

## Potensi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Antimikrobakterium

### (Potential of Ethanolic Extract from Leaf of Red Betel Vine (*Piper crocatum*) as Antimicrobacterium)

FARIDA JULIANTINA RACHMAWATY<sup>1,3\*</sup>, BARMAWI HISYAM<sup>2</sup>,  
MARSETYAWAN HNE SOESATYO<sup>2</sup>, TRI WIBAWA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Doktor, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

<sup>2</sup>Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

<sup>3</sup>Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta

Diterima 27 Maret 2012, Disetujui 23 Februari 2013

**Abstrak:** Insidensi penyakit tuberkulosis di Indonesia masih tinggi. Ada kecenderungan pada sebagian masyarakat menggunakan tanaman herbal untuk pengobatan tuberkulosis. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi antimikrobakterium ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). Daun sirih merah dibuat ekstrak dengan pelarut etanol secara maserasi. Ekstrak yang telah dihilangkan pelarutnya tersebut diujikan pada bakteri *M. tuberculosis* H37Rv. Metode uji dilakukan secara dilusi serial dengan konsentrasi 50%, 40%, 25%, 20%, 12,5%, 10% dan 6,25% pada media *Middlebrook* 7H9 dan dikultur pada media *Lowenstein Jensen*. Hasil dianalisis secara deskriptif dengan melihat Kadar Bunuh Minimal (KBM). Percobaan dilakukan pengulangan 3 kali hasil konsisten. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada pertumbuhan bakteri pada media *Lowenstein Jensen* pada konsentrasi 50%, 40%, 25%, 20%, 12,5%, dan 10%. Pertumbuhan bakteri hanya terdapat pada konsentrasi 6,25%. Dengan demikian ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) mempunyai efek antimikrobakterium terhadap *M. tuberculosis* H37Rv dengan Kadar Bunuh Minimalnya pada konsentrasi 10%.

**Kata kunci:** *Mycobacterium tuberculosis*, antimikrobakterium, daun sirih merah (*Piper crocatum*), ekstrak etanol.

**Abstract:** The incidence of tuberculosis in Indonesia is high. There is a tendency for some people to use herbs for the treatment of tuberculosis. This research aims to investigate the potency of antimycobacterium property of red betel vine (*Piper crocatum*) ethanolic extract against *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). The red betel vine leaf was extracted using standard ethanol solvent. The extract was tested on *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. The experiment was conducted by using serial dilution method with 50%, 40%, 25%, 20%, 12.5%, 10%, and 6.25% red betel vine ethanolic extract in *Middlebrook* 7H9 medium and subsequently inoculated into *Lowenstein Jensen* (LJ) medium. The result was analyzed descriptively by observing the minimum bactericidal concentration (MBC). The experiment was repeated three times to obtain consistent result. There is no bacterial growth in LJ media at concentrations of 50%, 40%, 25%, 20%, 12.5%, and 10% of red betel vine ethanolic extract. The bacteria was able to grow only at the concentration of 6.25% red betel vine ethanolic extract. Thus the ethanolic extract of red betel vine (*Piper crocatum*) indicates an antimycobacterium activity against *M. tuberculosis* H37Rv. The MBC is found at the concentration of 10%.

**Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis*, antimycobacterium, red betel vine (*Piper crocatum*), ethanolic extract.

\* Penulis korespondensi, Hp. 081328584137  
e-mail: faridajuli@gmail.com

## PENDAHULUAN

PENYAKIT tuberkulosis (TB) yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* hingga saat ini masih menjadi masalah baik di dunia maupun di Indonesia. Pada tahun 2008 diperkirakan terdapat sekitar 11,1 juta TB aktif dengan 9,4 juta kasus baru di dunia<sup>(1)</sup>. Indonesia hampir selama 10 tahun menempati peringkat ke-3 setelah India dan Cina<sup>(2)</sup>. Saat ini peringkat membaik menjadi peringkat ke-5 setelah India, Cina, Afrika Selatan dan Nigeria<sup>(1)</sup>. Sekalipun peringkat Indonesia membaik, namun perlu diwaspadai bahwa perbaikan peringkat tersebut lebih karena terjadi peningkatan kasus TB di negara lain setelah terjangkitnya HIV/AIDS.

*M. tuberculosis* merupakan bakteri patogen berbahaya pada manusia. Kuman ini merupakan kuman intraselular, termasuk genus mikobakterium yang berbentuk batang dan tersusun tunggal<sup>(3)</sup>. *M. tuberculosis* mempunyai dinding sel dengan sifat-sifat fisik dan kimiawi tertentu yang memungkinkan untuk bertahan hidup dan bermultiplikasi di dalam makrofag<sup>(4)</sup>. Sifat tumbuhnya lambat, bersifat tahan asam, tahan alkohol, dan aerofilik, hal ini karena lapisan dinding selnya mempunyai struktur khusus<sup>(3)</sup>.

Pembasmian penyakit tuberkulosis sulit karena membutuhkan pengobatan yang cukup lama yaitu minimal 6 bulan. Masalah menjadi semakin pelik dengan adanya kasus resistensi kuman terhadap obat-obat antituberkulosis standar yang disebut dengan MDR (*Multiple Drug Resistance*). Berdasarkan hasil survei yang dilakukan oleh WHO tahun 1994-1997, resistensi *M. tuberculosis* terhadap obat antituberkulosis di dunia cukup tinggi. Diperkirakan bahwa resistensi terhadap obat-obat lini pertama di tiap negara bervariasi, untuk Isoniazid (INH) 4,0% sampai 53,7%, Streptomisin sampai 19,4%, Rifampisin

hingga 14,5%, dan Ethambutol hingga 13,7%. Variasi tersebut dapat disebabkan oleh kesalahan metodologi pada saat observasi di negara yang berbeda<sup>(5)</sup>. Kasus MDR semakin bertambah yaitu adanya resistensi *M. tuberculosis* terhadap 2 atau lebih obat lini pertama khususnya rifampisin dan INH. MDR merupakan penyulit tersendiri pada pengobatan tuberkulosis yang sampai saat ini belum dapat teratasi dengan baik. Saat ini bahkan muncul masalah baru dengan adanya XDR (*Extremely Drug Resistance*). XDR TB merupakan terminologi terbaru di bidang tuberkulosis. XDR adalah *M. tuberculosis* MDR yang juga resisten terhadap salah satu obat golongan fluorokuinolon, dan sedikitnya salah satu dari aminoglikosida. XDR TB sudah dikonfirmasi keberadaannya di Indonesia<sup>(6)</sup>. Perlu peran semua pihak agar laju XDR dapat dihambat. XDR sangat berbahaya, kematian penderita terinfeksi XDR sangat cepat.

Maraknya slogan kembali ke alam (*back to nature*) dan adanya kesadaran masyarakat untuk menggunakan bahan-bahan alami menjadikan pemikiran penyediaan obat yang berasal dari tanaman yang dapat berfungsi sebagai obat tuberkulosis (*herbal medicine*). Pemanfaatan herbal medicine ramai dibicarakan, termasuk dalam manfaatnya, namun sebagian besar informasi yang ada hanya sebatas bukti empiris. Demikian juga dengan sirih merah (*Piper crocatum*), informasi manfaat sirih merah *Evidence Based Medicine* masih sedikit. Hal ini dapat disebabkan sirih merah belum lama dikenal oleh masyarakat luas, sehingga informasi ilmiah masih sangat sedikit, demikian juga dengan publikasi dalam jurnal ilmiah, baik di dalam maupun luar negeri.

Sirih merah (Gambar 1) termasuk keluarga Piperaceae, sejak lama telah diketahui memiliki berbagai khasiat obat untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit, di samping itu juga memiliki nilai



Gambar 1. Tanaman Sirih Merah (*Piper crocatum*). Daun bagian atas berwarna hijau dengan corak keperakan. Daun bagian bawah berwarna merah.

spritual yang tinggi. Sirih merah termasuk bagian penting yang harus disediakan dalam setiap upacara adat, khususnya di Yogyakarta. Pada tahun-tahun terakhir ini ramai dibicarakan dan dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Dari beberapa pengalaman, diketahui sirih merah memiliki khasiat obat untuk beberapa penyakit<sup>(7)</sup>.

Berdasar penelitian yang dilakukan oleh Puspitasari secara kromatografi sirih merah mengandung flavonoid, alkaloid, senyawa polifenolat, tanin dan minyak atsiri<sup>(8)</sup>. Senyawa-senyawa tersebut di ketahui memiliki sifat antibakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Rachmawaty dkk.<sup>(9)</sup>, diketahui sirih merah memiliki aktivitas antibakteri.

Informasi yang ada di masyarakat menyatakan bahwa sirih merah dapat digunakan sebagai obat penyakit tuberkulosis, namun belum ada informasi ilmiah yang mendukung. Dengan tingginya kasus resistensi terhadap tuberkulosis, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengkaji apakah daun sirih merah mampu membunuh *M. tuberculosis*. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi antimikobakterium daun sirih merah terhadap *M. tuberculosis*. Sirih merah dipersiapkan dalam bentuk ekstrak etanol untuk mengoptimalkan zat aktif antibakteri yang terdapat di dalamnya. Zat aktif yang diduga bersifat antibakteri adalah : alkaloid, flavonoid, tanin dan minyak atsiri. Kemampuan sebagai antimikobakterium diukur berdasar Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak etanol sirih merah terhadap *M. tuberculosis*.

#### BAHAN DAN METODE

Rancangan penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium untuk menguji potensi antimikobakterium ekstrak etanol daun sirih merah terhadap *M. tuberculosis*. Subjek penelitian yang digunakan adalah *M. tuberculosis* H37Rv yang merupakan bakteri standar yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi Universitas Gadjah Mada.

Sebagai bahan uji adalah daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang dipersiapkan menjadi ekstrak etanol. Identifikasi dilakukan sesuai literatur sesuai dengan referensi 'Flora of Java'<sup>(10)</sup> dan determinasi dilakukan di Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Pengambilan sirih merah memenuhi kriteria tertentu seperti daun masih segar, tanaman telah berumur 4 bulan, usia daun minimal 1 bulan. Hal ini dimaksudkan agar kandungan bahan yang diuji dalam kondisi optimal. Pembuatan ekstrak etanol daun sirih merah dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Islam Indonesia dengan metode maserasi.

**Uji Potensi antimikobakterium.** Ekstrak etanol yang telah disiapkan dibuat secara dilusi

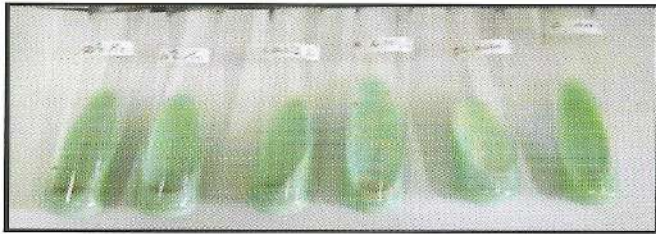
serial sehingga diperoleh konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, serta 40%, 20% dan 10% pada media *Middlebrook* 7H9. Pembuatan dilusi serial 50%, 25%, 12,5% dan 6,25% dilakukan dengan cara disiapkan 1 tabung media 7H9 ds berisi 1 mL (diberi no 1) dan media *Middlebrook* 7H9 sebanyak 3 tabung (no 2, 3, dan 4) masing-masing berisi 1 mL. Pada tabung *Middlebrook* 7H9 ds (no 1) dimasukkan ekstrak etanol daun sirih merah 100% sebanyak 1 mL, kemudian dihomogenkan, diambil 1 mL, dimasukkan ke dalam tabung no 2, selanjutnya dilakukan hal yang sama hingga tabung no 4. Agar volume akhir sama maka dari tabung no 4 diambil 1 mL dan dibuang, dengan demikian dari keempat tabung tersebut diperoleh konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%. Sedangkan untuk membuat konsentrasi 40%, 20% dan 10%, disiapkan 1 tabung berisi media 7H9 ds 1,2 mL (no 1) dan 2 tabung berisi media *Middlebrook* 7H9 1 mL (no 2 dan 3). Tabung pertama dimasukkan ekstrak etanol 100% sebanyak 0,8 mL kemudian dihomogenkan dan diambil 1 mL, kemudian dimasukkan ke tabung 2, dan dihomogenkan. Demikian selanjutnya dilakukan seri pengenceran seperti tersebut di atas. Dengan demikian pada ketiga tabung tersebut diperoleh konsentrasi 40%, 20% dan 10%. Kemudian pada ketujuh tabung tersebut ditambahkan suspensi bakteri 100 µL. Pada setiap percobaan disertakan 4 kontrol yaitu kontrol ekstrak (berisi 1 mL ekstrak konsentrasi 100%), kontrol media (berisi 1 mL media *Middlebrook* 7H9), kontrol *M. tuberculosis* (berisi 1 mL media *Middlebrook* 7H9 ditambah 100 µL suspensi *M. tuberculosis*) dan kontrol antituberkulosis standar (berisi media *Middlebrook* 7H9 yang ditambah isoniazid (INH) dengan konsentrasi 1 mg/mL, kemudian ditambah suspensi bakteri 100 µL. Selanjutnya semua tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 hari (48 jam). Setelah 2 hari, dari semua tabung diambil 40 µL dan dikultur pada media *Lowenstein Jensen*, diinkubasi selama 6 minggu dan dianalisis hasilnya (Gambar 2).

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

*M. tuberculosis* dipaparkan dengan ekstrak etanol daun sirih merah selama 2x24 jam. Dilusi serial pertama adalah 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%. Dilusi serial ke-2 adalah 40%, 20% dan 10%. Setelah dilakukan pemaparan dengan ekstrak etanol daun sirih merah, selanjutnya *M. tuberculosis* di kultur pada media *Lowenstein Jensen*. Setiap minggu diamati hingga minggu ke-6. Hasil yang diperoleh adalah sebagai berikut. Pada dilusi serial yang pertama (50%, 25%, 12,5% dan 6,25%), hanya pada konsentrasi 6,25% yang terdapat pertumbuhan *M. tuberculosis* (Gambar 3). Sedangkan pada dilusi serial ke-2 (40%,



Gambar 2. Skema pengujian pada media *Lowenstein Jensen*.



Gambar 3. Hasil kultur *M. tuberculosis* setelah pemaparan dengan ekstrak etanol sirih merah dari kiri ke kanan adalah 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, kontrol bakteri dan kontrol Isoniazid.

20% dan 10%) tidak terdapat pertumbuhan bakteri *M. tuberculosis* sama sekali (Gambar 4), sehingga dapat dinyatakan Kadar Bunuh Minimal (KBM) atau *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) adalah pada konsentrasi 10% (lihat Tabel 1).



Gambar 4. Hasil kultur *M. tuberculosis* setelah pemaparan dengan ekstrak etanol sirih merah dari kiri ke kanan adalah 40%, 20% dan 10%.

Dengan demikian ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*), mempunyai aktivitas sebagai antimikobakterium terhadap *M. tuberculosis* pada konsentrasi 10%. Senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan minyak atsiri merupakan senyawa yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri<sup>(11)</sup>. Kemampuan alkaloid sebagai antibakteri diduga berdasarkan mekanisme dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut<sup>(12)</sup>. Aktivitas antibakteri tanin secara garis besar diduga melalui mekanisme sebagai berikut: toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa adstringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan dengan enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tanin dengan ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri<sup>(13)</sup>. Ajizah<sup>(14)</sup> di lain pihak menyatakan bahwa tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Tanin juga diduga mempunyai aktivitas antibakteri dengan cara mengendapkan 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<sup>(15)</sup>.

Tabel 1. Hasil kultur *M. tuberculosis* setelah pemaparan dengan ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*).

Konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah	Uji ke-1 pada media <i>Lowenstein Jensen</i>	Uji ke-2 pada media <i>Lowenstein Jensen</i>	Uji ke-3 pada media <i>Lowenstein Jensen</i>	Konfirmasi dengan <i>Mycobacterial Growth Index Tube</i> (MGIT)
50%	-	-	-	-
40%	-	-	-	-
25%	-	-	-	-
20%	-	-	-	-
12,5%	-	-	-	-
10%	-	-	-	-
6,25%	+	+	+	+
Kontrol media	-	-	-	-
Kontrol ekstrak	-	-	-	-
Kontrol bakteri	++	++	++	++
Kontrol Isoniazid (INH)	+	+	-	-

Keterangan : -, Tidak ada pertumbuhan *M. tuberculosis* pada media, +: Terdapat pertumbuhan *M. tuberculosis* pada media (20-100 koloni), ++: Terdapat pertumbuhan *M. tuberculosis* yang cukup banyak dan merata pada media (100-200 koloni).

Minyak atsiri yang juga terdapat dalam daun sirih merah berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna<sup>(14)</sup>. Minyak atsiri yang aktif sebagai antibakteri pada umumnya mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil. Turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis<sup>(16)</sup>.

Beberapa penelitian seperti yang dilakukan oleh Lin *et al.*<sup>(17)</sup> dan Brown *et al.*<sup>(18)</sup> membuktikan bahwa senyawa flavonoid di antaranya kalkon memiliki aktivitas antimikobakterium terhadap *M. tuberculosis*. Komponen terbesar pada sirih merah adalah flavonoid, sehingga dimungkinkan senyawa flavonoid inilah yang berperan sebagai antimikobakterium. Meskipun demikian masih diperlukan penelitian lanjut untuk menguji senyawa aktif yang terkandung pada sirih merah yang berfungsi sebagai antimikobakterium dan juga bagaimana mekanismenya.

### SIMPULAN

Daun sirih merah (*Piper crocatum*) mampu membunuh *M. tuberculosis* H37Rv pada konsentrasi ekstrak daun sirih merah 10% atau dapat dinyatakan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) sebesar 10%. Dengan demikian daun sirih merah berpotensi sebagai antimikobakterium terhadap *M. tuberculosis*.

### DAFTAR PUSTAKA

1. The Henry J. Kaiser Family Foundation. The global tuberculosis epidemic. 2010. diambil dari URL: <http://www.kff.org/global-health/upload/7883-02.pdf>. diakses Maret, 2012.
2. Departemen Kesehatan RI (Sub Direktorat TB) & WHO. Lembar fakta tuberkulosis. 2008. diambil dari URL: [http://www.tbcindonesia.or.id/pdf/Lembar\\_Fakta\\_TB.pdf](http://www.tbcindonesia.or.id/pdf/Lembar_Fakta_TB.pdf). diakses 20 Februari, 2009.
3. Robert GD, Koneman EW, Kim YK. *Mycobacterium*. (In) Balows A, Hausler WJ, Hermmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. (eds). *Manual Clin. Microbiol.*, 5th ed. Washington: American Society for Microbiology; 1991. 304-39.
4. Fenton MJ and Vermeulen MW. Immuno pathology of tuberculosis: role of macrophage and monocyte. *Infect Immun.* 1996. 64:683-8.
5. WHO. Anti-tuberculosis drug resistance in the world: the WHO/IUATLD global project on drug resistance surveillance, 1994-1997. WHO/tb/97.229. Geneva; World Health Organization; 1997.
6. Sjahrurachman A. Kultur dan uji kepekaan *M. tuberculosis* terhadap obat antituber-kulosis lini pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2008. 7-8.
7. Manoi F. Sirih merah sebagai tanaman obat multi fungsi. 2007. diambil dari: URL:<http://www.baittro.litbang.deptan.go.id>. diakses 30 November, 2012.
8. Sudewo B. Basmi penyakit dengan sirih merah. Jakarta: PT Agromedia Pustaka; 2008. 41-5.
9. Rachmawaty FJ, Mahardina DAC, Nirwani B, Nurmasitoh T, Bowo ET. Pemanfaatan ekstrak etanol sirih merah (*P. crocatum*) sebagai agen antibakterial terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. *JKKI.* 2009. 1(1):12-20.
10. Backer CA, Van den Brink BJR. *Flora of Java*. Leyden: Rijksherbarium, Leyden; 1963. 167.

11. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev.* 1999. 12(4):564-82.
12. Robinson T. Kandungan organik tumbuhan tinggi. Alih bahasa Padmawinata K. Bandung: Penerbit ITB; 1991. 132-6.
13. Akiyama H, Fujii K, Yamasaki O, Oono T, Iwatsuki T. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 2001. 48:487-91.
14. Ajizah A. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap ekstrak daun *Psidium Guajava* L. *Bioscientiae.* 2004. 1(1):31-8.
15. Masduki I. Efek antibakteri ekstrak biji pinang (*Areca catechu*) terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. *Cermin Dunia Kedokteran.* 1996. 109:21-4.
16. Parwata IMO dan Dewi PFS. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri dari rimpang lengkuas (*Alpinia Galanga* L.). *Jurnal Kimia.* 2008. 2:100-4.
17. Lin YM, Zhou Y, Flavin MT, Zhou LM, Nie W, Chen FC. Chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents. *Bioorg Med Chem.* 2002. 10(8):2795-802.
18. Brown AK, Papaemmanouil A, Bhowruth V, Bhatt A, Dover LG, Besra GS. Flavonoid inhibitors as novel antimycobacterial agent targeting Rv0636, a putative dehydratase enzyme involved in *Mycobacterium tuberculosis* fatty acid synthetase II. *Microbiology.* 2007. 153:3314-22.