

Pengaruh Lama Penyimpanan Ekstrak Etanol Daun Sirih Hitam (*Piper betle L. var Nigra*) Terhadap Aktivitas Antibakteri

The Effect of Storage Time Extract Etanol Black Betel Leaf (*Piper betle L. var Nigra*) To Antibacterial Activity

Falencia Ega Aprillia*, Mirhansyah Ardana, Hadi Kuncoro

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian "Farmaka Tropis",
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia.

*Email: aprilliafalen@gmail.com

Abstract

Black Betel Leaf (*Piper betle L. var Nigra*) contains compounds that act as antibacterials, namely alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, steroids and phenolic compounds. Acne or *acne vulgaris* is an inflammatory reaction in the sebaceous follicles, which is caused by the *Propionibacterium acnes* bacteria. This study aims to prove that black betel leaf (*Piper betle L. var Nigra*) has antibacterial activity and has a long-lasting effect on the ethanol extract of black betel leaf against *propionibacterium acne*. The method includes sample extraction with 70% ethanol and then followed by antibacterial testing with the well method. In addition, the extract was prepared into a test solution and stored for 7 days at room temperature. The results of antibacterial testing using well diffusion can be concluded that the ethanol extract of black betel leaves with a concentration of 5%, 10%, 15%, 20% has the ability to inhibit the growth of *propionibacterium acne* bacteria. The effect of the extract storage time on day 7 had the largest inhibition zone.

Keywords : Black Betel Leaf, antibacterial, *propionibacterium acne*, the effect of extract storage time.

Abstrak

Daun Sirih Hitam (*Piper betle L. var Nigra*) mengandung senyawa yang berperan sebagai antibakteri yaitu alkaloid, flavanoid, saponin, tanin, steroid serta senyawa fenolik. Jerawat atau *acne vulgaris* merupakan reaksi peradangan dalam folikel sebacea, yang disebabkan oleh bakteri *Propionibacterium acne*. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa daun sirih hitam (*Piper betle L. var Nigra*) memiliki aktivitas antibakteri dan memiliki pengaruh lama penyimpanan ekstrak etanol daun sirih hitam terhadap bakteri *propionibacterium acne*. Metode meliputi ekstraksi sampel dengan etanol 70% lalu dilanjutkan dengan pengujian antibakteri dengan metode sumuran. Selain itu ekstrak di preparasi

menjadi larutan uji dan disimpan dalam 7 hari pada suhu ruang. Hasil pengujian antibakteri menggunakan difusi sumuran dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hitam dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *propionibacterium acne*. Adapun pengaruh lama penyimpanan ekstrak pada hari ke 7 memiliki zona hambat terbesar.

Kata Kunci : Daun Sirih Hitam, antibakteri, *propionibacterium acne*, pengaruh lama penyimpanan ekstrak.

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v13i1.446>

1. Pendahuluan

Jerawat atau *acne vulgaris* merupakan salah satu penyakit yang sering dialami oleh masyarakat dari berbagai jenis kelamin, umur, dan jenis kulit. Jerawat atau *acne vulgaris* merupakan reaksi peradangan dalam folikel sebacea dan biasanya disertai dengan pembentukan papula, pustula dan abses. Salah satu bakteri penyebab jerawat ialah bakteri *propionibacterium acne* yang merupakan bakteri gram positif yang juga merupakan flora normal pada kulit manusia, tetapi pada kondisi yang memungkinkan dapat menginfeksi kulit manusia yang menimbulkan bisul dan jerawat [1].

Sirih merupakan tanaman yang telah banyak digunakan sebagai obat di Asia Tenggara. Sirih di Indonesia ada beberapa jenis, yang dibedakan berdasarkan bentuk daun, rasa dan aromanya, yaitu sirih hijau, sirih banda, sirih cengkih, sirih hitam dan sirih merah [2]. Daun sirih hitam mengandung senyawa alkaloid, flavanoid, tannin, saponin, fenol, steroid, dan triterpenoid. Aroma khas yang terdapat pada daun sirih hitam dikarenakan adanya kandungan kavikol yang merupakan senyawa turunan dari fenol. Daun Sirih Hitam memiliki manfaat salah satunya adalah sebagai antibakteri karena kandungan flavonoid, saponin, dan tanin [3].

Stabilitas kandungan antibakteri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH, oksigen, cahaya, suhu, dan lama penyimpanan. Lama penyimpanan memiliki pengaruh yang sangat penting pada kestabilan dan degradasi senyawa.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih

hitam (*Piper betle L. var Nigra*) terhadap bakteri *Propionibacterium acne* dan mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap aktivitas antibakteri ekstrak daun etanol daun sirih hitam (*Piper betle L. var Nigra*)

2. Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Alat, Aquades, Etanol 70%, Medium NA (*Nutrient Agar*), Nacl 0,9%, Plastik wrap, Daun Sirih Hitam (*Piper betle L. var Nigra*), Ekstrak etanol 70% daun sirih hitam, DMSO 10%, Kertas Saring, biakan bakteri *Propionibacterium acne*.

Bahan, Autoklaf, Bunsen, Blender, Cawan Petri, Cawan porselen, Gelas Kimia, Erlenmeyer, *Hotplate*, Inkubator, Kaca Arloji, Kertas Saring, *Laminar Air Flow* (LAF), Mikrometer Sekrup, Ose, Pencadang, Pinset, Pipet volume, Tabung reaksi, *Rotary Evaporator*, Spoid, Spatel logam, Spiritus, Timbangan Analitik, Penggaris, Pipet tetes, Botol vial, *Vortex*, Toples kaca.

2.2 Prosedur

2.2.1 Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hitam (*Piper betle L. var Nigra*)

Daun sirih hitam (*Piper betle L. var Nigra*) segar yang telah diperoleh dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan kotoran yang menempel, dicuci dengan air mengalir sampai bersih dan ditiriskan, kemudian dikeringkan dengan diangin-anginkan pada suhu ruang dan tidak terkena sinar matahari langsung, kemudian simplisia dihancurkan sampai

menjadi serbuk dengan diblender. Maserasi dilakukan dengan merendam 250 gram serbuk sirih hitam menggunakan etanol 70% selama 3×24 jam sambil sesekali diaduk. Dilakukan penyaringan untuk mendapatkan maserat dan residu. Pengulangan dilakukan sampai pelarut jernih. Hasil ekstraksi yang diperoleh dipekatkan menggunakan *Rotary Evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental yang pekat berwarna coklat dengan bau khas atomatik.

2.2.2 Pembuatan Larutan Ekstrak Uji

Ekstrak kental daun sirih hitam (*Piper betle L. var Nigra*) yang telah didapatkan kemudian ditimbang dan dilarutkan dalam DMSO 10%. kemudian ditempatkan pada botol vial dan disimpan dalam waktu 3, 7, dan 10 hari pada suhu ruang.

2.2.3 Persiapan Suspensi Biakan Bakteri Uji

Biakan murni bakteri *Propionibacterium acne* yang telah diinokulasikan dalam medium NA (*Nutrient Agar*) diambil dengan 1 ose yang telah dipijarkan terlebih dahulu, kemudian dimasukkan dalam NaCl steril 0,9% sebanyak 10 ml, kemudian dihomogenkan. Selanjutnya hasil dari pengenceran tersebut diambil 2,5 ml, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi lain yang telah berisi NaCl steril 0,9% sebanyak 7,5 ml. Sehingga didapatkan suspensi bakteri dengan perbandingan 1:40.

2.2.4 Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran (*well-difusion method*). Medium *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam cawan petri steril sebagai media dasar. Dimasukkan suspensi bakteri uji sebanyak 1 ml diatas medium yang telah padat lalu dihomogenkan. Kemudian ditambahkan 7 ml medium sebagai

lapisan kedua, setelah memadat dibuat lubang sumuran menggunakan pencadang dengan diameter 7 mm. Ditetaskan sampel larutan ekstrak uji ke dalam lubang sumuran. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk menggunakan mikrometer sekrup.

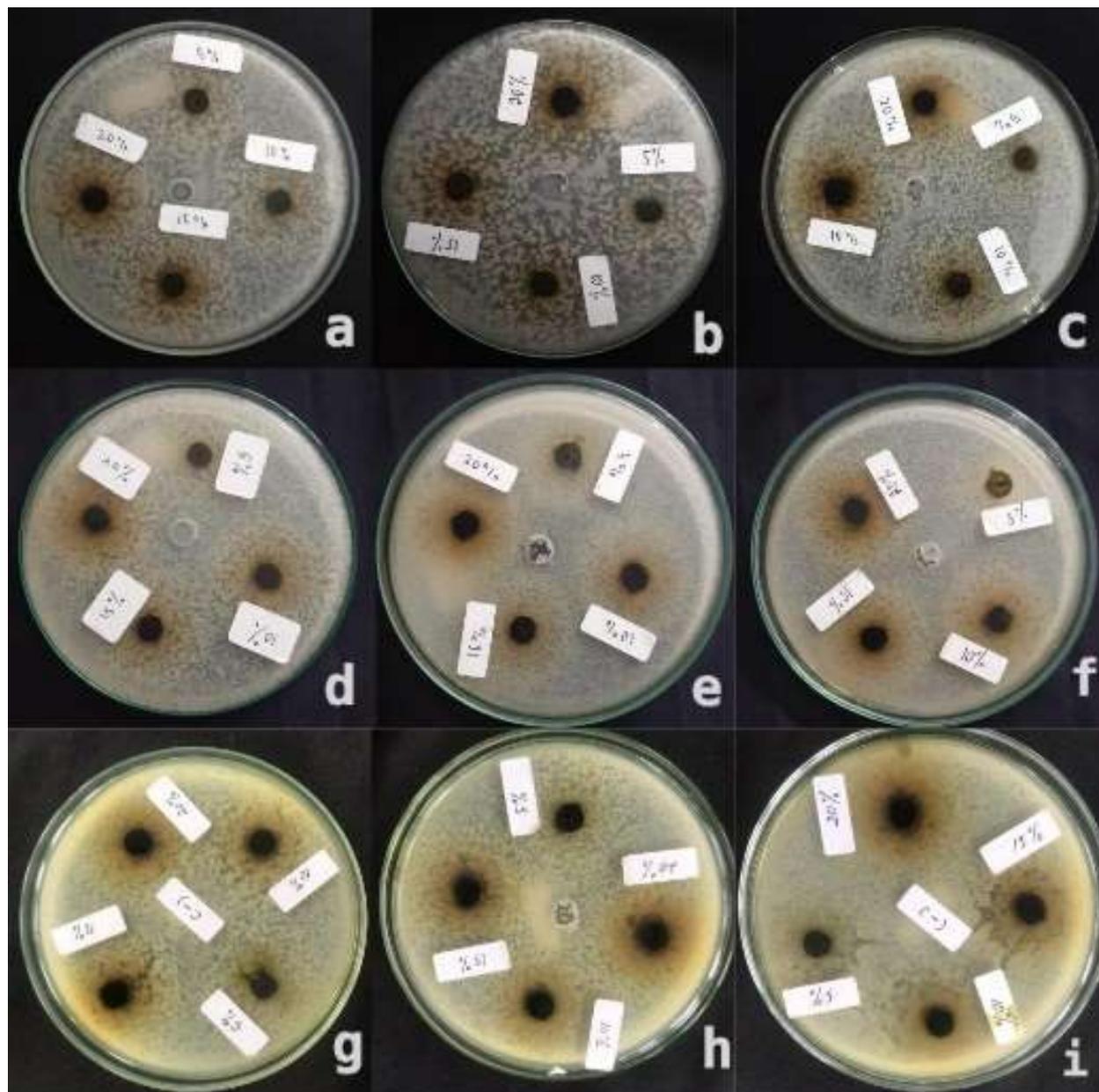
3. Hasil Dan Pembahasan

Daun sirih hitam (*Piper betle L. var Nigra*) terlebih dahulu dibersihkan, dikeringkan, dan diserbukkan. Ekstrak etanol 70% daun sirih hitam dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Etanol dapat melarutkan senyawa fitokimia lebih maksimal karena etanol mampu menarik asam amino, gula, beberapa senyawa fitokimia seperti alkaloid, flavonoid dan glikosida flavonoid serta klorofil terlarut dalam pelarut polar sehingga senyawa terekstrak dengan pelarut etanol ini cukup banyak dan menghasilkan rendemen yang tinggi. Alasan penggunaan metode maserasi adalah perlakuan lebih sederhana karena tidak membutuhkan peralatan yang mahal, kandungan kimia dalam simplisia yang akan ditarik aman karena tidak menggunakan pemanasan [4]

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan difusi sumuran dengan tujuan untuk mengetahui besarnya diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat adalah zona bening yang terdapat di sekitar sumuran yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acne*. Ekstrak etanol 70% daun sirih hitam dilarutkan dalam dmsO 10% dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada gambar 1 dan tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat yang didapatkan (mm)

Lama Penyimpanan (hari)	Konsentrasi				
	K (-)	5%	10%	15%	20%
3	-	3,10 ± 0,72395	7,51 ± 0,73912	7,30 ± 0,44306	7,75 ± 0,81365
7	-	15,1 ± 0,83465	16,9 ± 0,50083	17,5 ± 0,20551	18,59 ± 0,6755
10	-	0	10,73 ± 1,03595	12,73 ± 2,48863	13,15 ± 2,05648



Gambar 1. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hitam terhadap bakteri *Propionibacterium acne* pada hari ke 3 (a,b,c), hari ke 7 (d,e,f), dan hari ke 10 (g,h,i)

Hasil dari pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hitam (*Piper betle L. var Nigra*) dengan berbagai variasi konsentrasi ekstrak yaitu 5%, 10%, 15%, 20%, dan 1 sampel kontrol negatif yaitu pelarut ekstrak yang digunakan. Dari pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acne* yang telah dilakukan (Tabel 1.) didapatkan rata-rata zona hambat pada ekstrak dengan lama penyimpanan selama 3 hari yaitu 3,10 mm, 7,51 mm, 7,30 mm, 7,75 mm pada konsentrasi 5%, 10%, 15%,

dan 20%. Kemudian pada ekstrak dengan lama penyimpanan 7 hari yaitu sebesar 15,1 mm, 16,9 mm, 17,5 mm, 18,59 mm pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20%. Sedangkan pada ekstrak dengan lama penyimpanan 10 hari yaitu tidak ditemukan adanya zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 5%. Kemudian sebesar 10,73 mm, 12,73 mm, dan 13,15 mm pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20%. Sedangkan pada K (-) tidak ditemukan adanya zona hambat yang terbentuk.

Daya hambat dibagi atas kategori sangat kuat adalah diameter zona hambat >20 mm, kategori kuat adalah diameter zona hambat 10-20 mm, kategori sedang adalah diameter zona hambat 5-10 mm, dan kategori lemah adalah diameter zona hambat <5 mm [5]. Sehingga dapat dinyatakan bahwa pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hitam terhadap bakteri *Propionibacterium acne*, K (-) tidak memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Sedangkan pada hasil pengujian dengan lama penyimpanan 3 hari didapatkan zona hambat yang lemah pada konsentrasi 5% dan didapatkan zona hambat yang sedang pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20%. Kemudian pada hasil pengujian dengan lama penyimpanan 7 hari didapatkan zona hambat yang kuat pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20%, hal ini ditunjukkan dengan zona hambat yang dihasilkan sebesar 10-20 mm yaitu termasuk dalam kategori kuat. Sedangkan pada hasil pengujian dengan lama penyimpanan 10 hari tidak didapatkan zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 5%, dan didapatkan zona hambat yang kuat pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20%.

Adapun faktor-faktor yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri antara lain yaitu, kekeruhan suspensi bakteri. Jika suspensi kurang keruh maka diameter zona hambat akan lebih besar, dan sebaliknya jika suspensi lebih keruh diameter zona hambat akan semakin kecil. Untuk mengukur kekeruhan dari suspensi bakteri tersebut sebaiknya menggunakan alat bantu yaitu nephelometer agar kekeruhan suspensi bakteri lebih akurat saat dibandingkan dengan kekeruhan standar *Mc Farland* 0,5 [6] atau bisa juga diukur dengan alat spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 580 nm dan transmitan 25% [7]. Temperatur inkubasi juga dapat menjadi faktor yang mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Untuk memperoleh pertumbuhan yang optimal inkubasi dilakukan pada suhu 35°C. Kemudian ketebalan medium yang efektif sekitar 4 mm. Jika kurang dari 4 mm difusi ekstrak akan lebih cepat, sedangkan jika lebih dari 4 mm difusi ekstrak akan menjadi lebih lambat. Selain itu, kurangnya daya difusi ekstrak ke dalam medium juga dapat mempengaruhi, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin rendah

kelarutan, sehingga hal ini dapat memperlambat difusi bahan aktif ekstrak ke dalam media dan akhirnya dapat mengurangi kemampuan ekstrak dengan konsentrasi tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji [6].

Dalam hal ini lama penyimpanan berpengaruh sangat nyata terhadap ekstrak etanol daun sirih hitam (*Piper betle L. var Nigra*). Hal ini sesuai hipotesis bahwa lama penyimpanan dapat mempengaruhi efektivitas antibakteri dikarenakan penyimpanan ekstrak. Semakin lama penyimpanan akan semakin banyak meningkatnya aktivitas mikroorganisme yang pada akhirnya mengakibatkan terjadinya pembusukan. Proses pembusukan akan diikuti dengan meningkatnya pH, keadaan ini akan diikuti pula dengan peningkatan pertumbuhan mikroorganisme [8].

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hitam (*Piper betle L. var Nigra*) memiliki aktivitas antibakteri pada pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acne*. Serta memiliki pengaruh lama penyimpanan terhadap aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hitam yang dimana pada hari ke 7 menghasilkan zona hambat bakteri terbesar dibandingkan dengan zona hambat bakteri pada hari ke 3 dan 10.

5. Daftar Pustaka

- [1] Afriyanti, R.N. 2015. Acne Vulgaris Pada Remaja. *Jurnal Majority*. 4(6): 102-109
- [2] Akarina, W., 2011. Pengaruh Konsentrasi Humektan terhadap Stabilitas Formula Obat Kumur. *Jurnal USU*. Medan.
- [3] Prasetya, F. (2012). Formulasi pasta gigi berbahan aktif ekstrak daun sirih hitam sebagai antimikroba penyebab radang gusi (gingivitis) dan gigi berlubang (caries). *J. Trop. Pharm. Chem*. 2(1), 19-25.
- [4] Dewatisari, W. F. 2020. Perbandingan Pelarut Kloroform Dan Etanol Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata*. Prain) Menggunakan Metode Maserasi. *In Prosiding Seminar Nasional Biologi* (Vol. 6, No. 1, pp. 127-132).
- [5] Davis, W.W., Atout, T. R. 1971. Disc Plate Methods of Microbiology. 22 (4): 659-665

- [6] Zeniusa, P., Ramadhian, M. R., Nasution, S. H., & Karima, N. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Teh Hijau Terhadap *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Jurnal Majority*, 8(2), 136-143.
- [7] Azizah, M., & Ekawati, S. 2019. Profil Kromatogram dan Uji Aktivitas Antibakteri Beberapa Fraksi Ekstrak Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap Bakteri Penyebab Disentri dengan Metode Difusi Agar. *Jurnal Penelitian Sains*, 19(2), 86-93.
- [8] Suradi, K. 2012. Pengaruh Lama Penyimpanan pada Suhu Ruang terhadap Perubahan Nilai pH, TVB dan Total Bakteri Daging Kerbau. *Jurnal Ilmu Ternak*. 12(2):9-12