai antibakteri pada daun sirih lebih mudah tersari dalam pelarut etanol 70% sehingga kemampuan daya hambat yang diberikan lebih besar.

Tabel 5. Rataan diameter zona hambat (mm) ekstrak etanol daun sirih dengan kontrol tetrasiklin

Konsentrasi	Diameter zona hambat		
	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>
	----- (mm) -----		
Ekstrak etanol			
50%	10,3	18,3	15,3
25%	8,0	15,3	14,0
12,5%	6,3	13,3	12,7
6,25%	0,0	9,0	11,0
T tetrasiklin	21,7	30,7	28,0

Sifat antibakteri daun sirih diduga disebabkan oleh kandungan kavikol dalam minyak atsiri. bau daun dan minyak sirih yang khas disebabkan karena adanya kavikol yang lekas menguap, kavikol ini merupakan senyawa antiseptik yang kuat (PUSAT PENELITIAN OBAT TRADISIONAL UNIVERSITAS GADJAH MADA dan KELOMPOK KERJA NASIONAL Tumbuhan Obat Indonesia, 1991). Rendahnya daya antibakteri pada minyak atsiri daun sirih dibandingkan dengan ekstrak etanol, dimungkinkan adanya kandungan lain dalam daun sirih yang larut dalam etanol, sehingga meningkatkan daya antibakteri.

Penggunaan antibiotika tetrasiklin (Oxoid) 30 µg/cakram bertujuan untuk membandingkan kemampuan daya hambat perasan, ekstrak etanol dan minyak atsiri daun sirih dengan antibiotika terhadap bakteri uji (Tabel 6).

Tabel 6 menunjukkan bahwa daun sirih memiliki daya hambat lebih rendah dibandingkan dengan tetrasiklin, maka daun sirih kurang efektif dibandingkan dengan tetrasiklin.

Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel yang tebal (15 – 80 nm), berlapis

tunggal (mono). Dinding selnya mengandung lipid, asam teikoat dan peptidoglikan. Peptidoglikan merupakan komponen utama penyusun dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri Gram positif lebih tebal dibandingkan dengan Gram negatif, maka bakteri Gram positif lebih resisten dibandingkan dengan Gram negatif. Ketiga bakteri hasil isolasi dari susu sapi yang terkena mastitis subklinis termasuk ke dalam bakteri Gram negatif, akan tetapi ketiganya memiliki kepekaan yang berbeda-beda terhadap antibakteri yang diberikan, terbukti dengan adanya perbedaan zona hambat yang terbentuk.

Menurut JOHNSON *et al.* (1994) *Staphylococcus aureus* memiliki dinding yang terdiri dari 50% lapisan peptidoglikan dan memiliki susunan dinding yang kompak. Dinding inilah yang menyebabkan *Staphylococcus aureus* bersifat sangat toleran. *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri yang memiliki aktivitas koagulase positif sedangkan *Staphylococcus epidermidis* koagulase negatif (STEEL'S dan COWAN, 1981), sehingga *Staphylococcus aureus* bersifat lebih patogen daripada *Staphylococcus epidermidis* tetapi *Staphylococcus epidermidis* pun termasuk bakteri yang sangat toleran dan patogenik (BEISHIR, 1974). Keadaan inilah yang menyebabkan *Staphylococcus epidermidis* lebih peka terhadap ekstrak daun sirih yang diberikan daripada *Staphylococcus aureus*.

Streptococcus agalactiae memiliki kapsul yang tersusun dari asam sialat dan senyawa karbohidrat lainnya yang membentuk stuktur oligosakarida. Kapsul ini sebagai salah satu faktor virulen dari *Streptococcus agalactiae* yang berperan dalam mencegah fagositosis, menentukan ketahanan hidup, mencegah serangan dari radang dan mencegah proses pembunuhan bakteri (WIBAWAN dan LAEMMLER, 1990).

Tabel 6. Efektivitas antibakteri daun sirih dibandingkan dengan antibiotika tetrasiklin

Jenis perlakuan	Bakteri		
	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>
Air perasan konsentrasi 50%	0,0%	0,0%	0,0%
Ekstrak etanol Konsentrasi 50%	47,7%	54,7%	59,8%
Minyak atsiri_Konsentrasi 50%	82,8%	37,3%	46,2%

Efektivitas antibiotika tetrasiklin dianggap 100%

KESIMPULAN

Air perasan daun sirih tidak menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus agalactiae*. Minyak atsiri daun sirih pada konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Staphylococcus epidermidis*, tetapi pada konsentrasi 50% dan 25% hanya menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Ekstrak etanol pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dan 6,25% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, sedangkan *Streptococcus agalactiae* hanya dapat dihambat pada konsentrasi 50%, 25% dan 12,5%. Semakin besar konsentrasi dari ekstrak etanol dan minyak atsiri daun sirih, maka semakin besar juga daya hambatnya. Daya antibakteri tetrasiklin memiliki daya hambat lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol dan minyak atsiri daun sirih.

DAFTAR PUSTAKA

- BEISHIR, L. 1974. Microbiology in Practice. Confield Press. San Fransisco, London.
- JOHNSON, A.G., R. ZEIGLER, T.J. FITGERALD, O. LUKASEWYCZ and L. HAWLEY. 1994. Mikrobiologi dan Imunologi. Binarupa Aksara, Jakarta.
- KOMALA. 2003. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap Bakteri Penyebab Mastitis. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- PUSAT PENELITIAN OBAT TRADISIONAL UNIVERSITAS GADJAH MADA dan KELOMPOK KERJA NASIONAL TUMBUHAN OBAT INDONESIA. 1991. Seminar Sirih. hlm. 7, 10, 11. Yogyakarta.
- SOEDIBJO, M. 1991. Manfaat sirih dalam perawatan kesehatan dan kecantikan. Warta Tumbuhan Obat Indonesia. 1(1): 11 – 12.
- STEEL'S and COWAN. 1981. Manual for Identification of Medical Bacteria. Cambridge University Press, Sydney.
- SUNDARI, S., KOESOEMARDIJAH dan NUSRATINI. 1991. Minyak atsiri daun sirih dalam pasta gigi; stabilitas fisis dan daya antibakteri. Warta Tumbuhan Indonesia. 1(1): 5 – 6.
- WIBAWAN, I.W.T. and C.H. LAEMMLER. 1990. Properties of Group B Streptococci with Herd Improvemen Co-operative Society Limited. George Gray Centre, Victoria.