



Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pinang (*Areca Catechu L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*

Dedi Ariansah Munthe¹, Ridwanto²

^{1,2} Universitas Muslim Nusantara AL-Washliyah

Corresponding Author : ✉ ariansahdedi5@gmail.com

ABSTRACT

Biji pinang mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan polifenol yang diketahui berkhasiat sebagai antibakteri. Beberapa penelitian menunjukkan ekstrak etanol biji pinang dapat menghambat bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*. Analisis pinang di Filipina menyatakan bahwa buah pinang mengandung senyawa bioaktif yaitu flavonoid di antaranya tanin, yang dapat menguatkan gigi. Diduga tanaman pinang mengandung sejumlah komponen utama senyawa berbasis selenium (Se) sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pinang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun pinang. Ekstrak didapat dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Uji aktivitas antibakteri Menggunakan Metode difusi cakram untuk menentukan aktivitas antibakteri. Hasil skrining fitokimia bahwa serbuk simplisia daun pinang mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid/steroid, saponin, tannin dan glikosida. Hasil pengujian aktivitas antibakteri pada konsentrasi 5% 10% 20% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan rata-rata zona hambat masing-masing yaitu zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 11,16 mm, 13,9 mm, 14,9 mm sedangkan bakteri *Escherichia coli* sebesar 12,4 mm, 14,03 mm, 17,3 mm. Ekstrak etanol daun pinang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* memiliki aktivitas daya hambat yang sangat kuat.

Kata Kunci

Ekstrak Daun Pinang (*Areca catechu L.*) Aktivitas Antibakteri, *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyebab paling utama tingginya angka kesakitan dan angka kematian terutama pada negara-negara berkembang seperti halnya Indonesia. Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan karena adanya mikroba patogen. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri. Salah satu mikroorganisme yang sering menyebabkan terjadinya infeksi yaitu bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi contohnya *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* (Radji, 2011).

Staphylococcus aureus merupakan salah satu contoh bakteri yang menyebabkan infeksi. Bakteri ini merupakan salah satu bakteri gram-positif

yang menjadi bakteri patogen utama untuk manusia. Hampir setiap orang akan mengalami beberapa jenis penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*, mulai dari keracunan makanan atau infeksi kulit yang ringan sampai infeksi yang berat (Jawetz dkk, 2013).

Pinang (*Areca catechu* L.) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang sudah dikenal masyarakat. Pinang (*Areca catechu* L.) banyak digunakan untuk penyembuhan inflamasi, diare, cacingan, perut kembung akibat gangguan pencernaan dan batuk berdahak (Dalimartha, 2009). Salah satu bahan alam yang dapat digunakan sebagai bahan pengganti untuk mencegah karies gigi adalah biji pinang (*Areca catechu* L.). Biji pinang mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan polifenol yang diketahui berkhasiat sebagai antibakteri. Beberapa penelitian menunjukkan ekstrak etanol biji pinang dapat menghambat bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherchia coli*, *Pseudomonas aeruginosae*, dan *Candida albicans*. (Sanarto dkk, 2011).

Analisis pinang di Filipina menyatakan bahwa buah pinang mengandung senyawa bioaktif yaitu flavonoid di antaranya tanin, yang dapat menguatkan gigi. Diduga tanaman pinang mengandung sejumlah komponen utama senyawa berbasis selenium (Se) sebagai antibakteri. Selenium merupakan elemen esensial bagi hewan dan manusia yang diperoleh dari makanannya seperti biji- bijian dan sayuran. Kandungan Se dalam tumbuhan merupakan potensi utama dimanfaatkan sebagai obat, misalnya pada tanaman pinang, salak, kopi, teh, dan coklat. Pinang sudah banyak digunakan sebagai obat tradisional antara lain untuk luka, pembersih gigi dan gusi (Bartholomew, 2010).

Berdasarkan penelitian tersebut ingin membuktikan mengenai aktivitas antibakteri pada daun pinang (*Areca catechu* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode penelitian eksperimental dimana variable bebas pada penelitian ini yaitu konsentrasi ekstrak etanol dan variabel terikat pada penelitian ini yaitu aktivitas antibakteri. Penelitian ini meliputi pengumpulan dan pengolahan sampel, karakterisasi simplisia, skrinig fitokimia, pembuatan ekstrak etanol daun pinang dan uji aktivitas antibakteri. Melaporkan daun pinang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Namun sejauh ini belum ada penelitian tentang uji aktivitas antimikroba dari daun pinang, sehingga hal ini menarik untuk dilakukan penelitian aktivitas antibakteri dari daun pinang informasi baru tentang aktivitas daun pinang terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Farmasi Jurusan Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah. Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari - Juni 2021

Alat

Alat yang digunakan adalah alat maserasi, tabung reaksi, alat-alat gelas, blender, oven listrik, neraca analitik, rotary evaporator, cawan porselin, objek glass, deck glass, autoklaf, penangas air, spatula, lemari pendingin, jarum ose, kertas saring, lampu bunsen, cawan petri, dan jangka sorong.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun pinang, air suling, etanol 96%, asam klorida 2N, asam klorida pekat, alfa naftol, timbal (II) asetat, benzena, isopropanol, besi (III) klorida 1%, bismuth (III) nitrat, asam nitrat pekat, merkuri (II) klorida, asam sulfat pekat, asam sulfat 2N, natrium hidroksida 2N, kalium iodide, barium klorida, asam asetat anhidrida, larutan fisiologi NaCl 0,9%, serbuk magnesium, amil alkohol, kloralhidrat, media Nutrient Agar (NA), media Manitol Salt Agar (MSA), media Eosin Metylen Blue (EMB), media Mueller Hilton Agar (MHA), suspensi standar Mc. Farland, biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Sampel

Dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya yang menempel dalam simplisia. Misalnya pada simplisia yang di buat dari suatu akar tanaman obat, bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar, yang telah rusak.

Metode

Penelitian dilakukan dengan metode penelitian eksperimental dimana variabel bebas pada penelitian ini yaitu konsentrasi ekstrak etanol dan variabel terikat pada penelitian ini yaitu aktifitas antibakteri. Penelitian ini meliputi pengumpulan dan pengolahan sampel, karakterisasi simplisia, skrining fitokimia, pembuatan ekstrak etanol daun pinang (*Areca catechu L.*) dan uji aktifitas antibakteri.

Tahapan/Jalannya Penelitian (Opsional)

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Pinang (*Areca catechu L.*)

Pembuatan ekstrak dilakukan secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%, sebanyak 500 gram serbuk simplisia (10 bagian) dimasukkan kedalam bejana, kemudian dimaserasi dengan 75 bagian (3750 ml) cairan penyari etanol lalu ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya matahari sambil diaduk-aduk sesekali.

Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia meliputi pemeriksaan makroskopik, pemeriksaan mikroskopik, penetapan kadar air dengan metode azeotropi, penetapan kadar sari larut dalam air, penetapan kadar sari larut dalam etanol, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut dalam asam.

Pemeriksaan makroskopis

Pemeriksaan makroskopis dilakukan dengan mengamati bentuk luar, ukuran, warna, bau, dan rasa dari daun pinang (*Areca catechu* L.).

Pemeriksaan mikroskopik

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan terhadap serbuk simplisia daun pinang. Serbuk simplisia daun pinang diletakkan di atas kaca objek yang telah ditetesi dengan larutan kloral hidrat dan ditutup dengan kaca penutup, selanjutnya diamati di bawah mikroskop.

Penetapan kadar air simplisia

Dilakukan dengan cara Azeotropi menggunakan toluene yang dijenuhkan dengan cara: sebanyak 200 ml toluen dimasukkan ke dalam labu alas bulat, lalu ditambahkan 2 ml air suling, kemudian alat dipasang dan dilakukan destilasi selama 2 jam sampai tetesan air berakhir. Destilasi dihentikan dan dibiarkan dingin selama ± 30 menit, kemudian volume air dalam tabung penerima dibaca sebagai volume awal dengan ketelitian 0,05 ml. Kemudian ke dalam labu tersebut dimasukkan 5 g serbuk simplisia yang telah ditimbang seksama, lalu dipanaskan hati-hati selama 15 menit, setelah toluen mendidih, kecepatan tetesan diatur 2 tetes untuk tiap detik sampai 4 tetes tiap detik.

Penetapan kadar sari larut dalam air

Sebanyak 5 g serbuk simplisia, dimaserasi selama 24 jam dalam 100 ml air-kloroform (2,5 ml kloroform dalam air suling sampai 1 liter) dalam labu bersumbat sambil dikocok sesekali selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam, lalu disaring.

Penetapan kadar sari larut dalam Etanol

Sebanyak 5 g serbuk simplisia, dimaserasi selama 24 jam dalam 100 ml etanol 96% dalam labu bersumbat sambil dikocok sesekali selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam. Kemudian disaring cepat untuk menghindari penguapan etanol. Sejumlah 20 ml filtrat diuapkan sampai kering dalam cawan penguap yang berdasar rata yang telah dipanaskan dan ditara. Sisa dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap.

Penetapan kadar abu total

Serbuk simplisia sebanyak 2 g dimasukkan dalam krus porselin yang telah dipijar dan ditara, kemudian diratakan. Krus dipijar perlahan-lahan sampai

arang habis, jika arang masih tidak dapat dihilangkan, ditambahkan air panas, saring melalui kertas saring bebas abu.

Penetapan kadar abu tidak larut asam

Abu yang diperoleh dalam penetapan kadar abu dididihkan dalam 25 ml asam klorida encer selama 5 menit, bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas, dipijarkan, kemudian didinginkan dan ditimbang sampai bobot tetap.

Larutan pereaksi Bouchart

Sebanyak 2 gram iodium dilarutkan dalam air iodium larut sempurna. Kemudian dilarutkan 4 gram kalium iodida dalam larutan iodium, lalu dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 100 ml (Depkes RI, 1995).

Larutan pereaksi Dragendorf

Sebanyak 8 gram bismuth nitrat dilarutkan dalam 20 ml asam nitrat pekat, kemudian 27, 2 gram iodida dilarutkan dalam 50 ml air. Kedua larutan dicampurkan dan diaduk, didiamkan sampai memisah sempurna. Diambil larutan jernih, diaduk dan dicukupkan sampai 100 ml (Depkes RI, 1995).

Larutan pereaksi Mayer

Sebanyak 1, 4 gram raksa (II) klorida dilarutkan dalam air sebanyak 60 ml, kemudian 5 gram kalium iodida dilarutkan dalam 10 ml air. Kedua larutan dicampurkan, diaduk dan dicukupkan sampai 100 ml (Depkes RI, 1995).

Larutan pereaksi Asam Nitrat 0,5 N

Sebanyak 31,5 ml asam nitrat pekat diencerkan dengan air suling secukupnya hingga volume 100 ml (Depkes RI, 1995).

Pereaksi Molish

Ditimbang sebanyak 3 gram alfa naftol dilarutkan dalam asam nitrat 0,5 N hingga diperoleh larutan 100 ml (Depkes RI, 1995).

Larutan pereaksi timbal (II) Asetat 0, 4 M

Ditimbang sebanyak 15, 17 gram timbal (II) asetat dilarutkan dalam air hingga 100 ml (Depkes RI, 1995).

Larutan pereaksi Besi (III) Klorida 1 %

Sebanyak 1 gram besi (III) klorida ditimbang, kemudian dilarutkan dalam air suling secukupnya hingga 100 ml (Depkes RI, 1995).

Larutan pereaksi asam klorida 2N

Sebanyak 58 ml larutan asam klorida pekat diencerkan dengan air suling hingga 100 ml (Depkes RI, 1995).

Larutan pereaksi Liebermann-Burchard

Sebanyak 5 ml asam sulfat pekat diencerkan dengan 50 ml etanol 95%, kedalam campuran tersebut dengan hati-hati ditambahkan 5 ml asam astat anhidrida, kemudian didinginkan (Depkes RI, 1995).

Larutan pereaksi natrium hidroksida 2N

Sebanyak 8 gram Kristal murni natrium hidroksida dilarutkan dalam air suling hingga volume 100 ml (Depkes RI, 1995).

Larutan pereaksi kloralhidrat Sebanyak 70 gram kloralhidrat ditimbang dan dilarutkan dalam 30 ml air suling (Depkes RI, 1995).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia serbuk dan ekstrak etanol daun pinang meliputi pemeriksaan senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid/triterpenoid, glikosida.

Pemeriksaan alkaloid

Daun pinang segar, serbuk simplisia dan ekstrak ditimbang masing-masing sebanyak 0,5 g kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2N dan 9 ml air suling, dipanaskan di atas penangas air selama 5 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat dipakai sebagai berikut :

Filtrat sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Mayer, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan menggumpal berwarna putih atau bening.

Filtrat sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Bouchardat, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat sampai hitam.

Filtrat sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Dragendrof, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna jingga. Alkaloid dianggap positif jika terjadi endapan atau kekeruhan sedikitnya 2 reaksi dari 3 percobaan diatas (Depkes RI, 1995).

Pemeriksaan flavonoid

Sebanyak 1 g daun pinang segar , serbuk simplisia dan ekstrak etanol kulit buah durian ditimbang kemudian ditambahkan 100 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas. Ke dalam 5 ml filtrat ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium, 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya warna merah pada lapisan amil alkohol (Depkes RI, 1995).

Pemeriksaan tanin

Sebanyak 0,5 g daun pinang segar, serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun pinang disari dengan 10 ml air suling lalu disaring filtratnya diencerkan dengan air sampai tidak berwarna. Larutan diambil sebanyak 2 ml dan ditambahkan 1-2 tetes pereaksi feri klorida jika warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Depkes RI, 1995).

Pemeriksaan saponin

Sebanyak 0,1 g daun pinang segar, serbuk simplisia dan ekstrak etanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 5 ml akuades. kemudian dipanaskan selama 5 menit. Setelah itu disaring dan filtratnya dikocok. Adanya saponin ditunjukkan dengan timbulnya busa setinggi 1-10 cmn selama ± 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin (Depkes RI, 1995).

Pemeriksaan Steroid/Terpenoid

Sebanyak 1 g daun pinang segar, serbuk simplisia dan ekstrak etanol dimaserasi dalam 20 ml n-heksan selama 2 jam kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 ml diuapkan dalam cawan penguap sampai kering. Ke dalam residu ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat (pereaksi Lieberman-Bouchardat). Terbentuknya warna ungu atau menunjukkan sampel positif terpenoid dan terbentuknya warna hijau menunjukkan sampel positif steroid (Depkes RI, 1995).

Pemeriksaan Glikosida

Sampel daun pinang segar, serbuk simplisia dan ekstrak etanol kulit buah durian masing - masing ditimbang sebanyak 3 gram, disari dengan 30 ml campuran etanol 96% dengan akuades (7:3) dan 10 ml asam sulfat 2N, direfluks selama 10 menit, didinginkan dan disaring. Pada 20 ml filtrat ditambahkan 25 ml filtrat ditambahkan 25 ml akuades dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok dan didiamkan selama 5 menit dan kemudian disaring.

Pemeriksaan Glikosida Antrakuinon Sampel daun pinang segar, simplisia dan ekstrak etanol masing- masing ditimbang sebanyak 0,2 gram, kemudian ditambahkan 10 ml benzen, 44 dikocok lalu didiamkan.

Sterilisasi Alat

Sterilisasi untuk alat-alat yang digunakan antara lain:

1. Alat-alat yang terbuat dari gelas dibungkus dengan kertas perkamen lalu disterilkan menggunakan oven pada suhu 170°C selama 1 jam sampai 2 jam.
2. Alat-alat lainnya seperti media, pipet mikro disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
3. Jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara dibakar pada lampu spirtus.
4. Sebelum mulai perlakuan daerah sekitar pengerjaan disemprot dengan Etanol 70 % dan dibiarkan selama 15 menit sebelum digunakan.
5. Meja dibersihkan dari debu dan dilap menggunakan cairan Etanol 70 % (Irianto, 2006).

Identifikasi bakteri

Untuk memastikan bakteri uji yang digunakan dilakukan identifikasi bakteri yaitu dengan perwarnaan Gram. Sedikit bakteri diambil dari stok kultur, diletakkan di atas objek glass. Kemudian di fiksasi diatas api bunsen, selanjutnya ditetesi dengan karbol fuchsin, ditunggu beberapa saat lalu ditetesi dengan gentianviolet, dibiarkan dan ditetesi lugol. Dicuci dengan alkohol asam dan dibilas dengan air mengalir, kemudian ditetesi safranin.

Pembuatan eosin methylene blue (EMB)

Komposisi :

Pepton	10 g
Lactose	5 g
Sucrose	5 g
Dipotassium phosphate	2 g
Eosin Y	0,4 g
Methylene Blue	0,065 g
Aquadest	1000 ml

Cara pembuatan :

Ditimbang 37,5 gram bubuk media EMB, dilarutkan dengan aquadest sebanyak 1 liter. Dipanaskan sampai mendidih untuk melarutkan media. Disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Ditunggu suhu sampai hangat-hangat (45°C-50°C), dihomogenkan, dituang kedalam cawan petri steril. Pembuatan media salt agar (MSA)

Komposisi :

Pepton	10 g
Manitol	10 g
Sodium clorida	75 g
Phenol red	0,0025 g
Agar	15 g
Lab-lemco powder	1,0 g
Aquadest	1000 ml

Cara pembuatan :

Sebanyak 40 g MSA dilarutkan dalam 1 liter aquadest lalu dimasukkan ke dalam erlenmayer, lalu media disterilkan di autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit (Sclegel, 1994). Pembuatan media mueller hinton agar (MHA)

Komposisi :

Beef extract	2,0 g
Acid hydrolysate of casein	17,5 g
Starch	1,5 g

Agar	17 g
Aquadest	1000 ml

Cara pembuatan :

Ditimbang MHA (38 gram/1000 ml) sebanyak 9,12 gram, dimasukkan ke dalam labu erlenmayer ditambahkan 60 ml aquadest diaduk sampai rata dan dipanaskan sampai terlarut sempurna. Media disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian dituangkan ke dalam cawan petri masing-masing 20 ml (Schlegel, 1994). Pembuatan Media Agar Miring Sebanyak 5 ml media nutrient agar yang telah steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditutup dengan kapas yang telah dilapisi kain kasa steril. Kemudian tabung yang berisi media nutrient agar tersebut di letakkan pada posisi miring membentuk sudut 45°C (Schlegel, 1994).

Pembuatan Suspensi Standar Mc. Farland

Suspensi standar yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan suspensi bakteri sama dengan 108 CFU/ml.

Komposisi :

Larutan Asam Sulfat	99,5 ml
Larutan Barium Klorida	0,5 ml

Cara pembuatan :

Kedua larutan dicampurkan ke dalam labu takar 100 ml steril, dikocok sampai homogeny dan ditutup. Apabila kekeruhan hasil suspensi bakteri sama dengan kekeruhan suspensi standar berarti konsentrasi 108 CFU/ml (Depkes RI, 1995).

Peremajaan Bakteri

Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* diambil dari stok kultur dengan menggunakan jarum ose steril, lalu ditanam pada Media Salt Agar (MSA) dengan cara penggoresan dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Diamati koloni yang tumbuh berwarna kuning keemasan menunjukkan bakteri *Staphylococcus aureus*. Selanjutnya diambil satu ose koloni yang terpisah spesifik dan telah positif *Staphylococcus aureus* ditanam pada agar NA, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Koloni yang tumbuh digunakan sebagai bakteri uji pada pengujian daya hambat (Depkes RI, 1995).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dari hasil inkubasi diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 10 ml larutan NaCl 0,9% steril, kemudian di homogenkan dengan vortex hingga diperoleh kekeruhan suspensi bakteri yang sama dengan kekeruhan standar Mc. Farland, ini berarti konsentrasi bakteri adalah 108 CFU/ml. Setelah itu lakukan pengenceran dengan memipet 0,1 ml biakan bakteri (108 CFU/ml)

dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 9,9 ml kemudian homogenkan dengan vortex, maka di peroleh suspensi bakteri dengan konsentrasi 106 CFU/ml (Panjaitan, 2017). Pembuatan Pengenceran Ekstrak Etanol Daun Pinang (*Areca catechu* L.) dengan Berbagai Konsentrasi Ditimbang ekstrak konsentrasi 20% dengan melarutkan 1 gram ekstrak kental dalam 5 ml DMSO, untuk konsentrasi 10% dilarutkan 1 ml dari ekstrak 20% dan di ad kan dalam 2 ml DMSO dan untuk konsentrasi 5% dilarutkan 0,5 ml dari ekstrak 20% di ad kan dalam 2 ml DMSO. Kloramfenikol sebagai kontrol positif. DMSO sebagai kontrol negatif.

Uji Aktivitas Antibakteri

Kedalam cawan petri dimasukkan 0,1 ml larutan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan dimasukkan sebanyak 20 ml media MHA kemudian digoyang dan dibiarkan sampai memadat. Selanjutnya cakram diinokulasi dengan ekstrak etanol daun pinang sebanyak 0,1 ml dengan berbagai konsentrasi, kemudian cakram diletakkan diatas permukaan media. Pra-inkubasi selama 15 menit, kemudian diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 18 – 24 jam. Selanjutnya diameter daerah hambat disekitar lubang pada daerah bening diukur dengan menggunakan jangka sorong. Pengujian dilakukan dengan cara yang sama terhadap bakteri *Escherichia coli*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Identifikasi Sampel

Identifikasi tumbuhan pada daun pinang dilakukan di laboratorium Herbarium Madanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara, Medan. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun pinang (*Areca catechu* L.) dari family *Arecaceae*.

Hasil Pengolahan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun pinang (*Areca catechu* L.) pada daun pinang ini berat basah daun pinang yang diperoleh setelah dicuci bersih 4500 g dan berat sampel setelah pengeringan 2500 g dan di peroleh serbuk simplisia adalah 500 g. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% diperoleh ekstrak kental 37, 6 g berwarna hijau kehitaman dengan bau yang khas.

Hasil Pemeriksaan Karakterisasi Simplisia

Hasil pemeriksaan karakterisasi serbuk daun pinang dapat dilihat pada

Tabel 1.**Hasil Pemeriksaan Karakterisasi Serbuk Simplisia Daun Pinang**

No	Parameter	Hasil Pemeriksaan	Syarat MMI 1989
1	Kadar Air	7,3%	≤10%
2	Kadar sari laut air	40%	≥30%
3	Kadar sari larut etanol	49,82%	≥40%
4	Kadar abu total	0,41%	≤2%
5	Kadar abu tidak larut asam	0,6%	≤1%

Berdasarkan tabel diatas pemeriksaan kadar air pada serbuk simplisia dilakukan untuk mengetahui kadar air yang terkandung didalam simplisia. Persyaratan kadar air simplisia umumnya tidak lebih dari 10% akan mudah ditumbuhi kapang dan bakteri (Depkes RI, 1995). Hasil pemeriksaan karakterisasi kadar air simplisia diperoleh 7,3%.

Pemeriksaan kadar abu total pada serbuk simplisia daun pinang dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa anorganik dalam simplisia dan diperoleh kadar abu total 0,41%. Hasil karakterisasi kadar abu yang tidak larut dalam asam dilakukan untuk mengetahui zat yang terkandung didalam sampel yang tahan terhadap asam dan diperoleh kadar abu tidak larut asam 0,6% (Depkes RI, 1955).

Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder senyawa fitokimia yang dikandung dari tumbuhan daun pinang. Hasil skrining fitokimia serbuk dan ekstrak daun pinang dengan melihat adanya golongan senyawa alkaloid, saponin, tannin, flavonoid, steroid/triterpenoid, dan glikosida yang menunjukkan adanya semua senyawa tersebut yang terlampir pada Tabel 2.

Tabel 2.**Hasil skrining fitokimia serbuk dan ekstrak daun pinang**

No	Pemeriksaan	Hasil Serbuk	Hasil Ekstrak
1	Alkoloid	+	+
2	Saponin	+	+
3	Tannin	+	+
4	Flavonoid	+	+
5	Steroid/Triterpenoid	+	+

6	Glikosida	+	+
---	-----------	---	---

Keterangan:

- + : mengandung zat yang diperiksa
- : tidak mengandung zat yang diperiksa

Berdasarkan tabel 4.2 di atas menunjukkan didalam serbuk simplisia dan ekstrak daun pinang mengandung senyawa kimia metabolit sekunder yaitu golongan alkaloid, saponin, tannin, flavonoid, steroid dan glikosida. Adanya senyawa alkaloid yang positif dibuktikan dengan adanya endapan berwarna coklat kehitaman pada penambahan pereaksi bouchardat, dan adanya endapan coklat kemerahan pada penambahan pereaksi dragendorf.

Hasil Uji Antibakteri

Hasil rata-rata zona hambat uji anti bakteri pada sampel ekstrak etanol daun pinang

Pembahasan Uji Bakteri

Pada penelitian ini pengujian aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli* menggunakan metode difusi agar yaitu kertas cakram. Dasar pemilihan metode ini adalah karena cepat, mudah dan sederhana dalam pengerjaannya. Kontrol negatif yang digunakan ialah larutan DMSO, karena DMSO tidak memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri. Dimetil sulfoksida (DMSO) adalah senyawa organosulfur, yang dapat melarutkan baik senyawa polar dan nonpolar dan larut dalam berbagai pelarut organik maupun air, selain itu DMSO tidak bersifat toksik sehingga tidak akan mengganggu pengamatan.

Kontrol positif yang digunakan adalah Kloramfenikol. Kloramfenikol bekerja menghambat sintesis protein kuman dengan cara berikatan pada Ribosom 50S sehingga menghambat pembentukan rantai peptida. Untuk menilai kekuatan zona hambat bakteri dikategorikan menurut Davis dan Stout dapat dilihat pada tabel 2.

Pada bakteri *Escherichia coli* zona hambat terbesar terbentuk pada konsentrasi 20%. Diameter zona bening rata-rata yang terbentuk disekitar kertas cakram adalah 5% (12,4 mm), 10%(14,03 mm) dan 20% (17,3 mm) memiliki respon hambatan yang juga dikategorikan kuat. Ekstrak daun pinang memiliki daya antibakteri terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat berupa zona bening di sekitar kertas cakram. Potensi antibakteri ekstrak daun pinang terhadap bakteri *Escherichia coli* lebih besar dibandingkan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada ekstrak daun pinang didapatkan zona hambat 14, 57 mm untuk bakteri *Escherichia coli* dan 13, 32 mm untuk bakteri

Staphylococcus aureus perbedaan tersebut terjadi karena kedua bakteri uji tersebut memiliki komposisi dinding sel yang berbeda bakteri gram positif dan gram negatif. Dari kedua bakteri zona hambat sama kuat dengan kontrol positif, pada bakteri *Staphylococcus aureus* zona bening yang terbentuk yaitu 30,1 mm, dan pada bakteri *Escherichia coli* zona bening yang terbentuk disekitar cakram yaitu 37,6. Masing-masing kontrol positif memiliki respon yang dikategorikan sangat kuat.

Menurut Radji (2011), hal ini disebabkan adanya perbedaan struktur dinding sel kedua jenis bakteri tersebut. Dinding sel bakteri Gram positif terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif terdiri atas satu atau lebih lapisan peptidoglikan yang tipis, sehingga dinding sel bakteri Gram negatif lebih rentan terhadap guncangan fisik, seperti pemberian antibiotik atau bahan antibakteri lainnya. Selain itu, perbedaan struktur dinding sel inilah yang menyebabkan kedua jenis bakteri tersebut memberikan respons terhadap pewarnaan Gram.

Beberapa senyawa aktif antibakteri yang terkandung dalam tanaman ini dan diduga mempunyai daya hambat antibakteri antara lain seperti flavonoid, tanin, dan triterpenoid. Flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, menthanol, butanol, dan aseton. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur. Senyawa-senyawa flavonoid umumnya bersifat antioksidan dan banyak yang telah digunakan sebagai salah satu komponen bahan baku obat-obatan. Senyawa flavonoid dan turunannya memiliki dua fungsi fisiologi tertentu, yaitu sebagai bahan kimia untuk mengatasi serangan penyakit (sebagai antibakteri) dan anti virus bagi tanaman. Mekanisme kerja Flavonoid dengan cara merusak membran sel bakteri pada bagian fosfolipid sehingga mengurangi permeabilitas yang mengakibatkan bakteri mengalami kerusakan. Senyawa tanin berperan sebagai antibakteri karena memiliki kemampuan membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen, jika terbentuk ikatan hidrogen antara tanin dengan protein maka protein akan terdenaturasi sehingga metabolisme bakteri menjadi terganggu.

Senyawa triterpenoid dapat menyebabkan terjadinya lisis pada sel bakteri dengan mengikat protein, lipid dan karbohidrat yang terdapat pada membran sel. Triterpenoid dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh mikroba dengan mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel, sehingga

membran atau dinding sel terbentuk tidak sempurna bahkan dapat tidak terbentuk.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun pinang memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. Masing-masing konsentrasi (5%, 10% dan 20%) ekstrak etanol daun pinang pada hasil pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* memiliki respon yang dikategorikan kuat, sedangkan pada kontrol positif (Kloramfenikol) memiliki respon yang dikategorikan sangat kuat.
3. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam daun pinang yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid/ triterpenoid dan glikosida.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Ibu Anny Sartika Daulay, S.Si., M.Si. Sebagai Kepala Laboratorium Terpadu Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah Medan beserta Laboran yang telah memberikan izin kepada penulis untuk menggunakan fasilitas laboratorium. Bapak dan Ibu staf pengajar Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah Medan yang telah mendidik dan membina penulis hingga dapat menyelesaikan pendidikan.membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Barthlomew, A. 2010. Kombucha tea therapy { online }. www. Positivehealth. Com. Html. {15 mei 2010 }.
- Bettelheim, K.A 2000. Role Of Non 0157 VTEC. J. Appl. Symp. Microbiol.
- Dalimartha, Setiawan, 2009. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia jilid 6. Pustaka Bunda, Grup Puspa Swara, Anggota Ikapi. Jakarta.
- Depkes RI. 1995. Materi Medika Indonesia. Edisi IV. Jakarta : Departemen Kesehatan RI. Hal. 7, 649
- Irianto, K., 2006. Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme, jilid 1, Yrama Widya, Bandung.
- Jawetz, E.dkk. 2013. Mikrobiologi Kedokteran Edisi XXV. Diterjemahkan oleh Radji, M. 2011. Mikrobiologi. Jakarta: Buku kedokteran : EGC
- Sanarto santoso, Kuni Ridh Andini dan Hirzi Asdyaksa, 2011. Efektivitas etanol Biji Pinang (*Areca catechu L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* secara in vitro, Fakultas Kedoktran Gigi Universitas

Brawijaya. Hal: 1-4

Sechgel, H. G. 1994. Mikrobiologi Umum. Penerjemah Tedjo Baksoro. Edisi IV.

Yogyakarta. Graha Ilmu

Silalahi, M. 2014. The ethnomedicine of the medicinal plants in sub-ethnic Batak, North Sumatra and the conservation perspective, [Dissertation].

Indonesia, Universitas Indonesia

Natalini, N.K., dan Siti Fatimah Syahid. 2007. Penggunaan tanaman kelapa (*Cocos nucifera*), pinang (*Areca catechu*) dan aren (*Arenga pinnata*) sebagai tanaman obat. Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Vol.13. No.2, Agustus 2007. Hal.15-16

Agoes, Azwa. 2010. Tanaman Obat Indonesia. Salemba Medika, Jakarta.

Ajizah, A., 2004. Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava L.* Jurnal. Bioscientiae Vol.1 No.1. pp: 8-31

Chamima, A. R. 2012. Inhibisi Ekstrak Biji Pinang (*Areca Catechu L.*) Terhadap Pelepasan Ion Fosfor Pada Proses Demineralisasi Gigi Yang Distimulasi *Streptococcus Mutans*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.