

MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI DENGAN EKSTRAK SIRIH (*Piper betle* Linn) DAN POTENSI PENGGUNAANNYA DALAM PENGAWETAN IKAN

Abdul Jabarsyah

*Jurusan Manajemen Sumberdaya Perikanan,
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Mulawarman,
Jln Pasir Balengkong Kampus Gunung Kelua Samarinda.*

ABSTRACT

The purpose of this work was to observe the effect the extracts of Piper betle Linn on the growth of bakteri. The work was conduted on September to October 2012. The extract of Piper betle Linn was 20 ppt, 40 ppt, 60 ppt, and 80 ppt. The bacteria used was (Vibrio sp). Bacteria cultured on Tryptic Soy Agar (TSA). The growth bacteria observed on the media and data were analyzed statistically. The Results of this work showed the differences of concentration of extract of piper betle leaf affected the growth of bacteria. The growth of bacteria was lower on 80 ppt < 60 ppt < 40 ppt and 20 ppt respectively. The best concertration the extract were between 80 ppt and 60 ppt base on the F_{test} and t_{test} (0.01 and 0.05). That the extract may useful for fish preservation under cool condition.

Keyword : *Piper betle leaf extract, bacteria.*

PENDAHULUAN

Ikan dikenal dengan produk makanan yang mudah busuk (edible goods) artinya ikan mudah mengalami kemunduran mutu terutama segera setelah mati. Proses kemunduran mutu ikan dimulai dari proses perombakan enzymatic dalam tahap proses rigomortis, kemudian berlanjut dengan perombakan struktur urat daging (Jabarsyah *et al.*, 1999). Proses selanjutan diikuti oleh pertumbuhan bakteri yang sangat cepat. Sebagaimana diketahui bahwa bakteri dapat tumbuh dan berkembang cepat dalam daging ikan pada suhu kamar. Agar ikan tetap segar ketika sampai pada tingkat konsumen, berbagai upaya telah banyak dilakukan antara lain penyimpanan dengan suhu dingin dan pembekuan, tujuannya adalah selain memperlambat proses perombakan enzim juga untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Aktifitas pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh

faktor lingkungan antara lain faktor abiotik yang terdiri dari faktor fisika dan kimia. Faktor fisika meliputi : temperatur, kebasahan, nilai osmotik radiasi. Sedangkan faktor kimia meliputi zat-zat kimia yang cocok sebagai medium untuk pertumbuhan bakteri, terutama medium yang bersifat isotonis terhadap isi sel bakteri (Dwijoseputra, 1990 dan Bauman *et al.*, 1994).

Saat ini berbagai jenis produk makanan olahan baik dari hasil laut maupun produk makanan lainnya yang dijual dalam berbagai bentuk dan kemasan. Penggunaan bahan pengawet dalam produk makanan olahan adalah hal yang lazim agar mempunyai daya simpan cukup lama. Namun beberapa produk makanan olahan sering menggunakan bahan-pahan pengawet yang berbahaya bagi kesehatan. Untuk itu perlu ada upaya untuk mencari bahan-bahan pengawet yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga

mempunyai daya simpan yang lama tetapi tidak berbahaya bagi kesehatan.

Sirih (*Piper betle* Linn) merupakan jenis tanaman yang memiliki banyak manfaat dalam kehidupan masyarakat Indonesia. Berbagai manfaat sirih antara lain sebagai antibiotic untuk obat luka. Selain itu ekstrak sirih dinilai cukup baik untuk menahan laju pertumbuhan bakteri dan tidak berbahaya bagi kesehatan. Dalam berbagai penelitian menunjukkan bahwa sirih dapat menahan laju pertumbuhan bakteri sehingga berpotensi untuk dapat digunakan sebagai bahan pengawet ikan (Jabarsyah *et al.*, 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk mendeterminasi potensi ekstrak sirih untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada ikan. Penelitian ini juga dilakukan uji coba terhadap daya simpan ikan segar yang diberi ekstrak sirih. Namun belum dilakukan terhadap uji rasa. Penelitian ini diharapkan ada uji lanjutan, sehingga dapat dikembangkan menjadi bahan alternative sebagai bahan pengawet ikan segar.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Tehnologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Borneo Tarakan dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Mulawarman. Penelitian dimulai dari Juli sampai bulan Oktober 2012. Sampel bakteri (*Vibrio sp*) diperoleh dari Laboraturum Mikrobiologi Universitas Mulawarman, kemudian dimurnikan dalam biakan TSB. Ekstrak sirih dibuat sedemikian rupa dengan wearing blender kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Cairan ekstrak sirih dibuat menjadi konsentrat sirih. Sebelum digunakan konsentrat sirih disimpan dalam lemari pendingin. Sebagai Pembanding dalam penelitian ini juga menggunakan ekstrak sirih yang diperoleh dari Balai Penelitian Pengobatan Jatim.

Bakteri *Vibrio sp* dibiakan dalam TSB selama 24 jam pada suhu 35 °C hingga mencapai pertumbuhan optimal (10^{-6}),

ambil 1 ml untuk disebarakan pada beberapa media TSA yang sudah disiapkan sebelumnya. Untuk membuat beberapa konsentrasi ekstrak sirih, konsentrat diencerkan dengan aquades. Ekstrak sirih dari tiap-tiap konsentrasi dipindahkan kedalam cawan petri yang telah disterilkan. Sebagai kontrol juga telah disiapkan larutan antibiotic dan larutan phosphate buffer saline (PBS). Untuk tujuan observasi kemampuan ekstrak sirih dalam menghambat pertumbuhan bakteri, konsentrasi ekstrak sirih yang digunakan adalah 20 ppt 40 ppt, 60 ppt dan 80 ppt, dan konsentrasi ini diharapkan tidak melebihi kadar batas hambat minimum. Aktivitas antimikroba dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisida bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi kadar hambat minimum (MIC) yaitu konsentrasi minimum yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terbentuknya daerah bening disekitar cakram disk (Dharma,1985).

Kertas saring yang telah disterilkan dimasukan kedalam ekstrak sirih dari tiap konsentrasi, larutan antibiotik, dan larutan phosphate buffer saline (PBS) dan dibiarkan beberapa saat hingga meresap. Kertas saring yang telah direndam dalam larutan tersebut diatas diletakan di atas biakan bakteri yang telah disiapkan sebelumnya, kemudian dibiakan dalam inkubator pada suhu 33°C selama 24 jam.

Faktor yang diamati adalah resistensi bakteri terhadap konsentrasi ekstrak sirih. Pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri dilakukan dengan melihat lapisan bening/cincin di sekitar kertas saring, dan panjang cicin yang terbentuk di sekitar kertas saring.

Menurut Jawetz (1984), diameter hambatan yang dibentuk merupakan ukuran kekuatan suatu zat antimikroba terhadap bakteri yang diperiksa. Daya zat antimikroba ini dapat diukur setelah di inkubasi selama 18 - 24 jam pada saat terbentuknya daerah batas dari perbedaan kepadatan pertumbuhan bakteri.

Data hasil observasi diuji secara statistik dengan analisa keragaman atau uji F, dengan tingkat kesalahan pada level 5% dan 1% pada F_{tabel} .

Untuk mengetahui konsentrasi yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri dilakukan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Untuk mengetahui daya simpan ikan segar yang diberi ekstrak sirih dilakukan hanya dalam tahap uji organoleptik, tetapi belum sampai pada tahap uji rasa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebagaimana telah dijelaskan di atas, untuk menentukan tingkat resistensi bakteri terhadap ekstrak sirih dilakukan pengukuran terhadap nilai penghambat pertumbuhannya dengan mengamati luas diameter ruang kosong pada media. Rerata nilai hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan hasil obsevasi selama 24 jam pada media percobaan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Diameter rerata daya hambat ekstrak sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Virio sp* selama 24 jam (mm)

No	Konsentrasi (ppt)	Rerata luasan hambatan (mm)
1	PBS (0)	0.3 ± 0.1
2	20	2.3 ± 0.2
3	40	2.8 ± 0,2
4	60	5.3 ± 0.2
5	80	5.8 ± 0.3

Berdasarkan hasil observasi dari beberapa perlakuan, bahwa dosis ekstrak sirih dengan konsentrat 20 ppt dan 40 ppt tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio sp*, sementara pada dosis dengan konsentrasi dari 40 ppt telah menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil yang lebih signifikan terjadi pada perlakuan dengan dosis 80 ppt. Hasil ini sejalan dengan hasil analisis sidik ragam yang menunjukkan bahwa ekstrak sirih sangat

berpengaruh terhadap daya hambat bakteri *Vibrio sp* berturut 80 ppt > 60 ppt > 40 dan 20 ppt. Sementara 40 dan 20 ppt hampir tidak terlihat perbedaannya dengan kontrol. Akan tetapi Bonang dan Koeswardono (1982) menemukan bahwa lebar daerah hambatan disekitar cakram disk tergantung pada daya serap ekstrak kedalam agar dan kepekaan bakteri terhadap ekstrak yang dipergunakan bukan berarti mengabaikan konsentrasi ekstrak.

Tabel 2. Analisis sidik ragam dengan tingkat kepercayaan 95 dan 99%

Satuan Kwadrat	Derajat Bebas	Jumlah kwadrat	Kwadrat Tengah	F.Hit	F. Tabel
					0.05 0.01
Perlakuan	4	130.00	42,61	14,89 **	2,67 4,43
Galat	8	20.33	2,86		
Total	11	150,33			

Sebagaimana terlihat pada Tabel 2 bahwa konsentrasi ekstrak yang berbeda memberikan hasil yang berbeda sangat nyata pula pada selang kepercayaan 99%. Luas diameter hambatan pertumbuhan bakteri yang dibentuk semakin meningkat

dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang diberikan. Perhitungan tingkat keragaman masing-masing perlakuan diketahui dari uji BNT pada taraf nyata (0,05) dan taraf sangat nyata (0,01) disajikan sebagaimana disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Daftar uji BNT diameter hambatan yang dibentuk oleh ekstrak sirih terhadap perkembangan *Vibrio Sp* (BNT 5% = 2,145 : BNT 1% = 2,977)

Konsentrasi	Kontrol	20 ppt	40 ppt	60 ppt	80 ppt	Keterangan
kontrol	-	1.3 ^{NS}	3.6 ^{**}	4.8 ^{**}	8.3 ^{**}	* beda nyata
20 ppt		-	0.6 ^{NS}	3.4 [*]	9.2 ^{**}	** beda sangat nyata
40 ppt			-	2.2 ^{NS}	9.8 ^{**}	NS tidak berbeda nyata
60 ppt				-	1.4 ^{NS}	
80 ppt					-	

Kemampuan zat antimikroba untuk menghambat pertumbuhan bakteri menjadi lebih besar pada konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi. Berdasarkan analisis sidik ragam sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 2 menunjukkan bahwa daya hambat ekstrak sirih lebih efektif pada konsentrasi antara 60 - 80 ppt. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa ekstrak sirih bersifat menghambat, karena dalam observasi ini pertumbuhan bakteri terhenti dan disekitar cakram disk terlihat lingkaran bening yang tidak ditumbuhi bakteri setelah di inkubasi selama 24 jam. Ekstrak sirih diduga bekerja mirip dengan cara kerja fenol yaitu dengan merusak sel bakteri. Senyawa fenol sebagai antimikroba meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan protein sel bakteri. Oleh Gan *et al.*, (1987), dijelaskan bahwa mekanisme senyawa fenol dan turunannya yang terdapat dalam sirih berfungsi sebagai antimikroba karena dapat mengubah tenggangan permukaan lapisan dinding sel (surface-active agents) sehingga merusak permeabilitas selektif membran sel mikroba yang berasal protein asam nukleat, nukleotida dan lain-lain. Kandungan senyawa triterpenoid, flavonoid dan tanin pada *Piper betle* Linn diduga berperan sebagai antimikroba yang mampu melawan beberapa bakteri Gram positif dan negatif (Robinson 1995 dan Newall *et al.*, 1996). Berbagai manfaat sirih antara lain sebagai antibiotic untuk obat luka Selain itu ekstrak

sirih dinilai cukup baik untuk menahan laju pertumbuhan bakteri dan tidak berbahaya bagi kesehatan (Jabarsyah *dkk.*, 2005). Dalam berbagai penelitian menunjukkan bahwa sirih dapat menahan laju pertumbuhan bakteri sehingga berpotensi untuk dapat digunakan sebagai bahan pengawet ikan (Hermawan *et al.*, 2007 dan Jabarsyah *et al.*, 2005). Diketahui bahwa komponen penyusun minyak atsiri daun sirih terdiri dari 82,8% senyawa fenol dan 18,2% senyawa aktif lainnya. Senyawa fenol yang merupakan komponen utama minyak atsiri (Pelczar and Reid, 1979). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan diduga kandungan fenolnya semakin meningkat sehingga ada dugaan bahwa daya hambat yang ditimbulkan akan semakin kuat. Dengan kata lain bahwa semakin tinggi kandungan fenol ekstrak kemampuannya sebagai antioksidan juga semakin meningkat. Senyawa-senyawa fenol mampu memutuskan ikatan silang (*cross linkage*) peptidoglikan dalam usahanya menerobos dinding sel mikroba (Ingram. 1981).

Jika dilihat dari hasil uji organoleptik dalam percobaan daya simpan ikan segar, maka dapat dilihat bahwa ikan segar yang disimpan dalam wadah pendingin telah diberi ekstrak sirih, ternyata lebih kelihatan segar jika dibandingkan dengan ikan yang disimpan dalam pendingin yang tidak diberi ekstrak daun sirih. Fenol yang terkandung dalam ekstrak

sirih diduga menghambat pertumbuhan mikroba yang terdapat dalam wadah penyimpanan. Pelczar dan Chan, 1981, menemukan bahwa fenol dapat mendenaturasi sel protein mikroba. Selain sel protein terdenaturasi, enzim yang menjadi katalisator semua aktivitas metabolisme sel mikroba yang juga ikut terdenaturasi, sehingga aktifitas metabolisme sel mikroba juga menjadi terhenti (Lawrence dan Block, 1968). Akan tetapi dalam penelitian yang dilaporkan oleh Jawetz *et al.*, (1986) bahwa tiap-tiap mikroba memiliki respon pertumbuhan yang berbeda-beda terhadap ekstrak sirih, karena tiap-tiap jenis mikroba memiliki lapisan dinding sel yang berbeda-beda.

Berdasarkan hasil observasi dan keterangan tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa ekstrak sirih (*Piper betle* Linn) dan menghambat laju pertumbuhan bakteri. Dengan demikian ekstrak sirih mempunyai kemungkinan untuk dapat digunakan sebagai bahan pengawet ikan segar dan produk-produk hasil perikanan.

DAFTAR PUSTAKA

- Dharma, AR 1985. *Tanaman Obat Tradisional Indonesia*. Balai Pustaka. Jakarta.
- Jabarsyah, A. Tsuchimoto. M., Kozuru. Y., Misima. T., Yada. O., and Tachibana. K. 1999. *The Influence of Pink Muscle in Ordinary Muscle of Fishes on Rigor Mortis Progress*. J. of Fisheries Sci. 63 : 472-477.
- Jawetz. E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 1984. *Edisi XVI. Microbiology Untuk Profesi Kesehatan*. Penertbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Jawetz. E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 1986. *Edisi XVI. Microbiology Untuk Kesehatan*. Penertbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Julia Reveny, 2011. *Antimicrobial Activity of the Extract and Fraction of Red Betel Leaf (Piper betle Linn.)*. Jurnal ILMU DASAR, Vol. 12 No. 1, 6-12.
- Ingram, L. O. 1981. *Mechanism of lysis of E. coli by ethanol and other chaotropic agents*. Journal of Bacteriology. 146 (1): 331-335.
- Lawrence, C.A. and S.S. Block. 1968. *Desinfection, Sterilization and Preservation*. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Newall, CA, Anderson LA, Phillipson JD. 1996. *Herbal Medicines A Guide for Health-care Professionals*. The Pharmaceutical Press. London.
- Gan, S. 1987. *Farmakologi dan Terapi*. Penerbit Gaya Baru. Jakarta..
- Pelczar, M. J. and R. D. Reid. 1979. *Microbiology*. M. C. Graw Hill Book Co. New York.
- Robinson T.1995. *Kandungan Organik TumbuhanTinggi*. Penerjemah: K. Padmawinata. Edisi IV. Bandung: ITB Press.