



Effectiveness of Betel Leaf Extract (*Piper betle* L.) against bacterial infection (*Vibrio paraharmolyticus*) in Vaname Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

(Efektifitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap infeksi bakteri (*Vibrio paraharmolyticus*) pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*))

Vina Panduwinata^{1✉}, Harlina², St Hadijah², Andi Hamdillah² dan Ilmian²

¹ Mahasiswa Manajemen Pesisir dan Teknologi kelautan, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Indonesia.

² Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Indonesia.

Email: Vinapanduwinata4697@gmail.com

Article Info:

Received : 02 Mar. 2025

Accepted : 20 Mei 2025

Online : 25 Mei 2025

Article type :

<input type="checkbox"/>	Review Article
<input type="checkbox"/>	Common Serv. Article
<input checked="" type="checkbox"/>	Research Article

Keyword :

Betel Leaf Extract,
Bacterial, *Piper betle*,
Litopenaeus vannamei

Corresponding Author :

Vina panduwinata
Universitas Muslim
Indonesia, Makassar,
Indonesia

Email :
Vinapanduwinata4697@gmail.com

This study aims to determine the efforts of Islamic religious education teachers in dealing with Shrimp is one of the leading commodities in the fisheries sector in the world, including Indonesia, and one of the main commodities that is currently widely cultivated by traditional and intensive farmers. Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) is caused by the bacteria *V. parahaemolyticus*. This bacteria has a lot of resistance to synthetic antibiotics. One alternative in dealing with this is the use of antibacterials from natural ingredients from one of the widely used plants, namely Betel Leaf. This research aims to identify the types of bioactive compounds in the methanol extract of betel leaves (*Piper betle* L) observing the Clear Zone. And knowing the inhibitory ability of methanol extract of betel leaves (*Piper betle* L). through determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) against *V. parahaemolyticus*. This research used experimental methods and completely random sampling (RAL). By carrying out a GC-MS test to identify the bioactive compounds contained in betel leaves. Antibacterial activity test and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) tests to determine the ability of betel leaf extract to inhibit *Vibrio parahaemolyticus* bacteria. And a challenge test to determine the survival rate. The results of descriptive analysis and Anova statistical tests show that betel leaf extract contains 5 secondary metabolic compounds. The use of betel leaf extract 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml shows strong inhibitory power with a minimum concentration of 3.12 mg/ml and 6.25 mg/ml after the Survival Rate challenge test was carried out for vaname shrimp treated with 85% betel leaf extract, while the administration of betel leaves was also able to reduce the clinical symptoms experienced by vaname shrimp with a concentration of 50 mg/ml. Conclusion: These results identify that betel leaf extract has secondary metabolic compounds that can be used as antibacterials in white shrimp cultivation activities.



Copyright©2025, Vina panduwinata, Harlina, St Hadijah, Andi Hamdillah, Ilmian.

I. PENDAHULUAN

Udang merupakan salah satu komoditas unggulan dalam sektor perikanan di dunia termasuk Indonesia dan banyak diminati di negara Amerika Serikat, Uni Eropa dan Jepang.

Produksi Udang vaname memberikan kontribusi yang signifikan terhadap perekonomian dunia, dengan kebutuhan pasar di manca negara yang luas dan terus meningkat. Berdasarkan catatan KKP, volume ekspor udang Indonesia hingga

akhir tahun 2018 mencapai 180 ribu ton naik dari 147 ribu ton pada tahun 2017. Kementerian Kelautan dan Perikanan menargetkan adalah nilai ekspor produk udang beku meningkat menjadi 250 persen pada tahun 2024.

Bakteri merupakan agensia penyakit yangn paling banyak ditemui adalah bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. menyebabkan kematian hingga 100% pada tahap larva atau juvenil. Di lingkungan perairan, penyakit bakteri ini dapat menyebar melalui kontak langsung dengan inang yang terinfeksi, peralatan bekas, bagian tubuh ikan, tumbuhan dan hewan air, serta air yang dikonsumsi oleh ikan yang terinfeksi. Bila penyakit ini menyerang udang yang berumur 20–30 hari, angka kematiannya bisa mencapai 100%.

Selama ini upaya pengendalian penyakit dilakukan dengan menggunakan antibiotik. Keberhasilan pengendalian penyakit sangat bergantung pada ketepatan diagnosis, namun saat ini antibiotik terbukti menyebabkan resistensi terhadap bakteri jika terus digunakan, dan adanya residu Bila penyakit ini menyerang udang yang berumur 20–30 hari, angka kematiannya bisa mencapai 100%. Selama ini upaya pengendalian penyakit dilakukan dengan menggunakan antibiotik. Keberhasilan pengendalian penyakit sangat bergantung pada ketepatan diagnosis, namun saat ini antibiotik terbukti menyebabkan resistensi terhadap bakteri jika terus digunakan, dan adanya residu

Antibiotika pada udang dan manusia sehingga perlu mencari alternatif lain yang lebih efektif dan aman. Salah satu pendekatan yang dapat diterapkan adalah penggunaan senyawa bioaktif alami berspektrum luas tanpa efek samping yang merugikan.

II. METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat

Lokasi Penelitian adalah di laboratorium bilogi terpadu fakultas perikanan dan ilmu kelautan universitas muslim indonesia. yang di laksanakan pada 25 oktober - 25 november 2024

2.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah menggunakan wadah akuarium sebagai tempat pemeliharaan dengan ukuran Panjang x Lebar x Tinggi (40 cm x 25 cm x 28 cm) akuarium , aerator, perangkat aerasi, timbangan digital, dissecting set, mikropipet, mikrotube, labu erlenmeyer, syringe 1 ml, kaca preparat, penutup

kaca preparat, DO meter, pH meter, termometer. Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah udang vaname (*Litopenaeus vannamei*), Antikoagulan Na-sitrat 3,8%, methanol, pewarna Giemsa, ekstrak daun Sirih (*Piper brtle L.*)

2.3. Metode Penelitian

Metode yang digunakan adalah menggunakan Metode eksperimental dan racangan acak lengkap (RAL). Sampel A,B,C dan D dimna A (Kontrol), B (10 mg/ml), C (15 ml/ml) dan D (20 mg/ml), udang vaname yang telah diinfeksi bakteri *V.parahaemolyticus* dengan kepadatan 10^7 sel/ml melalui metode penyuntikan 0,1 ml. Jumlah udang yang di pelihara tiap perlakuan masing-masing 10 ekor. Selama masa pemeliharaan , udang di beri pakan sebanyak 3% dari total berat udang dengan frekuensi pemberian pakan 3 kali sehari yaitu pada pukul 8:00 WITA, 13:00 WITA, dan 17: 30 WITA. Udang yang diinfeksi akan di rendam pada ekstrak daun sirih yang masing-masing perlakuan keculi perlakuan A (kontrol). Untung mengetahui *Survival Rate*.

2.4. Parameter Penelitian

2.4.1. Uji GC_MS ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle L*)

Untuk mengetahui senyawa kimia dilakukan analisis GC-MS pada ekstrak daun sirih menggunakan alat GCMS ultra (Shimadzu). Menggunakan protocol standar untuk mendapatkan mengidentifikasi senyawa aktif yang terkandung di dalamnya.

2.4.2. Uji Aktivitas Bakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode double layer agar (Isnansetyo & Kamei, 2003). Ekstrak metanol ditimbang sebanyak 50 mg dan dimasukkan dalam vial. Masing-masing ekstrak dilarutkan dengan metanol sebanyak 1 mL. Selanjutnya ekstrak tersebut dihomogenkan dengan menggunakan vorteks sebelum dilakukan pengujian. Ekstrak diteteskan sebanyak 20 μ L (dosis 1000 μ g) ke paper disk (diameter 6 mm) lalu dikeringanginkan dalam pelarutnya inkubator agar menguap. Ocytetracyclin (OTC) sebagai kontrol positif dan metanol sebagai kontrol negatif. Suspensi bakteri uji *V. parahaemolyticus* kepadatan 10^7 sel. diambil sebanyak 37 mL atau lalu dicampurkan ke dalam soft agar (TSB + 0,7 % agar). Soft agar yang telah diinokulasi bakteri dituang secara perlahan di atas medium TSA petri lalu di biarkan hingga memadat. Paper disk yang telah kering diletakkan di atas soft agar secara hati-hati. Pengamatan zona hambat dilakukan setelah

masa inkubasi 24 jam dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk pada media soft agar di sekitar paper disc.

2.4.3. Penentuan Minimum Inhibitori Concentration (MIC) dan Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram untuk mengukur aktivitas antibakteri senyawa bioaktif yang terdapat pada bagian daun dari tumbuhan Daun Sirih (*Piper betle L.*). Langkah-langkah yang perlu dilakukan adalah mengambil *crude extract* sebanyak dari masing-masing perkakuan ekstrak Daun Sirih. lalu diencerkan secara bertingkat menggunakan metanol dengan konsentrasi 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125, 1,56, 0,78, 0,39) mg/disk). Selanjutnya setiap konsentrasi akan diambil sebanyak 50 µL dan akan diteteskan ke dalam cawan petri yang berisi *paper disk* lalu dikering anginkan di dalam *laminar flow* agar pelarutnya menguap. Kemudian, *paper disk* yang telah kering selanjutnya akan diletakkan pada media TSB Soft Agar yang berisi bakteri secara hati-hati dan dibiarkan hingga memadat. Setelah memadat, selanjutnya media tersebut akan dimasukkan ke dalam inkubator. Konsentrasi fraksi aktif terendah yang masih menunjukkan zona hambat adalah nilai MIC, sedangkan konsentrasi ekstrak aktif terendah yang mampu membunuh bakteri setelah diinkubasi selama 48 jam adalah nilai MBC.

2.4.4. Survival Rate (SR)

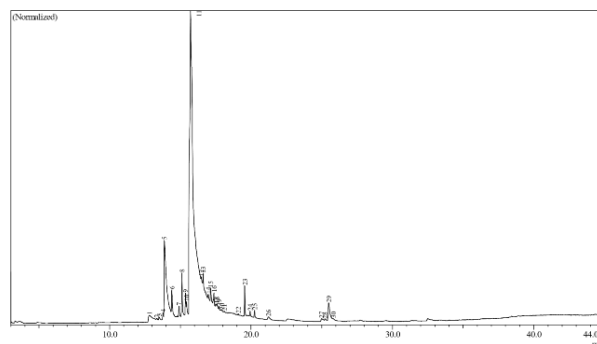
Survival rate (SR) merupakan tingkat kelangsungan hidup udang dibandingkan dengan jumlah tebar dan dinyatakan dengan persen. Tingkat kelangsungan hidup udang vaname (*L.vannamei*) diperoleh dengan cara menghitung jumlah udang yang hidup setiap unit percobaan secara manual pada awal dan akhir penelitian. Tingkat kelangsungan hidup dihitung dengan rumus Finly Dwi Arisanti, Endang Arini (2013) sebagai berikut :

$$SR (\%) = \frac{Nt}{No}$$

Keterangan : SR = Merupakan kelangsungan hidup(%), Nt = Merupakan jumlah udang uji yang hidup pada akhir pengamatan (individu), N0 = Merupakan jumlah udang uji yang ditebar pada awal pengamatan (individu)

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

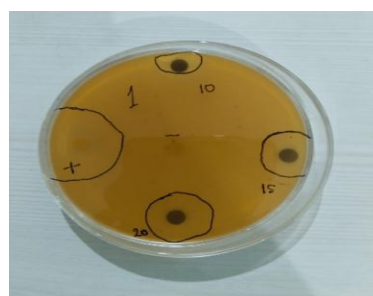
3.1. Uji GC-MS kandungan ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle L.*)



Gambar 1. Hasil Kilotogram GC_MS

Dari Hasil Uji GC-MS minyak atsiri daun sirih hijau (*piper betle L*) di hasilkan senyawa terbanyak 30 senyawa, dari 30 senyawa yaitu diantaranya 5 senyawa turunan fenol (senyawa cavicol (0,84%), eugenol dengan waktu terdeteksi pada menit 13,870, dengan nilai reteksi 10,41%, gamma.-Muurolene dengan waktu terdeteksi pada menit 15,117 dengan nilai reteksi 1,56%, phenol,2-methoxy-4-(2-propenyl) acetate (CAS), dengan waktu terdeteksi pada menit 15,724 dengan nilai reteksi 63,93 %, Neophytadiene dengan waktu yang terdeteksi pada menit 19,553 menit dengan nilai reteksi 0,88 %. Dan 5 senyawa seskuioterpen (germacren D (9,08 %), karyofilen.

3.2. Uji Aktivitas Antibakteri



Gambar2. Hasil uji Aktivitas Antibakteri

Pada penelitian ini telah dilakukan Uji daya hambat daun sirih (*Piper betle L.*) merupakan uji pendahuluan untuk mengamati aktivitas antibakteri suatu senyawa. Prinsip uji daya hambat adalah bahwa komponen bioaktif daun daun sirih (*Piper betle L*) dilakukan dengan metode difusi menggunakan *double layer agar*.

Setelah dilakukan pengujian aktvitas antibakteri dengan 3 ulangan menunjuka bahwa diameter uji paling besar di hasilkan pada

konsentrasi 20 mg/ml dengan rata-rata diameter zona hambat 20,0 mm pada konsentrasi 15 mg/ml dengan rata-rata diameter zona hambat 17,3 mm pada konsentrasi 10 mg/ml dengan rata-rata diameter zona hambat 14,7 mm. pada kontrol positif berupa Oxytetracyclin (OTC) 0,5 mg/ml didapatkan rata-rata zona hambat sebesar 23,0 mm sedangkan pada kontrol negatif berupa pelarut methanol tidak terdapat zona hambat, Hal ini menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak memiliki efektivitas untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahemolyticus*. Menurut Davis & Stout 1971 dalam mengemukakan bahwa zona hambat yang terbentuk pada media dapat diklasifikasikan menjadi empat golongan yaitu apabila zona hambatnya <5 mm dikategorikan lemah, zona hambat berkisar 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat berkisar 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat >20 mm dikategorikan sangat kuat. Kontrol positif yang digunakan adalah OTC 0,5 mg karena merupakan jenis antibiotik yang diindikasikan untuk bakteri *parahaemolyticus*. Diameter zona hambat yang terbentuk dari kontrol positif yaitu 23,0 mm dikategorikan sangat kuat dan kontrol negatif metanol 96% tidak menunjukkan daya hambat terhadap bakteri uji. Selanjutnya Kontrol negatif dibuat untuk melihat ada atau tidaknya aktivitas pada pelarut. Sedangkan kontrol positif dibuat sebagai kontrol metode yang bertujuan untuk memastikan metode yang dilakukan sudah benar atau belum yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat.

3.3. Penentuan *Minimum Inhibitor Conentration*) (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentratio* (MBC)

Tabel 1. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih

No	Konsentrasi MIC	Bakteri <i>V. parahaemoyticus</i>
1	50	+
2	25	+
3	12,5	+
4	6,25	+
5	3,12	+
6	1,56	-
7	0,78	-
8	0,39	-

Keterangan: (+) terbentuk zona hambat, (-) tidak ada Zona hambat

Berdasarkan dari hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih dengan konsentrasi berbeda bahwa MIC ekstra daun sirih terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* setelah

inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C ditemukan bahwa zona hambat terbentuk pada 3 konsentrasi yaitu 50mg/ml, 25 mg/ml,12,5 mg/ml, 6,25 mg/ml dan 3,12 mg/ml dari kelima hasil tersebut bahwa 3,12mg/ml merupakan konsentrasi terendah antimikroba yang terkandung dalam ekstrak daun sirih yang menghambat pertumbuhan *V.parahamolyticus*.

Hasil yang dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode cakram *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) merupakan kosentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba (Herrera *et al.*, 2014). Pada uji aktivitas antibakteri ini pada media yang digunakan adalah *Trypticase Soy Agar* (TSA), yang telah didasarkan pada orientasi sebelumnya dengan hasil bahwa bakteri dapat tumbuh pada media tersebut.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode cakram *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

No	Konsentrasi MBC	Bakteri <i>V. parahaemoyticus</i>
1.	50	+
2.	25	+
3.	12,5	+
4.	6,25	+
5.	3,12	-
6.	1,56	-
7.	1,78	-
8.	0,39	-

Keterangan : (+) terbentuk zona hambat, (-) tidak ada zon hambat

Untuk menentukan nilai konsentrasi MBC dari ekstrak daun sirih terhadap *V.parahaemolyticus* pengujian dilanjutkan dengan masa inkubasi media sampai 48 jam pada suhu yang sama.Berdasarkan dari hasil pengamatan setelah inkubasi media selama 48 jam MBC adalah uji lanjut MIC merupakan konsentrasi terendah antimikroba yang mampu membunuh mikroorganisme yang ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri pada media *Trypticase Soy Agar* (TSA) double layer. Berdasarkan hasil pengamatan uji *minimum bactericidal concentration* (MBC) ekstrak daun sirih dengan konsentrasi berbeda terhadap *V. parahaemolyticus* setelah inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C, pada konsentrasi 6,25 mg/ml ekstrak daun sirih ditemukan adanya zona bening yang terbentuk diekitar paper disk, hal ini menunjukkan tidak adanya lagi pertumbuhan bakteri *V.*

parahamolyticus di sekitar paper disk, bakteri yang ada mengalami kematian akibat dari proses difusi zat aktif dari ekstrak daun sirih yang ditambahkan pada paper disc. Nilai MBC daun sirih 6,25 merupakan konsentrasi terendah yang membunuh pertumbuhan *V. parahamolyticus*. Hal ini ditandai adanya zona bening yang terbentuk pada media yang berarti bakteri di sekitar paper disc mengalami kematian.

3.4 Tingkat Kelangsungan Hidup (*Survival Rate*)

Hasil dari penelitian ini udang vaname yang mengalami infeksi dari bakteri *Vibrio parahameolitycus* mempunyai tingkat kelangsungan hidup hanya sebesar 26,67%, disisi lain ketika diberikan perlakuan berupa perendaman ekstrak daun sirih dapat meningkatkan kelangsungan hidup sebesar 85%. Hal ini sejalan dengan hasil dari uji antibakteri dimana ekstrak dapat menekan pertumbuhan dari bakteri *vibrio parahameolitycus*.

Hasil serupa didapatkan oleh dimana kelangsungan hidup bahkan dapat mencapai 85%, perendaman ekstrak daun sirih juga dapat meningkatkan kelangsungan hidup udang vaname yang terinfeksi bakteri *Vibrio alginolyticus* dengan presentase terbesar 86,66%.

IV. PENUTUP

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilaksanakan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut

1. Berdasarkan hasil uji GS-MS diketahui ekstrak daun sirih mengandung senyawa metabolisme sekunder dari golongan *mycosporines*, *fenol*, *alkaloid*, *fitosterol*, dan *steroid*.
2. Ekstrak daun sirih mempunyai aktivitas antibakteri yang kuat dengan konsentrasi minimal yang menghambat 6,25 ml/ml, dan 20 mg/ml, sehingga dapat meningkatkan performansi udang vaname yang terjangkit bakteri *V. parahamolyticus* secara makroskopis dari *survival rate* (SR), mengurangi gejala klinis

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Rektor Universitas Muslim Indonesia (UMI), dosen pembimbing dan dosen penguji yang telah memberi dukungan dan bimbingan sehingga penelitian bisa berjalan dengan lancar. Terima kasih pula kepada Kepala Laboratorium Rekayasa Biota dan Lingkungan yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian ini sehingga dapat berlangsung sesuai dengan harapan.

REFERENSI

- Ariantika, Liony, Cindy Reina, Sindi Sulistiani, Rahma Yunita, Risa Nabila, Candra Galang, and others, 'Analisis Komponen Senyawa Minyak Atsiri Dalam Tumbuhan Dengan Menggunakan Metode GC-MS', *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 10.13 (2024), pp. 475-92 <<https://doi.org/10.5281/zenodo.12787232>>
- Harlina Harlina, Azizah Ibrahim, Andi Hamdillah dan Ilmiah Ilmiah, 'Aktifitas Antibakteri Ekstrak Piper Betle Linn Terhadap *Vibrio Parahaemolyticus* Penyebab Penyakit Pada Udang Vaname (*Litopenaeus Vannamei*)', *Aktifitas Antibakteri Ekstrak Piper Betle Linn Terhadap *Vibrio Parahaemolyticus* Penyebab Penyakit Pada Udang Vaname (*Litopenaeus Vannamei*)*, 17.1 (2024), pp. 312-20
- Harlina, Harlina, Alfirah Alfirah, Rosmiati Rosmiati, Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Muslim Indonesia, and others, 'Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Hasil Partisi Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum*) Terhadap Pertumbuhan *Vibrio Parahaemolyticus* Bacterial Activity Test of Basil Leaf Partition Extract (*Ocimum Basilicum*) on The Growth of *Vibrio Parahaemolyticus*', *Oktober*, 1.1 (2023)
- Haryotejo, Bagas, 'Analisa Diversifikasi Pasar Ekspor Komoditi Udang Indonesia', *Jurnal Sosial Ekonomi Kelautan Dan Perikanan*, 8.1 (2015), p. 85, doi:10.15578/jsekp.v8i1.1199
- Pertiwi, Reza, Salprima Yudha S, Risky Hadi Wibowo, Doni Notriawan, Riski Padilah Nasution, Afra Wafiqah Azhar, and others, 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mangrove (*Rhizophora Mucronata*) Pada Bakteri *Helicobacter Pylori* Penyebab Tukak Lambung', 12.1 (2024), pp. 202-9
- Wardika, Aziz Sinung, Suminto, and Agung Sudaryono, 'Journal of Aquaculture Management and Technology Journal of Aquaculture Management and Technology', *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 3.4 (2014), pp. 9-17 <<http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jamt>>