

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN *n*-HEKSAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper Betle L.*) PADA BAKTERI *Escherichia coli*

Larissa Tania^a, Lutvita Trisiwi Yuliatiningsih^a, Eka Fitri Yanti^a

^aSekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Harapan Bangsa, Jember, Indonesia

E-mail korespondensi: tanialarissa44@gmail.com

Abstract

Green betel plant (*Piper betle L.*) is one type of plant that is widely used for medicine. Betel is a plant that grows from tropical Asia to East Africa and is distributed almost all over Indonesia. Betel leaves contain essential oils, which are phenolic compounds that have antibacterial, fungicidal, and bactericidal properties. The aim of this study to determine the antibacterial activity of green betel leaf against *Escherichia coli* bacteria. Green betel leaf was macerated with ethanol and *n*-heksan. Antibacterial activity test was tested by agar diffusion method. This study used 3 concentrations, namely 20%, 30%, and 35%, positive control (*Chloramphenicol*) and negative control (DMSO). The result showed green betel leaf ethanol extract with concentration of 35% can inhibit the growth of *Escherichia coli* by 19.65 ± 7.97 mm, and the result of statistical analysis showed a significant difference with a value of $p < 0,05$ at each concentration. The green betel leaf *n*-heksan extract with concentration of 35% can inhibit the growth of *Escherichia coli* by 10.17 ± 4.25 mm, and the result of statistical analysis showed a significant difference with a value of $p < 0,05$ at each concentration. This study found that betel leaf green extract has the ability as an antibacterial.

Keywords: Green Betle Leaf (*Piper Betle L.*), Etanol, *n*-heksan, *Escherichia coli*, Antibacterial.

Abstrak

Salah satu tanaman yang sering digunakan dalam pengobatan yaitu sirih hijau (*Piper betle L.*). Sirih hijau banyak ditemui hampir di seluruh wilayah Indonesia, dan tumbuh subur di sepanjang Asia tropis hingga Afrika Timur. Minyak atsiri pada daun sirih hijau tersusun dari komponen senyawa fenol yang mampu menjadi senyawa anti bakterisidal, fungisidal, maupun germisidal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri daun sirih hijau terhadap bakteri *Escherichia coli*. Pembuatan ekstrak daun sirih hijau dilakukan menggunakan metode maserasi menggunakan etanol dan *n*-heksan. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar. Penelitian ini menggunakan 3 konsentrasi yaitu 20%, 30%, dan 35%, serta kontrol positif (*Chloramphenicol*) dan kontrol negatif (DMSO). Hasil menunjukkan ekstrak etanol daun sirih hijau konsentrasi 35% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat sebesar $19,65 \pm 7,97$ mm, dan hasil analisis statistik menunjukkan perbedaan signifikan dengan nilai $p < 0,05$ pada setiap konsentrasi. Ekstrak *n*-heksan daun sirih hijau konsentrasi 35% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat sebesar $10,17 \pm 4,25$ mm, dan hasil analisis statistik menunjukkan perbedaan signifikan dengan nilai $p < 0,05$ pada setiap konsentrasi. Hal ini menunjukkan daun sirih hijau memiliki kemampuan sebagai antibakteri.

Kata kunci: Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L.*), Etanol, *n*-heksan, *Escherichia coli*, Antibakteri

PENDAHULUAN

Sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan salah satu tanaman yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri (Sheikh dkk., 2012). Bagian daun dari tanaman sirih banyak digunakan sebagai bahan obat alternatif untuk mengobati berbagai jenis penyakit seperti obat pembersih mata, menghilangkan bau badan, mimisan, sariawan, pendarahan gusi, batuk, bronkitis, keputihan dan obat kulit sebagai perawatan untuk kecantikan atau kehalusan kulit. Rebusan daun sirih berkhasiat dapat menghilangkan bau mulut dengan cara dikumur-kumur karena mengandung antiseptik (antibakteri) (Dwivedi & Tripathi, 2014).

Minyak atsiri banyak terkandung dalam daun sirih yang tersusun atas beberapa komponen kimia yang digolongkan sebagai senyawa fenol dan senyawa selain fenol. Senyawa-senyawa fenol penyusun minyak atsiri daun sirih terdiri dari dua komponen fenol, yaitu isomer betel fenol dari kavikol dan eugenol dengan berbagai kombinasi fenol seperti alil pirokatekol, kavibetol, karvakrol, metal eugenol, sineol dan estragol (Chibber, 1912). Dimana dalam proses ekstraksi senyawa-senyawa yang ada dalam daun sirih hijau tersebut menggunakan metode maserasi, yang sering digunakan dalam mengekstraksi senyawa dari tanaman. Selain itu, metode ini prosesnya lebih efisien dibanding dengan metode ekstraksi lainnya (Mukhariyani, 2014).

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri yang terdapat dalam saluran cerna. *Escherichia coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini meningkat. *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare. *Escherichia coli* berasosiasi dengan enteropatogenik menghasilkan enterotoksin pada sel epitel (Jawetz & Melnick, 2005).

Kemampuan penghambatan minyak atsiri daun sirih merah terhadap bakteri gram negatif lebih besar daripada gram positif. Pada ekstrak etanol 70% daun sirih merah dengan konsentrasi 12,5% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar sebesar 9,6 mm dan *Salmonella typhi* sebesar 10,9 mm (Setiari dkk., 2019). Perbedaan zona hambat ini disebabkan oleh perbedaan komposisi dan struktur dinding sel antara bakteri gram positif dengan bakteri gram negatif (Jawetz & Melnick, 2005). Struktur dinding sel bakteri gram negatif *Escherichia coli* terdiri dari tiga lapisan, yaitu membran sitoplasma, membran luar, dan lapisan di antara keduanya berupa peptidoglikan yang tipis (Majid, 2009). Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan *n*-heksan daun sirih hijau (*Piper Betle* L.) pada bakteri *Escherichia coli*.

METODE

Pembuatan Ekstrak Etanol dan *n*-Heksan Daun Sirih Hijau

Daun sirih hijau segar didapatkan dari daerah Panti, Jawa Timur. Daun sirih hijau dibersihkan dengan air mengalir, dan dikeringkan dengan cara di angin-anginkan selama 3 hari. Daun sirih hijau kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak untuk mendapatkan serbuk halus. Sebanyak 200 g serbuk daun sirih hijau direndam dalam masing-masing gelas kimia menggunakan 1000 ml etanol dan 1000 ml *n*-heksan pada suhu kamar selama 3 hari, kemudian disaring dan didapatkan filtrat. Filtrat etanol dan *n*-heksan yang diperoleh dipisahkan dengan rotary evaporator dengan suhu 50°C sampai didapatkan ekstrak kental.

Uji Aktivitas Antibakteri

Sebanyak 20 µL suspensi bakteri ditanamkan ke dalam media MHA dalam cawan petri. Selanjutnya masing-masing paper disk dibasahi larutan uji ekstrak etanol dan *n*-heksan daun sirih hijau dengan konsentrasi 20%, 30%, dan 35% untuk setiap larutan uji, *chloramphenicol* sebagai control positif dan DMSO sebagai control negatif, dan di letakkan pada permukaan media. Kemudian cawan petri ditutup kembali dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, semua cawan petri dikeluarkan dari inkubator dan dilakukan pengukuran zona hambat di sekitar cakram dengan menggunakan jangka sorong. Pengujian dilakukan dengan tiga kali pengulangan (*triplo*).

Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian diolah secara statistik dengan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS)

mengunakan analisis ANOVA ver. 22.0 dengan tingkat kepercayaan 95%. Nilai $p < 0.05$ menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik.

HASIL

Ekstrak etanol daun sirih hijau yang didapat yaitu 49,29 g. Rendemen yang didapatkan ekstrak etanol yaitu 12,32%, bentuk ekstrak tidak kental dan aroma khas daun sirih hijau. Ekstrak *n*-heksan yang didapatkan yaitu sebanyak 10,11 g. Rendemen yang didapatkan ekstrak *n*-heksan sebesar 2,53%, bentuk kental dan bau khas daun sirih hijau.

Penguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan *n*-heksan daun sirih hijau terhadap bakteri *Escherichia coli* yang menggunakan metode difusi agar dan zona hambat yang terbentuk dari hasil pengujian diukur menggunakan jangka sorong manual dengan ketelitian milimeter (mm). Hasil pengukuran zona hambat dan rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol dan *n*-heksan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli*, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan *n*-heksan Daun Sirih Hijau terhadap *Escherichia coli*

Perlakuan dalam Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	I	II	III	
20%*	17,5	10,4	16,5	14,80 ± 3,84
30%*	21	10,65	22	17,88 ± 6,28
35%*	24	10,45	24,5	19,65 ± 7,97

20% **	6,5	6,5	6	6,33 ± 0,29
30% **	5,5	11,5	8,5	8,50 ± 3,00
35% **	7	8,5	15	10,17 ± 4,25
Chloramphenicol (+)	33,5	33,5	32,5	33,17 ± 0,58
DMSO (-)	7,5	7,25	7	7,25 ± 0,25

Ket: * Ekstrak etanol daun sirih hijau,
**Ekstrak *n*-heksan daun sirih hijau

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan *n*-heksana dengan variasi konsentrasi 20%, 30%, dan 35% dengan tiga kali pengulangan masing-masing, setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan adanya aktivitas antibakteri zona bening disekitar ekstrak etanol dan *n*-heksana daun sirih hijau. Pada ekstrak etanol daun sirih hijau konsentrasi 35% menunjukkan zona hambat terbesar yaitu $19,65 \pm 7,97$ mm, diikuti dengan konsentrasi 30% sebesar $17,88 \pm 6,28$ mm, dan konsentrasi 20% sebesar $14,80 \pm 3,84$ mm. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau menunjukkan perbedaan signifikan secara statistik dengan nilai $p < 0,05$ pada setiap konsentrasi. Sedangkan pada ekstrak *n*-heksan daun sirih hijau konsentrasi 35% menunjukkan zona hambat terbesar yaitu $10,17 \pm 4,25$ mm, diikuti dengan konsentrasi 30% sebesar $8,50 \pm 3,00$ mm, dan konsentrasi 20% sebesar $6,33 \pm 0,29$ mm. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak *n*-heksan daun sirih hijau menunjukkan perbedaan signifikan secara statistik

Larissa Tania, dkk., Uji Aktivitas Antibakteri

dengan nilai $p < 0,05$ pada setiap konsentrasi. Uji kontrol positif antibiotik *chloramphenicol* menunjukkan aktivitas antibakteri yang ditandai dengan adanya zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram antibiotik dengan zona hambat rata-rata $33,17 \pm 0,58$ mm, uji kontrol negatif DMSO menunjukkan aktivitas antibakteri yang ditandai dengan adanya zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram dengan zona hambat rata-rata $7,25 \pm 0,25$ mm.

PEMBAHASAN

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan *n*-heksan daun sirih hijau dilakukan menggunakan difusi kertas cakram dengan menyiapkan terlebih dahulu sampel ekstrak etanol dan *n*-heksan daun sirih hijau dilarutkan dalam larutan DMSO. Kemudian diambil 20 μ l dan dimasukkan pada media yang telah ditandai kertas cakram. Sebagai kontrol positif menggunakan antibiotik *chloramphenicol*, kontrol negatif menggunakan DMSO. Hasil pengujian antibakteri diperoleh konsentrasi ekstrak etanol dan *n*-heksan daun sirih hijau 20%, 30%, 35% dan kontrol positif memberikan respon hambatan pada bakteri *Escherichia coli*, kontrol negatif memberikan respon hambatan pada bakteri *Escherichia coli*.

Pada konsentrasi 20%, 30%, 35%, kontrol positif dan kontrol negatif membentuk zona hambat pada medium yang ditumbuhi oleh bakteri *Escherichia coli*. Pada ekstrak etanol konsentrasi 35% dapat membentuk zona hambat dengan rata-rata ukuran sebesar $19,65 \pm 7,97$ mm, dikategorikan memiliki daya hambat sangat kuat. Sedangkan pada ekstrak *n*-heksan konsentrasi 35% dapat membentuk zona hambat dengan rata-rata ukuran sebesar $10,17 \pm 4,25$ mm, dikategorikan memiliki daya hambat kuat. Hal ini

didukung oleh Pelczar dkk. (2008) yang menyatakan bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas bahan antibakteri, yaitu konsentrasi bahan antibakteri. Daya hambat yang dihasilkan oleh bahan antibakteri akan semakin tinggi apabila konsentrasinya juga tinggi. Pada konsentrasi *chloramphenicol* (positif) didapatkan zona hambat dengan rata-rata $33,17 \pm 0,58$ mm, dikategorikan memiliki daya hambat sangat kuat. Sedangkan kontrol negatif didapatkan zona hambat dengan rata-rata $7,25 \pm 0,25$ mm, dikategorikan memiliki daya hambat kuat (Susanto dkk., 2012).

Chloramphenicol merupakan zat antibakteri murni, sedangkan ekstrak etanol dan *n*-heksan daun sirih hijau masih berupa ekstrak kasar yang mengandung bahan organik lain selain bakteri. Senyawa organik lain dapat menurunkan aktivitas zat antibakteri dengan cara menginaktivasi dengan menggunkan kontak antara zat antibakteri dengan sel bakteri sehingga dapat melindungi bakteri dari zat antibakteri tersebut. *Chloramphenicol* bekerja dengan menghambat sintesis protein sel bakteri yang berlangsung di ribosom (Pelczar dkk., 2008).

DMSO (dimetyl sulfoxide) banyak digunakan sebagai pelarut ekstrak pada berbagai penelitian terkait uji antimikroba dan antibakteri. DMSO telah digunakan sebagai pelarut ekstrak etil asetat *Napoleoneae imperalis* dan sebagai kontrol negatif dalam prosedur uji luas zona hambatnya terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Selain itu juga sebagai pelarut ekstrak *n*-heksan, kloroform, etil asetat, dan metanol daun *Cassia tora* dan sebagai kontrol negatif dalam prosedur uji luas zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis* dan *Bacillus subtilis* (Cappucino dan Sherman, 2014; Setiawan dkk., 2020).

Pada penelitian ini diketahui ekstrak etanol daun sirih hijau dan ekstrak *n*-heksan daun sirih hijau dengan konsentrasi 35% memiliki diameter zona hambat paling besar yaitu $19,65 \pm 7,97$ mm, dan $10,17 \pm 4,25$ mm, dibandingkan dengan konsentrasi 20% dan 30%. Selain itu, pengenceran juga merupakan salah satu faktor yang sangat penting. Ekstrak etanol daun sirih hijau konsentrasi 35% memiliki zona hambat paling besar, karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin banyak kandungan bahan aktif antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Adi dkk., 2015).

Pada ekstrak *n*-heksan daun sirih hijau dengan konsentrasi 35% diketahui memiliki diameter paling besar yaitu $10,17 \pm 4,25$ mm dibandingkan dengan konsentrasi 20% dan 30%. Selain faktor pengenceran, hal ini dapat disebabkan karena beberapa faktor seperti kekeruhan suspensi bakteri, temperatur saat inkubasi, dan ketebalan media agar (Davis & Stout, 1912).

Adanya perbedaan diameter zona hambat dapat dipengaruhi oleh jenis bakteri uji yang digunakan. Setiap bakteri memiliki kepekaan yang berbeda-beda terhadap sampel, dimana satu bakteri akan membentuk resisten dalam dirinya yang merupakan mekanisme alamiah dalam mempertahankan hidupnya. Selain pengaruh dari jenis bakteri, perbedaan diameter zona hambat juga dikarenakan konsentrasi sampel (Majid, 2009; Parija, 2009).

Daun sirih mengandung minyak atsiri yang komponen penyusunnya merupakan senyawa fenol yang mampu menjadi senyawa anti bakterisidal, fungisidal, maupun germisidal. Minyak atsiri dan ekstrak etanol daun sirih juga terbukti mempunyai aktifitas anti cendawan terhadap *Candida albicans* (Rahmah & Rahman, 2010). Komponen utama minyak atsiri terdiri dari



betlephenol dan beberapa derivatnya diantaranya euganol allypyrocatechine 26,842,5%, cineol 2,4- 4,8%, metil euganol 4,2-15,8%, caryophyllen 3-9,8%, hidroksikavikol, kavikol 7,2- 16,7%, Kabitvetol 2,7-6,2%, estragol, alilprirokatekol 9,6%, karvakol 2,2-5,6%, alkaloid, flavonoid, triterpenoid atau steroid, saponin, terpen, fenil propan, terpinen, diastase 0,8-1,8%, dan tannin 11,3%. Pada konsentrasi 0,1-1% fenol bersifat bakteristatik, sedangkan pada konsentrasi 1-2% fenol bersifat bakteriosida (Sidik dkk., 1992).

Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak etanol dan *n*-heksan dengan konsentrasi 20%, 30% dan 35% terhadap bakteri *Escherichia coli* memiliki diameter zona hambat yang berbeda-beda, dan memiliki kriteria serta kekuatan antibakteri yang berdeda pula. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan *n*-heksan daun sirih hijau memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Pada penelitian ini diketahui bahwa ekstrak etanol dan *n*-heksan daun sirih hijau mempunyai aktivitas antibakteri dengan kategori sangat kuat terhadap *Escherichia coli*, dengan menghambat sintesis protein sel bakteri. Penelitian lebih lanjut dapat dikembangkan dengan menggunakan metode ekstraksi dan metode difusi yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Adi, G, Eriawati, dan Zuraidah. (2015). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper Sp.*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Nasional biotik*. Volume 5. Nomor 9.
- Cappuccino, J. G. dan N. Sherman. (2014). *Microbiology a laboratory manual (10th Ed)*. San Fransisco: Pearson
- Larissa Tania, dkk., Uji Aktivitas Antibakteri Education, Inc, Publishing as Benjamin Cummings.
- Chibber, H.M., (1912). The morphology and history of *Piper betle* Linn. (the betel vine). *Journal Lin. Soc. Bot.* 41(8):1-10.
- Davis & Stout. (1971). Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay. *Journal Of Microbiology*. Vol 22 No 4.
- Dwivedi, V. & Tripathi, S. (2014). Review Study On Potential Activity Of Piper Betle. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 93(34), p. 9398.
- Jawetz & Melnick. Adelberg's. (2005). *Medical Microbiology*. Mc.Graw Hill Companies Inc. Penerbit Salemba Medika. H. 357-359.
- Majid. (2009). *Senyawa Antibakteri dan Mekanisme Kerjanya*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7(12) : 361-367.
- Rahmah, Nurul & Rahman, Aditya. (2010). "Uji Fungistatik Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap *Candida albicans*". *Jurnal Bioscientae*, Vol. 7, No. 2. h. 17-24.
- Parija, S.C. (2009). *Textbook of Microbiology and Immunology*. Elsevier, New Delhi. Halaman 182 dan 262.
- Pelczar, Michael J dan Chan, E. C. S. (2008). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I*. Jakarta: UI Press.
- Setiari Nita, N.M., Ni Putu R., & I Wayan S.W. (2019). Aktivitas Antifungi Kombinasi Ekstrak Daun Sirih (*Piper*



Betle) dan Ekstrak Kulit Buah Jeruk (*Citrus reticulata*) untuk Menghambat Pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha*. Vol. 6 No. 2.

Setiawan Arif. M, Retnoningrum Dewi. M, Yahya. F, Andika Ragil. R, Sudarni Ayu. D. H. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Jeruk Siam (*Citrus Reticulata*) Pada Bakteri *Escherichia Coli*. Prodi Biologi, Universitas Billfath, Siman, Sekaran, Kabupaten Lamongan, Jawa Timur, 62261, Indonesia. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*. Volume 7 Nomor 2.

Sheikh, M., Abdullah R.M., M.K., Meghavanshi & Irshad, M. (2012). Studies on Some Plant Extract for Their Antimicrobial Potential Against Certain Pathogenic Microorganisms. *American Journal of Plant Sciences*. 3. 209 213.

Sidik., Soelarko R.M., Somadilaga R.S, dan Suwondo, S. (1992). Aktivitas Antibakteri Daun Sirih Terhadap Bakteri Gigivitis dan Baktrei Pembentuk Plak/karies Gigi (*Streptococcus mutans*). *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*. 1(1) 1-4. Jakarta.

Susanto, D., Sudrajat dan R. Ruga. (2012). Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq.) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Mulawarmnan Scientifie*. 11 (2) : 181-190.