PENGARUH LAMA PENYIMPANAN DEKOK DAUN SIRIH HIJAU (*PIPER BETLE L.*) TERHADAP AKTIVITAS DAYA HAMBAT BAKTERI *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* PENYEBAB MATITIS PADA SAPI PERAH

The Effect of Decoction Leaves from Green Leaf (piper betle l.) to Inhibition Activity of Streptococcus Agalactiae Cause of Mastitis in Dairy Cow

Oki Selfiana Marsono¹⁾, Tri Eko Susilorini²⁾ dan Puguh Surjowardojo³⁾

¹⁾ Student of Animal Husbandry, Brawijaya University, Veteran Street Malang 65145, Indonesia

²⁾ Lecture of Animal Husbandry, Brawijaya University, Malang, Veteran Street Malang 65145, Indonesia

³⁾ Lecture of Animal Husbandry, Brawijaya University, Malang, Veteran Street Malang 65145, Indonesia
E-mail: okislfiana@gmail.com

Diterima 30 Mei 2017, diterima pasca revisi 10 Juli 2017 Layak terbit 1 April 2017

ABSTRACT

The purpose of this research was to determine the effectiveness of Piper betle L. leave extract on antibacterial activity the growth of Streptococcus agalactiae. The method used was Complete Randomized Design (CRD) with 8 treatments and 6 replications. Piper betle L. leaves extract was used 20% for P0 (0-day), P1 (first day), P2 (second day), P3 (third day), P4 (fourth day), P5 (fiveth day), P6 (sixth days) and P7 (seventh day). The results showed that Piper betle L. leaves extract had a highly significant effect ($P < 0.01$) on inhibiting the growth of the bacteria so the results were continued with LSD test analysys because there were differences among variables. The results showed that P0 was the highest (3.93 ± 0.50); then followed by P1 (3.83 ± 0.69); P2 (3.47 ± 0.21); P3 (3.13 ± 0.22); P4 (3.12 ± 0.58); P5 (3.04 ± 0.24); P6 (3.00 ± 0.44) include at medium categories, and P7 (2.97 ± 0.19) include at low category, where inhibition zone which formed on each treatment have non significant decreased. In conclusion, the storage of Piper betle L. extract have effect on antibacterial activities (Streptococcus agalactiae), which the highest at day-0.

Key words : Antibacterial, Piper betle L., Streptococcus agalactiae, storage.

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki potensi alam yang melimpah, terutama pada sektor pertanian dan peternakan. Sektor peternakan salah satunya yaitu sapi perah, sedangkan sektor pertanian salah satunya adalah tanaman herbal seperti sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz), sirih hijau (*Piper betle* Linn.), kersen (*Muntingia calaburi* L.) dan lidah buaya (*Aloe vera* L.) yang dapat digunakan sebagai antibakteri (Syahrinastiti, Djamil dan Irawati, 2015; Noventi dan Carolia, 2016; Haryuni, Widodo dan Sudjarwo, 2015). Flavonoid, saponin dan tanin merupakan senyawa zat aktif pada tanaman herbal yang dapat

digunakan sebagai antibakteri (Rahmawati, 2016; Kursia, Lebang, Taebe, Burhan, Rahim dan Nursamsiar, 2016).

Bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang sering menyebabkan mastitis pada sapi perah karena dapat menurunkan produksi dan kualitas susu yang dihasilkan (Rahayu, 2010; Purnomo, Khusnan, Salasia dan Soegiono, 2006). Kejadian mastitis 97-98% merupakan mastitis subklinis, sedangkan mastitis klinis sekitar 2-3% (Sudarwanto dan Sudarnika, 2008). Menurut Wahyuni, Wibawan, Pasaribu dan Priosoeryanto (2006), kejadian mastitis subklinis yang disebabkan oleh *Streptococcus agalactiae* di wilayah Bogor

sekitar 76%, di Boyolali 91% dan di Malang 81%. Sapi perah yang terinfeksi bakteri mastitis akan mengalami penurunan produksi susu sekitar 28,4-53,3%, bahkan dapat mencapai 70% (Yamin, Sudarman dan Evvyernie, 2013; Surjowardoyo, 2011)

Pencegahan mastitis dapat dilakukan dengan cara pencelupan puting (*teat dipping*) menggunakan antibakteri yang berasal bahan kimia maupun alami. Antibakteri yang biasa digunakan oleh peternak yaitu iodip. Penggunaan iodip memiliki kekurangan yaitu harga yang relatif mahal (Fatisa, 2013). Oleh karena itu, dibutuhkan antibakteri alami dengan cara memanfaatkan kandungan zat aktif yang terdapat pada bahan alam. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai antibakteri alami yaitu daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang memiliki kemampuan antibakteri sesuai dengan kadar bahan aktif yang terkandung di dalamnya (Amalia, Sitompul, Hutaeruk, Andrianjah and Mun'im, 2009; Sari dan Isadiartuti, 2006).

Berdasarkan penelitian terdahulu telah banyak dilakukan mengenai penggunaan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai antibakteri penyebab mastitis. Penggunaan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai antibakteri dapat dibuat dengan berbagai cara, salah satunya pembuatan dekok (air rebusan). Dekok adalah perebusan pada suhu pada titik didih air yaitu suhu 90-100°C dengan waktu yang lebih lama (Departemen Kesehatan RI., 2000). Rebusan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) mempunyai efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (Lutviandhitarani, Harjanti dan Wahyono, 2015).

Menurut Kadir (2017), terjadi penurunan daya hambat terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* sesuai dengan lama penyimpanan ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yaitu 8 hari. Selain itu, penyimpanan ekstrak kentang batang brotowali (*Tinospora crisapa*) dan ekstrak rimpang lengkuas

merah yang disimpan selama empat minggu juga menunjukkan penurunan daya hambat terhadap bakteri *Eschericia coli* (Wahyudi, Aipassa, Bertinessy dan Palupi, 2004). Penurunan daya hambat bakteri selama sediaan disimpan disebabkan oleh adanya penurunan kandungan zat aktif. Hal ini diperkuat Naufalin dan Rukmini (2010), penyimpanan yang dilakukan pada ekstrak daun kecombarang juga mengalami penurunan senyawa fenol yang merupakan senyawa antibakteri. Penurunan senyawa fenol disebabkan oleh adanya suhu yang terlalu tinggi sehingga mampu mendegradasi senyawa fenolik yang terdapat pada suatu bahan (Magdalena dan Kusnadi, 2015).

Selain itu, menurut Koirewoea, Fatimawali dan Wiyono (2012), suhu yang terlalu tinggi mampu menyebabkan senyawa aktif terutama flavonoid mengalami oksidasi. Hal ini diperkuat Eveline, Siregar dan Sanny (2014), proses oksidasi oleh oksigen mampu meurunkan jumlah zat aktif pada suatu bahan. Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh lama penyimpanan dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) apakah dapat mempengaruhi aktivitas daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* penyebab mastitis pada sapi perah.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama satu bulan yaitu bulan Januari-Februari 2017 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang dan Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Muhammadiyah Malang, Jawa Timur.

Materi

Materi Penelitian yang digunakan yaitu daun sirih hijau (*Piper betel* Linn) yang dibuat menjadi dekok yang dibuat di

Laboraotium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Muhammadiyah Malang, Jawa Timur. Bakteri *Streptococcus agalactiae* merupakan bakteri stock yang diperoleh dari Laboratorium HPT (Hama dan Penyakit Tanaman) Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Alat yang digunakan dalam penelitian adalah gunting, oven, botol sampel, grinder, *aluminium foil*, Timbangan analitik, *beaker glass*, kompor, thermometer, gelas ukur, tissue. Kertas saring whatman nomor 40, panci autoklaf, tube. Erlenmeyer, kapas, cawan peri, bunsen, mikro pipet, pinset, plastic wrap, blue tip, kertas label dan jangka sorong. Bahan yang digunakan yaitu dekok daun sirih hijau, bakteri *Streptococcus agalactiae*, aquades, kertas cakram dan alkohol 70%.

Metode

Metode penelitian yang digunakan adalah percobaan dan pelaksanaan penelitian secara *in vitro* untuk mengetahui potensi daya hambat dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai antibakteri *Streptococcus agalactiae*. Percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 8 perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuannya yaitu lama penyimpanan sebagai berikut:

- P₀ : Lama penyimpanan hari ke-0
- P₁ : Lama penyimpanan hari ke-1
- P₂ : Lama penyimpanan hari ke-2
- P₃ : Lama penyimpanan hari ke-3
- P₄ : Lama penyimpanan hari ke-4
- P₅ : Lama penyimpanan hari ke-5
- P₆ : Lama penyimpanan hari ke-6
- P₇ : Lama penyimpanan hari ke-7

Media dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang digunakan yaitu konsentrasi 20% ditambah 100 mL aquades untuk semua perlakuan.

Tahap Penelitian

Pra Penelitian

1. Dikumpulkan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang diperoleh dari rumah warga yang berlokasi di Jalan Jati Kecamatan Sukorejo Kelurahan Sukorejo Kota Blitar.
2. Dipesan bakteri stok *Streptococcus agalactiae* di Laboratorium Bakteriologi HPT (Hama dan Penyakit Tanaman) Universitas Brawijaya Malang.
3. Dibuat simplisia di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Maliki Ibrabim Malang.
4. Dibiakkan bakteri *Streptococcus agalactiae* di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Maliki Ibrabim Malang.
5. Disterilisasi alat menggunakan autoklaf di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Muhammadiyah Malang.
6. Dibuat dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Muhammadiyah Malang.

Pembuatan Simplisia

Prosedur pembuatan simplisia daun sirih hijau (*Piper betle* L.) berdasarkan Mahardika, Sarwiyono dan Surjowardojo, 2014) adalah sebagai berikut:

1. Disortasi basah daun sirih hijau.
2. Dicuci daun sirih hijau menggunakan air yang mengalir.
3. Ditiriskan daun sirih hijau yang telah dicuci bersih.
4. Dirajang daun sirih hijau hingga berukuran 2-3 cm.
5. Dioven daun sirih hijau pada suhu 60°C selama 24 jam.
6. Disortasi kering daun sirih hijau.
7. Digrinding daun sirih hijau agar berbentuk serbuk.

8. Dimasukkan serbuk ke dalam botol sampel.
9. Ditutup botol sampel dengan *aluminium foil*.

Pembuatan Dekok Daun Sirih Hijau (*Piper betle* Linn)

Prosedur pembuatan dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) berdasarkan Lutviandhitarani dkk., (2015) adalah sebagai berikut:

1. Dimasukan air ke dalam panci sebanyak 1000 mL.
2. Ditimbang simplisia sebanyak 20gram.
3. Dimasukkan simplisia kedalam *beaker glass*.
4. Ditambahkan aquades 100 mL ke dalam *beaker glass*.
5. Diaduk simplisia dan aquades sampai homogen.
6. Ditutup *beaker glass* menggunakan *aluminium foil*.
7. Dimasukkan *beaker glass* yang sudah berisi larutan simplisia dan aquades ke dalam panci yang sudah berisi air mendidih selama 15 menit.
8. Dikeluarkan *beaker glass* dari panci.
9. Dibiarkan dekok sampai dingin.
10. Disaring dekok menggunakan kertas saring whatman nomor 40 (larutan dekok menjadi 55 mL).
11. Dituang dekok (hasil saringan) ke dalam botol sampel.
12. Ditutup botol sampel menggunakan tutupnya.
13. Disimpan dekok konsentrasi 20% dari simplisia dengan bahan kering 20% pada suhu ruang.

Pembuatan Media *Natrium Broth* (NB)

Prosedur pembuatan media *natrium broth* (NB) berdasarkan Mulyadi, Wuryanti dan Ria, (2013) adalah sebagai berikut:

1. Dimasukkan 5 gram serbuk *natrium broth* (NB) ke dalam *beaker glass*.
2. Ditambahkan 625 mL aquades.
3. Dimasukkan *stirer* ke dalam *beaker glass*.
4. Ditutup *beaker glass* dengan *aluminium foil*.
5. Dilakukan pengadukan menggunakan *magnetic stirer* sampai larutan homogen (terlihat bening).
6. Dituang media pada erlenmeyer dan ditutup menggunakan kapas dan plastik *wrap*.
7. Dilakukan sterilisasi pada media menggunakan suhu 121°C selama 15 menit.
8. Media siap digunakan.

Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Prosedur pembuatan *nutrient agar* (NA) berdasarkan Surjowardojo, Susilorini dan Panjaitan (2015) adalah sebagai berikut:

1. Ditimbang bubuk NA sebanyak 5gram.
2. Disiapkan aquades sebanyak 500mL.
3. Dimasukkan bubuk NA dan aquades ke dalam *beaker glass*.
4. Ditutup *beaker glass* menggunakan *aluminium foil*.
5. Dipanaskan dan menghomogenkan larutan menggunakan *magnetic stirer*.
6. Dituang media pada erlenmeyer dan ditutup menggunakan kapas dan plastik *wrap*.
7. Dilakukan sterilisasi pada media menggunakan suhu 121°C selama 15 menit.
8. Didiamkan media hingga dingin atau suhu menurun.

Pembiakan Bakteri

Prosedur pembiakan bakteri berdasarkan Ariyanti, Darmayasa dan Sudirga (2012) adalah sebagai berikut:

1. Dimasukkan 4 mL *nutrient broth* (NB) ke dalam tube.
2. Diambil 2-3 koloni bakteri stok menggunakan ose steril.
3. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Uji Daya Hambat Bakteri

Uji daya hambat bakteri berdasarkan Haque, Moon, Saravana, Tilahun and Chun (2016) adalah sebagai berikut:

1. Direndam kertas cakram ke dalam dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) selama 5 menit.
2. Dituang media *nutrient agar* (NA) yang sudah disterilisasi sebanyak 10 mL ke dalam cawan petri dan dibiarkan sampai membentuk gel.
3. Dituang bakteri 100 µL dengan jumlah bakteri 10⁶ ke dalam media NA yang sudah membentuk gel.
4. Diratakan bakteri menggunakan glass L.
5. Diletakkan cakram dipermukaan media *nutrient agar* (NA) yang sudah diberi bakteri.
6. Diinkubasi media pada suhu 37°C selama 24 jam.

Menghitung daya Hambat Bakteri menurut Toy, Lampus dan Hatulglung, 2015

Gambar 1. Pengukuran diameter zona hambat

$$\text{Zona Hambat} = \frac{(D_v - D_c) + (D_d - D_c)}{2}$$

Keterangan:

D_v = Diameter vertikal

D_H = Diameter horizontal

D_C = Lubang cakram

Tabel 1. Kategori Penghambatan Antimikroba Berdasarkan Diameter Zona Hambat.

Diameter (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
0-3	Lemah
3-6	Sedang
>6	Kuat

Sumber : Pan, Chen, Wu, Tang and Zhao (2009)

Varibel Pengamatan

Variabel yang diamati dalam penelitian ini yaitu luas zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram.

Analisa Data

Analisis data yang digunakan adalah analisis varian (ANOVA), apabila hasil menunjukkan adanya perbediaan nilai F_{hitung} maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Dekok Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Streptococcus agalactiae*

Hasil yang didapat dari perhitungan luas zona hambat yang terbentuk dari dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae* adalah bervariasi pada setiap lama penyimpanan dekok. Hasil rata-rata perhitungan tersebut dapat dilihat pada table.

Tabel 2. Rata-rata diameter zona hambat dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae*

Lama Simpan (hari-)	Rata-rata (mm)	Kategori Daya Hambat
0	3,93±0,50 ^b	Sedang
1	3,83±0,69 ^b	Sedang
2	3,47±0,21 ^{ab}	Sedang
3	3,13±0,22 ^a	Sedang
4	3,12±0,58 ^a	Sedang
5	3,04±0,24 ^a	Sedang
6	3,00±0,44 ^a	Sedang
7	2,97±0,19 ^a	Lemah

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom menunjukkan perbedaan sangat nyata ($P<0.01$).

Tabel 2 menunjukkan, rata-rata diameter zona hambat dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan lama penyimpanan hari ke-0 sampai hari ke-7. Pemberian perlakuan lama penyimpanan terhadap dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dalam penelitian ini dapat mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae*. Masing-masing perlakuan memiliki pengaruh yang berbeda terhadap kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae*.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penyimpanan dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap daya hambat bakteri *Streptococcus agalactiae*. Daya hambat terluas diperoleh pada perlakuan

P_0 tidak berbeda dengan P_1 yang disimpan selama 1 hari, penyimpanan dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) pada perlakuan P_3 sampai P_7 memiliki daya hambat berbeda sangat nyata dengan P_0 dan P_1 , sedangkan pada perlakuan P_2 berbeda dengan perlakuan P_0 , P_1 , P_3 , P_4 , P_5 , P_6 dan P_7 . Artinya, daya hambat dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang disimpan 3 hari sampai 7 hari menghasilkan daya hambat yang tidak berbeda.

Selain lama penyimpanan, faktor lain yang dapat mempengaruhi zona hambat mikroorganisme yaitu kepekaan mikroorganisme, temperatur dan konsentrasi zat yang diberikan (Harlis dan Wahyuni, 2008). Bakteri yang digunakan dalam penelitian yaitu bakteri *Streptococcus agalactiae* yang merupakan salah satu bakteri gram positif.

Peptidoglikan bakteri gram positif bersifat polar sehingga lebih mudah ditembus oleh senyawa zat antimikroba daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang bersifat polar seperti flavonoid (Surjowardojo, dkk., 2015).

Temperatur yang digunakan untuk inkubasi media pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* yaitu suhu 37°C, karena suhu ini merupakan suhu yang baik untuk pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* (Hardi, 2011). Konsentrasi daun sirih hijau yang digunakan sebagai zat antimikroba yaitu 20% dengan daya hambat yang dihasilkan masuk dalam kategori sedang pada penyimpanan dekok hari ke-0 sampai ke-6 dan kategori lemah pada hari ke-7. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang digunakan maka kandungan zat aktif yang terdapat di dalamnya semakin besar sehingga kemampuan daya hambat bakteri juga semakin besar (Brooks, Butel and Morse, 2005; Poeloengan, 2009; Haryuni dkk., 2015; Harlis dan Wahyuni, 2008).

Aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh daun sirih hijau (*Piper betle* L.) berasal dari zat aktif yang terkandung di dalamnya seperti flavonoid, tanin dan saponin. Kandungan senyawa tersebut menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri. Bakteri *Streptococcus agalactiae* akan kehilangan permeabilitas dinding sel apabila terkena oleh senyawa flavonoid. Senyawa ini memiliki kemampuan melakukan denaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki kembali (Noventi dan Caroli, 2016).

Senyawa antibakteri saponin mampu menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Zat aktif ini mampu menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Adanya gangguan tegangan permukaan dinding sel menyebabkan zat antibakteri dengan mudah masuk ke dalam sel sehingga sel dapat mengalami kematian, sedangkan kerusakan permeabilitas membran yang terjadi menyebabkan kelangsungan hidup bakteri menjadi terganggu (Karlina, Ibrahim dan Trimulyono, 2013).

Tanin merupakan antibakteri yang menyerang polipeptida dinding sel sehingga pembentukannya menjadi kurang sempurna dan menyebabkan bakteri menjadi lisis (Nugroho, Rahardianingtyas, Putro dan Wianto, 2016). Adanya ikatan antara tannin dan dinding sel bakteri menyebabkan kemampuan menempel bakteri menjadi inaktif dan menghambat pertumbuhan bakteri (Kursia dkk., 2016).

Pengaruh Lama Penyimpanan Dekok Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) selama Penyimpanan terhadap Bakteri *Streptococcus agalactiae*

Uji daya hambat dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang disimpan mulai hari ke-0 sampai hari ke-7 memiliki tingkat efektifitas yang berbeda-beda terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram oleh dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) selama penyimpanan yaitu semakin lama maka semakin kecil. Hal ini menunjukkan terjadinya penurunan kandungan senyawa dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) selama penyimpanan. Rata-rata diameter zona hambat dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang disimpan pada suhu ruang terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae* dapat dilihat pada Gambar 2.

Gambar 2. Diameter zona hambat dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang telah disimpan terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae*.

Gambar 2 menunjukkan, semakin lama penyimpanan dekok daun sirih sirih hijau (*Piper betle* L.) maka zona hambat yang dihasilkan semakin kecil. Hasil ini sesuai dengan hipotesis (H_0), lama penyimpanan dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) akan mempengaruhi aktivitas daya hambat bakteri *Streptococcus agalactiae* penyebab mastitis pada sapi perah. Kategori daya hambat bakteri dikatakan lemah jika memiliki diameter yang berkisar 0-3 mm, kategori sedang 3-6 mm dan kategori kuat >6 mm (Pan *et al.*, 2009). Kemampuan daya hambat dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae* yaitu P_0 ($3,93 \pm 0,50^b$), P_1 ($3,83 \pm 0,69^b$), P_2 ($3,47 \pm 0,21^{ab}$), P_3 ($3,13 \pm 0,22^a$), P_4 ($3,12 \pm 0,58^a$), P_5 ($3,04 \pm 0,24^a$), P_6 ($3,0 \pm 0,44^a$) masuk dalam kategori sedang dan P_7 ($2,97 \pm 0,19^a$) masuk dalam kategori lemah, dimana zona hambat yang terbentuk pada setiap perlakuan mengalami penurunan yang tidak signifikan.

Terbentuknya zona hambat yang semakin kecil disebabkan adanya kandungan zat aktif yang mengalami perubahan selama penyimpanan dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Penyebab penurunan daya hambat karena adanya kerja sinergis antara aktivitas antimikroba dengan suhu penyimpanan (Kusumawati, 2000). Penurunan kandungan zat aktif yang disimpan pada suhu yang semakin tinggi mampu mempengaruhi zona hambat disekitar kertas cakram (Klimczak, Maecka, Szlacta and Glizczyn, 2006). Semakin tinggi suhu lingkungan yang digunakan selama penyimpanan dekok menyebabkan kerusakan yang semakin cepat.

Kerusakan dekok yang terjadi disebabkan adanya pertumbuhan mikroorganisme yang cepat dan adanya proses oksidasi zat aktif selama penyimpanan, sehingga dekok tidak dapat bertahan lama (Suwita, Kristanto dan Purwaningsih, 2010). Proses oksidasi zat aktif oleh oksigen mampu menurunkan jumlah zat aktif terutama senyawa flavonoid (Eveline dkk., 2014). Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang tidak tahan terhadap panas, sehingga pada suhu penyimpanan yang terlalu tinggi akan mudah mengalami oksidasi (Koirewon, Fatmawali dan Wiyono, 2012).

Dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) selama penelitian disimpan pada botol sampel transparan, hal ini memungkinkan adanya pantulan cahaya matahari yang berasal dari sekitar ruangan yang dapat menembus botol sampel sehingga kandungan zat aktif dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) menjadi terpengaruh (Wahyudi dkk., 2004). Kerusakan zat aktif selama penyimpanan oleh adanya cahaya dan oksigen menyebabkan oksidasi sehingga mempengaruhi daya hambat bakteri (Itam, Majid dan Ismail, 2013).

Penyimpanan dekok dalam penelitian dilakukan pada suhu ruang yaitu sekitar 26-27°C, hal ini menunjukkan suhu ruang yang digunakan dalam penyimpanan dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) tidak terlalu tinggi sehingga proses kerusakan zat aktif terjadi secara lambat. Hal ini diperkuat Wahyudi, dkk. (2004), kerusakan zat aktif dekok yang terjadi secara cepat merupakan kerusakan yang diakibatkan adanya suhu penyimpanan yang terlalu tinggi. Suhu yang tinggi mampu mendegradasi senyawa fenolik yang terdapat pada dekok (Magdalena dan Kusnadi, 2015). Hal ini diperkuat Naufalin dan Rukmini (2010), senyawa bioaktif akan mengalami kerusakan apabila disimpan pada suhu ruang yang terlalu panas.

Selain itu, semakin tinggi suhu penyimpanan maka laju respirasi akan semakin tinggi sehingga lama simpan dekok menjadi semakin pendek, sedangkan suhu yang rendah mengakibatkan laju respirasi menjadi menurun sehingga dapat memperpanjang lama simpan dekok karena aktivitas mikroorganisme terhambat oleh aktivitas respirasi (Safaryani, Haryanti dan Hastuti, 2007; Roiyana, Prihastanti dan Kasiyati, 2008). Menurut Dono, Santosa dan Inangsih (2009), kerusakan zat aktif pada dekok selama penyimpanan pada suhu ruang dapat menyebabkan daya hambat bakteri menjadi menurun. Hal ini diperkuat Suwita dkk. (2010), penyimpanan pada suhu ruang mampu menyebabkan penurunan mutu fisik, kimia dan organoleptik yang diikuti dengan proses pembusukan sediaan.

Penyimpanan dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang dilakukan selama 7 hari, secara visual tidak terdapat adanya koloni bakteri atau jamur yang tumbuh pada dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Hal ini menunjukkan, bakteri atau jamur bukan salah satu faktor yang mempengaruhi daya hambat dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan lama penyimpanan hari ke-7 terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae*.

Penyimpanan yang semakin lama pada dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) menyebabkan zona hambat yang terbentuk akan semakin kecil. Penurunan diameter zona hambat disebabkan oleh adanya penurunan kandungan senyawa aktif yang terdapat pada daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Hal ini sesuai dengan Wahyudi, dkk., (2004), penurunan daya hambat bakteri selama penyimpanan dekok dipengaruhi oleh stabilitas kandungan senyawa dekok terutama senyawa yang memiliki daya antimikroba.

Laju respirasi yang terjadi selama penyimpanan dekok akan mengalami kenaikan kemudian penurunan dan stabil (Calegario, Cosso, Almeida, Vercesi and Jardi, 2001). Adanya pergerakan laju respirasi sejalan dengan peningkatan atau penurunan komponen senyawa aktif yang mempunyai aktivitas antioksidan (Vallverdu-Queralt, Medina-Remon, Casals-Ribes and Lamuela-Raventos, 2012). Adanya aktivitas respirasi dapat meningkatkan kadar air, tergantung oleh suhu dan kelembaban lingkungan penyimpanan (Isro'illa, 2016).

Penyimpanan ekstrak yang dilakukan pada kelembaban udara yang terlalu tinggi dapat menyebabkan terjadinya absorpsi uap air udara ke ekstrak sehingga mengakibatkan peningkatan kadar air (Retnani, Basymeleh dan Herawati, 2009). Meningkatnya kadar air mampu memicu pertumbuhan mikroba sehingga dapat mempercepat kerusakan pada sediaan (Solihin, Muhtarudin dan Sutrisna., 2015). Oleh karena itu, kelembaban yang semakin rendah mampu memperpanjang masa simpan suatu bahan karena proses kerusakan berjalan dengan lambat (Dono dkk., 2009).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Lama penyimpanan dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) berpengaruh terhadap daya hambat *Streptococcus agalactiae*.
2. Penyimpanan maksimal dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dapat dilakukan sampai hari ke-6

SARAN

Berdasarkan penelitian daya hambat bakteri penyebab mastitis dengan menggunakan dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dapat diberikan saran sebagai berikut:

1. Dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 20% dari simplisia dapat digunakan sebagai *teat dipping* alami untuk mencegah mastitis pada sapi perah.
2. Penggunaan dekok daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai larutan *teat dipping* dalam mencegah mastitis pada sapi perah dapat digunakan dengan batas penyimpanan dekok maksimal 6 hari (daya hambat bakteri sedang).
3. Dalam penelitian ini, uji aktivitas antimikroba mempunyai kekurangan dalam hal metode analisis difusi agar yang menggunakan pemupukan mikroba (penumbuhan mikroba) pada permukaan agar. Mengingat spesies mikroba yang digunakan merupakan bakteri anaerob fakultatif sebaiknya penumbuhan bakteri menggunakan metode tuang dengan agar berlapis dan difusi sumuran atau streak plate yang diinkubasi dalam buih pengatur oksigen.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, H., R. Sitompul, J. Hutaeruk, Andrianjah and A. Mun'im. 2009. Effectivitas of *Piper betle* Leaf Infusion as a Palpebral Skin Antiseptic. J. Universa Medicina. 28 (2): 83-91.
- Ariyanti, N. K., I. B. G. Darmayasa, S. K. Sudirga. 2012. Daya Hambat Ekstrak Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe barbandesis* Miller) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Eschericia coli* ATCC 25992. Jurnal Biologi. XVI (1): 1-4.
- Brooks, G. F., J. S. Butel and S. A. Morse. 2005. Mikrobiologi Kedokteran Edisi 22. Salemba Medika. Surabaya.
- Calegario, F. F., R. G. Cosso, F. V. Almeida, A. E. Vercesi and W. F. Jardi,. 2001. Determination of the Respiration Rate of Tomato Fruit using Flow Analysis. Postharvest Biology and Technology. 22 (3): 249-256
- Dono, D., E. Santosa, dan F. P. Inangsih. 2010. Pengaruh Lama Penyimpanan Ekstrak Biji *Barringtonia asiatica* (L) Kurz (Lecythidaceae) terhadap Toksisitasnya pada Larva *Crocidolomia pavonana* (F) (Lepidoptera: Pyralidae). Artikel Ilmiah.
- Eveline, T. M. Siregar dan Sanny. 2014. Studi Aktivitas pada Tomat (*Lycopersicon esculentum*) Konvensional dan Organik selama Penyimpanan. Prosiding SNST. Fakultas Teknik. Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- Fatasa, Y. 2013. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit dan Biji Buah Pulasan (*Nephelium mutabile*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia Ccoli* Secara In Vitro. Jurnal Peternakan. 10 (1): 31-38
- Haque, A. S. M. T., J. M. Moon, P. S. Saravana, A. Tilahun and B. S. Chun. 2016. Composition Of as asarum heterotropoides var. Mandshuricum Radix Oil From Different Extraction Method and Activities Agains Human Body Odor-Producing Bacteria. Journal of Food and Drug Analysis. 813-821
- Hardi, E. H. 2011. Kandidat Vaksin Potensial *Streptococcus agalactiae* untuk Mencegah Penyakit *Streptococcus* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). (Tesis) Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Harlis dan I. Wahyuni. 2008. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus viridans*. Artikel Ilmiah. 1 (1): 1-14.
- Haryuni, N., E. Widodo dan E. Sudjarwo. 2015. Aktivitas Antibakteri Jus Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap Bakteri Patogen dan Kualitas Telur Selama Penyimpanan. J. Ternak Tropika. 16 (1): 48-54.
- Isro'illa, D. 2016. Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan terhadap Susut Bobot dan Kadar Saponin Umbi *Talinum paniculatum* (Jacq) Gaertn. (Skripsi) Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Nusantara PGRI. Kendari.

- Itam, A., A. M. S. A. Majid dan Z. Ismail. 2013. Kestabilan Ekstrak Etanol Daun *Sonchus Arvensis* Pada Penyimpanan. Prosiding Semirata FMIP Universitas Lampung.
- Karlina, C. Y., M. Ibrahim dan G. Trimulyono. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichiacoli.E.* J. UNESA LenteraBio. 2 (1): 87–93.
- Koirewon, Y. A., Fatmawali dan W. I. Wiyono. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas. Artikel Ilmiah
- Kursia, S., J. S. Lebang, B. Taebe, A. Burhan, W. O. R. Rahim dan Nursamsiar. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Eksrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) terhadap Bakteri *Sthapylococcus epidermis*. J. Peternakan. 3 (2): 72-77.
- Kusumawati, N. 2000. Peranan Bakteri Asam Laktat. Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi. 1 (1)
- Lutviandhitarani, G., D. W. Harjanti dan F. Wahyono. 2015. Green Antibiotik Daun Sirih (*Piper betle L.*) sebagai Pengganti Antibiotik Komersial untuk Penanganan Mastitis (*Green Antibiotic Betel Leaf (Piper betle L.) as a Substitute for Commercial Antibiotic in Mastitis Treatment*). J. Agripet. 15 (1): 28-32.
- Magdalena, N. V dan J. Kusnadi. 2015. Antibakteri dari Ekstrak Kasar Daun Gambir (*Uncaria gambir var Cubadak*) Metode Microwave-Assisted Extraxtion Terhadap Bakteri Patogen. Jurnal Pangan dan Agroindustri. 3 (1): 124-135
- Mahardika, H. A., Sarwiyono dan P. Surjowardojo. 2014. Ekstrak Methanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) sebagai Antimikroba Alami Terhadap Bakteri *Staphylococcusaureus* Penyebab Mastitis Subklinis Pada Sapi Perah. J. Ternak Tropika. 15 (2): 15-22.
- Mulyadi, M., Wuryanti dan P. Ria. 2013. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata cylindrical*) Dalam Etanol Melalui Metode Cakram. Chem Info. 1 (1): 35-42.
- Naufalin, R. dan H. S. Rukmini. 2010. Potennsi Antioksidan Hasil Ekstraksi Tanaman Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) Selama Penyimpanan. (Skripsi) Fakultas Pertanian Unsoed. Purwokerto.
- Noventi, W. dan N. Carolia. 2016. Potensi Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L.*) sebagai Alternatif *Acne vulgaris*. J. Majority. 5(1): 140-145.
- Poeloengan, M. 2009. Pengaruh Minyak Atsiri Serai (*Andropogan citratus DC*) terhadap Bakteri yang Diisolasi dari Sapi Mastitis Subklinis (*The Effect of Lemon Grass (Andropogan Ciratus DC) Extract to the Growth of Bacteria Isolated from Subclinical from Subclinical Mastitis Ridden Cows*). J. Berita Biologi. 9 (6): 715-719.

- Purnomo, A., Hartatik, S. I. O. Salasia dan Soegiyono. 2006. Isolasi dan Karakterisasi *Staphylococcus aureus* Asal Susu Kambing Peranakan Ettawa. Media Kedokteran Hewan. 22 (3): 142-147.
- Rahayu, I. D. 2010. Aktivitas Antibakteri Saponin Hasil Isolasi *Aloe barbadensis miller* terhadap *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis pada Sapi Perah. J. Gamma. 6 (1): 40-44.
- Rahmawati. 2014. Interaksi Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) dan Daun Sirih (*Piper betle L.*) terhadap Daya Hambat *Staphylococcus Aureus* secara *in Vitro*. J. Edubio Tropika. 2 (1): 121-186.
- Retnani, Y., S. Basymeleh dan L. Herawati. 2009. Pengaruh Jenis Hijauan dan Lama Penyimpanan Terhadap Sifat Fisik Wafer. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan. XII (4): 196-202
- Roiyana, M., E. Prihastanti dan Kasiyati. 2008. Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan Daun *Stephania hernandifolia* Walp. terhadap Kualitas Bahan Baku Cincau dan Penerimaan Kosumen. Artikel Ilmiah.
- Safaryani, N., S. Haryanti dan E. D. Hastuti. 2007. Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan Terhadap Penurunan Kadar Vitamin C Brokoli (*Brassica oleracea L.*). Buletin Anatomi dan Fisiologi. XV (2): 39-46.
- Solihin, Muhtarudin dan R. Sutrisna. 2015. Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Air dan Kualitas Fisik Dan Sebaran Wafer Limbah Sayuran dan Umbi-Umbian. Jurnal Ilmiah Peternakan. 3 (2): 48-54.
- Sudarwanto, M. dan E. Sudarnika. 2008. Hubungan pH Susu dengan Jumlah Sel Somatik sebagai Parameter Mastitis Subklinik. J. Media Peternakan. 31(2): 107-113.
- Surjowardojo, P., T. E. Susilorini dan A. A. Panjaitan. 2015. Daya Hambat Jus Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* Penyebab Mastitis pada Sapi Perah. Jurnal Ternak Tropika. 16 (2): 30-39.
- Suwita, I. K., Y. Kristanto, F. Y. Purwaningsih. 2010. Pendugaan Umur Simpan Sirup Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*), Madu dann Eksrak Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*) dengan Model Arrhenius Dan Moedel Q₁₀. Artikel Ilmiah
- Syahrinastiti, T. A., A. Djamal dan L. Irawati. 2015. Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum ruiz & pav*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli*. J. Kesehatan Andalas. 4 (2): 421-424.
- Vallverdu-Queralt, A., A. Medina-Remon, I. Casals-Ribes and R. M. Lamuela-Raventos. 2012. Is There Any Difference between the Phenolic Content of Organic and Conventional Tomato Juices. Food Chemistry. 130 (1): 222-227.

- Wahyudi, M., I. Aipassa, Bertinessy dan S. Palupi.2004. Pengaruh Lama Penyimpanan Ekstrak Etanol 80% Rimpang Lengkuas Merah (*Languas galangal (L.)* Stuntz) dalam Bentuk Ekstrak Kental dan Larutannya terhadap Daya Antijamur Pada *Trichophyton ajelloi* dari Profil Komponen Minyak Atsrinya secara KLT-Densitometri. Prosiding Seminar Nasional. Padang.
- Wahyuni, A. E. T. H., I. W. T. Wibawan, F. H. Pasaribu, dan B. P. Priosoeryanto.2006. Distribusi Serotipe *Streptococcus agalactiae* Penyebab Mastitis Subklinis Pada Sapi Perah Di Jawa Timur, Jawa Tengah Dan Jawa Barat. J. Vet. 7 (1): 1-8.
- Yamin, A. A., A. Sudarman and D. Evvyernie. 2013. In Vitro Rumen and Anti Mastitis Activity of Diet Containing Betle Leaf Meal (*Piper beltle L.*). J. Media Peternakan. 36 (2):137-142.