

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% BIJI LADA HITAM (*PIPER NIGRUM L*) TERHADAP BAKTERI *ESCHERICHIA COLI*

Hasriyani^{a,*}, Arina Zulfa^b, Laksmi Anggun^c, Rika Murhayati^d
hasriyani@umkudus.ac.id

^aProgram Studi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Kudus, Indonesia
^{a,b,c}Jl.Ganesha No 1, Purwosari, Kudus, Indonesia

Abstrak

Biji lada hitam (*Piper nigrum L*) memiliki senyawa antimikroba yang berkhasiat untuk mengobati diare. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas ekstrak biji lada hitam dalam berbagai konsentrasi. Biji lada hitam diekstraksi dengan metode maserasi. Biji lada hitam dari ekstrak etanol 70% dibuat dengan seri konsentrasi 100 mg/mL; 50 mg/mL; 25 mg/mL; 12,5mg/mL; 6,25 mg/mL; 3,125 mg/mL; 1,565 mg/mL; 0,781 mg/mL; 0,3905 mg/mL; kontrol negatif, dan kontrol positif dan kotrimoksazol sebagai kontrol untuk perbandingan. Tes dilakukan pada bakteri *Escherichia coli* dalam pengenceran. Hasil tes antibakteri menunjukkan ekstrak biji lada hitam memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan konsentrasi bakterisida minimum (MBC) adalah 50 mg/mL. Aktivitas antibakteri ditemukan pada konsentrasi minimum 50 mg/mL karena ekstrak biji lada mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, minyak atsiri, dan piperin. Piperine adalah kandungan kimia yang paling tinggi.

Kata kunci: Biji lada hitam (*Piper nigrum L*), *Escherichia coli*, antibakteri, pengenceran.

Abstract

Seeds of black pepper (Piper nigrum L) had antimicrobial compounds was efficacious for treating diarrhea. This purpose of research to determine the activity of the of black pepper seed extract in varying concentrations. Seeds of black pepper extracted by maceration method. Black pepper seeds of 70% ethanol extract made with the series a concentration of 100 mg/mL; 50 mg/mL; 25 mg/mL; 12,5mg/mL; 6.25 mg/mL; 3.125 mg/mL; 1.565 mg/mL; 0.781 mg/mL; 0.3905 mg/mL; negative control, and positive control and cotrimoxazole as controls for comparison. Tests conducted on the bacteria Escherichia coli in dilution. Antibacterial test results showed black pepper seeds extract had an antibacterial activity against Escherichia coli to minimum bactericidal concentration (MBC) was 50 mg/mL. Antibacterial activity found on 50 mg/mL of minimum concentration because black pepper seeds extract contained flavonoids, alkaloids, tannins, saponins, essential oils, and piperine. Piperine was a chemical content that highest.

Keywords: *Seeds of black pepper (Piper nigrum L), Escherichia coli, antibacterial, dilution.*

I. PENDAHULUAN

Penggunaan obat tradisional telah menarik perhatian dan kepopulerannya di masyarakat kita semakin meningkat. Tumbuhan merupakan salah satu bahan obat tradisional yang sudah lama digunakan. Salah satunya adalah pemeliharaan kesehatan

tubuh dari infeksi. Penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri yang sangat mudah menular dari satu penderita ke penderita lain. Permasalahan infeksi dapat diatasi dengan menggunakan obat-obatan antibakteri dengan tujuan menghambat

pertumbuhan bakteri dan membunuh bakteri tersebut. Tanaman obat yang poten untuk

dikembangkan sebagai antibakteri diantaranya adalah biji lada hitam. Tanaman lada memiliki berbagai senyawa antimikroba seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, piperin, dan minyak atsiri. Tanaman lada memiliki khasiat yaitu untuk mengatasi diare. Penelitian sebelumnya menunjukkan Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanolik biji lada hitam (*Piper nigrum*) terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 1 mg/mL (Ganesh., *et al*, 2014).

Kandungan senyawa dan khasiat dari biji lada dapat digunakan untuk menghambat dan membunuh bakteri. Kandungan senyawa pada biji lada hitam memiliki kandungan saponin yang mekanisme kerjanya menurunkan tegangan permukaan serta kandungan flavonoid dan alkaloid yang mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri dengan dengan melarutkan lemak yang terdapat pada dinding sel sehingga terjadi kerusakan dinding sel yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel (Parhusip, 2006). Kelebihan dari biji lada hitam adalah adanya kandungan senyawa golongan alkaloid yaitu piperin yang mampu melisis sel bakteri sedangkan. Penelitian ekstrak etanol biji lada hitam perlu dilakukan, untuk mengetahui potensinya sebagai antibakteri serta diharapkan memiliki efek yang lebih menguatkan.

II. LANDASAN TEORI

Penggunaan obat tradisional telah menarik perhatian dan kepopulerannya di masyarakat semakin meningkat. Tumbuhan merupakan salah satu bahan obat tradisional yang sudah lama digunakan. Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai bahan obat adalah biji lada hitam. Tanaman lada memiliki berbagai senyawa antimikroba seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, piperin, dan minyak atsiri. Tanaman lada memiliki khasiat yaitu untuk mengatasi diare. Penelitian sebelumnya menunjukkan Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanolik biji lada hitam (*Piper nigrum*) terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 1 mg/mL (Ganesh., *et al*, 2014).

Penelitian ini menggunakan bakteri uji yaitu bakteri *Escherichia coli* karena bakteri ini mudah sekali menimbulkan

infeksi bakteri salah satunya adalah diare. Diare dapat terjadi karena *Escherichia coli* memproduksi toksin *labil toxin* (LT) dan *stable toxin* (ST). Toksin-toksin ini bekerja pada eritrosit untuk menstimulasi sekresi cairan, sehingga menyebabkan terjadinya diare (Gillespie & Bamford, 2008).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam

serbuk simplisia dalam cairan penyari. Keuntungan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Pelarut etanol 70% digunakan karena etanol 70% lebih selektif dan bakteri lebih sulit tumbuh dalam etanol lebih dari 20% ke atas, tidak beracun, dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Penggunaan pelarut etanol 70% karena etanol 70% tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan dapat memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Keuntungan lainnya adalah sifatnya yang mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim.

Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri adalah dilusi. Prinsip metode dilusi adalah substansi antimikroba dalam kadar bertingkat dicampurkan ke dalam medium bakteriologis solid atau cair. Metode dilusi dapat digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) yang ditentukan dengan cara melihat kekeruhan pada tabung uji. Keuntungan metode dilusi adalah bahan uji metode dilusi cair lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi bakteri tersebar merata sehingga metode ini lebih peka. Keuntungan lainnya yaitu memungkinkan adanya hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme yang diuji (Jawetz., *et al*, 2008).

A. Landasan Teori Variabel I

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah berbagai konsentrasi ekstrak etanol 70% biji lada hitam (*Piper nigrum* L)

B. Landasan Teori Variabel II

Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah ekstrak biji lada, kemurnian bakteri uji *Escherichia coli*, kondisi laboratorium

meliputi kondisi inkas, alat dan bahan yang digunakan harus steril dan media yang digunakan dalam penelitian ini juga harus steril.

III. METODE PENELITIAN

A. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji lada hitam (*Piper nigrum* L) yang diambil dari Lampung, aquadest, *Escherichia coli* yang dibiakkan, *Mac Farland*, *Escherichia coli*, agar, LIA, KIA, SIM, BHI, endo agar, minyak imersi, kristal violet, alkohol, safranin, dan larutan lugol.

B. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer, termometer, kompor, tabung reaksi, cawan petri, ose steril, mikropipet, autoklaf, inkubator, lampu bunsen, kaca objek, boor prop, deglass, mikroskop, neraca gram kasar dan halus, kapas lidi steril, blender, oven, beaker glass, dan kain flanel.

C. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji lada hitam (*Piper nigrum* L) diperoleh dari Lampung, Sumatera Selatan.

D. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji lada hitam yang diambil dari populasi secara random. Biji lada diambil yang mentah kemudian dikeringkan, berwarna hitam, dan bersih.

E. Jalannya penelitian

1) Pembuatan ekstrak etanol 70% biji lada hitam

Serbuk biji lada hitam ditimbang sebanyak 500 gram dimasukkan dalam botol coklat diisi dengan 3750 mL pelarut etanol 70% perbandingan 10:75, kemudian direndam sampai 5 hari. Ekstrak yang diperoleh masing-masing

kemudian disaring dan dipisahkan pada suhu 50°C. Identifikasi kandungan ekstrak biji lada hitam dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung dalam biji lada hitam.

2) Identifikasi kandungan kimia ekstrak biji lada hitam

Flavonoid. Ekstrak dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 % (v/v). Kemudian ke dalam larutan dimasukkan serbuk magnesium dan ditambahkan larutan alkohol : asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran larutan ini digosok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol

Alkaloid. Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambah dengan sedikit larutan HCl 2 N, dipanaskan kemudian ditambahkan larutan Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning dan dengan Dragendrof terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, maka ada kemungkinan terdapat alkaloid

Saponin. Ekstrak ditambahkan air panas sama banyak, didinginkan, lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak

Tanin. Ekstrak ditambah dengan tiga tetes FeCl₃, warna akan berubah menjadi biru kehitaman atau hijau kehitaman

Minyak Atsiri. Ekstrak ditambah dengan satu tetes sudan III, positif bila menunjukkan warna merah anggur.

F. Uji aktivitas antibakteri

Penelitian ini menggunakan metode dilusi yang meliputi dua tahap, yaitu penentuan KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum). Konsentrasi ekstrak etanol biji lada hitam yang digunakan adalah sembilan konsentrasi : 100 mg/mL; 50 mg/mL; 25 mg/mL; 12,5 mg/mL; 6,25 mg/mL; 3,125 mg/mL; 1,565 mg/mL; 0,781 mg/mL; 0,3905 mg/mL; kontrol negatif (K-); dan kontrol positif (K+). Semua tabung ditambah dengan BHI sampai 2 mL dan suspensi bakteri 1 mL yang telah disetarakan dengan

Mac Farland 0,5 kecuali pada tabung kontrol (-).

Perlakuan di atas dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Kesemua tabung

diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, kemudian diamati, dibandingkan dengan kontrol. Konsentrasi terendah dari larutan sampel yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (ditandai dengan kejernihan secara visual) ditentukan sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM). Kadar Bunuh Minimum (KBM) dapat diketahui dengan cara larutan tadi digoreskan pada media *endo agar* padat kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. KBM ditentukan pada konsentrasi terendah dimana pada media tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak tunggal etanol 70% biji lada hitam terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Ekstrak tunggal etanol 70% biji lada hitam terhadap bakteri *Escherichia coli* secara dilusi

No.	Konsentrasi (mg/mL)	Ekstrak biji lada hitam		
		I	II	III
1	Kontrol (-)	-	-	-
2	100	-	-	-
3	50	-	-	-
4	25	+	+	+
5	12,5	+	+	+
6	6,25	+	+	+
7	3,125	+	+	+
8	1,56	+	+	+
9	0,781	+	+	+
10	0,3905	+	+	+
11	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

(-) : tidak ada pertumbuhan bakteri
(+) : terdapat pertumbuhan bakteri

100 mg/mL; 50 mg/mL; 25 mg/mL; 12,5 mg/mL; 6,25 mg/mL; 3,125 mg/mL; 1,565 mg/mL; 0,781 mg/mL; 0,3905 mg/mL; kontrol negatif, dan kontrol positif. Pengujian yang dilakukan didapatkan hasil untuk ekstrak tunggal biji lada hitam pada konsentrasi 50 mg/mL dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Ekstrak tunggal dari biji lada hitam efektif karena pada biji lada hitam memiliki kandungan minyak atsiri dan senyawa golongan alkaloid yaitu piperin yang dapat menyebabkan sel menjadi lisis dan perubahan morfologi bakteri. Piperin

merupakan kandungan senyawa dari biji lada hitam yang paling aktif sehingga ekstrak etanol 70 % dari biji lada hitam efektif .

Aktivitas antibakteri kotrimoksazol berdasarkan atas kerjanya yang berlangsung dua tahap yang berurutan dalam reaksi enzimatik untuk membentuk asam tetrahidrofolat. Sulfametoksazol menghambat masuknya molekul PABA ke dalam molekul asam folat dan trimetoprim menghambat terjadinya reaksi reduksi dan hidrofolat menjadi tetrahidrofolat (Ganiswara 1995). Trimetoprim menghambat enzim dehidrofolat reduktase mikroba secara sangat selektif. Interaksi antara sulfametoksazol dan trimetoprim diperkirakan dari mekanismenya

pada dua obat ini untuk sebagian besar mikroorganisme adalah 20 bagian sulfametoksazol : 1 bagian trimetoprim. Kombinasi diformulasikan untuk mencapai

Ekstrak tunggal dari biji lada hitam dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Masing-masing dibuat dengan seri konsentrasi yaitu

konsentrasi sulfametoksazol *in vivo*, yaitu 20 kali lebih besar daripada trimetoprim (Goodman & Gilman, 2010).

Sulfametoksazol dapat menghambat tahapan sekuensial dalam sintesis folat dan dapat menghasilkan peningkatan bermakna atau sinergisme aktivitas kedua obat. Kombinasi ini memiliki efek bakterisidal lebih efektif daripada hanya diberikan sulfonamid saja (Katzung, 2011). Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk isolasi senyawa-senyawa kimia murni dari masing-masing simplisia yang diharapkan dapat meningkatkan aktivitas antibakteri karena semakin kecil Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari simplisia maka semakin baik untuk digunakan sebagai antibakteri. Efek samping

dan risiko resistensi antibiotik yang didapat juga akan semakin kecil.

V. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

Ekstrak etanol 70% biji lada hitam dengan konsentrasi mulai dari 50 mg/mL mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ganesh P, Kumar Suresh R, Saranraj P. 2014. Phytochemical Analysis And Antibacterial Activity Of Pepper (*Piper nigrum* L.) Against Some Human Pathogens. Department of microbiology Annamalai University. India.
- Ganiswara, S. E., 1995. Farmakologi dan Terapi. Edisi IV. Bagian Farmakologi. Universitas Indonesia. Jakarta. Hlm 571-573.
- Goodman & Gilman. 2010. Manual Farmakologi Dan Terapi. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz., et al. 2008. Medical Microbiology. 24th ed. North America: Lange Medical book.
- Katzung B.G. 2011. Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi 10. Penerjemah : Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta : Salemba Medika. Hlm 790.
- Parhusip, A.J.N. 2006. Kajian Mekanisme Antibakteri Ekstrak Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap Bakteri Patogen Pangan. Institut Pertanian Bogor.