

Air Daun Sirih (*Piper betle* L.) Tidak Berpotensi Memicu Resistensi Sel *Escherichia coli* pada Dosis Pemakaian Secara Traditional

Yeslia Naomi Castoeri^{1,2}, Ernest Suryadjaja², Mariana Wahjudi³

¹Program Studi Magister Ilmu Forensik, Sekolah Pascasarjana, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

²Fakultas Teknobiologi, Universitas Surabaya, Surabaya, Indonesia

³Magister Bioteknologi, Universitas Surabaya, Surabaya, Indonesia

Korespondensi: Mariana Wahjudi

Email: mariana_wahyudi@staff.ubaya.ac.id

Submitted : 22-10-2021, Revised : 24-03-2022, Accepted : 10-06-2022

ABSTRAK: Air rebusan daun sirih (*Piper betle* L.), disebut juga air sirih, telah lama digunakan masyarakat di Indonesia. Pemakaian air sirih secara terus-menerus menimbulkan kekhawatiran pada munculnya bakteri yang resisten, seperti pada kasus paparan bakteri dengan minyak pinus. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi terjadinya perubahan kepekaan sel *Escherichia coli* setelah dipaparkan air sirih dengan kadar yang umum digunakan oleh masyarakat (5% b/v). Metode yang digunakan adalah dengan pemaparan sel *E. coli* dengan air sirih 5% b/v, mulai dari generasi 0 hingga generasi ke-130. Uji konfirmasi ada tidaknya perubahan kepekaan sel terhadap air sirih dilakukan dengan penentuan kadar hambat minimum dan hambatan pertumbuhan sel dengan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sel pada generasi ke-0, 10, 40, 110, dan 130 tidak terhambat pertumbuhannya oleh air sirih walaupun densitas sel setelah terpapar air sirih dari generasi ke-0 hingga ke-130 cenderung mengalami penurunan. Zona hambatan pertumbuhan sel dari semua generasi terhadap antibiotik imipenem, ceftazidime, ciprofloxacin dan ampicilin juga tidak berbeda signifikan. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa sel *E. coli* yang terpapar air sirih pada kadar pemakaian masyarakat tidak berubah kepekaannya terhadap air sirih dan beberapa antibiotika uji.

Kata kunci: air sirih; antibiotika; *Escherichia coli*; hambatan pertumbuhan; resistensi

ABSTRACT: *Piper betle* leaf boiled water, called as betel water, has been used traditionally for long time by people in Indonesia. The continuous use of betel water raises concerns about the emergence of resistant strain, as in the case of bacterial exposure to pine oil. This study was aimed to investigate the antimicrobial sensitivities of *Escherichia coli* cells after exposure to betel leaf boiled water at concentration commonly used by people, 5% w/v. The method used in this research was to expose *E. coli* cells to betel water starting from generation 0 until generation 130. The sensitivity assay was carried out by minimum inhibitory concentration determination and growth inhibition assay using agar diffusion method. The result showed that cells from 0, 10, 40, 110 and 130 generations showed no growth inhibition towards betel water although densities of the exposed cells tend to reduce compared to unexposed cells. No significant differences on growth inhibition zones of cells from different generations towards imipenem, ceftazidime, ciprofloxacin, and ampicillin. It can be concluded that exposure of 5% w/v betel leaf boiled water to *E. coli* cells caused no changes in sensitivities of cells up to the generation 130 toward betle water and these antibiotics.

Keywords: antibiotic; betle water; *Escherichia coli*; growth inhibition; resistance

1. Pendahuluan

Sirih (*Piper betel* L.) merupakan tumbuhan merambat yang banyak digunakan sebagai obat herbal di berbagai negara seperti India, Sri Lanka, Thailand, Taiwan, dan negara-negara lain di Asia Tenggara termasuk di Indonesia. Masyarakat Indonesia pada umumnya menggunakan daun sirih sebagai obat tradisional dengan merebus 5 hingga 10 lembar daun dalam segelas air [1]. Air rebusan daun ini digunakan sebagai jamu untuk mengobati keputihan, gusi berdarah, sariawan, gatal-gatal, alergi, diare, mimisan, dan lain-lain [2]. Masyarakat biasanya meminum jamu (seduhan atau rebusan) sirih secara berulang-ulang.

Daun sirih telah dibuktikan memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif, dan terhadap berbagai jamur [3]. Air rebusan daun sirih pada kadar 40% ke atas memiliki daya hambat terhadap *Streptococcus pyogenes* [4] dan terhadap *Streptococcus mutans* [5]. Ekstrak daun sirih dalam pelarut metanol juga mempunyai aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus* pada kadar yang lebih rendah yaitu 25% untuk ekstrak hasil maserasi dan 20% ekstrak hasil refluks [6]. Air rebusan sirih diketahui dapat menghambat *E. coli* [2,7] tetapi ekstraksi tanpa pemanasan tidak memiliki aktivitas terhadap *E. coli*. Ekstrak etil asetat daun sirih memiliki daya antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* [8]. Ekstrak n-heksan dari daun sirih juga menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* [9]. Ekstrak metanol, etil asetat, dan kloroform menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, dan *Staphylococcus aureus* pada rentang kadar hambat minimum (KBM) 0,13 – 0,42 mg/mL [10].

Daun sirih memiliki banyak senyawa yang berperan sebagai anti bakteri, antara lain adalah golongan fenol yaitu *hydroxychavicol* dan *allylpyrocatechols* yang mampu menghancurkan dinding sel [3, 11]. Senyawa *hydroxychavicol* khususnya berperan penting dalam menginduksi ke-

matian sel dengan cara merusak DNA dan menghambat pembelahan sel [12].

Masyarakat menggunakan sirih berulang-ulang dan rutin karena percaya bahwa daun sirih merupakan bahan alam yang relatif aman walaupun dikonsumsi berulang-ulang. Berdasarkan pada KBM air daun sirih dari berbagai hasil penelitian, dosis pemakaian oleh masyarakat ini berada di bawah KBM terhadap berbagai bakteri. Beberapa penelitian membuktikan bahwa paparan sel bakteri berulang-ulang pada bahan biosida kadar subletal dapat memicu sifat resistensi. Beberapa bahan yang diketahui dapat menimbulkan sifat resistensi tersebut antara lain adalah antibiotika pada umumnya [13,14], biosida kationik [15, 16], minyak pinus [17], dan oregano [18]. Kasus resistensi bakteri patogen terhadap bahan alami juga telah dilaporkan [19]. Hingga saat ini belum ada informasi tentang kemungkinan munculnya perubahan kepekaan sel bakteri khususnya *E. coli* setelah masyarakat mengkonsumsi air rebusan daun sirih secara berulang-ulang pada kadar *sub-inhibitory* ini.

Berdasarkan hal tersebut, pada penelitian ini dievaluasi sifat kepekaan sel *E. coli* setelah dipaparkan rebusan daun sirih secara terus menerus. Informasi mengenai keamanan dalam mengkonsumsi air rebusan daun sirih secara berulang-ulang tersebut penting untuk mengetahui ada tidaknya perubahan sifat kepekaan sel terhadap air sirih ini sendiri ataupun terhadap antibiotika lainnya. Pada penelitian ini, evaluasi kepekaan terhadap antimikroba diterapkan pada sel *E. coli* yang merupakan wakil mikrobiota pada usus manusia sekaligus sebagai wakil bakteri Gram negatif.

2. Bahan dan metode

2.1. Pembuatan larutan induk air rebusan daun sirih

Beberapa helai daun sirih diambil pada posisi daun ke-5 dari pucuk. Daun sirih dicuci dengan

air mengalir dan ditiriskan. Untuk membuat larutan induk air rebusan daun sirih kadar 50% b/v dilakukan dengan cara sebagai berikut: daun ditimbang sebanyak 50 gram. Sebanyak 100 mL air demineralisata dipanaskan hingga mendidih kemudian daun sirih dimasukkan kedalam air mendidih dan pemanasan dilanjutkan selama 5 menit. Setelah itu, daun sirih dipisahkan dengan cara disaring, volume filtrat diatur menjadi 100 mL. Untuk selanjutnya larutan ini disebut sebagai air rebusan daun sirih atau air sirih 50%. Larutan induk air sirih kadar 10% b/v dibuat dengan cara yang sama tetapi berat daun sirih yang ditambahkan 10 gram.

2.2. Pembuatan larutan uji air rebusan daun sirih konsentrasi 5% b/v

Larutan induk kadar 10% b/v dicampur dengan medium *Mueller-Hinton Broth* (MHB) 2x kuat dengan volume yang sama, sehingga diperoleh kadar medium dengan konsentrasi air sirih 5% b/v. Larutan ini disebut sebagai larutan uji, untuk pemaparan sel *E.coli*. Kadar tersebut merupakan kadar yang umum digunakan oleh masyarakat sebagai jamu [1].

2.3. Penentuan kadar polifenol air rebusan daun sirih

Sebanyak 200 µL sampel air sirih dicampur dengan 2,5 mL reagen Folin-Ciocalteau 10% dan 2 mL Na₂CO₃ 7,5% dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 45°C. Absorbansi larutan kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 765 nm. Total senyawa fenolik sampel dinyatakan sebagai miligram (mg) asam galat ekuivalen per gram bobot ekstrak (mg GAE/g ekstrak). Sebagai standar, digunakan asam galat pada berbagai konsentrasi (20, 40, 60, 80, 100, 200, 300 µg/mL)[20].

$$\text{Kadar total fenol} = \frac{(\text{konsentrasi sampel } (\mu\text{g/mL}) \times \text{volume sampel (mL)})}{\text{berat sampel (gram)}}$$

2.4. Pemaparan sel *Escherichia coli* pada air sirih

Pada tahap ini sel *E. coli* ditumbuhkan dalam medium MH berisi air sirih. Setiap 10 generasi sel dipindahkan ke medium MH baru berisi air sirih. Setiap 10 generasi sel yang terpapar kemudian diuji kepekaannya terhadap air sirih dan beberapa antibiotika uji.

Secara singkat, tahapan ini dilakukan sebagai berikut: Sel *E. coli* dengan densitas sesuai standar Mc Farland 0,5 dicampur dengan larutan uji. Kultur diinkubasi pada suhu 37°C dengan kecepatan putar 120 rpm. Setiap 180 menit (10 generasi), kultur sel dipindahkan sebanyak 10% v/v ke medium berisi air sirih - medium segar yang baru dan diinkubasi dengan cara yang sama seperti di atas. Untuk mengetahui adanya perubahan sifat resistensi sel *E. coli*, maka di setiap 10 generasi sel yang terpapar dilakukan penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) terhadap air rebusan sirih, penentuan kepekaan sel *E. coli* terhadap antibiotika *ampicilin*, *ciprofloxacin*, *imipenem*, dan *ceftazidime* secara difusi agar. Selain itu, viabilitas sel di akhir setiap 10 generasi diamati berdasarkan densitas sel secara spektrofotometri pada panjang gelombang 600 nm. Sebagai kontrol negatif adalah sel *E. coli* yang tidak dipaparkan pada air rebusan sirih.

2.5. Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) *E. coli* terhadap air sirih

Tahap ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perubahan KHM sel *E. coli* setelah terpapar pada air sirih selama 130 generasi terhadap air sirih ini sendiri. KHM ditentukan dengan metode broth *microdilution*. Secara singkat penentuan KHM dilakukan sebagai berikut: pertama, disiapkan 100 µL medium MHB yang berisi air sirih dengan berbagai konsentrasi (25; 12,5; dan 0,78% b/v) dalam beberapa sumur *microplate*. Setelah itu, masing-masing medium berisi air sirih tersebut diinokulasi dengan 5 µL kultur sel *E. coli*. *Microplate* diinkubasi pada suhu 37°C, dengan kecepatan putar 120 rpm selama 24 jam. Densitas sel diukur dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 600 nm. Sebagai kontrol negatif digunakan medium MHB dengan

kultur sel, sedangkan berbagai kadar air rebusan daun sirih dalam MHB tanpa kultur sel digunakan sebagai blanko. KHM ditentukan dengan cara menjumlahkan kadar terakhir yang terdapat pertumbuhan bakteri dan kadar pertama tidak terjadi pertumbuhan bakteri kemudian dibagi 2.

2.6. Uji sensitivitas *E. coli* terhadap air rebusan sirih dan beberapa antibiotika

Tahap ini dimaksudkan untuk mengetahui ada tidaknya perubahan kepekaan sel *E. coli* setelah terpapar pada air sirih selama 130 generasi terhadap beberapa antibiotika uji, yaitu imipenem, ceftazidime, ciprofloxacin, dan ampicilin. Uji kepekaan bakteri terhadap antibiotika uji dilakukan dengan metode difusi agar. Secara singkat dilakukan dengan cara sebagai berikut: inokulum dengan densitas sesuai standar Mc Farland 0,5 disebarkan menggunakan *cotton bud* steril di atas permukaan medium *Mueller-Hinton* agar. Setelah itu *cylinder cup* diletakkan di permukaan agar dan diisi dengan 100 μ L sampel uji air sirih. Untuk uji kepekaan terhadap antibiotika, dilakukan dengan cara yang sama, cakram kertas antibiotik diletakkan di permukaan agar yang telah diolesi *E. coli* inokulum. Petri uji diinkubasi pada suhu 37°C, selama 24 jam. Diameter daerah hambatan pertumbuhan sel diukur menggunakan jangka sorong.

2.7. Analisa data

Analisis statistik pada penelitian ini menggunakan uji non-parametrik Kruskal-wallis untuk evaluasi adanya perbedaan data viabilitas sel antar generasi dari 0 hingga 130. Untuk data kepekaan sel *E. coli* terhadap antibiotika dianalisa dengan uji parametrik *Anova Oneway*. Sel berubah sifat resistensinya secara signifikan bila $p < 0,05$.

3. Hasil dan pembahasan

3.1. Air sirih kadar 25% b/v masih berada di bawah kadar bunuh terhadap pertumbuhan

E. coli

Kadar hambat minimum air sirih terhadap *E. coli* awal dikonfirmasi dahulu sebelum sel dipaparkan di dalam air sirih. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sel *E. coli* untuk paparan berada pada dosis subletal. Sel *E. coli* tidak terhambat oleh air sirih pada kadar hingga 25% b/v, sedangkan dosis pemakaian di masyarakat adalah 5% b/v yang berarti dosis ini berada di bawah KHM (Tabel 1). Pada penelitian Jayalakshmi, ekstrak kering hasil maserasi dalam pelarut air, ekstrak sama sekali tidak menghambat semua bakteri yang diuji [10]. Pada penelitian ini digunakan penyeduhan daun sirih segar.

Tabel 1. Densitas sel *E. coli* akibat paparan air sirih 25% b/v

Kadar (% b/v)	OD ₆₀₀
25	0,581±0,1004
12,5	0,870±0,0156
6,25	1,188±0,0601
3,13	1,193±0,0035
1,56	1,099±0,3953
0,78	0,867±0,0042

Keterangan: nilai densitas sudah dikurangi dengan blanko

Untuk melihat viabilitas sel *E. coli* setelah terpapar oleh air sirih maka dilakukan pengukuran densitas sel pada generasi 0 hingga generasi 130 (Gambar 1). Penentuan waktu generasi sel ditentukan lebih dahulu berdasarkan kurva pertumbuhannya (data tidak dicantumkan). Berdasarkan perhitungan didapatkan waktu generasi pada fase logaritmik sel adalah 18 menit.

Berdasarkan penelitian ini densitas sel *E. coli* pada semua konsentrasi pada awalnya meningkat, yaitu dari generasi ke-0 hingga generasi ke-10 (Gambar 1). Kemungkinan hal ini disebabkan karena kondisi sel masih segar dan masih ada sisa medium lama yang terambil bersama inokulum awal. Setelah itu sel berada terus menerus pada lingkungan dengan beberapa senyawa dari daun sirih yang dapat menekan pertumbuhan sel. Sirih diketahui memiliki kandungan polifenol yang

dapat berikatan dengan protein. Alilpirokatekol diduga berperan pada penghambatan enzim MurA yang berperan pada sintesis peptidoglikan [11]. Kavikol dan kavibetol merupakan polifenol dalam sirih yang dapat merusak dinding sel dan membran sel bakteri [21] sehingga mengganggu fungsi membran sel dan pembentukan dinding sel tidak sempurna. Ketika dinding sel rusak maka fungsinya sebagai pelindung sel terhadap lingkungan akan hilang. Kerusakan membran dapat menyebabkan permeabilitas membran sel berkurang sehingga menyebabkan keluarnya isi sel. Selain itu, di dalam membran sel terdapat metabolisme energi, sehingga jika membran sel rusak maka metabolisme energi akan terhambat. Hal ini menyebabkan ketidakmampuan sel untuk tumbuh sehingga densitas sel dari generasi ke-10 hingga generasi ke-90 menjadi turun. Namun pada generasi ke-100, densitas sel kembali meningkat dan kemudian menurun hingga generasi ke-130. Hal tersebut kemungkinan dapat disebabkan karena sel mampu melakukan *recovery* sehingga densitasnya meningkat, namun *recovery* tersebut tidak berlangsung lama karena bakteri tersebut sudah melemah setelah cukup lama terpapar oleh air sirih. Namun secara keseluruhan dari generasi ke-0 hingga ke-130 densitas sel cenderung mengalami penurunan yang signifikan berdasarkan uji non-parametrik Kruskal-wallis jika dibandingkan dengan sel yang tidak terpapar air rebusan daun sirih meskipun tidak dapat menghambat pertumbuhan sel sepenuhnya.

Tabel 2. Kandungan fenolik total dari air rebusan daun sirih

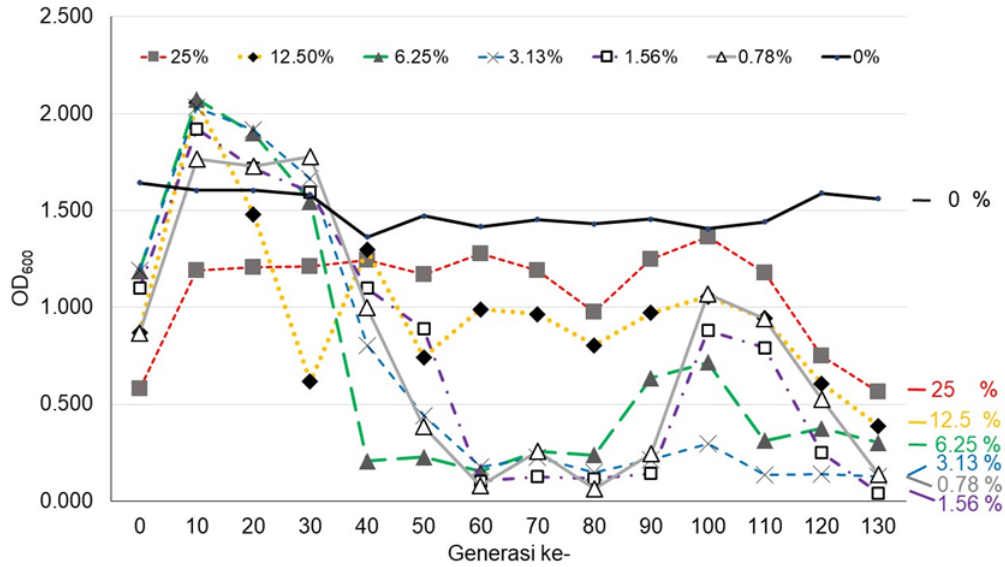
Kadar air rebusan daun sirih (% b/v)	Kandungan fenolik total [mg GAE/g sirih]
25	1973,4
12,5	1347,7
6,25	796,9
3,125	414,9
1,56	217,7
0,78	108,1

Untuk mengetahui apakah air sirih pada kadar yang digunakan mengandung polifenol sesuai prediksi, maka dilakukan pengujian kandungan polifenol dalam air sirih. Hasil pengujian menunjukkan bahwa air sirih pada berbagai konsentrasi memiliki kandungan polifenol sesuai kadar daun sirih yang direbus (Tabel 2).

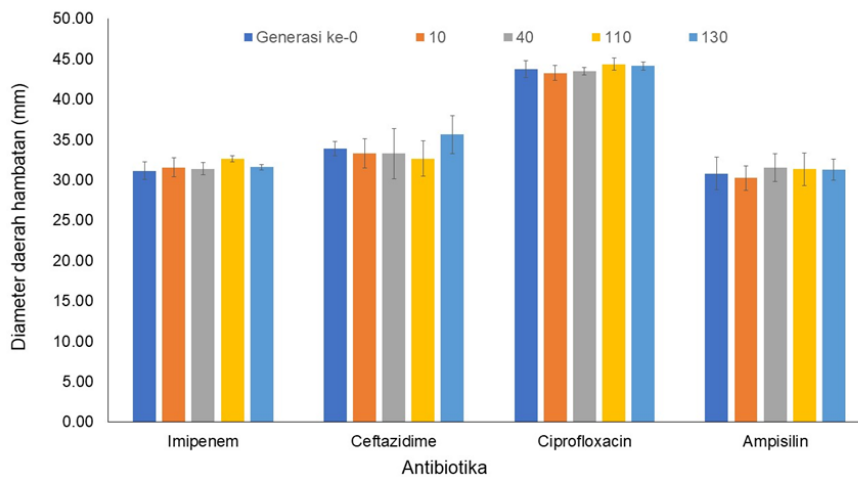
Penurunan densitas sel menunjukkan bahwa air rebusan daun sirih memiliki potensi sebagai anti mikroba walaupun tidak menunjukkan indikasi memicu perubahan kepekaan sel hingga paparan generasi ke-130 terhadap air sirih. Bila kepekaan sel berubah menjadi tahan (resistensi) maka akan terlihat bahwa sel dari generasi akhir berubah lebih tahan terhadap antibiotik atau air sirih kadar tinggi; sekaligus densitas sel akan stabil seperti sel yang tanpa paparan air sirih. Pada penelitian ini terlihat bahwa tidak ada indikasi adanya perubahan kepekaan sel setelah terpapar air sirih (Gambar 1). Sel yang terpapar air sirih pada berbagai konsentrasi cenderung semakin berkurang densitasnya di akhir generasi ke-130. Hal ini menjadi indikasi berkurangnya viabilitas sel setelah terpapar air sirih.

3.2. Paparan sel *E. coli* pada air sirih tidak menunjukkan perbedaan kepekaan terhadap antibiotika

Sel *E. coli* yang telah terpapar air sirih diuji kepekaannya terhadap air sirih 10% b/v dan 50% b/v pada beberapa sampel generasi, yaitu generasi ke-0, 10, 40, 110, 130. Hasil uji menunjukkan bahwa sel dari berbagai generasi tersebut tidak terhambat oleh air sirih. Meskipun sampel air sirih tidak menyebabkan zona hambat, tetapi terlihat adanya penurunan kekeruhan sel di sekitar sampel uji. Hal ini bersesuaian dengan hasil viabilitas sel yang menunjukkan adanya penurunan pertumbuhan meskipun tidak secara total (Gambar 1). Sel yang belum dan yang sudah terpapar air sirih selama beberapa generasi sama-sama tidak terhambat oleh air sirih kadar 10 dan 50% b/v. Berdasarkan hasil ini dapat dikatakan bahwa paparan air sirih selama 130 generasi terhadap sel *E. coli* tidak



Gambar 1. Densitas sel *E. coli* setelah terpapar air sirih pada berbagai konsentrasi



Gambar 2. Sensitivitas *E. coli* yang telah terpapar air rebusan daun sirih terhadap antibiotik imipenem, ceftazidime, dan ciprofloxacin

Tabel 3. Standard kategori sifat kepekaan *E. coli* terhadap antibiotik sesuai standard CLSI

Antibiotik	Kode	Berat (µg)	Zona Hambat (mm)		
			S	I	R
Imipenem	IPM	10	≥23	20 – 22	≤19
Ceftazidime	CAZ	30	≥21	18 – 20	≤17
Ciprofloxacin	CIP	5	≥21	16 – 20	≤15
Ampicillin	AMP	10	≥17	14 – 16	≤13

Keterangan: S: Sensitif; I: Intermediet; R: Resisten

memunculkan perubahan kepekaan terhadap air sirih itu sendiri. Pada setiap petri uji disertakan pengujian ampisilin 1 mg sebagai kontrol positif.

Hasil uji ANOVA Oneway menunjukkan bahwa diameter zona hambatan sel dari generasi ke-0, 10, 40, 110, 130 tidak berbeda signifikan (Gambar

2). Hal ini membuktikan bahwa meskipun sel *E. coli* telah terpapar air sirih selama 130 generasi, kepekaan sel tersebut tidak berubah terhadap air sirih maupun terhadap ampisilin.

Setelah itu juga dilakukan uji sensitivitas sel terhadap antibiotika dengan metode difusi agar menggunakan cakram antibiotik. Antibiotik yang digunakan adalah imipenem, ceftazidim, dan ciprofloxacin. Dari semua hasil uji difusi agar menggunakan cakram antibiotik tersebut, diameter zona hambat sel yang terbentuk termasuk dalam kategori sensitif berdasarkan standar *Clinical & Laboratory Standart Institute* (CLSI) (Tabel 3). Diameter zona hambat antara sel *E. coli* yang belum terpapar air rebusan daun sirih dengan sel *E. coli* yang telah terpapar air rebusan daun sirih setelah diuji statistik menggunakan *ANOVA Oneway* tidak memberikan perbedaan (Gambar 2), sehingga dapat dikatakan bahwa kepekaan sel *E. coli* yang telah terpapar air rebusan daun sirih tidak berubah terhadap antibiotik imipenem, ceftazidime, ciprofloxacin, dan ampisilin.

Pada kadar air sirih yang sesuai dengan pemakaian di masyarakat, sel *E. coli* tidak terhambat sehingga dapat dikatakan kadar ini berada di bawah KHM nya. Berdasarkan hasil penelitian ini, tidak terjadi perubahan sifat kepekaan sel *E. coli* terhadap berbagai antibiotika uji. Sel *E. coli* dibuktikan menunjukkan resistensi terhadap berbagai antibiotika (tetrasiklin, ampisilin, khloramfenikol, dan asam nalidiksat) yang disebabkan over-ekspresi gen *marA* akibat paparan minyak pinus. Protein *MarA* berperan pada regulasi positif pompa efluks berbagai obat. Selain itu resistensi terhadap desinfektan dari sel bakteri Gram negatif pada umumnya disebabkan karena adanya integron yang membawa *cassette* mengandung gen ketahanan antibiotik dan atau perubahan pompa efluks obat [17,22]. Menurut Laureti, antibiotika pada kadar *sub-inhibitory* juga dapat menyebabkan mutasi dengan cara memacu transfer elemen *mobile* atau *pathogenicity islands*. *Mobile elements* dapat membawa gen pengkode resisten antibiotika. Antibiotika secara

spesifik dapat menyebabkan efek langsung pada timbulnya sifat resistensi pada populasi bakteri [14]. Becceril *et al.* membuktikan bahwa paparan sel *Serratia marcescens* pada minyak oregano secara berulang, meningkatkan resistensi sel terhadap antibiotik, terutama tetrasiklin dan asam nalidiksat [18]. Kemungkinan kandungan kimia dalam air sirih tidak berpotensi menyebabkan perubahan genetik sel ataupun transfer elemen *mobile*.

Pada saluran pencernaan manusia banyak sekali mikroflora normal. Pada lambung, flora normal bersifat *transient* dengan konsentrasi sangat rendah (10^3 - 10^6 /g). *Helicobacter pylori* merupakan kuman yang ada pada lambung dan menentukan flora mikroba lain di lambung. Saat *H. pylori* menghuni lambung sebagai komensal maka dijumpai berbagai mikroba lain seperti *Streptococcus*, *Prevotella*, *Veillonella*, dan *Rhotia*. Bila jumlah mikroba tersebut menyusut maka *H. pylori* bersifat patogen yang mengakibatkan pembentukan ulkus dan gastritis. Sedangkan pada usus, mikroflora normal yang ada adalah *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, dan *Ruminococcus* [23]. Jadi selain sel *E. coli*, masih banyak lagi mikro flora normal dalam saluran pencernaan manusia yang mungkin akan terpengaruh apabila terpapar oleh air rebusan daun sirih. Oleh karena itu, dibutuhkan penelitian yang serupa namun dengan bakteri mikroflora lain selain *E. coli* untuk mengetahui efeknya apabila terpapar air rebusan daun sirih secara berulang-ulang. Selain itu karena adanya kemampuan sel untuk melakukan *recovery* saat dipaparkan air rebusan daun sirih pada suatu waktu tertentu, maka pada penelitian selanjutnya dibutuhkan waktu generasi yang lebih panjang dari 130 generasi untuk melihat kecenderungan *recovery* sel semakin meningkat atau semakin menurun.

4. Kesimpulan

Dosis pemakaian air rebusan daun sirih di ma-

syarakat (5% b/v) tidak menghambat pertumbuhan sel *Escherichia coli*. Tidak terjadi perubahan kepekaan sel *E. coli* setelah dipaparkan terhadap air rebusan daun sirih selama 130 generasi baik terhadap air rebusan daun sirih itu sendiri maupun terhadap beberapa antibiotika uji.

Daftar Pustaka

1. Winarno GD, Harianto SP, Bintoro A, Hilmanto R. Etnobotani Tumbuhan Obat Tradisional Masyarakat Sekitar Tahura Wan Abdul Rachman Lampung. Sleman: Deepublish; 2018.
2. Kurniawati D, Rukmi MI, Lunggani AT. Aktivitas Antimikroba Kombinasi Rebusan Daun Sirih Hijau (*Piper betle*) dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap *Candida albicans*. *J Akad Biol*. 2014;3(1):55–61.
3. Nayaka NMDMW, Sasadara MMV, Sanjaya DA, Yuda PESK, Dewi NLKAA, Cahyaningsih E, et al. *Piper betle* (L): Recent Review of Antibacterial and Antifungal Properties, Safety Profiles, and Commercial Applications. *Molecules*. 2021;26(8):2321.
4. Amanda S, Mastra N, Sudarmanto IG. Uji Aktivitas Antibakteri Rebusan Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes*. *Meditory J Med Lab*. 2019;7(1):37–43.
5. Anas R, Kurniawan K, Puspitasari Y. Perbedaan Daya Hambat Antibakteri antara Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *As-Syifaa*. 2018;10(01):120–5.
6. Bustanussalam B, Apriasi D, Suhardi E, Jaenudin D. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *FITOFARMAKA J Ilm Farm*. 2015;5(2):58–64.
7. Pinatik NJ, Joshep WBS, Akili RH. Efektivitas Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* Linn.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *E-Journal Univ Sam Ratulangi*. 2017;6:1–9.
8. Kursia S, Lebang JS, Taebe B, Burhan A, Wa OR. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Indones J Pharm Sci Technol*. 2016;3(2):72–7.
9. Widyaningtias NMSR, Yustiantara PS, Paramita NLPV. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *J Farm Udayana*. 2014;3(1):50–3.
10. Jayalakshmi B, Anandarao RK, Mahadevamurthy, Murali Amruthesh KN. Phytochemical, Antibacterial and Antioxidant Studies on Leaf Extracts of *Piper innovare*. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2015;7(10):23–9.
11. Kurnia D, Hutabarat GS, Windaryanti D, Herlina T, Herdiyati Y, Satari MH. Potential Allylpyrocatechol Derivatives as Antibacterial Agent Against Oral Pathogen of *S. sanguinis* ATCC 10,556 and as Inhibitor of MurA Enzymes: in vitro and in silico Study. *Drug Des Devel Ther*. 2020;14:2977–85.
12. Singh D, Narayanamoorthy S, Gamre S, Majumdar AG, Goswami M, Gami U, et al. Hydroxychavicol, A Key Ingredient of *Piper betle* Induces Bacterial Cell Death by DNA Damage and Inhibition of Cell Division. *Free Radic Biol Med*. 2018;120:62–71.
13. Li M, Liu Q, Teng Y, Ou L, Xi Y, Chen S, et al. The Resistance Mechanism of *Escherichia coli* Induced by Ampicillin in Laboratory. *Infect Drug Resist*. 2019;12:2853–63.
14. Laureti L, Matic I, Gutierrez A. Bacterial Responses and Genome Instability Induced by Subinhibitory Concentrations of Antibiotics. *Antibiot (Basel, Switzerland)*. 2013;2(1):100–14.
15. Kampf G. Biocidal Agents Used for Disinfection Can Enhance Antibiotic Resistance in Gram-Negative Species. *Antibiot (Basel, Switzerland)*. 2018;7(4):1–24.
16. Russell AD, Tattawasart U, Maillard JY, Furr JR. Possible Link Between Bacterial Resistance and Use of Antibiotics and Biocides. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1998;42(8):2151.
17. Moken MC, McMurry LM, Levy SB. Selection of Multiple-Antibiotic-Resistant (mar) Mutants of *Escherichia coli* by Using the Disinfectant Pine

- Oil: Roles of the mar and acrAB loci. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41(12):2770-2.
18. Becerril R, Nerín C, Gómez-Lus R. Evaluation of Bacterial Resistance to Essential Oils and Antibiotics After Exposure to Oregano and Cinnamon Essential Oils. *Foodborne Pathog Dis.* 2012;9(8):699-705.
 19. Vadhana P, Singh BR, Bharadwaj M. Emergence of Herbal Antimicrobial Drug Resistance in Clinical Bacterial Isolates. *Pharm Anal Acta.* 2015;6(10):3-7
 20. Nurcahyanti ADR, Dewi L, Timotius KH. Antioxidant and Antibacterial Activities from Polar and Non Polar Basil (*Ocimum sanctum* Linn) Seed Extracts. *J Teknol dan Ind Pangan.* 2011;22(1):1-6.
 21. Bhalerao S a, Verma DR, Gavankar R V, Teli NC, Rane YY, Didwana VS, et al. Phytochemistry, Pharmacological Profile and Therapeutic Uses of *Piper Betle* Linn. – An Overview. *J Pharmacogn Phytochem Phytochem.* 2013;1(2):10-9.
 22. Tseng S, Tsai W, Liang C, Lin Y, Huang J, Chang C, et al. The Contribution of Antibiotic Resistance Mechanisms in Clinical *Burkholderia cepacia* Complex Isolates : An Emphasis on Efflux Pump Activity. *PLoS One.* 2014;9(8):e104986.
 23. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Nageshwar Reddy D. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol.* 2015;21(29):8787-803.