

**Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih Hitam (*Piper betle* var *nigra*)
Terhadap Zona Hambat Bakteri *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli***

***Concentration Effect of Black Betel Leaf Extract (*Piper betle* var *nigra*) on
the Inhibition Zone of *Salmonella typhi* and *Escherichia coli* Bacteria***

Mieta Widya Ramadhani^{1 *}, Faisal^{2 **}, Ahmad Syauqi³
Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang
Faculty of Mathematic and Natural Science Universitas of Islam Malang

ABSTRAK

Daun sirih hitam (*Piper betle* var. *nigra*) merupakan salah satu spesies dari suku Piperaceae, diketahui mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan steroid, yang memiliki potensi sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun sirih hitam (*Piper betle* var. *nigra*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga kali ulangan. Analisis data dilakukan menggunakan ANOVA Faktorial dengan hasil *P-value* 0,123 pada *Salmonella typhi*, nilai $p < 0,05$. Hasil uji daya hambat bakteri *Escherichia coli* dengan tingkat konsentrasi dari 20%, 40%, 60%, 80%, 100%. Kontrol negatif menggunakan aquades dan kontrol positif dari Chloramphenicol 3%. Hasil rata – rata 7,38 mm , 6,50 mm, 0 mm dan 0 mm, 0 mm cm dan kontrol positif 28,9 mm. Kontrol negatif rata-rata zona hambat 0 mm. Pada uji *Salmonella typhi* menunjukkan bahwa dengan konsentrasi ekstrak dan kontrol positif secara berurutan rata - rata 5,05 mm, 9,00mm, 9,13 mm, 10,29 mm dan 8,53 mm dan kontrol positif 29,5 mm, kontrol negatif rata-rata zona hambat 0 cm.

Kata kunci: Antibakteri, Daun Sirih Hitam (*Piper betle* var. *nigra*)., *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*

ABSTRACT

Black betel leaf (Piper betle var. nigra) is one of the species of the Piperaceae tribe, known to contain active compounds such as flavonoids, alkaloids, tannins, saponins, and steroids, which have potential as antimicrobials. This study aims to determine the ability of black betel leaf extract (Piper betle var. nigra) to inhibit the growth of Salmonella typhi and Escherichia coli bacteria in vitro using the well diffusion method. This study employed an experimental method with a completely randomised design (CRD) and three replicates. Data analysis performed using ANOVA Factorial with the results of P-value 0.123 on Salmonella typhi, p-value <0.05. Inhibition test results of Escherichia coli bacteria with concentration levels of 20%, 40%, 60%, 80%, and 100%. Negative control using distilled water and positive control of 3% Chloramphenicol. The average results were 7.38 mm, 6.50 mm, 0 mm, 0 mm, 0 mm, and a positive control of 28.9 mm. The negative control showed an average zone of inhibition of 0 mm. The Salmonella typhi test showed that the average inhibition zones for the extracts and the positive control, respectively, were 5.05 mm, 9.00 mm, 9.13 mm, 10.29 mm, and 8.53 mm. The positive control yielded an inhibition zone of 29.5 mm, and the negative control had an average inhibition zone of 0 cm.

Keywords: Antibacterial, black betel leaf (*Piper betle* var. *nigra*), *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*

*) Mieta Widya Ramadhani, Program studi Biologi FMIPA Universitas Islam Malang, Jl. MT Hariyono 193, Malang 65144, Hp/WA +6281252798834, Email : mitacan32@gmail.com

**) Faisal, S.Si, M.Kes, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Islam Malang, Jl. MT Hariyono 193, Malang 65144, HP/WA +6281334100179, Email : faisal_abd@unisma.ac.id

Pendahuluan

Infeksi terus menjadi masalah kesehatan utama di banyak negara, termasuk Indonesia. Bakteri, virus, bakteri, jamur, atau protozoa dapat menginfeksi tubuh. Infeksi ini dapat bersifat kronis dan memicu komplikasi serius. Salah satu infeksi yang umum dijumpai adalah diare, yang sering disebabkan oleh *Escherichia coli* [1]. Selain itu, *Salmonella typhi* juga merupakan agen penyebab utama infeksi saluran pencernaan, khususnya demam tifoid. Kedua bakteri ini tergolong patogen yang sering menimbulkan gejala mulai dari gangguan pencernaan ringan hingga kondisi berat yang berpotensi mengancam jiwa bila tidak ditangani secara tepat [2].

Menurut data WHO atau *World Health Organization* tahun 2020, diare menyebabkan kematian lebih dari 500.000 balita setiap tahun, sementara demam tifoid menjangkiti lebih dari 11 juta orang secara global. Di Indonesia, prevalensi tifoid masih tinggi, terutama di daerah dengan sanitasi buruk dan akses air bersih yang terbatas. Infeksi oleh *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* tetap menjadi isu kesehatan masyarakat yang signifikan, diperparah oleh meningkatnya resistensi terhadap antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat menjadi faktor utama munculnya strain bakteri resisten, yang mengurangi efektivitas terapi. CDC atau *Centers for Disease Control and Prevention* memperkirakan resistensi antimikroba dapat menyebabkan hingga 10 juta kematian per tahun pada 2050 jika tidak ditangani secara optimal.

Mikroorganisme patogen adalah jenis mikroba yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia [3]. Bakteri *Escherichia coli* dapat bermanfaat dalam jumlah normal, tetapi dapat menjadi patogen dan menyebabkan masalah kesehatan jika jumlahnya melebihi normal. *Escherichia coli* termasuk ke dalam kelompok flora normal yang bersifat oportunistik pada saluran pencernaan manusia [4]. Dalam menghadapi tantangan resistensi antibiotik tersebut, penelitian dan pengembangan bahan alam sebagai agen antibakteri mulai menjadi perhatian serius di dunia ilmiah. Tanaman herbal merupakan salah satu sumber daya alam yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan, termasuk daun sirih hitam (*Piper betle* var. *nigra*), salah satu varietas tanaman sirih. Daun sirih hitam mengandung banyak senyawa aktif, termasuk minyak atsiri, tannin, saponin, fenol, dan flavonoid, yang berfungsi sebagai antimikroba alami [5]. Dibandingkan dengan sirih hijau atau merah, pemanfaatan sirih hitam masih terbatas, meskipun kandungan fitokimianya diduga lebih tinggi.

Penelitian sebelumnya terkait daun sirih hitam sebagian besar berfokus pada identifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder dan aktivitas antifungi. Misalnya, penelitian Rija'I membahas tentang kandungan metabolit sekunder pada daun sirih hitam [6]. Sementara penelitian Ummah melakukan uji daya antifungi terhadap pertumbuhan *Candida albicans* [7]. Meskipun hasil-hasil tersebut menunjukkan potensi farmakologis dari sirih hitam, penelitian yang secara spesifik mengkaji pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap zona hambat *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* masih sangat terbatas. Padahal, data empiris melalui uji *in vitro* sangat dibutuhkan untuk menilai seberapa efektif ekstrak sirih hitam dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen tersebut. Oleh karena itu, pengkajian terhadap aktivitas antibakteri daun sirih hitam menjadi sangat relevan, mengingat kebutuhan akan alternatif pengobatan yang lebih aman, efektif, dan tidak menimbulkan resistensi dalam jangka panjang.

Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji secara *in vitro* pengaruh konsentrasi ekstrak etanol daun sirih hitam terhadap zona hambat bakteri *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas dan variasi konsentrasi ekstrak yang mampu memberikan efek antibakteri paling signifikan. Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam memperluas basis pengetahuan mengenai potensi sirih hitam sebagai agen antibakteri alami. Temuan dari penelitian ini tidak hanya penting dalam mendukung pengembangan terapi herbal sebagai alternatif dari antibiotik sintetis, tetapi juga dapat menjadi dasar bagi pengembangan produk obat tradisional atau sediaan farmasi berbasis tanaman lokal. Lebih jauh lagi, penelitian ini dapat berperan dalam mendukung kemandirian bangsa dalam bidang pengembangan obat-obatan berbasis sumber daya alam Indonesia yang melimpah dan memiliki nilai bioaktif yang tinggi.

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Dalam penelitian ini, bahan-bahan yang digunakan termasuk media perlakuan uji antibakteri *Muller Hinton Agar* (MHA), suspensi bakteri menggunakan *Muller Hinton Broth* (MHB), Etanol 96%,

Aquades, Chloramphenicol, dan daun sirih hitam (*Piper betle* var. *nigra*), *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*.

Alat yang digunakan sebagai berikut: tabung reaksi untuk wadah media *Natrium Broth*, shaker laboratorium untuk menghomogen simplisia, bunsen untuk mensterilkan area cawan, ose digunakan untuk inokulasi bakteri, spatula mengaduk simplisia di tabung maserasi, cawan petri, neraca analitik untuk menimbang simplisia, autoklaf mensterilkan alat, erlenmeyer untuk menyimpan hasil ekstrak maserasi, *rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarut melalui proses penguapan, kamera untuk mendokumentasi setiap penelitian, *cork borer*, pinset, korek api, jangka sorong.

Metode

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan tiga kali ulangan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Kelompok perlakuan adalah ekstrak etanol daun sirih hitam dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, 0% adalah kontrol negatif, kontrol positif kategori antibiotik yaitu Chloramphenicol 3%. Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran, metode sumuran dilakukan dengan membuat lubang pada media yang telah mengandung bakteri dengan menggunakan *yellow tip* dengan ukuran pada alat *cork borer*, lima lubang per plat. Setelah itu, disukkan larutan ekstrak ke dalam lubang dengan konsentrasi yang berbeda. Biarkan cawan petri selama sepuluh menit untuk proses difusi. Setelah itu, diinkubasi selama dua puluh empat jam pada suhu 37°C.

Cara Kerja

Pembuatan Ekstrak Sirih Hitam (*Piper betle* var. *nigra*)

Daun sirih yang telah menjadi simplisia ditimbang sebanyak 100gram lalu ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 1L hingga simplisia terendam seluruhnya dengan perbandingan 1:10 selama 5×24 jam terlindung dari cahaya dan dilakukan pengadukan setiap 24 jam selama 2 jam menggunakan shaker. Setelah proses maserasi, kertas saring digunakan untuk menyaring dan mendapatkan maserat. Untuk menghasilkan ekstrak daun sirih hitam yang kental, maserat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 70–85 °C. Kemudian larutan stok ini diencerkan dengan etanol untuk mendapatkan konsentrasi yang diinginkan yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%

Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan dengan cara menanam bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* ke dalam cawan petri yang berisi media NA dan EMBA steril. Selanjutnya, isolat bakteri didistribusikan dengan cara streak pada medium yang tersedia di dalam LAF untuk mencegah kontaminasi. Hasil peremajaan kemudian diinkubasi di dalam inkubator selama 24 hingga 48 jam [8].

Pengujian Antibakteri Dengan Metode Sumuran

Media agar yang telah ditanami bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* kemudian diberi lubang dengan menggunakan *cork borer*. Setelah itu dimasukkan stok larutan ekstrak daun sirih hitam menggunakan mikropipet kedalam setiap lubang di media MHA. Selama 24 jam, media diinkubasi pada suhu 37°C. area zona hambat yang terbentuk di sekitar lubang diamati. Pengukuran zona bening (zona hambat pertumbuhan bakteri) dilakukan menggunakan jangka sorong dengan satu milimeter (mm). Zona bening diukur dengan menarik garis lurus dari tepi lubang ke batas zona hambat secara vertikal dan horizontal.

Hasil dan Diskusi

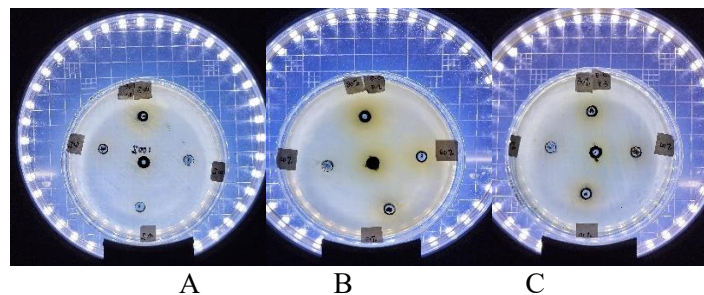
Hasil Penelitian

Hasil uji daya hambat bakteri *Escherichia coli* terhadap ekstrak daun sirih hitam menunjukkan bahwa senyawa di dalam daun sirih dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi rendah. Munculnya zona bening pada konsentrasi 20% dan 40% menunjukkan kemampuan senyawa tersebut untuk menghambat bakteri *Escherichia coli*. Zona bening yang terbentuk pada tiap konsentrasi tidak jauh berbeda zona bening pada perlakuan kontrol yaitu antibiotik Chloramfenikol.

Tabel 1. Rata-rata Pengukuran Diameter Zona Hambat pada Bakteri *Escherichia coli*

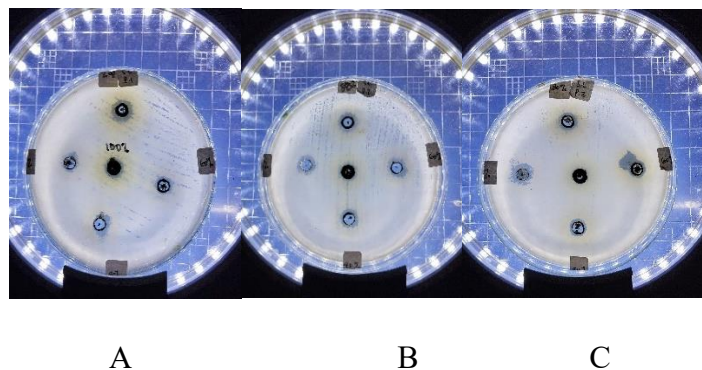
Perlakuan Konsentrasi Ekstrak (%)	Rerata (mm)
(-)	0
(+)	29,5
20	7,38
40	6,50
60	0
80	0
100	0

Hasil dari uji aktivitas ekstrak daun sirih pada bakteri *Escherichia coli* dalam menghasilkan senyawa antibakteri, ditandai dengan adanya zona hambat disekitar sumuran yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Hitam Terhadap Bakteri *Escherichia coli*
(A.)pengulangan I (B.)pengulangan II (C.) pengulangan III

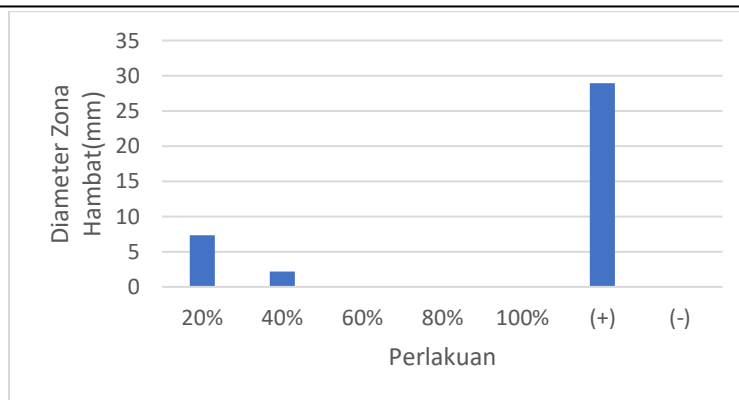
Hasil dari uji aktivitas ekstrak daun sirih pada *Salmonella typhi* dalam menghasilkan senyawa antibakteri, ditandai dengan terbentuknya zona hambat disekitar sumuran yang ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Hitam pada Bakteri *Salmonella typhi*
(A.)pengulangan I (B.) pengulangan II (C.) pengulangan III

Daya hambat bakteri yang telah diketahui pada inkubasi 1x24 jam dapat dilihat pada diagram batang diatas. Pada penelitian ini mendapatkan hasil bahwa ekstrak daun sirih pada konsentrasi 20% dan 40% memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri *Escherichia coli* dengan adanya zona hambat di sekitar sumuran, tetapi pada konsentrasi 60%, 80%, dan 100% tidak terdapat zona hambat.

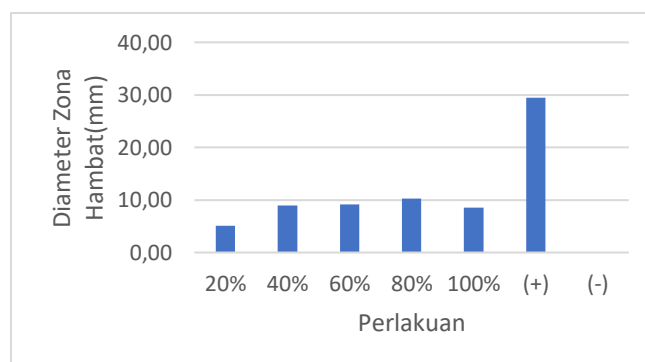
Hasil penelitian terhadap *Salmonella typhi* menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih memiliki sifat antibakteri yang berbeda dari *Escherichia coli*, pada *Salmonella typhi* terdapat zona hambat pada semua konsentrasi, sebagaimana ditunjukkan oleh pembentukan zona hambat yang serupa pada berbagai konsentrasi. Efektivitas ekstrak daun sirih ini sebanding dengan antibiotik Chloramfenikol yang digunakan sebagai kontrol positif.



Gambar 3. Diameter Zona Hambat *Escherichia coli*

Tabel 2. Rata-rata Pengukuran Diameter Zona Hambat pada Bakteri *Salmonella typhi*

Konsentrasi Perlakuan Ekstrak (%)	Rerata (mm)
(-)	0
(+)	28,9
20	5,05
40	9,00
60	9,13
80	10,29
100	8,53

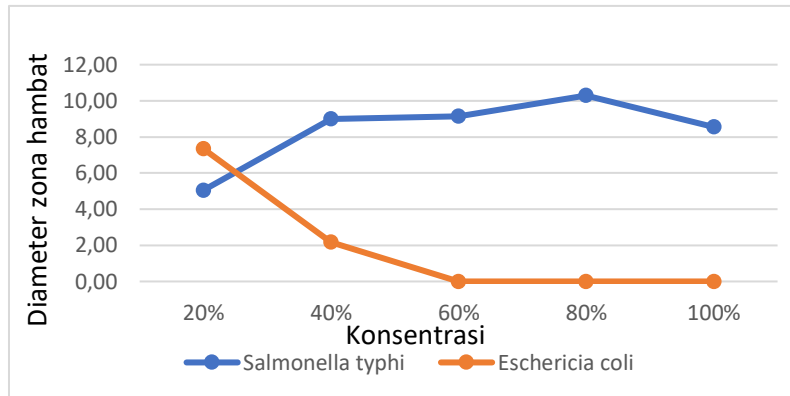


Gambar 4. Diameter Zona Hambat *Salmonella typhi*

Tabel 3. Hasil Diameter Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*

Faktor	Diameter Zona Hambat (mm)					
	<i>Escherichia coli</i>			<i>Salmonella typhi</i>		
Perlakuan (%)	U1	U2	U3	U1	U2	U3
20	6,75	0	8	9,25	0,1	5,8
40	6,5	0	0	9,5	9,38	8,13
60	0	0	0	9,25	9,5	8,63
80	0	0	0	11,5	9,63	9,75
100	0	0	0	9,88	8,5	7,25
(-)	0	0	0	0	0	0
(+)	28,9	0	0	29,5	0	0

Hasil uji antibakteri ditunjukkan dalam diagram di bawah: konsentrasi 80% memiliki diameter 10,29 mm dan konsentrasi 20% memiliki diameter 5,05 mm, penurunan terjadi pada konsentrasi 100%.



Gambar 5. Perbandingan Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*

Pada grafik diatas menggambarkan pengujian antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* dan Bakteri *Salmonella typhi*terdapat perbedaan yang signifikan dan berbanding terbalik. Ekstrak daun sirih hitam efektif sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi*, dengan efektivitas tertinggi pada konsentrasi 80%. Aktivitas antibakteri pada *Escherichia coli* hanya terlihat pada konsentrasi rendah 20% dan 40%, namun menurun drastis seiring peningkatan konsentrasi.

Tabel 4. Hasil Uji Normalitas Bakteri *Salmonella typhi*

	Konsentrasi				
	20%	40%	60%	80%	100%
N	3	3	3	3	3
Shapiro-Wilk W	0,9802	0,8176	0,9423	0,7998	0,9992
p(normal)	0,7307	0,1572	0,5367	0,1139	0,9475

Variabel diameter zona hambat diketahui melalui analisis pendahuluan untuk uji normalitas. Berdasarkan uji normalitas didapatkan hasil pada tabel 3, ata yang didapat dari uji normalitas yang berpacu pada Shapiro-Wilk W termasuk dalam kategori data terdistribusi normal. Uji homogenitas *Levene* menemukan nilai signifikan 0,04084, yang menunjukkan bahwa nilai $p < 0,05$, yang menunjukkan bahwa data tidak homogen.

Berdasarkan hasil uji ANOVA satu arah, diperoleh nilai F sebesar 2,360078 dengan nilai signifikansi (*p-value*) sebesar 0,12346. Diketahui nilai $p < 0,05$, maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok.

Tabel 5. Hasil Uji ANOVA Bakteri *Salmonella typhi*

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	47,11975	4	11,77994	2,360078	0,12346	3,47805
Within Groups	49,91333	10	4,991333			
Total	97,03308	14				

Pembahasan

Hasil uji daya hambat antibakteri *Escherichia coli* menunjukkan zona bening hanya pada konsentrasi 20% dan 40%, dengan diameter zona hambat 7,38 mm dan 6,50 mm, masing-masing menunjukkan konsentrasi 20% dan 40% dalam kategori sedang, masing-masing. Pada konsentrasi 60%, 80% dan 100% tidak terdapat zona hambat yang terbentuk, ekstrak tidak efektif lagi menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* pada konsentrasi tersebut. Hal ini menunjukkan pada konsentrasi tersebut tergolong dalam kategori lemah.

Senyawa pada daun sirih hitam dinyatakan cukup potensial terhadap aktivitas *Escherichia coli* hanya pada konsentrasi kecil, hal ini juga sesuai dengan penelitian Herdiana hasil dari perbandingan aktivitas antibakteri antara sirih hijau, sirih merah dan sirih hitam untuk ekstrak konsentrasi 15% sirih hijau yaitu 8,69 mm kategori kuat, sirih merah 2,71 mm kategori lemah, sirih hitam 1,8 mm kategori lemah [9]. Penelitian lain dilakukan oleh Salsabila pada pengamatan antibakteri daun sirih pada *Escherichia coli* diperoleh hasil tidak adanya daerah bening yang terbentuk disekeliling sumuran yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri [10]. Zona hambat yang terlihat mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya konsentrasi, Ekstrak yang memiliki aktivitas tinggi yang dikenal sebagai efektif sebagai antibakteri memiliki potensi yang lebih besar sebagai antibakteri seiring dengan semakin kecilnya konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri [11].

Fraksi alkaloid yang berhasil diisolasi tidak menunjukkan efektivitas terhadap bakteri Gram negatif. Hal ini disebabkan oleh keberadaan membran luar pada bakteri Gram negatif yang berfungsi sebagai penghalang terhadap penetrasi berbagai molekul antibakteri. Selain itu, ruang periplasma pada bakteri ini mengandung enzim yang mampu merombak molekul asing, sehingga mengganggu proses sintesis protein pada dinding sel *Escherichia coli* [12]. Selain itu faktor yang memengaruhi efektivitas antibakteri salah satunya kandungan minyak atsiri pada daun sirih hitam (*Piper betle* var. *nigra*). Minyak atsiri dari daun sirih hitam (*Piper betle* var. *nigra*) telah lama dikenal memiliki aktivitas antibakteri. Namun, efektivitasnya terhadap bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli* cenderung lebih rendah dibandingkan terhadap bakteri Gram positif. Hal ini disebabkan oleh adanya empat komponen utama yang diduga berperan dalam aktivitas antibakteri, yaitu kavibetol, kariofilen, patchouli alkohol, dan 4-alil-1,2-diasetoksibenzena. Meskipun senyawa-senyawa ini memiliki aktivitas antibakteri, efektivitasnya terhadap bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli* terbatas [13].

Berdasarkan hasil uji daya hambat antibakteri pada daun sirih terhadap bakteri *Salmonella typhi* menunjukkan adanya zona bening pada cawan menandakan bahwa ekstrak daun sirih hitam memiliki aktivitas antibakteri pada *Salmonella typhi*. Pada konsentrasi 20% rerata yang dihasilkan adalah 5,05 mm, menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20% termasuk kategori sedang. Pada konsentrasi 40% rerata yang dihasilkan adalah 9,00 mm, ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 40% juga termasuk kategori sedang. Pada konsentrasi 60% rerata yang dihasilkan adalah 9,13 mm, ini juga menunjukkan bahwa pada konsentrasi 60% termasuk kategori sedang. Pada konsentrasi 80% rerata yang dihasilkan adalah 10,29 mm, ini juga menunjukkan bahwa pada konsentrasi 80% termasuk kategori kuat, kemudian 8,53 cm rerata pada konsentrasi 100% termasuk kategori sedang.

Berdasarkan gambar 5, dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan hasil uji antibakteri pada *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*. Perbedaan diameter zona hambat antibakteri ekstrak daun sirih hitam (*Piper betle* var. *nigra*) terhadap *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* kemungkinan dapat disebabkan oleh variasi sensitivitas masing-masing bakteri terhadap senyawa aktif dalam ekstrak tersebut. Meskipun keduanya termasuk bakteri Gram negatif, komposisi dan kompleksitas lipopolisakarida (LPS) pada membran luar dapat mempengaruhi permeabilitas terhadap senyawa antibakteri. Lipopolisakarida (LPS) yang lebih kompleks dapat menghambat penetrasi senyawa aktif, sehingga efektivitas antibakteri menurun. *Escherichia coli* diketahui memiliki mekanisme pertahanan yang lebih kompleks, seperti Lipopolisakarida (LPS), pompa efluks dan enzim inaktivator, yang dapat mengurangi efektivitas senyawa antibakteri [14].

Pada bakteri *Salmonella typhi* terdapat penurunan pada konsentrasi tinggi. Pada konsentrasi tinggi, interaksi antar senyawa dapat bersifat antagonis, yaitu saling menghambat efektivitas kerja senyawa antibakteri. Pada konsentrasi tinggi, interaksi senyawa metabolit sekunder dapat menyebabkan efek antagonistik dan menurunkan aktivitas antibakteri [15]. Penurunan daya hambat pada konsentrasi tinggi diduga karena tingginya kadar senyawa yang mengendap dan tidak dapat berdifusi secara merata dalam media agar [16]. Penyebab lainnya disebabkan karena konsentrasi senyawa fenolik dan minyak atsiri yang sangat tinggi bisa bersifat iritatif atau sitotoksik terhadap lingkungan media uji. Hal ini bisa mengubah pH media atau merusak struktur permukaan agar, sehingga memengaruhi pembentukan zona

hambat yang ideal. Hal ini sesuai dengan penelitian Sari dan Anisa yang menjelaskan bahwa konsentrasi tinggi senyawa bioaktif dapat memberikan efek sitotoksik terhadap media atau menyebabkan perubahan lingkungan mikro yang menghambat difusi senyawa tersebut [17].

Berdasarkan analisis statistik, hasil uji normalitas menggunakan metode Shapiro-Wilk W menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Namun, hasil uji homogenitas dengan *Levene test* menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,04084, yang berarti $p < 0,05$ sehingga data dianggap tidak homogen. Sementara itu, hasil uji ANOVA satu arah yang ditampilkan pada Tabel 5 menunjukkan nilai F sebesar 2,360078 dengan *p-value* sebesar 0,12346. Karena nilai $p > 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian uji antibakteri dapat disimpulkan bahwa kemampuan ekstrak daun sirih hitam (*Piper betle* var. *nigra*) dalam menghambat pertumbuhan aktivitas antibakteri pada *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* dapat dilihat dengan terbentuknya zona bening di sekitaran sumuran. Variasi konsentrasi ekstrak daun sirih hitam (*Piper betle* var. *nigra*) berpengaruh pada hasil zona hambat yang terbentuk. Pada pemberian konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% menghasilkan rata-rata tertinggi pada bakteri *Escherichia coli* terdapat pada konsentrasi rendah 20% dengan rerata 7,38 mm. Sedangkan untuk *Salmonella typhi* terdapat pada konsentrasi tinggi 80% dengan rerata 10,29 mm. Ekstrak daun sirih hitam (*Piper betle* var. *nigra*) menghambat bakteri *Salmonella typhi* konsisten dalam semua konsentrasi yang diberikan. Sedangkan pada *Escherichia coli* memiliki pertahanan lebih kompleks seperti pompa efluks dan enzim inaktivator yang dapat mengurangi efektivitas antibakteri.

Daftar Pustaka

- [1] Fitri, W.N. Rahayu, D. (2018). Review: Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tumbuhan Melastomataceae Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *Farmaka*, 16(2). DOI: <https://doi.org/10.24198/jf.v16i2.17624>
- [2] WHO. (2020). *Global Status Report on Alcohol and Health*.
- [3] Novard, M. F. A., Suharti, N., Rasyid, R. (2019). Gambaran Bakteri Penyebab Infeksi Pada Anak Berdasarkan Jenis Spesimen dan Pola Resistensinya di Laboratorium RSUP Dr. M. Djamil Padang Tahun 2014-2016. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 8(2), 26–32. <https://doi.org/10.25077/jka.v8i2s.955>
- [4] Millah, Z., Syauqi, A. (2022). Pengaruh Ekstrak Biji dan Daun Robusta (*Coffea chanopthera*) dari Desa Kemiri, Jabung-Malang sebagai Penghambat Pertumbuhan *Escherichia coli*. *Paradigma: Jurnal Filsafat, Sains, Teknologi, dan Sosial Budaya*, 28(1), 44-51. <https://www.academia.edu/download/115103316/1115.pdf>
- [5] Noor, Q., D., Prasetya, F., Ardana, M. (2021). Formulasi Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Sirih Hitam (*Piper betle* var. *nigra*) Terhadap *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. e-ISSN: 2614- 4778.
- [6] Rija'I, A. J. (2015). Telaah Fitokimia Kandungan Metabolit Sekunder Dalam Ekstrak Daun Sirih Hitam (*Piper betle* L.) dan Uji Bioaktivitasnya Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach.). *Skripsi*. Universitas Islam Bandung. Bandung.
- [7] Ummah, Y. P. I. (2014). Uji Daya Antifungi Ekstrak Etanol Daun Sirih Hitam (*Piper betle* var. *nigra*) dan Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Penghambatan Pertumbuhan *Candida albicans* Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Universitas Negeri Malang. <http://repository.um.ac.id/id/eprint/26614>
- [8] Maarisit, I., Angkouw, E. D., Mangindaan, R. E. P., Rumampuk, N. D. C., Manoppo, H., Ginting, E. L. (2021). *Isolation and Antibacterial Activity Test of Seagrass Epiphytic Symbiotic Bacteria Thalassia hemprichii from Bahowo Waters, North Sulawesi*. *Jurnal Ilmiah PLATAX*, 9(1), 115. <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax/article/view/34320>
- [9] Herdiana, I., Nala, A. E., Syahlan, N., Melawati, N., Nurfitri, S. (2023). Potensi Aktivitas

- Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau, Sirih Merah dan Sirih Hitam Terhadap Bakteri *Propionibacterium acne*. *Jurnal Bahana Kesehatan Masyarakat*, 7(2), 52-57. DOI: <https://doi.org/10.35910/jbkm.v7i2.680>
- [10] Salsabila, S., Faisal, F. (2024). Uji Potensi Senyawa Antimikroba secara Difusi Sumuran dan Difusi *Paper Disk* pada Bakteri *Escherichia coli*. *Era Sains: Jurnal Penelitian Sains, Keteknikan dan Informatika*, 2(1), 23-29. <https://jurnal.eraliterasi.com/index.php/erasains/article/view/170>
- [11] Herdiana, I., Setyahadi, S., Partomuan, S. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia Dari Ekstrak Etil Asetat Daun Sirsak Dan Uji Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 31987. *Buletin Media Informasi*, 13(2), 16-22. DOI: <https://doi.org/10.37160/bmi.v13i2.98>
- [12] Moo, C. L., Yang, S. K., Osman, M. A., Yuswan, M. H., Loh, J. Y., Lim, W. M., Lai, K. S. (2020). *Antibacterial activity and mode of action of β -caryophyllene on Bacillus cereus*. *Polish Journal of Microbiology*, 69(1), 49–54. <https://doi.org/10.33073/pjm-2020-007>
- [13] Fitriana, E. (2010). Analisis Komponen Kimia Fraksi Minyak Atsiri Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Beberapa Jenis Bakteri Gram Negatif. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. <http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/handle/123456789/1213>
- [14] Nayaka, N. M. D. M. W., Sasadara, M. M. V., Sanjaya, D. A., Yuda, P. E. S. K., Dewi, N. L. K. A. A., Cahyaningsih, E., & Hartati, R. (2021). *Piper betle* (L): Recent review of *Antibacterial and Antifungal Properties, Safety Profiles, and Commercial Applications*. *Molecules*, 26(8), 2021. <https://doi.org/10.3390/molecules26082321>
- [15] Pratiwi, R. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 6(1), 1–6.
- [16] Wahyuni, S. (2017). Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak terhadap Bakteri *Salmonella typhi*. *Jurnal Biologi Edukasi*, 9(1), 65–72.
- [17] Sari, D.P., Anisah, R. (2021). Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun terhadap Zona Hambat Bakteri. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 8(2), 103–108.