

**ARTIKEL ILMIAH**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN SIRIH  
HITAM (*Piper bettle L var nigra*) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus***

**DIANA INDAH DWI SAPUTRI**

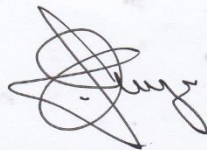
**NIM 15.028**

Telah diperiksa dan disetujui untuk diujikan

YAYASAN PUTERA INDONESIA

**MALANG**

**Pembimbing,**



**Lina Oktavia Rahayu, S.Si., M.P.**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN SIRIH  
HITAM (*Piper bettle L var nigra*) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY THE ETHANOL EXTRACT 70% OF  
BLACK BETEL LEAF (*Piper bettle L var nigra*) AGAINTS TO  
*Staphylococcus aureus* BACTERIA.**

---

**Diana Indah Dwi Saputri, Lina Oktavia Rahayu, S.Si., M.P.**

Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

---

**ABSTRAK**

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif anaerobik fakultatif dan merupakan flora normal pada kulit dan dapat menjadi patogen pada jaringan kulit yang terbuka. Penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat diobati menggunakan daun sirih hitam. Daun sirih hitam (*Piper bettle L var nigra*) diketahui mengandung senyawa steroid, tanin, alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol yang memiliki khasiat sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun sirih hitam terhadap *Staphylococcus aureus*. Tahapan penelitian meliputi pembuatan ekstrak etanol 70% daun sirih hitam, skrining fitokimia, dan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran. Ekstrak etanol 70% daun sirih hitam positif mengandung senyawa steroid, tanin, alkaloid, flavonoid, dan polifenol. Pengujian antibakteri dibagi dalam 5 kelompok, yaitu kontrol negatif (aquadest steril), konsentrasi 5%, 10%, 20%, dan 25%. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata diameter zona hambat berturut-turut sebesar 0 mm, 1,45 mm, 4,82 mm, dan 6,89 mm. Data hasil dianalisa statistik dengan *One Way Anova* dilanjutkan *Post Hoc Test Dunnett T3* menunjukkan bahwa konsentrasi 5% dan 10% tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $p>0,05$ ), sedangkan konsentrasi 20% dan 25% terdapat perbedaan yang signifikan ( $p<0,05$ ). Dari hasil penelitian dapat disimpulkan ekstrak etanol 70% daun sirih hitam memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

Kata Kunci : Antibakteri, Ekstrak etanol 70% daun sirih hitam, Skrining fitokimia, *Staphylococcus aureus*.

**ABSTRACT**

*Staphylococcus aureus* is a Gram positive anaerobic facultative bacteria and flora normal in a healthy skin and could be a pathogen on the open skin tissue. The disease caused by *Staphylococcus aureus* can be treated by using black betel leaf. Black betel leaf (*Piper bettle L var nigra*) are known contains steroid, tannins, alkaloids, saponins, flavonoids and polyphenols that have efficacy as antibacterial. This research aims know to antibacterial activity the ethanol extract 70% of black betel leaf against to *Staphylococcus aureus*. The stages of this research include making the ethanol extract 70% of black betel leaf, phytochemicals screening, and antibacterial activity test by using well diffusion method. Ethanol extract 70% of black betel leaf contains steroid, tannins, alkaloids, flavonoids, and polyphenols. Antibacterial activity tests were divided into 5 groups: negative control (sterile distilled water), the extract concentration of 5%, 10%, 20%, and 25%. The result showed the average inhibition zone diameter respectively 0 mm, 1,49 mm, 4,82 mm, and 6,89 mm. The result was analyzed statistics using *One Way Anova* and continued with *Post Hoc Test Dunnett T3*, showed that the concentration of 5% and 10% there is no significant differences ( $p>0,05$ ), while the concentration of 20% and 25% there is a significant differences ( $p<0,05$ ). The conclusion of this research is the ethanol extract 70% of black betel leaf have antibacterial activity againts to *Staphylococcus aureus*.

Keywords : Antibacteria, Ethanol extract 70% of black betel leaf, Phytochemicals screening, *Staphylococcus aureus*.

## PENDAHULUAN

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif anaerobik fakultatif dan merupakan flora normal pada kulit sehat dan dapat menjadi patogen pada jaringan kulit yang terbuka. *Staphylococcus aureus* hidup sebagai saprofit di dalam saluran pengeluaran lendir dari tubuh manusia seperti hidung, mulut, dan tenggorokan, dan juga terdapat pada pori-pori dan permukaan kulit kelenjar keringat dan saluran usus (Brooks *et al.*, 2007 dalam Salim, 2016). Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan bermacam-macam infeksi seperti pneumonia, meningitis, empiema, endokarditis, jerawat, pioderma atau impetigo (Saraswati, 2015).

Pengobatan yang bisa dilakukan akibat bakteri *Staphylococcus aureus* adalah menggunakan cara sintesis atau obat-obatan kimia (antibiotik) dan pengobatan secara alami, baik oral maupun topikal. Indonesia merupakan salah satu negara tropis dengan keanekaragaman hayati yang melimpah dari sabang sampai merauke. Salah satu dari sekian banyak tumbuhan yang dapat digunakan adalah daun sirih hitam. (Candrasari, *et al.*, 2012).

Daun sirih hitam mengandung senyawa seperti triterpenoid, steroid, flavonoid, saponin, polifenol dan tanin. Berdasarkan penelitian Rija'i (2015), daun sirih hitam memiliki manfaat salah satunya adalah sebagai antibakteri karena kandungan flavonoid, saponin, dan tanin.

Metode pengujian antibakteri yang digunakan adalah metode difusi. Lebarnya zona yang terbentuk ditentukan oleh konsentrasi senyawa efektif yang digunakan merupakan dasar pengujian kuantitatif, hal ini mengindikasikan bahwa senyawa tersebut bisa bebas berdifusi keseluruhan medium (Nuraini *et al.*, 2016).

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun sirih hitam terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi pengobatan yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan ekstrak etanol 70% daun sirih hitam.

## METODE PENELITIAN

Penelitian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun sirih hitam terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk jenis penelitian eksperimental.

## Alat dan Bahan

**Alat.** Wadah maserasi, cawan petri, mikro pipet, disposable blue tip, bunsen, kaki tiga, kawat kasa, jarum ose, erlenmeyer, beaker glass, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet, autoklaf, inkubator, cork borer, *laminar air flow*, pinset, *autoklaf*, *evaporator*, oven, blender, cawan porselen, spektrofotometri.

**Bahan.** Daun sirih hitam, etanol 70%, MSA (*Manitol Salt Agar*), bakteri *Staphylococcus aureus*, aquadest, NaCl 0,9%, BaCl<sub>2</sub> 1%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%, asam anhidrat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, FeCl<sub>3</sub> 1%, FeCl<sub>3</sub> 5%, pereaksi dragendorft, pereaksi mayer, pereaksi wagner, HCl 2N, HCl pekat, dan serbuk Mg.

## Tahapan Penelitian

### 1. Pembuatan Ekstrak

Daun segar sirih hitam sebanyak 1 kg disortasi basah lalu dicuci dengan air mengalir kemudian ditiriskan. Dikeringkan dengan cara dianginkan-anginkan selama ±10 hari. Kemudian dihaluskan sampai menjadi serbuk menggunakan blender. Serbuk diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat dengan pelarut etanol 70%. Maserasi dilakukan dengan merendam 250 gram serbuk sirih hitam menggunakan etanol 70% sebanyak

1.875 ml selama 3 hari, kemudian disaring untuk mendapatkan didapatkan maserat I dan residu. Residu diremaserasi menggunakan 625 ml selama 2 hari, kemudian disaring untuk mendapatkan maserat II dan residu (Yuswantina, *et al.*, 2014). Maserat I dan II digabungkan, selanjutnya dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental yang pekat berwarna coklat dengan bau khas aromatik (Candrasari, *et al.*, 2012).

### 2. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia pada ekstrak etanol 70% daun sirih hitam meliputi pemeriksaan steroid/ triterpenoid, tanin, alkaloid, flavonoid, saponin, dan polifenol.

### 3. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 1 ml (nilai absorbansi 0,098  $A \approx 1,5 \times 10^8$  CFU/ml) dimasukkan ke dalam cawan petri secara aseptis, kemudian ditambahkan media *Manitol Salt Agar* (MSA) masing-masing ±15 ml dengan metode *pour plate*. Dimasukkan ekstrak daun hitam pada sumuran yang telah dibuat dengan diameter 8 mm sebanyak masing-masing 50 µl. Sebagai kontrol negatif digunakan aquadest steril. Uji perlakuan digunakan ekstrak etanol

70% daun sirih hitam dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, 20%, 25% dan 30%. Seluruh perlakuan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

#### 4. Analisis Data

Data dianalisa menggunakan *SPSS 15.0 for Windows* menggunakan metode *One Way Anova* dilanjutkan dengan *Post Hoc Test Dunnett T3* dengan selang kepercayaan 95%.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi menunjukkan bahwa bahan tumbuhan yang digunakan adalah daun sirih hitam (*Piper betle L var nigra*). Daun sirih hitam terlebih dahulu dibersihkan, dikeringkan, dan diserbukkan. Ekstrak etanol 70% daun sirih hitam dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak etanol 70% daun sirih hitam kemudian dilakukan skrining fitokimia. Hasil pengamatan skrining fitokimia digunakan untuk mendeteksi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol 70% daun sirih hitam.

Menurut Rija'i (2015), senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri adalah alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, triterpenoid, dan polifenol. Pada tabel 1, steroid, tanin, alkaloid,

flavonoid dan polifenol menunjukkan hasil yang positif, akan tetapi pada triterpenoid dan saponin menunjukkan hasil negatif. Komponen senyawa metabolit sekunder dari suatu tanaman tergantung dari daerah geografi, umur tanaman, iklim lokal, musim dan perbedaan genetik (Septiana, 2011).

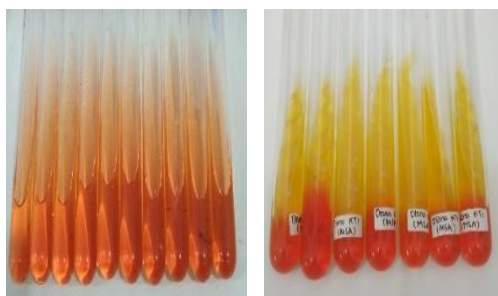
**Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun Sirih Hitam**

Identifikasi Senyawa	Ekstrak Etanol 70%	Keterangan
Steroid	+	Hijau-kuning
Triterpenoid	-	-
Tanin	+	Biru-hijau
Alkaloid	+	Pereaksi dragendorff : endapan jingga Pereaksi mayer : endapan putih Pereaksi wagner : endapan coklat
Saponin	-	-
Flavonoid	+	Merah jingga
Polifenol	+	Hijau-biru

Keterangan : (+) menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder, (-) menunjukkan tidak adanya senyawa metabolit sekunder.

Media yang digunakan adalah *Manitol Salt Agar* (MSA) karena media ini merupakan media selektif dan diferensial untuk *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian yang dilakukan terjadi perubahan warna media dari warna merah menjadi warna kuning, ditunjukkan dengan gambar 1 dan 2. Dimana media ini akan berubah warna jika ditumbuhi oleh bakteri *Staphylococcus aureus*, karena bakteri

*Staphylococcus aureus* akan memfermentasi manitol menjadi asam yang kemudian akan merubah warna indikator *phenol red* dari warna merah menjadi warna kuning (Rahayu *et al.*, 2014).



**Gambar 2.** Perubahan warna media MSA sebelum dan sesudah ditumbuhi bakteri *Staphylococcus aureus*

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 *Staphylococcus aureus*. Ekstrak etanol 70% daun sirih hitam dilarutkan dalam aquadest steril dengan konsentrasi 5%, 10%, 20%, dan 25%. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat

Replikasi	K. - (mm)	Ekstrak etanol daun sirih hitam % (mm)			
		5	10	20	25
1	0	0	2,11	4,76	7,38
2	0	0	0	5,24	6,56
3	0	0	1,55	4,42	6,87
4	0	0	1,45	4,67	6,83
5	0	0	2,14	5,02	6,86
<b>Rata-Rata</b>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	1,45 <sup>a</sup>	4,82 <sup>b</sup>	6,89 <sup>c</sup>

Keterangan :

1. K. - : kontrol negatif
2. Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan uji dunnett T3 (sig < 0,05).

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun sirih hitam (tabel 2) menunjukkan bahwa kelompok perlakuan ekstrak etanol 70% daun sirih hitam dengan konsentrasi 5% tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Ekstrak etanol 70% daun sirih hitam memiliki zona hambat pada konsentrasi 10%. Namun, berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan yang menggunakan konsentrasi 10% tidak terdapat perbedaan yang signifikan (sig > 0,05) dibandingkan dengan kontrol negatif. Dari tabel 4.3 dapat disimpulkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol 70% daun sirih hitam, maka semakin besar diameter zona hambat.

**Tabel 3. Kategori zona hambat menurut Risiko dan Puguh (Yanti, 2017)**

Diameter Zona Hambat	Kategori
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 20 mm	Sangat Kuat

Aquadest steril sebagai kontrol negatif dan ekstrak etanol 70% daun sirih hitam dengan konsentrasi 5% tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, pada ekstrak etanol 70% daun sirih hitam dengan konsentras 10% dan 20% memiliki respon penghambatan dengan kategori lemah ( $\leq 5$  mm), sedangkan pada konsentrasi 25% memiliki respon penghambatan dengan kategori sedang (6-10 mm). Sehingga semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak etanol 70% daun sirih hitam maka kategori respon penghambatan akan semakin kuat.

Hal ini disebabkan karena ekstrak etanol 70% daun sirih hitam mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu steroid, tanin, alkaloid, flavonoid dan polifenol yang berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa metabolit sekunder yang diduga memiliki kemampuan sebagai antibakteri adalah alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid dan steroid (Arundhina, *et*

*al.*, 2014). Steroid akan berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang dapat menyebabkan sel bakteri rapuh dan lisis (Dwiyanti, 2015). Tanin dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel, sehingga mengganggu permeabilitas sel akibatnya sel tidak dapat melakukan aktivitas kehidupan sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Dwiyanti, 2015). Alkaloid dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Dwiyanti, 2015). Flavonoid bersifat dapat merusak membran sel sehingga terjadi perubahan permeabilitas sel yang dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel (Dwiyanti, 2015). Polifenol akan mendenaturasi ikatan protein pada membran sel sehingga membran sel lisis dan mungkin fenol dapat menembus ke dalam inti sel (Candrasari, *et al.*, 2012).

Hasil penelitian (tabel 2) menunjukkan bahwa ekstrak etanol

70% daun sirih hitam pada konsentrasi 5% tidak menghasilkan zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini diduga karena pada konsentrasi 5%, kandungan metabolit sekunder yang terdapat di dalam ekstrak sedikit, sehingga tidak mempunyai aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan pada konsentrasi 10%, 20%, dan 25% menunjukkan adanya zona hambat yang berbeda. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat sebagai antibakteri (Septiana, 2011).

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol 70% daun sirih hitam (*Piper bettle L var nigra*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Saran untuk penelitian selanjutnya, antara lain:

1. Penelitian uji antibakteri ekstrak daun sirih hitam terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan metode maserasi dengan pelarut yang berbeda.
2. Penelitian lebih lanjut terhadap bakteri Gram negatif mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol

70% daun sirih hitam (*Piper bettle L var nigra*).

3. Penelitian mengenai penentuan nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) ekstrak etanol 70% daun sirih hitam terhadap *Staphylococcus aureus*.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih dipersembahkan untuk Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Tak lupa penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Lina Oktavia Rahayu, S.Si., M.P. selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan arahan, saran, dan bimbingan dari awal hingga akhir penelitian.

## DAFTAR RUJUKAN

- Arundhina, Elisabeth, (et al). 2014. Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Alamanda (*Allamanda cathartica L.*) Sebagai Antijamur Terhadap *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale* Secara In Vitro. Yogyakarta : Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
- Candrasari, Anika, (et al). 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. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Dwiyanti, Ratih Dewi, Nurlailah, Indah K.W. 2015. Efektivitas Air Rebusan Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi*. Banjarmasin : Poltekkes Kemenkes Banjarmasin.
- Nuraini, Nurul dan Hari Widada. 2016. Penapisan Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat dan n-Heksan Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn) terhadap *Shigella flexneri* ATCC 12022. Yogyakarta : Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Rahayu, Ni Putu Niti, Retno Kawuri, Ni Luh Suriani. 2014. Uji Keberadaan *Staphylococcus aureus* Pada Sosis Tradisional (Urutan) Yang Beredar di Pasar Tradisional di Denpasar, Bali. Universitas Udayana. Bali.
- Rija'i Rashif H, Livia Syafnir, Endang Rismawati. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bertingkat Daun Sirih Hitam (*Piper Acre* Blume.) dengan Perendaman Radikal Bebas Dpph (1,1-Difenil-2-Pikril Hidrazil). Bandung : Universitas Islam Bandung.
- Salim, Hari H.U. 2016. Pengaruh Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus aureus*) dan Gram Negatif (*Escherichia coli*) Secara In Vitro. Skripsi. Bandar Lampung : Universitas Lampung.
- Saraswati, Faradhila. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Limbah Kulit Pisang Kepok Kuning (*Musa balbisiana*) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat (*Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Propionibacterium acne*). Skripsi. Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Septiana, Rina. 2011. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Teraktif Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.). Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Yanti, Yuska Novi dan Sucia Mitika. 2017. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sambilotto (*Andrographis paniculata* Nees) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Bengkulu : Akademi Farmasi Yayasan Al-Fatah.
- Yuswalina, Richa, Istianatus S., Enny S. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Rumpun Teki (*Cyperus rotundus* L.) dengan Metode DPPH (2,2-Difenyl-1-Picrylhydrazyl). Semarang : Universitas Diponegoro.