

Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu*) terhadap *S.aureus* dan *Ecoli in vitro*

Imam Masduki

Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran,
Universitas Gajah Mada, Yogyakarta

ABSTRAK

Biji pinang (*Areca catechu*) sebagai salah satu obat tradisional, di Jawa digunakan sebagai obat luka dari di Jambi sebagai obat kudis. Menurut Depkes (1983), biji pinang digunakan sebagai : obat cacung, obat luka, obat batuk, peluruh haid, dan memperkecil pupil. Biji pinang mengandung senyawa tanin yang mempunyai daya antiseptik.

Dengan menggunakan teknik difusi sumuran *Kirby Bauer* dan *Macro Broth Dilution* dilakukan uji daya antibakteri sediaan ekstrak dan infusa biji pinang terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Ekstrak dan infusa dibuat sesuai dengan yang termaktub dalam Farmakope Indonesia Sedangkan sediaan *S. aureus* dan *E. coli*. diambil dan galur murni koleksi Laboratorium Mikrobiologi FK UGM.

Pada uji antibakteri dengan teknik difusi sumuran *Kirby Bauer* didapatkan diameter hambatan rata-rata sediaan infusa 20 g% adalah 8,33 mm sedang sediaan ekstrak 6 mm terhadap *S.aureus*. Dilakukan uji t-tes dengan $\alpha = 0,05$, t tabel 2,132 sedangkan t hitung adalah 3,50 dengan nilai probabilitas 0,0124 saehingga dapat dikatakan terdapat perbedaan yang bermakna antara diameter hambatan sediaan infusa dan ekstrak biji pinang 20 g% terhadap *S. aureus*. Sedangkan terhadap *E. coli* tidak terjadi zone hambatan.

Pada uji dengan teknik *Macro Broth Dilution* diperoleh MIC rata-rata sediaan infusa adalah 1,25 g%, sedangkan sediaan ekstrak adalah 2,08 g% terhadap *S. aureus*. Dengan menggunakan kepercayaan 90% didapatkan perbedaan yang bermakna antara dua konsentrasi tersebut karena t tabel pada kepercayaan tersebut adalah 1,533 sedang t hitungnya 2,00 dengan nilai $P = 0,0581$. Dengan *E. coli* tidak didapat MICnya.

PENDAHULUAN

Telah dilakukan uji preklinik manfaat bahan alam untuk pengobatan cacung Nematoda usus dengan ekstrak biji pinang (*Areca catechu*)⁽¹⁾. Disebutkan pula bahwa biji digunakan oleh masyarakat sebagai obat cacung, untuk memperkecil pupil, obat luka, obat batuk, peluruh haid, peluruh liur dan pengelat⁽²⁾.

Buah pinang (*Areca catechu*) dapat memurnikan gusi dan gigi. Serbuknya dapat membuang wolf dan gigi⁽³⁾.

Di Jawa buah pinang (*Areca catechu*) ditumbuk halus digunakan untuk menyembuhkan luka, baik pada manusia maupun pada hewan⁽³⁾. Di Lampung, setelah dicampur dengan madu dan telur buah pinang digunakan untuk mengobati impotensi⁽⁴⁾. Di masyarakat Jambi pinang digunakan untuk pengobatan kudis⁽⁴⁾.

Biji pinang (*Areca catechu*) mengandung senyawa tanin, dan beberapa alkaloid seperti arekolin, guavasin, guakolin, arekain⁽⁵⁾. Larutan tanin dapat digunakan untuk proses penya-

makan. Tanin tidak hanya berefek untuk pengelat tapi juga digunakan untuk perlindungan karena mempunyai daya antiseptik. Tanin digunakan juga untuk pengobatan luka bakar dengan cara mempresipitasikan protein dan karena ada daya antibakterinya⁽⁶⁾.

Pinang (*Areca catechu*)

Termasuk divisi : Spermatophyta, sub divisi *Angiospermae*, kelas : *Monocolyledone*, bangsa : *Arcales*, suku : *Palmae*, arga : *Areca*, Jenis : *Areca catechu*.

Kandungan zat kimianya adalah sejumlah alkaloid turunan yuridin yaitu arekolin (*arecaidine methyl ester*), dan guvakoline (*guvacine methyl ester*). total alkaloid berkisar di atas 1,45%. Arekolin merupakan alkaloid yang paling aktif. *Areca* juga berisi tanin sekitar 15%⁽⁵⁾.

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif tidak bergerak, ditemukan satu-satu, berpasangan, berantai pendek atau bergerombol, tidak membentuk spora, tidak berkapsul^(7,8). Dinding sel mengandung dua komponen utama yaitu peptidoglikan dan asam teikhoar. Melakukan metabolisme secara aerob dan anerob, katalase positif, membentuk asam dan karbohidrat tanpa gas⁽⁷⁾.

Escherichia coli

Escherichia coli adalah bakteri batang pendek gram negatif dengan ukuran 1,1 - 1,5 um x 2- 6 um, kadang-kadang berbentuk oval bulat, tersusun tunggal atau berpasangan. Banyak galur mempunyai kapsul atau mikrokapsul. Dapat bersifat motil maupun non motil. Bersifat fakultatif aneorob yang mempunyai tipe metabolisme respirasi maupun fermentasi⁽⁹⁾.

E. coli tumbuh optimal pada suhu 37°C, membentuk koloni bulat konveks dengan pinggir yang nyata. Pada media Mc Conkey koloni berwarna merah jambu karena ada peragian laktosa^(8,10).

HIPOTESIS

- 1) Ekstrak biji pinang (*Areca catechu*) mampu menghambat atau membunuh kuman *Staphylococcus aureus*.
- 2) Ekstrak biji pinang (*Areca catechu*) mampu menghambat atau membunuh bakteri *Escherichia coli*.
- 3) Sediaan ekstrak dan infusa. mempunyai kemampuan yang berbeda dalam menghambat/membunuh kuman.

CARA PENELITIAN

1) Subyek yang diteliti

Ekstrak pinang (Areca catechu)

Ekstrak pinang diambil dari biji pinang yang tumbuh di halaman Gelanggang Mahasiswa Universitas Gajah Mada. Ekstrak pinang dibuat dengan cara menghancurkan biji yang sudah kering. Ke dalam 10 g serbuk kering ditambahkan air dingin sebanyak 45 ml, kemudian dikocok dalam erlenmeyer; setelah kira-kira serbuk larut; tuangkan ke dalam tabung yang steril; maka akan didapatkan konsentrasi ekstrak sebesar 20 g%. Tahap berikutnya, melakukan uji terhadap BHI agar, bila tumbuh spora

atau kuman, berarti zat tersebut tidak steril. Untuk itu dilakukan penyaringan dengan saringan bakteri yang terbuat dari selulosa aasetat. Kemudian dilakukan penanaman lagi pada media MH; jika hasilnya sudah steril, ekstrak siap digunakan.

Infusa pinang (Areca catechu)

Infus biji pinang dibuat hampir sama dengan pembuatan ekstrak. Bedanya ialah pada pembuatan infusa ini setelah serbuk dicampurkan dengan air dingin dilakukan pemanasan pada suhu 90°C selama 15 menit. Kemudian dilakukan penyaringan dan uji sterilitas dengan BHI seperti pada pembuatan ekstrak tersebut di atas.

Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli

Kuman yang dipakai pada penelitian ini terdiri dari dua kuman hasil isolasi galur murni dan bukan kuman yang multi resisten. Sediaan kuman ini merupakan kuman standar untuk tes antibakteri yang mewakili dua kelompok kuman yaitu kelompok kuman gram positif dengan wakilnya *S.aureus* dan gram negatif dengan wakilnya *E. coli*. *S. aureus* yang dipakai adalah *S. aureus* ATCC 25923 sedang *E. coli* yang dipakai adalah *E. coli* ATCC 29522. Sebelumnya, kedua kuman tersebut ditumbuhkan dulu pada media agar darah untuk *S. aureus* dan Mc. Conkey untuk *E. coli*. Dan koloni yang tumbuh dipilih koloni yang baik, kemudian kuman dalam BHI ini diambil, diencerkan dengan NaCl untuk memperoleh jumlah kuman yang sesuai dengan standar Brown yaitu 10⁸ cfu/ml. Selanjutnya kuman siap digunakan.

2) Cara kerja

a) Den gan difusi sumuran cara Kirby Bauer

Setelah kuman dioleskan pada media MH (*Muller Hinton Agar*) dengan kapas lidi, bahan uji yang terdiri dari infusa pinang 20 g% dan ekstrak 20 g% diteteskan sebanyak 50 ul pada media MH tersebut yang telah dibuat sumuran dengan diameter 5 mm. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan selanjutnya dilakukan pembacaan hasil.

b) Den gan teknik Macro Broth Dilution

Sebanyak 12 tabung 5 ml, masing-masing diisi akuades 1 ml kecuali tabung ke-1 dan ke-11. Dimasukkan pula 1 ml sediaan infusa 20 g% dan sediaan ekstrak 20 g% pada tabung ke- 1 dan 2 dan ke-11. Jadi sekarang tabung ke-1 berisi 1 ml bahan uji dan tabung ke-2 berisi 2 ml bahan uji dengan konsentrasi setengahnya. Ambil satu ml bahan uji pada tabung ke-2 dan dimasukkan ke dalam tabung ke-3, lalu tambahkan 1 ml akuades dan dari tabung ke-3, diambil 1 ml dimasukkan ke tabung ke-4. Demikian seterusnya, sehingga didapatkan pengenceran secara serial menjadi setengah konsentrasi mula-mula, tabung ke- 1 konsentrasinya 10 g%, tabung ke-2 konsentrasinya 5 g%, tabung ke-3 konsentrasinya 2,5 g% dan selanjutnya konsentrasi dibuat menjadi setengahnya dengan cara memindahkan 1 ml tabung ke-2 dalam tabung berikutnya. Tabung ke-12 hanya diisi akuades 1 ml saja. Kemudian kuman 10⁸ cfu/ml diencerkan pada media BHI sehingga diperoleh konsentrasi kuman dalam media BHI ini sebesar 10⁶ cfu/ml. Dan pengenceran ini diambil dan dimasukkan masing-masing 1 ml ke dalam tabung ke- 1 sampai ke- 12,

kecuali tabung ke- 11 yang hanya mengandung BHI tanpa kuman sebagai kontrol sterilitas bahan, sedang tabung ke- 12 mengandung kuman dalam akuades sebagai kontrol pertumbuhan kuman. Kemudian diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Jadi, tabung 1 berisi 1 ml bahan uji 20% + kuman, tabung 2 berisi 1 ml bahan uji 10% + kuman, tabung 3 berisi 1 ml bahan uji 5% + kuman, tabung 4 berisi 1 ml bahan uji 2,5% + kuman, dan seterusnya sampai tabung 10. Tabung 11 berisi media tanpa kuman dan tabung 12 berisi kuman tanpa bahan uji.

Pengukuran hasil penelitian

Daya antibakteri dan ekstrak pinang (*Areca catechu*) dengan teknik *Macro Broth Dilution* akan ditunjukkan tidak timbulnya kekeruhan pada kadar tertentu. Pengamatan dilakukan dengan mata biasa untuk menyatakan keruh tidaknya, kemudian ditentukan MICnya. Pengamatan pada metode Kirby Bauer adalah adanya zone hambatan yang dapat diukur dengan mistar kemudian dibandingkan dengan kontrol yang ada.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, pertama-tama dilakukan uji daya antibakteri dengan teknik difusi sumuran *Kirby Bauer*. Bahan uji yang dipakai terdiri dari dua bahan yaitu sediaan infusa 20 g% dan sediaan ekstrak 20 g%. Data yang diperoleh ditabulasi berdasarkan MIC (*Minimal Inhibition Concentration*) adalah sebagai berikut.

Tabel 1. Zone radikal *E. coli* dan *S. aureus* dengan kadar infusa 20 g % dan ekstrak

No.	zone radikal (mm) <i>S. aureus</i>		zone radikal (mm) <i>E. coli</i>	
	Infusa	Ekstrak	Infusa	Ekstrak
1.	9	7	0	0
2.	8	6	0	0
3.	8	5	0	0

Dari data di atas didapatkan rata-rata zone radikal sediaan infusa adalah 8,33 mm, sedang sediaan ekstrak adalah 6,00 mm. Dengan uji t-tes, dengan $\alpha = 0.05$ didapatkan t tabel adalah 2,132 sedang t perhitungan adalah 3,50, berarti t hitung terletak di dalam wilayah penolakan sehingga hipotesis nol ditolak. Jadi terdapat perbedaan zone radikal yang bermakna antara sediaan infusa 20 g% dan ekstrak 20 g% dengan kemungkinan kesalahan 0,0124 atau $p = 1,24\%$ terhadap *S. aureus*. ini berarti daya antibakteri yang diperoleh dengan cara infusa lebih kuat dari pada cara ekstrak. Hal demikian disebabkan karena ekstrak yang dibuat dengan cara infusa memungkinkan zat antibakteri dalam hal ini tanin akan lebih banyak yang terlarut dalam air, sehingga daya antibakterinya lebih kuat dibanding sediaan ekstrak pada kadar yang sama.

Sedangkan diameter zone radikal untuk *E. coli* adalah nol atau tidak terjadi hambatan. Jadi pertumbuhan *E. coli* tidak mampu dihambat oleh sediaan infusa maupun ekstrak 20 g%. Hal tersebut mungkin disebabkan karena ada perbedaan komponen dinding sel antara bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Komponen khusus dinding sel bakteri gram positif terdiri dari

asam teikhoat, asam teikhuronat dan polisakarida, sedangkan komponen khusus dinding sel bakteri gram negatif terdiri dari lipoprotein, selaput luaran lipopolisakarida. Selaput luar dinding sel bakteri gram negatif merupakan selaput ganda fosfolipid yang sebagian besar diganti dengan inolekul lipopolisakarida. Selaput luar mempunyai sifat permeabilitas terhadap zat terlarut bermolekul rendah sehingga zat aktif yang ada pada infusa maupun ekstrak pinang tidak dapat masuk ke dalam sel bakteri, akibatnya bakteri tidak dirusak atau dihambat pertumbuhannya⁽⁸⁾.

Pada tahap selanjutnya dilakukan uji daya hambat kuman dengan teknik *Macro Broth Dilution* untuk mencari MIC (*Minimal Inhibition Concentration*) dari masing-masing sediaan (**Tabel 2**).

Tabel 2. Zone radikal *E. coli* dan *S. aureus* dengan kadar infusa 20 g % dan ekstrak

No.	MIC (g%) <i>S. aureus</i>		MIC (G%) <i>E. coli</i>	
	Infusa	Ekstrak	Infusa	Ekstrak
1.	1,25	1,25	Tumbuh semua	Tumbuh semua
2.	1,25	2,5	Tumbuh semua	Tumbuh semua
3.	1,25	2,5	Tumbuh semua	Tumbuh semua

Dari data di atas didapatkan rata-rata MIC sediaan infusa adalah 1,25 g%, sedang rata-rata MIC sediaan ekstrak adalah 2,08 g%. Dengan uji t-tes yang menggunakan tingkat kepercayaan 90% didapatkan nilai probabilitas 0,0581. t tabel dengan kepercayaan tersebut adalah 1,533, sedang t hitung adalah 2,00. Dengan demikian t terletak di luar wilayah penerimaan, sehingga dapat dikatakan terdapat perbedaan yang bermakna antara MIC (*Minimal Inhibition Concentration*) sediaan infusa dan ekstrak biji pinang terhadap *S. aureus*. Hal ini berarti bahwa kadar minimal yang digunakan untuk menghambat *S. aureus* dengan sediaan infusa lebih kecil daripada ekstrak. Hal tersebut disebabkan karena pemanasan memungkinkan zat aktif dan biji pinang mudah larut.

Setelah dilakukan uji difusi antara sediaan infusa dan ekstrak dengan *E. coli* ternyata semua tabung tidak menunjukkan adanya kadar hambat minimal. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pertumbuhan *E. coli* tidak dapat dihambat oleh sediaan infusa maupun ekstrak biji pinang.

KESIMPULAN

- 1) Sediaan infusa dan ekstrak biji pinang mempunyai daya antibakteri terhadap *S. aureus*, sedang terhadap *E. coli* tidak.
- 2) Diameter hambatan rata-rata sediaan infusa biji pinang adalah 8,33 mm sedang ekstrak adalah 6 mm.
- 3) Terdapat perbedaan diameter zone radikal (zone hambatan) antara sediaan infusa dan sediaan ekstrak terhadap *S. aureus*.
- 4) Rata-rata MIC (*Minimal Inhibition Concentration*) adalah 1,25 g% pada sediaan infusa dan 2,08 g% pada sediaan ekstrak terhadap *S. aureus*.

SARAN

- 1) Perlu dilakukan penelitian lanjut tentang daya antibakteri

biji Pinang *in vivo* (pada hewan coba).

2) Perlu dilakukan penelitian lebih jauh mengenai mekanisme mengapa sediaan infusa dan ekstrak tidak mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*.

KEPUSTAKAAN

1. Sumarni. Pengujian Manfaat Bahan Alam untuk Pengobatan Cacing Nematoda Usus di Yogyakarta, *Phytomedica* 1991; 1(4).
2. Departemen Kesehatan RI. Tanaman Obat Indonesia, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan RI. Jakarta, 1985.
3. Kloppenberg J, Versteegh. Petunjuk Lengkap mengenai Tanam-tanaman Obat di Indonesia dan Khasiatnya sebagai Obat-obatan Tradisional, Yayasan Dana Syah Tua, Yogyakarta, 1983.
4. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Pengobatan Tradisional pada Masyarakat Pedesaan Daerah Lampung, Depdikbud Direktorat Sejarah dan Budaya Tradisional Proyek Inventaris dan Dokumentasi Kebudayaan daerah Lampung, Lampung, 1991.
5. Clause EP, Tyler EV, Brady RL. *Pharmacognosy*, 6 th ed, Philadelphia: Lea & Febiger, 1988
6. Robbers EJ, Brady RL, Tyler EV. *Pharmacognosy*, 9 th ed, Philadelphia: Lea & Febiger, 1988.
7. Bonang G, Koeswardono ES. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Grainedia, 1982.
8. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF. Butel iS, Orston LN, *Medical Mikrobiology*, 18th. ed. Lange, Appleton & Lange, San Mateo, California 1989.
9. Orskov F. *Indiana Materia Medica*, ed. Peshawar, 1955.
10. Cruickshank R, Dunguid JP, Mannion BP, Swain RHA. *Medical Microbiology : a Guide to the Laboratory Diagnosis and Control Infection*, ed 12, Vol. 1. The English Language Book Society and Churchill, Livingstone: 1973.
11. Pelczar MJ. Chan ECS, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Universitas Indonesia Press, Jakarta, 1988.



Hutan di Indonesia 1996
luas 143.000.000 hektar
Kalau penduduk
190.000.000 orang →
tiap 1 orang di Indonesia
kebagian oksigen segar
dari pohon hutan seluas:
→ 7.500 m²