

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Pertumbuhan *Propionibacterium acnes*

Vilya Syafriana^{1*}, Rabitha Rusyita¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jaksel 12640

*Email korespondensi: v.syafriana@istn.ac.id

ABSTRAK

Daun sirih merah (*Piper crocatum*) diketahui sebagai salah satu tanaman berkhasiat obat di Indonesia yang salah satunya sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih merah terhadap pertumbuhan *Propionibacterium acnes*. Bahan uji yang digunakan adalah daun sirih merah segar yang diperoleh dari Pusat Studi Biofarmaka Tropika, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor, Jawa Barat. Ekstrak etanol daun sirih merah dibuat dengan metode sokhletasi menggunakan pelarut etanol 96%. Metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas antibakteri adalah difusi cakram dengan variasi konsentrasi ekstrak yaitu 10%, 15%, 20%, dan 25%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* dengan terbentuknya Diameter Daya Hambat (DDH) pada konsentrasi 10% sebesar 9,53 mm; konsentrasi 15% sebesar 10,36 mm; konsentrasi 20% sebesar 10,50 mm; dan konsentrasi 25% sebesar 10,90 mm. Hasil pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditunjukkan pada konsentrasi 10%.

Kata kunci: daun sirih merah, ekstrak etanol, *Piper crocatum*, *Propionibacterium acnes*

Antibacterial Activity Of Ethanol Extract from *Piper crocatum* Leaves Against *Propionibacterium acnes*

ABSTRACT

Red betel leaf (*Piper crocatum*) is known as one of medicinal plant in Indonesia which have antimicrobial activity. The research aim to determine the antibacterial activity from red betel leaves extract against *Propionibacterium acnes*. We used fresh red betel leaves obtained from the Tropical Biopharmaca Research Center, Bogor Agricultural University (IPB), Bogor, West Java. The extract was prepared by soxhletation method using 96% ethanol. The antibacterial activity was done by disc diffusion method with concentration 10%, 15%, 20%, and 25%. The results showed that red betel leaves extract has antibacterial activities against *Propionibacterium acnes* with zone of inhibition around 9,53 mm (at concentration 10%); 10,36 mm (at 15%); 10,50 mm (at 20%); and 10,90 mm (at 25%). The Minimum Inhibitory Concentration test showed that it could inhibit the *Propionibacterium acnes* growth at 10%.

Keywords: ethanol extract, *Piper crocatum*, *Propionibacterium acnes*, red betel leaves

PENDAHULUAN

Sirih merupakan tanaman yang telah banyak digunakan di Asia Tenggara, termasuk di Indonesia. Tanaman sirih dapat dijumpai di beberapa wilayah di Indonesia, baik sebagai tanaman hias maupun sebagai tanaman obat. Salah satu jenis daun sirih yang telah banyak digunakan saat ini adalah daun sirih merah. Daun sirih merah mengandung senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri yang diduga berpotensi sebagai daya antimikroba (Fadlilah, 2015; Parfati & Windono, 2016). Penelitian terdahulu membuktikan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan fungi *Candida*

albicans pada konsentrasi 10%, 20%, 40%, 80% dan 100% (Candrasari *et al.*, 2012).

Jerawat merupakan penyakit pada permukaan kulit wajah, leher, dada, dan punggung yang muncul pada saat kelenjar minyak pada kulit terlalu aktif sehingga pori-pori kulit akan tersumbat oleh timbunan lemak yang berlebihan. Jika timbunan itu bercampur dengan keringat, debu dan kotoran lain, maka akan menyebabkan timbunan lemak dengan bintik hitam di atasnya yang disebut komedo. Apabila pada komedo terdapat infeksi bakteri, maka terjadilah peradangan yang dikenal dengan jerawat. *Propionibacterium acnes* merupakan organisme utama dalam proses lesi peradangan pada jerawat, dimana pertumbuhannya meningkat oleh karena meningkatnya

produksi sebum. Bakteri ini tentunya harus dihambat pertumbuhannya untuk mengurangi terjadi inflamasi (Achermann *et al.*, 2014; Neves *et al.*, 2015).

Berdasarkan hal di atas, maka dilakukan uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun sirih merah terhadap bakteri penyebab jerawat *Propionibacterium acnes*. Pengujian aktivitas antibakteri ditentukan dengan mengukur nilai Diameter Daya Hambat (DDH). Pengujian DDH yang dilakukan adalah dengan menggunakan metode difusi cakram pada media *Mueller Hinton Agar*.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan. Bahan uji yang digunakan adalah daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang diperoleh dari Pusat Studi Biofarmaka Tropika, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor, Jawa Barat. Mikroorganisme uji yang digunakan adalah *Propionibacterium acnes* dan *Malassezia furfur* yang merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta. Bahan yang digunakan adalah etanol 96%, aqua destilata, amoniak 30%, kloroform, asam klorida, pereaksi Dragendorf, Mayer, NaNO₂, AlCl₃, asam sulfat, *Mueller Hinton Agar* (MHA), klindamisin, Dimetil Sulfoksida (DMSO).

Alat yang digunakan adalah oven, lemari pengering simplisia, sokhlet, *rotary evaporator*, labu ukur, gelas piala, Erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, mikropipet, pipet kaca, kertas saring, *waterbath*, cawan uap, cawan Petri, batang pengaduk, pinset, bunsen, aluminium foil, jarum Ose, autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator, jangka sorong, timbangan, blender, lemari pendingin, kertas cakram.

Ekstraksi. Ekstrak etanol daun sirih merah dibuat dengan metode sokhletasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3-4 jam sampai berwarna hijau bening. Ekstrak yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga menjadi ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian diencerkan menggunakan DMSO 100% hingga diperoleh konsentrasi 10%, 15%, 20%, dan 25%. Kontrol positif yang adalah klindamisin dan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 100%.

Uji Aktivitas Antibakteri. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Mikroorganisme uji disuspensikan hingga pengenceran 10⁶. Hasil suspensi diambil sebanyak 100 µl lalu diteteskan ke dalam media MHA yang telah memadat dan diratakan dengan menggunakan batang L hingga tersebar merata ke seluruh permukaan petri. Selanjutnya, cakram kontrol positif, cakram kontrol negatif dan yang mengandung ekstrak etanol daun sirih merah diletakkan pada permukaan media yang mengandung suspensi mikroorganisme uji. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter Daya Hambat (DDH) yang terbentuk di sekeliling cakram diamati dan diukur menggunakan jangka sorong. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan.

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan apabila pada uji aktivitas antibakteri menunjukkan terbentuknya zona hambat di sekitar cakram. Konsentrasi uji untuk KHM ditentukan pada konsentrasi terendah dari nilai DDH. Uji KHM dilakukan dengan metode dilusi padat. Sebanyak 100 µl suspensi mikroorganisme uji dan ekstrak etanol daun sirih merah diteteskan ke atas cawan petri steril, kemudian dituang MHA sebanyak 20 mL. Media tersebut diratakan dengan memutar petri membentuk angka 8. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil uji KHM ditentukan dengan melihat ada atau tidaknya pertumbuhan pada media tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengeringan daun sirih merah segar sebanyak 1.000 g diperoleh 100 g serbuk. Serbuk tersebut kemudian diekstrak menggunakan metode sokhletasi. Tujuan penggunaan sokhletasi yaitu sampel dapat bercampur dengan pelarut yang murni secara berulang pada satu wadah. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% karena lebih stabil dan dapat mengekstraksi senyawa kimia dengan baik, khususnya senyawa-senyawa polar. Sokletasi juga memerlukan pelarut yang lebih sedikit dibandingkan maserasi (Azwanida, 2015; Tiwari *et al.* 2011). Setelah proses sokhletasi diperoleh hasil ekstrak cair sebanyak 440 mL. Hasil ekstrak yang diperoleh kemudian dipanaskan di atas *waterbath* agar dapat menghilangkan sisa-sisa pelarut yang ada pada ekstrak. Hasil akhir ekstrak kental yang didapat sebanyak 4,07 g.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengukur Diameter Daya Hambat (DDH) menggunakan klindamisin sebagai kontrol positif dan DMSO 100% sebagai kontrol negatif. Hasil dari uji DDH terhadap *Propionibacterium acnes* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Diameter daya hambat ekstrak etanol daun sirih merah terhadap *Propionibacterium acnes*

Konsentrasi	Diameter Daya Hambat (mm)			Rerata
	1	2	3	
10 %	8,00	10,00	10,60	9,53
15 %	10,00	10,30	10,80	10,36
20 %	10,20	10,40	10,90	10,50
25 %	11,00	10,60	11,10	10,90
Kontrol Positif	38,10	33,30	36,10	35,83
Kontrol Negatif	-	-	-	-

Keterangan: (-) : tidak ada aktivitas

Hasil uji DDH pada Tabel 1 menunjukkan adanya aktivitas penghambatan terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dari konsentrasi terendah hingga tertinggi, yaitu secara berurutan sebesar 9,53 mm (konsentrasi 10%); 10,36 mm (konsentrasi 15%); 10,50 mm (konsentrasi 20%); dan 10,90 (konsentrasi 25%). Berdasarkan literatur, hambatan pertumbuhan bakteri memiliki beberapa tingkatan diameter daya hambat dan

tingkat respon hambatan pertumbuhan. Pada diameter <6 mm menunjukkan bahwa tidak ada respon hambatan, pada diameter 6-10 mm menunjukkan respon hambatan lemah, pada diameter 11-20 mm menunjukkan respon hambatan sedang, dan pada diameter 21-30 mm menunjukkan respon hambatan kuat (Morales 2003). Hasil pada Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai DDH yang diperoleh dari konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25% masuk dalam kategori hambatan lemah karena diameternya berada pada kisaran 6-10 mm.

Adanya aktivitas daya hambat terhadap *Propionibacterium acnes* kemungkinan karena ekstrak etanol daun sirih merah mengandung beberapa senyawa yang berperan penting sebagai antibakteri, seperti alkaloid, flavonoid, dan tanin. Alkaloid berperan sebagai antibakteri karena diduga mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Flavonoid dapat membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mempunyai integritas membran sel bakteri. Tanin memiliki aktivitas antibakteri karena dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri. Tanin juga memiliki daya aktivitas antibakteri dengan cara mempresipitasi protein karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Cowan 1999; Fadlilah 2015; Parfati & Windono, 2016).

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan dengan melihat pertumbuhan koloni bakteri pada media uji. Metode yang digunakan pada uji KHM adalah metode dilusi padat. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 100%. Hasil uji KHM terhadap *Propionibacterium acnes* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji konsentrasi hambat minimum ekstrak daun sirih merah terhadap *Propionibacterium acnes*

Konsentrasi	Hasil Pertumbuhan Pada Media Uji
10 %	-
9 %	+
8 %	+
7 %	+
6 %	+
5 %	+
4 %	+
3 %	+
2 %	+
1 %	+

Keterangan:

(-) : tidak ada pertumbuhan

(+): ada pertumbuhan

Berdasarkan Tabel 2 tampak bahwa ekstrak etanol daun sirih merah pada konsentrasi 1–9% media yang ditanami bakteri uji masih terlihat pertumbuhan bakteri. Hal tersebut mengindikasikan bahwa pada konsentrasi 1-9% ekstrak etanol daun sirih merah tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil uji KHM pada konsentrasi 10% menunjukkan tidak ada pertumbuhan bakteri. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut ekstrak sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*.

KESIMPULAN

Daun sirih merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25%. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum ekstrak etanol daun sirih merah terhadap *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 10%.

DAFTAR PUSTAKA

- Candrasari, A., Romas, M.A., Hasbi, M., & Astuti, O.R. (2012). Uji daya antimikroba ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Eschericia coli* ATCC 11229 dan *Candida albicans* ATCC 10231 secara *in vitro*. *Biomedika*, **4**(1): 9 – 16.
- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, **12**(4): 564 – 582.
- Morales, G., Sierra, P., Mancilla, A., Paredes, A., Loyola, L.A., Gallardo, O., & Borquez, J. (2003). Secondary metabolites from four medicinal plants from Northern Chile: Antimicrobial activity and biotoxicity against *Artemia salina*. *Journal of the Chilean Chemical Society*, **48**(2).
- Parfati, N. & Windono T. (2016). Sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) kajian pustaka aspek botani, kandungan kimia, dan aktivitas farmakologi. *Media Pharmaceutica Indonesia*, **1**(2): 106 – 115.
- Azwanida, N. N. (2015). A Review on the extraction methods use in medicinal plants, principle. *Medicinal & Aromatic Plants*, **4**(3), 1 – 6.
- Achermann, Y., Goldstein, E.J.C., Coenye, T., & Shirliff, M.E. (2014). *Propionibacterium acnes*: From commensal to opportunistic biofilm-associated implant pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, **27**(3): 419 – 440.
- Neves, J.R., Francesconi, F., Costa, A., Ribeiro, B.M., Follador, I., & Almeida, L.M.C. (2015). *Propionibacterium acnes* and bacterial Resistance. *Surg Cosmet Dermatol*, **7**(3 Suppl 1): S27 – 38.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: A review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, **1**(1): 98 – 106.