

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Sukriani Kursia¹, Julianri S. Lebang¹, Burhanuddin Taebe¹, Asril Burhan², Wa O. R. Rahim¹, Nursamsiar¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia

²Akademi Farmasi Kebangsaan Makassar, Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia

Abstrak

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan salah satu tanaman yang digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional. Ekstrak etilasetat daun sirih hijau mengandung senyawa antibakteri yang terdiri dari senyawa fenol dan turunannya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antibakteri ekstrak etilasetat daun sirih hijau terhadap bakteri *S. epidermidis*. Sirih hijau diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dan diuji aktivitas penghambatannya terhadap bakteri *S. epidermis* dengan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan daya hambat ekstrak pada konsentrasi 3% dan 5%, yaitu 9,8 dan 15 mm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. epidermidis* dalam kategori sedang-kuat.

Kata kunci: Daun sirih hijau, etil asetat, *Piper betle* L, difusi agar, *Staphylococcus epidermidis*

Antibacterial Activity Test of Ethylacetate Extract of Green Betel Leaf (*Piper betle* L.) towards *Staphylococcus epidermidis* Bacteria

Abstract

Green betle (*Piper betle* L.) leaf is one of the plants used by the people of Indonesia for traditional herbal medicine. Ethylacetate extract of green betel leaf contains antibacterial components consisting of phenol compound and its derivatives. This study was aimed to determine the antibacterial activity of ethylacetate extracts of green betel leaf against *S. epidermidis*. Green betel was extracted using ethylacetate solvent and assayed the activity on *S. epidermidis* by the agar diffusion method. The results showed inhibition of the extract at a concentration of 3 and 5%, which is 9.8 and 15 mm, respectively. The result showed that the ethylacetate extract has antibacterial activity on category of medium-strong

Key words: Ethylacetate, green betle leaf, *Piper betle* L, agar diffusion, *Staphylococcus epidermidis*.

Pendahuluan

Penderita jerawat umumnya diderita oleh sekitar 75-80 % orang dewasa yang sering menyebabkan rasa kurang nyaman dari penderitanya. Masalah yang timbul selain berhubungan dengan estetika juga psikologi, yaitu dapat mengakibatkan depresi dan kegelisahan. Prevalensi penderita tergantung pada umur dan jenis kelamin⁸. Pemeliharaan kesehatan oleh masyarakat di negara-negara berkembang menurut *World Health Organization* (WHO) 80% menggunakan tanaman yang mengandung senyawa berkhasiat obat berdasarkan pengalaman masa lalu¹. Indonesia adalah salah satu Negara berkembang dengan iklim tropis dan memiliki keragaman yang cukup besar sehingga memiliki sumber bahan baku obat khususnya obat tradisional yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat secara turun temurun⁶.

Sheikh et al., (2012) menyatakan bahwa penggunaan ekstrak tumbuhan yang memiliki aktivitas antimikroba sangat membantu dalam penyembuhan. Salah satu tanaman yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri adalah Sirih hijau (*Piper betle* L.)¹⁰. Daun sirih hijau digunakan sebagai obat batuk, obat cacing, dan antiseptik luka¹⁶. Daun sirih hijau mengandung berbagai macam kandungan kimia, antara lain minyak atsiri, terpenoid, tanin, polifenol serta steroid.^{5, 3, 19}

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam tumbuhan sirih hijau tidak seluruhnya merupakan senyawa polar, namun juga terdapat senyawa non polar ataupun semi polar dan bersifat lipofil, sebagaimana yang terkandung pada tanaman tingkat tinggi pada umumnya. Pelarut etanol, etilasetat dan n-heksan merupakan pelarut organik yang banyak digunakan dalam proses ekstraksi, yang dapat melarutkan senyawa flavonoid, saponin, aglikon flavonoid, steroid dan lain-lain,^{15, 13, 8, 14, 1}

Hasil penelitian oleh Suliantari (2008) menunjukkan hasil ekstrak etanol daun sirih hijau dapat menghambat bakteri *S.aureus*

dengan kategori sedang, penelitian lain oleh Anang Hermawan (2007), bahwa ekstrak daun sirih hijau dengan pelarut DMSO (Dimethyl Sulfoxide) dapat menghambat aktivitas bakteri *S.aureus* dengan kategori kuat. Selain itu juga memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *P. acnes* dan *S.aureus*¹⁸

Jerawat adalah penyakit yang banyak diderita masyarakat terutama remaja. Penyakit ini dapat disebabkan oleh bakteri yaitu *P.acnes* dan bakteri *S.epidermidis*. Bakteri ini merupakan flora normal di kulit, namun dapat bersifat invasif. Penyebab lain adanya zat nutrisi bagi bakteri yang diproduksi dari sekresi kelenjar sebacea yakni air, asam amino, urea, garam dan asam lemak. Bakteri ini berperan pada proses kemotaktik inflamasi serta pembentukan enzim lipolitik pengubah fraksi sebum menjadi massa padat, yang menyebabkan terjadinya penyumbatan pada saluran kelenjar sebacea.^{9, 12}

Jerawat yang disebabkan oleh beberapa bakteri seperti *P.acnes*, *S.aureus* dan *S.epidermidis* menimbulkan efek yang berbeda-beda. *P.acnes* menghasilkan lipase yang memecah asam lemak bebas dari lipid kulit yang akan menyebabkan terjadinya inflamasi jaringan sehingga mendukung terbentuknya acne. *S.aureus* menyebabkan infeksi termasuk jerawat yang menghasilkan nanah. Sedangkan apabila *S.epidermidis* berkembang pada kelenjar sebaceous dan tersumbat, akan menghasilkan zat-zat yang akan menyebabkan iritasi pada daerah sekitarnya selanjutnya akan membengkak, pecah dan kemudian menyebarkan radang ke jaringan kulit.

Berdasarkan penelitian-penelitian yang ada mengenai pengujian terhadap bakteri *P.acnes* dan *S.aureus* yang berperan^{4, 11} yang dilakukan menggunakan Daun Sirih, sampai saat ini belum ditemukan pengujian terhadap bakteri *S.epidermidis* sehingga penelitian ini dilakukan untuk melihat aktivitas antibakteri ekstrak etilasetat dari daun sirih hijau terhadap bakteri *S. epidermidis*.

Metode

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu autoklaf, bejana maserasi, cawan petri (*normax*), Erlenmeyer (Pyrex), gelas kimia (Pyrex), inkubator (memmert), jangka sorong, jarum ose, Laminar Air Flow (LAF), lampu bunsen, mikro pipet, tabung reaksi (Pyrex), oven, pinset, swab, timbangan analitik, *waterbath*.

Bahan-bahan yang digunakan adalah aquadest steril, bakteri uji *S. epidermidis*, daun sirih hijau, etil asetat, etanol 70%, FeCl_3 , larutan besi (III) klorida 1%, HCl, H_2SO_4 , larutan HgCl_2 dan KI, larutan $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, HNO_3 , dan KI, larutan asam asetat anhidrat dan kloroform, media *Nutrient Agar* (NA), NaCl 0,9%, paper disc tetrasiklin 30 μg , paper disc blank, serbuk mg.

Pengambilan Sampel

Sampel penelitian adalah daun sirih hijau yang diperoleh dari Pasar Terong kota Makassar Sulawesi Selatan yang selanjutnya dilakukan determinasi di Laboratorium Biologi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar.

Pembuatan Simplisia

Daun sirih hijau disortasi basah lalu dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, lalu ditiriskan, selanjutnya dirajang atau dipotong kecil-kecil. Kemudian dikeringkan pada suhu 50-60°C di lemari pengering selama 3-5 hari selanjutnya sortasi kering.

Ekstraksi

Simplisia ditimbang sebanyak 300 gram, kemudian dimasukkan kedalam wadah maserasi, lalu di basahkan dengan sedikit etil asetat dan selanjutnya direndam hingga 2,25 L, diaduk kemudian ditutup rapat. Didiamkan selama 3 x 24 jam terlindung dari cahaya dengan perlakuan tiap hari diaduk sebanyak tiga kali sehari. Setelah hari ke 3 sampel disaring dan dipisahkan

ampas dan filtratnya. Selanjutnya, ampas diremaserasi dengan cairan penyari etil asetat yang baru dengan jumlah yang sama. Filtrat yang telah diperoleh, dikumpulkan, dipisahkan dengan alat rotavapor sampai diperoleh ekstrak kental.

Skrining Fitokimia⁷

Uji Saponin

Ekstrak etilasetat sebanyak 0,1 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air hangat atau panas lalu dikocok selama 30 menit. Dilihat busanya dan diukur berapa cm busa yang terbentuk. Dibiarkan selama 5 menit dan jika busanya tidak hilang ditambahkan HCl 2 N. Apabila masih terdapat busa yang konstan maka menunjukkan hasil yang positif.

Uji Flavonoid

Ekstrak etil asetat sebanyak 0,1 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk Magnesium sebanyak 0,5 mg lalu ditambahkan HCl pekat 3 tetes. Warna kuning, hijau, hitam dan orange, menunjukkan positif flavonoid.

Uji Alkaloid

Ekstrak etil asetat sebanyak 0,1 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 2 mL kloroform dan 2 mL ammonia, dikocok kemudian ditambahkan HCl 2N. Larutan yg diperoleh dibagi menjadi 3 bagian dalam tabung reaksi dimana masing-masing tabung reaksi ditambahkan pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer dan pereaksi Wagner. Untuk pereaksi Dragendorf endapan merah/jingga menunjukkan positif senyawa alkaloid, pada pereaksi Mayer endapan putih menunjukkan positif senyawa alkaloid dan pada pereaksi Wagner endapan coklat menunjukkan hasil yang positif.

Uji Tanin

Ekstrak etil asetat sebanyak 0,1 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi,

ditambah 3 tetes FeCl_3 . Warna biru menunjukkan keberadaan tanin *hidrolyzable*. Atau menggunakan penambahan larutan KOH 10 mL dalam 0,5 g ekstrak.

Uji Flavanoid

Ekstrak etil asetat sebanyak 0,1 g dimasukkan ke dalam tabung, kemudian ditambahkan dengan aseton. Selanjutnya residue diekstraksi menggunakan air panas setelah aseton diuapkan. Filtrat kemudian didinginkan. 5 mL NaOH 20% di tambahkan dalam ekstrak. Warna kuning menunjukkan golongan flavanoid. Senyawa kelompok fenol ditandai dengan munculnya warna hijau, merah, ungu atau hitam.

Uji Steroid

Ekstrak etil asetat sebanyak 0,1 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 2 mL H_2SO_4 pekat. Adanya steroid ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi biru atau hijau.

Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan metode panas kering dan panas lembab sedangkan sterilisasi medium dilakukan dengan panas lembab. Sisa pengujian sebelum dibuang dilakukan proses inaktif terhadap mikroorganisme menggunakan metode panas lembab yang selanjutnya dibuang pada tempat pengolahan limbah.

Peremajaan Kultur Murni Bakteri Uji

Satu koloni biakan murni bakteri *S.epidermidis* diambil dengan menggunakan ose steril dari kultur murninya, dan selanjutnya diinokulasikan dalam medium Nutrien Agar (NA) miring, kemudian diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

Pembuatan Suspensi Larutan Uji

Hasil peremajaan bakteri *S.epidermidis* disuspensikan dengan larutan garam fisiologis (NaCl 0,9%), yang setara dengan Mc. Farland 0,5 (10^8 koloni/mL).

Penyiapan Sampel Uji

Ditimbang masing-masing ekstrak daun sirih hijau sebanyak 0,1 g; 0,3 g; dan 0,5 g. Lalu dilarutkan dengan DMSO sedikit hingga larut dan selanjutnya dicukupkan hingga 10 mL untuk memperoleh konsentrasi 1%, 3% dan 5%.

Pengujian Sampel Terhadap Bakteri Uji

Sebanyak 15 mL medium Nutrien Agar (NA) dimasukkan ke dalam cawan petri lalu dibiarkan memadat. Setelah memadat, diambil 1 ose bakteri yang telah diukur berdasarkan standar Mc.Farland 108 kol/mL, kemudian digores secara merata pada permukaan medium, kemudian dimasukkan masing-masing *paper disc* yang telah diteteskan ekstrak etil asetat sebanyak 20 μL secara aseptis menggunakan pinset steril dan sebagai kontrol positif (+) digunakan *paper discs* tetrasiklin dan sebagai kontrol negatif (-) digunakan cairan penyari yang digunakan. *Paper disc* yang telah mengandung ekstrak dimasukkan ke dalam permukaan medium dengan jarak *paper disc* satu dengan yang lainnya 2-3 cm dipinggir cawan petri. Kemudian *paper disc* tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Selanjutnya diameter bening yang terbentuk diamati dan diukur diameter daerah hambatnya dengan jangka sorong. Perlakuan ini kemudian diulang sebanyak tiga kali.

Hasil dan Pembahasan

Proses ekstraksi ekstrak etil asetat daun sirih hijau menghasilkan rendamen sebesar 3,1% dari 300 g simplisa yang di ekstraksi dan hasil identifikasi kimia menunjukkan bahwa ekstrak positif mengandung tannin dan fenolik sedangkan alkaloid steroid, saponin dan flavanoid menunjukkan hasil negatif. Hal ini disebabkan karena senyawa tersebut lebih arut dalam pelarut etil asetat yang bersifat polar. Menurut Harapini *et al.*, (1996), senyawa dalam ekstrak yang diduga berperan sebagai senyawa antimikroba adalah senyawa fenolik. Tannin merupakan

Tabel 1 Hasil Data Pengukuran Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih *S.epidermidis*

Replikasi	Diameter diameter hambat (mm) vs konsentrasi ekstrak			Diameter kontrol (mm)	
	1%	3%	5%	+	-
I	0	9,5	15,3	26,5	0
II	0	9,8	15,5	27,6	0
II	0	10,1	15,2	27,1	0
Total	0	29,4	75	81,2	0
Rata-rata	0	9,8	15	27,0	0

poliflavanoid yang biasanya digunakan sebagai bahan penyegar, mempunyai sifat antimikroba terhadap khamir, bakteri dan kapang. Kemampuan tannin sebagai bahan antimikroba diduga karena tannin akan berikatan dengan dinding sel bakteri, sehingga akan menginaktifkan kemampuan menempel bakteri, menghambat pertumbuhan, aktivitas enzim protease dan dapat membentuk ikatan kompleks dengan polisakarida¹⁶

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etilasetat konsentrasi 1%, 3% dan 5% terhadap *S.epidermidis* menggunakan metode difusi menunjukkan hasil rata-rata diameter hambat 0 mm; 9,8 mm; dan 15 mm. Sedangkan untuk kontrol negatif 0 mm dan kontrol positif 27 mm dalam pelarut etilasetat.

Hasil diameter hambat ekstrak tersebut berdasarkan Davis and Stout, 1971 termasuk kategori sedang-kuat sedangkan kontrol positif kategori sangat kuat. Peningkatan konsentrasi tidak dilakukan karena konsentrasi tersebut cukup besar dan daya hambatnya sudah masuk kategori kuat.

Simpulan

Ekstrak etilasetat dapat menghambat bakteri *S.epidermidis* pada konsentrasi 3% dan 5% memiliki daya hambat sebesar 9,8 mm dan 15 mm (kategori sedang dan kuat).

Daftar Pustaka

1. Angelina, F. S., Agus Sabdono., dan Delianis, P. 2012, Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit. Fakultas Perikanan dan Ilmu kelautan Universitas Diponegoro : Semarang
2. Cowan M.M. 1999, Plant Product as Antimicrobial Agents. J, Microbiology Reviews. 12(4) : 564-582
3. Damayanti, R.M. 2005, Khasiat dan Manfaat Daun Sirih Hijau : Obat Mujarab dari Masa ke Masa. Agro Media Pustaka : Jakarta
4. Datta A, Ghoshdastidar S, Singh M., 2011, Antimicrobial Property of Piper betel Leaf againts Clinical Isolates of Bacteria, International Journal of Pharma Sciences and Research V01.2(3) hal.104-109.
5. Depkes R.I. 1980, Matera Medika Indonesia, Jilid IV. Jakarta
6. Depkes R.I. 2000, Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional. Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan. Departemen Kesehatan Republik .Indonesia : Jakarta.
7. Depkes, 1979, Materi Medika Jilid III, Jakarta
8. Djuanda, A., Hamzah, M., dan Aisah, S. 1999, Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin. Balai Penerbit FKUI : Jakarta
9. Harborne, J.B. 1996, Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Penerbit ITB : Bandung
10. Hoque, M.M., S. Ratttila, M.A., Shishir, M.L., Bari, Y. Inatsu, dan S. Kawamoto. 2011, Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Betel Leaf (Piper betle L.). Againts Some Food Borne Pathogens.

- Bangladesh Journal of Microbiology, Vol. 28(2) : 58.
11. Jawetz, M., dan Adelberg's. 2005, Mikrobiologi kedokteran. (Buku 2). Penerjemah: N. Widorini. Penerbit Salemba Medika : Jakarta
 12. Khan.A. J, Kumar.N., 2011, Evaluation of Antibacterial Properties of Extracts of Piper betel Leaf, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences, ISSN No-2230-7885, 11(01)
 13. Kusumaningtyas, E., Widiati, R.R., dan Gholib, D. 2008, Uji Daya Hambat Ekstrak dan Krim Ekstrak Daun Sirih (Piper betle) Terhadap Candida albicans dan Trichophyton mentagrophytes. Seminar Nasional Tekhnologi Peternakan dan Veteriner.
 14. Maulida, D. dan Zulkarnaen, N. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan menggunakan Solven Campuran n-Heksana, Aseton, dan Etanol. Skripsi, Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro : Semarang
 15. Moeljanto, dan Rini D. 2003, Khasiat dan Manfaat Daun Sirih Obat Mujarab dari Masa ke Masa. PT. Agromedia Pustaka : Jakarta
 16. Nuraini, A.D. 2007, Ekstraksi Komponen Antibakteri dan Antioksidan dari Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd). Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
 17. Priyono, S.H., dan Praptiwi. 2009, Identifikasi Senyawa Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Piper sp. Asal Papua. J. Tek Ling, Vol.10 (30) : 271-276.
 18. Putri,Z.F.2010,UjiAktivitasAntibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) Terhadap *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus aureus* Multiresisten. (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Surakarta : Surakarta
 19. Srisadono, A. 2008, Skrinning Awal Ekstrak Etanol Daun sirih hijau (Piper betle Linn) Sebagai Antikanker dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). (Artikel Karya Tulis Ilmiah). Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro:Semarang
 20. Sheikh, M., Abdullah R.M., M.K., Meghavanshi and Irshad, M. 2012, Studies on Some Plant Extract for Their Antimicrobial Potential Against Certain Pathogenic Microorganisms. American Journal of Plant Sciences. 3. 209-213.
 21. Widowati, Esti.W. 2009, Antifungal Activity of Piper betle L. (Sirih) Leaves. Makalah pada Prosiding The First International Seminar on Science and Technology : Yogyakarta.