

## Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Combination of *Piper betle* and *Moringa oleifera* Extracts

Siti H. A. G. Arifin, Nirmala F. Firdhausi, Irul Hidayati, Hanik Faizah\*

Biology Study Program, Science and Technology Faculty, UIN Sunan Ampel Surabaya, East Java, Indonesia

### Abstract

The inappropriate use of antibiotics can lead to pathogenic bacteria developing multiple drug resistance, making infectious disease treatment crucial. Thus, the discovery of novel antibiotics from natural materials, such as plant extracts or their combinations, is critically needed. Extracts of green betel (*Piper betle*) and Moringa (*Moringa oleifera*) leaves are known to have antimicrobial activity. This study aimed to determine the chemical content and antimicrobial activity of ethanol extracts of the combination of green betel leaves and Moringa leaves against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Candida albicans*. Green betel and Moringa leaves were macerated in 96% ethanol to extract secondary metabolites. Secondary metabolites were analyzed using phytochemical screening. Antimicrobial activity was tested using disk diffusion using various concentrations: EF1 (25% betel leaves + 75% moringa leaves), EF2 (50% betel leaves + 50% moringa leaves), and EF3 (75% betel leaves + 25% moringa leaves). Phytochemical tests showed that the ethanol extracts of betel leaves contained flavonoids, alkaloids, tannins, and saponins, and no terpenoids, while moringa leaves contain flavonoids, tannins, saponins, and terpenoids, but no alkaloids. *S. aureus* and *E. coli* had the highest inhibition zones at EF3 (75% betel leaves + 25% moringa leaves) concentrations, with average inhibition zones of 21.72 mm and 20.98 mm, respectively, and *C. albicans* at EF2 (50% betel leaves + 50% moringa leaves) concentration, with an average inhibition zone of 26.52 mm, with a very strong inhibition category.

**Keywords:** Antimicrobial, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Moringa oleifera*, *Piper betle*, *Staphylococcus aureus*

## Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antimikroba Kombinasi Ekstrak *Piper betle* dan *Moringa oleifera*

### Abstrak

Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan resistensi obat ganda terhadap bakteri patogen, sehingga pengobatan penyakit infeksi menjadi sangat penting. Karena itu, penemuan antibiotik baru dari bahan alami, seperti ekstrak tanaman atau kombinasinya, sangat diperlukan. Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle*) dan daun kelor (*Moringa oleifera*) diketahui memiliki aktivitas antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia dan aktivitas antimikroba ekstrak etanol kombinasi daun sirih hijau dan daun kelor terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*. Sirih hijau dan daun kelor dimaserasi dalam etanol 96% untuk mengekstrak metabolit sekunder, untuk kemudian dianalisis menggunakan skrining fitokimia. Aktivitas antimikroba diuji menggunakan difusi cakram menggunakan variasi konsentrasi EF1 (25% daun sirih + 75% daun kelor), EF2 (50% daun sirih + 50% daun kelor), dan EF3 (75% daun sirih + 25% daun kelor). Uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin, dan tidak mengandung terpenoid, sedangkan daun kelor mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid, tetapi tidak mengandung alkaloid. *S. aureus* dan *E. coli* memiliki zona hambat tertinggi pada konsentrasi EF3 (75% daun sirih + 25% daun kelor), dengan zona hambat rata-rata masing-masing sebesar 21,72 mm dan 20,98 mm, serta *C. albicans* pada konsentrasi EF2 (50% daun sirih + 50% daun kelor), dengan zona hambat rata-rata sebesar 26,52 mm, dengan kategori penghambatan sangat kuat.

**Kata Kunci:** Antimikroba, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Moringa oleifera*, *Piper betle*, *Staphylococcus aureus*

### Article History:

Submitted 10 February 2023

Revised 10 March 2024

Accepted 3 April 2024

Published 30 June 2025

\*Corresponding author:  
[hanikfaizah@uinsa.ac.id](mailto:hanikfaizah@uinsa.ac.id)

### Citation:

Arifin, S.H.A.G.; Firdhausi, N.F.; Hidayati, I.; Hanik, F. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Combination of *Piper betle* and *Moringa oleifera* Extracts. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2025; 12 (2), 184-191.

## 1. Pendahuluan

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen dan penyakit ini rawan menular ke organisme lain.<sup>1</sup> Ada beberapa jenis penyakit yang disebabkan oleh mikroba, antara lain diare, tuberkulosis, gastroenteritis, leukorea, infeksi kulit, infeksi tulang sendi, dan infeksi saluran kemih.<sup>2</sup> Penyakit infeksi banyak disebabkan oleh flora normal. Beberapa flora normal yang dapat menyebabkan penyakit misalnya bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan fungi *Candida albicans*.<sup>2</sup>

Bakteri *S. aureus* merupakan flora normal pada mulut serta pernafasan, namun dalam kondisi tidak normal dapat menjadi patogen. Penyakit yang ditimbulkan seperti infeksi kulit, infeksi keracunan makanan, infeksi tulang sendi dan endokarditis. Bakteri *E. coli* merupakan flora normal dalam usus, namun dalam kondisi tidak normal dapat menyebabkan diare, infeksi kulit, infeksi saluran kemih, infeksi abdomen dan meningitis.<sup>3</sup> Fungi *C. albicans* merupakan flora normal pada saluran pencernaan dan mukosa pernafasan namun dapat menjadi patogen menyebabkan berbagai penyakit, misalnya infeksi saluran kencing, oral (mulut) dan kulit berupa artritis, endofalmitis, dan meningitis.<sup>4</sup>

Salah satu pengobatan penyakit infeksi yaitu dengan antibiotik. Tetapi penggunaan antibiotik jika tidak sesuai dosis dan anjuran dokter maka dapat terjadi resistensi bakteri pada antibiotik tertentu. Resistensi inilah yang menyebabkan kemampuan antibiotik dalam mematikan bakteri menjadi lemah.<sup>5</sup> Akibat adanya efek samping tersebut, maka diperlukan pengobatan lain yang efektif dan efek samping yang lebih kecil. Salah satu alternatifnya yaitu menggunakan bahan alami. Bahan alami yang digunakan dapat berupa ekstrak tanaman maupun buah-buahan yang memiliki kemampuan antimikroba mengobati penyakit infeksi. Hal ini dikarenakan tanaman merupakan sumber berbagai jenis senyawa kimia dengan efek samping yang relatif lebih kecil.<sup>6,7</sup>

Pengembangan pengelolaan obat tradisional pun sangat berkembang pesat seiringnya kesadaran masyarakat tentang manfaat tanaman obat.<sup>6,8</sup> Penelitian mengenai tanaman obat juga sudah banyak dilakukan, contoh tanaman obat yang sangat dikenal masyarakat adalah daun sirih hijau (*Piper betle*) dan daun kelor (*Moringa oleifera*). Daun sirih hijau banyak digunakan sebagai antiseptik, obat antibau, pembersih mata, pendarahan gusi, dan keputihan.<sup>9</sup> Daun sirih mengandung minyak atsiri aromatik seperti, kavikol, kavibetol, metilogenol, eugenol, fenilpropan, estargiol, dan hidoksikavikol.<sup>10</sup> Kavikol pada daun sirih memiliki sifat antiseptik yang kuat, karena 5x daya hambat antibakteri lebih besar dibanding fenol. Selain itu,

terdapat kandungan senyawa aktif berupa alkaloid, saponin, triterpenoid, tannin, dan flavonoid.<sup>11</sup> Jamelarin dan Balinado (2019)<sup>12</sup>, menyatakan bahwa ekstrak etanol daun sirih memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Penelitian Bandaranayake dkk. (2018)<sup>13</sup>, menyatakan bahwa ekstrak etanol daun sirih memiliki kemampuan antifungi terhadap *C. albicans*.

Daun kelor juga merupakan tanaman toga yang sudah lama dimanfaatkan karena berkhasiat sebagai antibakteri, antikanker, hipotensif dan antifungi<sup>14</sup>. Hal tersebut dikarenakan kandungan metabolit sekunder seperti triterpenoid, flavonoid, saponin, tanin, dan kaya akan nutrisi berupa vitamin A, B, C, D, E, piridoksin, asam folat, asam nikotinat, Ca, K, Zn, Mg, Fe, Pb.<sup>15</sup> Menurut Dima dkk. (2016) dan Devi (2014),<sup>6,16</sup> ekstrak daun kelor memiliki aktivitas antimikroba terhadap *S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans*.

Dua jenis bahan alam yang dikombinasikan memiliki daya antibakteri yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak tunggal.<sup>17</sup> Penelitian kombinasi ekstrak etanol daun sirih dan lidah buaya menunjukkan adanya kemampuan antibakteri pada *S. aureus*. Konsentrasi ekstrak etanol daun sirih dan lidah buaya dengan masing-masing 75% memiliki zona hambat terbesar yaitu 25 mm.<sup>18</sup> Sejauh yang diketahui, data tentang aktivitas antimikroba kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun kelor terhadap *S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans* masih terbatas. Penelitian yang telah dilakukan masih terbatas pada penggunaan ekstrak tunggal sirih hijau dan daun kelor, atau kedua ekstrak tersebut dikombinasikan dengan menggunakan bahan lain. Penelitian aktivitas antimikroba kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan kelor telah dilakukan oleh Rejeki dkk. (2023)<sup>19</sup> namun hanya diujikan pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* saja dengan menggunakan metode sumuran. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dan aktivitas antimikroba kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*P. betle*) dan daun kelor (*M. oleifera*) terhadap *S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans* dengan menggunakan uji difusi cakram.

## 2. Bahan dan Metode

### 2.1. Alat

Tabung reaksi, labu ukur, erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri, gelas kimia (iwaki), jarum ose, rak tabung reaksi, timbangan analitik (*Mettler Toledo* ML204), *stirring hotplate* (Thermoscientific SP131320-33Q), *Micropipette* (0.5 µL - 1000 µL) (Biopetee P3942-SK4), rotary evaporator (Heidolph, Hei-VAP Advantage Hand lift G3) spektrofotometer (Optima SP-300), *laminar air*

flow (ESCO, AVC-4D1) autoklaf (Hirayama HG50), jangka sorong, pinset.

## 2.2. Bahan

Daun kelor (*M. oleifera*), daun sirih hijau (*P. betle*) bakteri uji (*E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*), etanol 96% MERCK, alkohol 70% teknis, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, larutan wagner (Sigma-Aldrich), larutan bouchardat (Sigma-Aldrich), HCl (MERCK), FeCl (MERCK), NaCl (MERCK), ciprofloxacin<sup>®</sup>, ketokonazole<sup>®</sup>, *Saboraud Dektrosa Agar* (MERCK), *Eosin Methylen Blue* (MERCK), *Mannitol Salt Agar* (MERCK), *Muller Hinton Agar* (MERCK)

## 2.3. Prosedur

### 2.3.1. Penyiapan Sampel

Daun kelor (*M. oleifera*) dan daun sirih hijau (*P. betle*) diidentifikasi dengan buku taksonomi tumbuhan<sup>20</sup> dan buku flora<sup>21</sup>. Sampel daun kelor dan daun sirih hijau dicuci dengan air mengalir hingga bersih, lalu ditiriskan. Sampel dikeringkan dalam oven suhu pada suhu 50°C selama 2 hari, lalu sampel dihaluskan dengan *blender*, kemudian sampel diayak dengan ayakan mesh 60 hingga didapatkan serbuk yang halus. Selanjutnya, sampel disimpan dalam wadah kering dan tertutup.

### 2.3.2. Pembuatan Ekstrak

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi. Sebanyak 200 gram serbuk simplisia dimasukkan kedalam erlenmeyer. Sampel direndam dengan 800 ml etanol 96%, lalu didiamkan selama 1 hari. Setelah sehari didiamkan, sampel disaring dengan kertas saring hingga diperoleh hasil filtrat 1 dan residu 1. Hasil residu direndam kembali dengan 400 ml etanol 96%, lalu didiamkan selama sehari. Hal ini dilakukan secara kontinyu hingga didapatkan hasil filtrat 5 dalam 5 hari maserasi. Hasil filtrat 1-5 dijadikan satu, kemudian dievaporasi dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental disimpan dalam wadah kering dan tertutup.

### 2.3.3. Skrinning Fitokimia

#### *Uji Flavonoid*

Ekstrak sebanyak 0,5 ml ditambahkan 3 tetes larutan HCl dan diberi 0,2 g serbuk Mg. Apabila larutan berubah warna menjadi merah muda atau merah kecoklatan maka ekstrak tersebut positif mengandung flavonoid.

#### *Uji Alkaloid*

Ekstrak sebanyak 0,5 g ditambahkan 3 tetes larutan wagner. Apabila pada larutan terdapat endapan di dasar tabung reaksi yang berwarna coklat atau jingga maka ekstrak tersebut mengandung alkaloid.

#### *Uji Tanin*

Ekstrak sebanyak 0,5 g ditambahkan 2 tetes larutan FeCl 1%. Apabila warna larutan berubah menjadi hijau kehitaman, biru, biru tua, kehitaman atau ungu maka ekstrak tersebut positif mengandung tanin.

#### *Uji Saponin*

Ekstrak sebanyak 0,5 g ditambahkan 2 ml air panas, kemudian dikocok dengan kuat. Apabila terbentuk gelembung atau busa yang permanen atau dapat tahan lebih dari 10 detik maka ekstrak tersebut positif mengandung saponin.

#### *Uji Triterpenoid*

Ekstrak sebanyak 0,5 g ditambahkan 3 tetes larutan bouchardat, kemudian ditambahkan 0,25 ml asam asetat anhidrat serta 1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Apabila warna larutan berubah menjadi merah jingga atau ungu kecoklatan maka ekstrak tersebut positif mengandung triterpenoid. Namun apabila larutan berwarna hijau kebiruan, maka ekstrak tersebut mengandung steroid.

### 2.3.4. Peremajaan Mikroba Uji

Peremajaan koloni mikroba uji dilakukan dengan mengambil 1 ose mikroba uji dari kultur mikroba, kemudian diinokulasikan kedalam media *Mannitol Salt Agar* untuk *S. aureus*, media *Eosin Methylen Blue* untuk *E. coli*, dan media *Saboraud Dektrosa Agar* untuk *C. albicans* lalu kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C.

### 2.3.5. Pembuatan Suspensi Mikroba Uji

Mikroba uji diinokulasikan kedalam larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh dengan standar kekeruhan yang sama dengan standar 0,5 *Mac Farland* dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  530 nm.

### 2.3.6. Pengujian dan Pengukuran Antimikroba

Media MHA steril dituangkan kedalam cawan petri steril, kemudian dibiarkan memadat. Setelah media padat, kemudian dituangkan suspensi bakteri diatas media tersebut lalu diratakan dengan spreader. Kertas cakram diletakkan diatas media, lalu ditetaskan kombinasi ekstrak etanol daun sirih dan daun kelor sebanyak 30 ul diatas kertas cakram. Media diinkubasi selama 24 jam, kemudian dilakukan pengamatan

dengan mengamati zona bening yang terbentuk. Perhitungan zona hambar sebagai berikut :

$$\frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$$

Dv : Diameter vertikal  
Dc : Diameter cakram  
Dh : Diameter horizontal

### 2.3.7. Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak lengkap dengan pengulangan sebanyak 5 kali. Data hasil uji antimikroba dianalisis secara statistik menggunakan program SPSS 16.0. Data dianalisis menggunakan uji Kruskal wallis dilanjutkan dengan uji *Mann-whitney* dengan taraf kepercayaan 5%.

## 3. Hasil

### 3.1. Skrining Fitokimia Ekstrak

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dalam suatu ekstrak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau (*P. betle*) mengandung flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin, namun tidak mengandung terpenoid sedangkan ekstrak etanol daun kelor (*M. oleifera*) mengandung flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid, namun tidak mengandung alkaloid pada (tabel 1)

### 3.2. Uji Aktivitas Antimikroba

Berdasarkan uji aktivitas antimikroba, semua perlakuan kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun kelor memiliki aktivitas antimikroba terhadap mikroba uji (Gambar1). Menurut hasil analisis statistik menggunakan uji *Kruskal wallis*, didapatkan nilai sig < 0,05 (tabel 1). Maka disimpulkan terdapat perbedaan nyata antar kelompok perlakuan.

Hasil uji lanjutan menggunakan *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa pada uji aktivitas antimikroba terhadap *S. aureus*, pada semua perlakuan berbeda

nyata kecuali pada konsentrasi EF2 dengan EF3 dan EF3 dengan K+ tidak berbeda nyata. Pada uji aktivitas antimikroba terhadap *E. coli*, pada semua perlakuan berbeda nyata kecuali konsentrasi EF2 dengan EF3 tidak berbeda nyata. Pada uji aktivitas antimikroba terhadap *C. albicans*, pada semua perlakuan berbeda nyata kecuali konsentrasi EF2 dengan K+ dan EF2 dengan EF3 tidak berbeda nyata.

Kontrol negatif (etanol 96%) menunjukkan tidak adanya aktivitas antibakteri pada *S. aureus*, namun ada zona hambat yang lemah pada *E. coli* (0,73 ± 0,03 mm) dan *C. albicans* (0,56 ± 0,08 mm). Sedangkan, kontrol positif antibakteri (ciprofloxacin 50 ug/ml) dan Antifungi (ketokonazole 2%) menunjukkan zona hambat yang kuat antara 24,47-25,74 mm.

Respon hambatan dari kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun kelor terhadap mikroba uji tergolong antara kuat sampai sangat kuat (Tabel 2). Rata-rata diameter zona hambat tertinggi pada *S. aureus* yaitu pada perlakuan EF3 dengan nilai 22,2 ± 1,43 mm (respon hambat sangat kuat) dan terendah pada perlakuan EF1 dengan nilai 12,43 ± 0,06 mm (respon hambat kuat), sedangkan pada bakteri *E. coli* zona hambat tertinggi yaitu pada perlakuan EF3 dengan diameter 20,98 ± 1,07 mm (respon hambat sangat kuat) dan terendah pada perlakuan EF1 dengan diameter 15,53 ± 0,4 mm (respon hambat kuat). Zona hambat tertinggi pada *C. albicans* yaitu pada perlakuan EF2 26,52 ± 0,88 mm (respon hambat sangat kuat) dan terendah pada perlakuan EF1 15,53 ± 0,4 mm (respon hambat kuat).

## 4. Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak daun sirih hijau mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Hal ini sesuai dengan penelitian Kaveti dkk. (2011)<sup>22</sup> yang melaporkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Namun, hal ini berbeda dengan penelitian Muflihah dan Prabowo (2017)<sup>23</sup> yang menyatakan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau juga mengandung senyawa triterpenoid. Pada

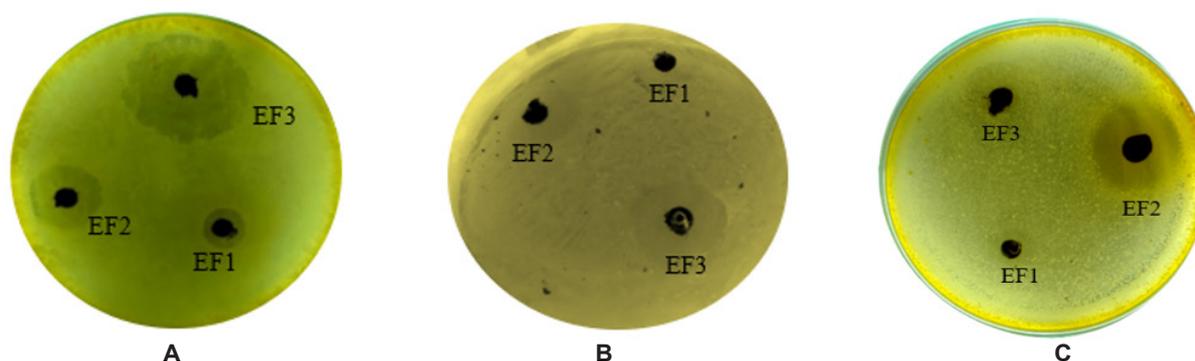
**Tabel 1.** Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau dan Daun Kelor

Uji Fitokimia	Ekstrak etanol daun sirih hijau	Ekstrak etanol daun Kelor
Flavonoid	+	+
Alkaloid	+	-
Tanin	+	+
Saponin	+	+
Terpenoid	-	+

Keterangan:

+ : (terdapat kandungan metabolit sekunder)

- : (tidak terdapat kandungan metabolit sekunder)



**Gambar 1.** Zona hambat kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun kelor terhadap mikroba *S. aureus* (A), *E. coli* (B) dan *C. albicans* (C)

penelitian ini, ekstrak etanol daun kelor mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Putra dkk. (2016)<sup>24</sup> yang menyatakan bahwa ekstrak etanol daun kelor mengandung senyawa flavonoid, alkaloid saponin, steroid, terpenoid, dan tanin.

Adanya perbedaan hasil penelitian mengenai perbedaan kandungan senyawa pada suatu ekstrak tumbuhan biasa terjadi. Hal ini dapat disebabkan karena adanya faktor lingkungan seperti tanah, iklim, udara, dan suhu. Jumlah dan jenis senyawa aktif yang terkandung pada suatu tanaman dapat berbeda-beda tergantung pada faktor iklim, musim, ekologi, dan geografi. Meskipun jenis tanamannya sama, senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dapat berbeda tetapi apabila tumbuh di geografi berbeda.<sup>25</sup>

Pada hasil uji antimikroba, semua perlakuan kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun kelor memiliki aktivitas penghambatan terhadap mikroba uji dengan nilai zona hambat yang berbeda dan perbedaan respon hambat dari kuat sampai sangat kuat. Rata-

rata diameter zona hambat tertinggi pada *S. aureus* yaitu pada perlakuan EF3 dengan nilai  $22,2 \pm 1,43$  mm (respon hambat sangat kuat). Pada bakteri *E. coli*, zona hambat tertinggi yaitu pada perlakuan EF3 dengan diameter  $20,98 \pm 1,07$  mm (respon hambat sangat kuat), sedangkan zona hambat tertinggi pada *C. albicans* yaitu pada perlakuan EF2  $26,52 \pm 0,88$  mm (respon hambat sangat kuat). Dari hasil tersebut terlihat bahwa, perlakuan EF3 (kombinasi konsentrasi 75% ekstrak etanol daun sirih hijau dan 25% ekstrak etanol daun kelor) paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri baik pada *S. aureus* maupun *E. coli*, sedangkan pada perlakuan EF2 (Kombinasi 50% ekstrak etanol daun sirih hijau + 50% daun kelor) paling efektif dalam menghambat pertumbuhan fungi *C. albicans*. Perbedaan ini bisa terjadi karena adanya perbedaan konsentrasi ekstrak yang menyebabkan jumlah kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam kombinasi ekstrak akan berbeda. Selain itu efektivitas penghambatan juga dipengaruhi oleh jenis mikroba. Hal ini dikarenakan beberapa senyawa aktif dilaporkan memiliki mekanisme yang berbeda pada saat menghambat berbagai jenis mikroba.<sup>26</sup>

**Tabel 2.** Rata-rata diameter zona hambat kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun kelor terhadap mikroba *S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans*

Konsentrasi	Rata-rata Diameter Zona Hambat ± Standar deviasi (mm)					
	<i>S.aureus</i>	Respon Hambatan	<i>E.coli</i>	Respon Hambatan	<i>C.albicans</i>	Respon Hambatan
Kontrol -	0	Tidak ada	$0,73 \pm 0,03$	Lemah	$0,56 \pm 0,08$	Lemah
Kontrol+	$24,47 \pm 0,03$	Sangat kuat	$25,73 \pm 0,02$	Sangat kuat	$25,74 \pm 0,11$	Sangat kuat
EF1	$12,43 \pm 0,06$	Kuat	$15,53 \pm 0,4$	Kuat	$13,53 \pm 1,4$	Kuat
EF2	$19,55 \pm 0,52$	Kuat	$18,6 \pm 0,62$	Kuat	$26,52 \pm 0,88$	Sangat kuat
EF3	$22,2 \pm 1,43$	Sangat kuat	$20,98 \pm 1,07$	Sangat kuat	$24,01 \pm 1,47$	Sangat kuat
<i>P-Value</i>	0,02		0,000		0,000	

Keterangan :

Kontrol (-) = etanol 96%

Kontrol (+) untuk bakteri = ciprofloxacin 50 ug/ml

Kontrol (+) untuk fungi = ketokonazole 2%.

EF1 = 25% ekstrak etanol daun sirih hijau + 75% ekstrak etanol daun kelor

EF2 = 50% ekstrak etanol daun sirih hijau+ 50% ekstrak etanol daun kelor

EF3 = 75% ekstrak etanol daun sirih hijau +25% ekstrak etanol daun kelor

P-value = Nilai signifikansi hasil uji Kruskal-wallis dengan taraf kepercayaan 5%

Kategori respon hambatan berdasarkan Morales et al. (2003)

Pada kombinasi ekstrak dalam penelitian ini, apabila semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun sirih hijau atau semakin rendah konsentrasi ekstrak etanol daun kelor maka aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* dan *S.aureus* lebih tinggi daripada ekstrak daun kelor.<sup>27, 28, 29, 30</sup>

Pada penelitian ini, ekstrak etanol daun sirih hijau mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin, sedangkan ekstrak etanol daun kelor mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid. Masing-masing kandungan senyawa tersebut memiliki mekanisme antibakteri yang berbeda.

Flavonoid dapat mendenaturasi sel protein mikroba dan merusak membran sitoplasma. Flavonoid dapat menghambat proses metabolisme energi pada sel bakteri dengan penghambatan sistem respirasi pada sel bakteri, selain itu flavonoid juga dapat merusak membran dari sel bakteri, dimana akan terbentuknya suatu senyawa kompleks antara gugus senyawa flavonoid dengan protein ekstraselular pada sel. Kemampuan senyawa tanin mampu untuk menonaktifkan adhesi bakteri, enzim dan protein selubung sel.<sup>15,31</sup> Saponin dapat menunjukkan aktivitas antibakteri dengan cara berdifusi melalui membran luar sel bakteri yang telah dirusak flavonoid, kemudian mengikat membran sitoplasma hingga menyebabkan kebocoran serta kematian sel bakteri.<sup>32</sup> Triterpenoid dapat memecahkan membran sel bakteri oleh komponen-komponen yang bersifat lipofilik.<sup>33</sup>

Adanya respon penghambatan yang kuat dan sangat kuat terhadap pertumbuhan bakteri pada penelitian ini dapat disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder kedua ekstrak dan diperkuat dengan kandungan senyawa yang dimiliki sirih. Ekstrak etanol daun sirih juga dilaporkan mengandung turunan fenol penyusun minyak atsiri yaitu kavikol, eugenol. Kandungan kavikol dalam ekstrak etanol daun sirih memiliki kemampuan antibakteri 5x lebih besar dibanding fenol, sedangkan Eugenol berperan dalam menghambat kolonisasi bakteri pada proses pembelahan sel.<sup>23,34,35</sup>

Pada penelitian ini, penggunaan kelor dalam konsentrasi lebih tinggi daripada ekstrak daun sirih terbukti kurang efektif sebagai antibakteri. Hal ini kemungkinan juga disebabkan karena pada penelitian ini, ekstrak daun kelor tidak memiliki kandungan alkaloid. Alkaloid dapat berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu peptidoglikan sel bakteri yang menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk dengan sempurna sehingga menyebabkan

kematian.<sup>6,15</sup>

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata zona hambat *S. aureus* lebih besar dibandingkan pada *E. coli* (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun kelor terhadap bakteri gram positif lebih besar dibanding gram negatif. Pada penelitian Rezeki dkk. (2023)<sup>19</sup>, kombinasi ekstrak etanol sirih hijau dan kelor dengan konsentrasi 75%:75% memiliki zona hambat sebesar 17,6 mm terhadap *S. aureus* dan 14 mm terhadap *E. coli*. Penelitian Hermawan dkk. (2007)<sup>36</sup> menyatakan bahwa rata-rata zona hambat terhadap *S. aureus* lebih tinggi dibandingkan terhadap *E. coli*. Hal ini bisa disebabkan karena dinding sel bakteri *E. coli* (gram negatif) lebih kompleks dari pada *S. aureus* (gram positif). Bakteri gram negatif memiliki sistem membran ganda, yang mana membran pasmanya diselimuti oleh membran luar permeabel. Dinding sel bakteri ini tebal berupa peptidoglikan, yang terletak di antara membran dalam dan membran luarnya, sedangkan bakteri gram positif hanya memiliki membran plasma tunggal yang dikelilingi dinding sel tebal berupa peptidoglikan.

Pada uji antifungi, semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun sirih hijau yang digunakan dalam kombinasi ekstrak, maka semakin tinggi aktivitas penghambatannya terhadap *C. albicans*. Menurut penelitian Utami dkk (2015)<sup>37</sup>, ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 60% memiliki zona hambat sebesar 20.25 mm. Sedangkan menurut Syahruramadhan dkk. (2016)<sup>38</sup>, ekstrak daun kelor tidak menunjukkan aktivitas antifungi terhadap *C. albicans* dan menurut Ojjako (2014)<sup>39</sup>, ekstrak daun kelor memiliki respon hambat lemah terhadap *C. albicans* dengan zona hambat sebesar 3 mm. Namun, konsentrasi paling efektif pada penelitian ini terdapat pada perlakuan EF2 (50% ekstrak daun sirih hijau + 50% ekstrak daun kelor) yaitu konsentrasi ekstrak daun sirih hijau dan kelor memiliki perbandingan yang seimbang. Penelitian tentang efektifitas kombinasi dengan konsentrasi seimbang telah dilakukan oleh Rahmawati (2014)<sup>18</sup>, yaitu pada kombinasi ekstrak daun lidah buaya dan daun sirih dengan perbandingan konsentrasi seimbang (1:1) memiliki rata-rata zona hambat yang lebih tinggi, yaitu sebesar 25 mm daripada ekstrak tunggal daun lidah buaya dan daun sirih yang memiliki zona hambat masing-masing sebesar 14.3 mm dan 12.6 mm terhadap bakteri *S. aureus*

Kombinasi yang seimbang antara kedua ekstrak dapat menghasilkan aktivitas antimikroba yang lebih tinggi. Hal ini mungkin terjadi karena adanya efek sinergis antara senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam kedua ekstrak tersebut. Seperti yang telah disebutkan, ekstrak etanol daun sirih hijau

mengandung senyawa flavonoid, tannin, alkaloid, dan saponin, sedangkan ekstrak etanol daun kelor mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan alkaloid. Masing-masing kandungan senyawa tersebut memiliki mekanisme antifungi yang berbeda dan bisa bekerja sinergis dalam menghambat fungi. Senyawa kimia pada metabolit sekunder yang dapat merusak dinding sel *C. albicans* diantaranya adalah triterpenoid dan tanin. Triterpenoid dalam aktivitas antifungi merusak membran sitoplasma fungi dengan meningkatkan permeabilitas membran plasma sehingga membran lisis dan menyebabkan kematian sel. Senyawa tanin dapat mengendapkan protein dinding sel, sehingga dinding sel mengalami kerusakan. Lalu substansi asing akan dengan mudahnya masuk menyebabkan kematian sel. Sedangkan senyawa saponin dapat menurunkan tegangan permukaan membran sterol yang berperan untuk menghambat *C. albicans*.<sup>40, 41</sup>

Penelitian ini menunjukkan bahwa kontrol negatif (etanol 96%) tidak menunjukkan adanya aktivitas antimikroba pada *S. aureus*, namun terdapat aktivitas penghambatan yang lemah terhadap *E. coli* dan *C. albicans*, sedangkan kontrol positif menunjukkan aktivitas penghambatan yang sangat kuat terhadap mikroba uji. Kontrol positif antibakteri yang digunakan adalah *ciprofloxacin* 50 ug/ml. Mekanisme kerja antibiotik *ciprofloxacin* yaitu menghambat sintesis asam nukleat dengan masuk kedalam sel bakteri melalui kanal protein (porins) pada membran luar bakteri secara intra seluler. Mengganggu kerja DNA girase (topoisomerase II) sehingga menghambat replikasi DNA bakteri selama pertumbuhan dan reproduksi bakteri.<sup>42</sup> Antifungi yang digunakan yaitu *ketokonazole* 2%. *Ketokonazole* memiliki mekanisme menghambat pertumbuhan fungi dengan merusak sistem enzim pada membran sel menggunakan metilsterol. Akumulasi 14-a-metilsterol disebabkan penghambatan enzim demethylase 14-a-sterol yang merusak biosintesis ergosterol untuk membran sitoplasma.<sup>41</sup>

Pada penelitian ini, kombinasi ekstrak etanol daun sirih dan daun kelor terbukti memiliki aktivitas penghambatan terhadap *S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans* dengan kategori penghambatan kuat dan sangat kuat. Oleh karena itu, kombinasi kedua ekstrak tersebut dapat digunakan sebagai salah satu alternatif untuk pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroba tersebut. Namun tentu saja penelitian lebih lanjut diperlukan seperti uji kualitatif kandungan senyawa pada kedua ekstrak tersebut dan juga uji dilusi untuk penentuan nilai MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*).

## 5. Simpulan

Berdasarkan uji fitokimia, ekstrak etanol daun sirih hijau (*P. betle*) mengandung flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin, namun tidak mengandung terpenoid dan ekstrak etanol daun kelor (*M. oleifera*) mengandung flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid, namun tidak mengandung alkaloid. Kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*P. betle*) dan daun kelor (*M. oleifera*) memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli* dan Fungi *C. albicans*. Hasil zona hambat tertinggi dari perlakuan kombinasi ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun kelor terhadap *S. aureus* dan *E. coli* yaitu terdapat pada perlakuan EF3 (kombinasi 75% ekstrak etanol daun sirih hijau dan 25% ekstrak etanol daun kelor) dengan nilai rata-rata zona hambat masing-masing 21,72 mm dan 20,98 mm, dan terhadap *C. albicans* pada perlakuan EF2 (kombinasi 50% ekstrak etanol daun sirih hijau dan 50% ekstrak etanol daun kelor) dengan rata-rata zona hambat 26,52 mm, dengan kategori penghambatan sangat kuat. Dari hasil penelitian ini dapat dilakukan penelitian lebih lanjut sehingga kombinasi ekstrak daun sirih dan kelor dapat digunakan sebagai salah satu alternatif sumber antimikroba baru untuk mengobati penyakit infeksi.

## Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa data yang dipublikasikan pada naskah ini tidak ada konflik kepentingan terhadap pihak manapun.

## Daftar Pustaka

1. Kurniawan DC. Daya Hambat Infusa Batang Bidara Laut (*Strychnos Ligustrina* Blume) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Univ Muhammadiyah Semarang. 2017.
2. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks G, Butel J, Ornston L. Mikrobiologi kedokteran. Jkt EGC. 2005.
3. Law RJ, Gur-Arie L, Rosenshine I, Finlay BB. In vitro and in vivo model systems for studying enteropathogenic *Escherichia coli* infections. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013;3(3):a009977.
4. Mutiawati VK. Pemeriksaan mikrobiologi pada *Candida albicans*. *J Kedokt Syiah Kuala*. 2016;16(1):53–63.
5. Pratiwi ST. Mikrobiologi farmasi. Jkt Erlangga. 2008;95:191.
6. Dima LR. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*. 2016;5(2).
7. Djauhariya E. Hernani. *Gulma Berkhasiat Obat*. Penebar Swadya. 2004;74–5.
8. Dalimartha S. Atlas tumbuhan obat Indonesia. Vol. 2. Niaga Swadaya. 2000.
9. Bustanussalam B, Apriasi D, Suhardi E, Jaenudin D. Efektivitas antibakteri ekstrak daun Sirih (*Piper betle* Linn) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Fitofarmaka J Ilm Farm*. 2015;5(2):58–64.
10. Kusuma MS, Susilorini TE, Surjowardojo P. Pengaruh

- lama dan suhu penyimpanan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* linn) dengan aquades terhadap daya hambat bakteri *Streptococcus agalactiae* penyebab mastitis pada sapi perah. *TERNAK Trop J Trop Anim Prod.* 2017;18(2):14–21.
11. Ma'rifah A. Efektekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Fak Kedokt Dan Ilmu Kesehat UIN Syarif Hidayatullah.* 2012.
  12. Jamelarin EM, Balinado LO. Evaluation of Antibacterial Activity of Crude Aqueous, Ethanolic and Methanolic Leaf Extracts of *Piper retrofractum* Vahl. and *Piper betle* L. *Asian J Biol Life Sci.* 2019;8(2):63.
  13. Bandaranayake B, Panagoda G, Abayasekara C. The effect of *Piper betle* against *Candida albicans* adherence to denture acrylic surfaces. *Ceylon J Sci.* 2018;47(2):153–8.
  14. Anwar F, Latif S, Ashraf M, Gilani AH. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytother Res Int J Devoted Pharmacol Toxicol Eval Nat Prod Deriv.* 2007;21(1):17–25.
  15. Malhotra SPK, Mandal TK. Phytochemical screening and in vitro antibacterial activity of *Moringa oleifera* (Lam.) leaf extract. *Arch Agric Environ Sci.* 2018;3(4):367–72.
  16. Devi G. Efektifitas Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Sebagai Antifungal Terhadap *Candida Albicans* Secara In Vitro. Universitas Brawijaya. 2014.
  17. Otieno JN, Hosea KMM, Lyaruu HV, Mahunnah RLA. Multi-plant or single-plant extracts, which is the most effective for local healing in Tanzania? *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2008;5(2):165–72.
  18. Rahmawati R. Interaksi ekstrak daun lidah buaya (*aloe vera* l.) dan daun sirih (*piper betle* l.) Terhadap daya hambat *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *J Edubio Trop.* 2014;2(1).
  19. Rejeki DS, Alfiraza EN, Sari FAA, Alquraisi RHA. Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *KUNIR J Farm Indones.* 2023;1(1):36–45.
  20. Tjitrosoepomo G. Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta), Gajah Mada University Press. Yogyakarta Edisi Kesebelas. 2013.
  21. Steenis CGGJ van, Eyma P. Flora untuk sekolah di Indonesia. Pradnya Paramita Jakarta. 1978.
  22. Kaveti B, Tan L, Sarnnia KT, Baig M. Antibacterial activity of *Piper betle* leaves. *Int J Pharm Teach Pract.* 2011;2(3):129–32.
  23. Muflihah M, Prabowo S. Kandungan metabolit sekunder dan kadar eugenol ekstrak etanol dan aquades daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan sirih hijau (*Piper betle* L.). In *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia 2017 Dec 31* (No. Back Issue, pp. 48-50).
  24. Putra I, Dharmayudha A, Sudimartini LM. Identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali. *Indones Med Veterinus.* 2016;5(5):464–73.
  25. Suprpta D. *Pestisida nabati: potensi dan prospek pengembangan.* Penerbit Pelawa Sari Denpasar. 2014.
  26. Kasturi Dengan Ketokonazol 2% Terhadap *Candida Albicans* in Vitro. *Berk Kedokt.* 2016;12(2):271–8.
  27. Dey A, De JN. Antifungal bryophytes: A possible role against human pathogens and in plant protection. *Res J Bot.* 2011;6(4):129.
  28. Effa RPR, Puetri NR. Pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* l.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* isolat dari penderita faringitis. *Sel.* 2015;2(2):57–65.
  29. Mukaromah AAR. Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Pada Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Tikes Insan Cendekia Med Jombang.* 2020.
  30. Utami PR, Rahman DA. Pemanfaatan Daun Kelor dalam mengatasi penyakit yang disebabkan Sinatasi Lingkungan. *Prosiding Seminar Nasional Pelestarian Lingkungan 2018.* 2018:586-590.
  31. Agustie AWD, Samsumaharto RA. Uji aktivitas antibakteri ekstrak maserasi daun kelor (*Moringa oleifera*, Lamk) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biomedika.* 2013;6(2):14–9.
  32. Bobbarala V. Antimicrobial agents. *BoD–Books on Demand;* 2012.
  33. Zahro L, Agustini R. Uji Efektivitas Antibakteri ekstrak kasar saponin jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *UNESA J Chem.* 2013;2(3):120–9.
  34. De León L, López M, Moujir L. Antibacterial properties of zeylasterone, a triterpenoid isolated from *Maytenus blepharodes*, against *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Res.* 2010;165(8):617–26.
  35. Khatima RK, Chotimah C, Eva AFZ. Uji Daya Hambat Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Pada Gigi Tiruan Akrilik. *Fak Kedokt Gigi Univ Muslim Indones Makassar.* 2017.
  36. Pangesti RD, Cahyono E, Kusumo E. Perbandingan daya antibakteri ekstrak dan minyak *Piper betle* L. terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Indones J Chem Sci.* 2017;6(3):270–8.
  37. Hermawan A, Hana W, Wiwiek T. Pengaruh ekstrak daun sirih (*piper betle* l.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *escherichia coli* dengan metode difusi disk. *Univ Erlangga.* 2007.
  38. Utami DER, Krismayanti L, Yahdi Y. Pengaruh Jenis Sirih dan Variasi Konsentrasi Ekstrak Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Biota Biol Dan Pendidik Biol.* 2015;8(2):142–56.
  39. Syahruramadhan M, Yanti NA, Darlian L. Aktivitas antijamur ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lamck.) dan daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap *Candida albicans* dan *Aspergillus flavus*. *J Ampibi.* 2016;1(2):7–12.
  40. Ojiako E. Phytochemical analysis and antimicrobial screening of *Moringa oleifera* leaves extract. *Int J Eng Sci.* 2014;3(3):32–5.
  41. Lestari PI. Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Teh Terhadap Pertumbuhan *Aspergillus flavus*. *Indones J Infect Dis.* 2017;1(01):29–38.
  42. Siddik MB, Budiarti LY, Edyson E. Perbandingan Efektivitas Antifungi Antara Ekstrak Metanol Kulit Batang Kasturi Dengan Ketokonazol 2% Terhadap *Candida Albicans* in Vitro. *Berkala kedokteran.* 2016;12(2):271-8.
  43. Pratiwi DS. Kajian uji resistensi dan sensitivitas antibiotik ceftriaxone dan ciprofloxacin pada penderita infeksi saluran kemih di RSUP Fatmawati. *UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.* 2013.