

Aktivitas antibakteri fraksinasi daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Propionibacterium acnes* secara in-vitro

Antibacterial activity of fractination of red betel leaf (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) against *Escherichia coli* dan *Propionibacterium acnes* bacteria by in-vitro method

Dika Ikhlasul Amal¹, Amalia Eka Putri¹, Yunita Dyah Safitri¹

¹Program Studi Farmasi, STIKes Karya Putra Bangsa,
Jl. Raya Tulungagung-Blitar KM 4, Sumbergempol, Tulungagung, 66291 Indonesia

Article Info:

Received: 2022-12-24

Revised: 2023-01-19

Accepted: 2023-02-18

✉ E-mail Author: dika.ikhlasul@gmail.com

ABSTRACT

Acne is a problem that often appears in teenagers in Indonesia with the percentage in women around 83-85% and in men around 95-100%. Bacteria found in acne patients include *Escherichia coli* and *Propionibacterium acnes*. *Escherichia coli* and *Propionibacterium acnes* easily resistant to antibiotics and the many negative effects of use long-term antibiotics, it is necessary to develop antibacterial agents with Utilizing plants, one of the plants that can be used is the leaves red betel. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of red betel leaf fraction against *Escherichia coli* and *Propionibacterium acnes*. The method used in this research is the experimental method. Samples were extracted by maceration using 70% ethanol, then fractionated using aquadestilata, ethyl acetate, and n-hexane as solvents. Activity test Antibacterial fraction of red betel leaf using in vitro testing method, namely disc diffusion with a concentration of 5%. The results of testing the antibacterial activity of the betel leaf fraction red indicates the presence of antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Propionibacterium acnes*.

Keywords: Antibacterial, Red betel leaf, *Escherichia coli*, *Propionibacterium acnes*, Fractionation

ABSTRAK

Jerawat merupakan masalah yang sering muncul pada remaja di Indonesia dengan persentase pada wanita sekitar 83-85% dan pada pria sekitar 95-100%. Bakteri yang terdapat pada pasien jerawat diantaranya adalah *Escherichia coli* dan *Propionibacterium acnes*. Bakteri *Escherichia coli* dan *Propionibacterium acnes* mudah resisten terhadap antibiotik dan banyaknya dampak negatif dari penggunaan antibiotik jangka panjang, maka diperlukan pengembangan agen antibakteri dengan memanfaatkan dari tanaman, salah satu tanaman yang dapat digunakan yaitu daun sirih merah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi daun sirih merah terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Propionibacterium acnes*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Sampel diekstraksi dengan maserasi menggunakan etanol 70%, lalu difraksinasi menggunakan pelarut aquadestilata, etil asetat, dan n-heksan. Uji aktivitas antibakteri fraksi daun sirih merah menggunakan metode pengujian in vitro yaitu difusi cakram dengan konsentrasi 5%. Hasil pengujian aktivitas antibakteri fraksi daun sirih merah menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Propionibacterium acnes*.

Kata Kunci: Antibakteri, Daun sirih merah, *Escherichia coli*, *Propionibacterium acnes*, Fraksinasi

1. PENDAHULUAN

Jerawat sering muncul pada wanita remaja berumur 14-17 tahun dengan presentase sekitar 83-85% dan pada pria remaja berumur 16-19 tahun dengan presentase sekitar 95-100%.¹ Bakteri yang terdapat pada pasien jerawat meliputi: *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus*, dan *Enterobacter* termasuk *Escherichia coli*.²

Jerawat dapat diobati dengan menggunakan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan ataupun membunuh bakteri tersebut.³ Penggunaan obat-obat antibiotik yang tidak tepat, dapat menyebabkan bakteri yang resisten terhadap antibiotik yang mempersulit proses pengobatan sehingga infeksi terus menyebar.⁴ Adanya resistensi antibiotik maka diperlukan pengembangan penelitian mengenai penemuan obat baru yang berasal dari bahan alam, untuk meminimilasi efek samping seperti yang dapat ditimbulkan dari penggunaan antibiotik atau zat aktif lain, termasuk antibiotik yang berasal dari tumbuhan.⁵

Salah satu penggunaan tumbuhan yang berkhasiat sebagai antibakteri adalah daun sirih merah (*Piper ornatum*).⁶ Daun sirih merah mengandung senyawa kimia seperti flavonoid, tanin, dan minyak atsiri yang diduga berpotensi sebagai daya antimikroba.⁷ Berdasarkan penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah dengan metode ekstraksi sokhletasi dan metode uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram, memberikan efek daya hambat pada bakteri *Propionibacterium acne*, dengan titik optimum zona hambat yang dihasilkan yaitu pada konsentrasi 25% dengan diameter zona hambat sebesar 10,90 mm.⁶ Penelitian lain ekstrak daun sirih merah secara maserasi terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan titik optimum diameter zona hambat 10,6 mm pada konsentrasi 15%.⁸ Penelitian daun sirih merah lain, dengan metode perasan air daun sirih merah pada bakteri *Escherichia coli*, titik optimum dihasilkan pada konsentrasi 40% dengan zona hambat 12,79 mm.⁹

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti ingin melakukan uji terkait aktivitas antibakteri dengan metode fraksinasi karena dapat memisahkan komponen-komponen senyawa aktif dari ekstrak yang dihasilkan. Pelarut yang digunakan pada metode fraksi yaitu pelarut n-heksan, etil asetat, dan *aquadestilata* dari ekstrak daun sirih merah terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Propionibacterium acnes* secara *in vitro*, dengan antibiotik pembanding kloramfenikol. Kloramfenikol dipilih sebagai kontrol positif karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif.

2. METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, blender, ayakan ukuran 60, beaker, kertas saring, rotary evaporator, water bath, cawan petri, kertas, tabung reaksi, *cutton bud steril*, bunsen, Laminar Air Flow, dan inkubator. Sedangkan bahan yang diperlukan adalah daun sirih merah, etanol 70%, *aquadestilata*, n-heksan, etil asetat, kalium dikromat (K₂Cr₂O₇), asam sulfat (H₂SO₄), HCl, FeCl₃, *Natrium Agar*, *Nutrient Borth*, NaCl, dan kloramfenikol 0.1%.

Pembuatan Simplisia dan Ekstraksi

Pembuatan simplisia dilakukan dengan cara mencuci bersih daun sirih merah dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Simplisia yang telah kering kemudian dipotong menjadi kecil dan diserbukkan untuk memperluas permukaan sehingga dapat larut secara maksimal. Serbuk yang didapatkan kemudian diayak dengan menggunakan mesh ukuran 60. Serbuk yang diperoleh dimaserasi menggunakan etanol 70% dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:7.5 didiamkan selama 5 hari kemudian dipekatkan.

Fraksinasi

Ditimbang ekstrak daun sirih merah sebanyak 5 gram, dilarutkan menggunakan 75 ml *aquadestilata*. Larutan sampel dimasukkan dalam corong pisah, ditambah dengan pelarut n-heksan 25 ml di ulang sebanyak 3 kali sebagai pelarut non-polar, kemudian digojog hingga tampak terjadi seperti pemisahan, masing-masing ditampung di beaker glass. Fraksi *aquadestilata* difraksinasi dengan etil asetat 25 ml di ulang sebanyak 3 kali sebagai pelarut semi polar. Fraksi yang diperoleh dipekatkan sampai didapat fraksi yang kental.

Skrining Fitokimia

Skrining yang dilakukan menggunakan tabung dan dilakukan dengan cara :

a. Flavonoid

Ekstrak daun sirih merah diambil sebanyak 0,5 gr dicampur dengan 3 ml etanol 70%, lalu dikocok, dipanaskan dan dikocok lagi kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh, kemudian ditambah Mg 0,1 g dan 5 tetes HCl pekat. Sampel positif mengandung flavonoid apabila terbentuk warna kuning, jingga, atau merah

b. Tannin

Ekstrak daun sirih merah diambil 2 gr sampel dilarutkan dengan etanol 70% sampai terendam semua, kemudian diambil 1 ml larutan sampel dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif mengandung tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman.

c. Saponin

Mengambil ekstrak daun sirih merah sebanyak 0,5 g, lalu mendidihkan dan mencampur dengan 10 ml *aquadestilata* dalam penangas air, mengocok filtrat dan mendiamkan selama 15 menit, hasil positif menunjukkan adanya senyawa saponin yaitu pada terbentuknya busa yang stabil.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dengan sampel fraksi daun sirih merah. Fraksi yang digunakan yaitu fraksi *aquadestilata*, etil asetat, dan n-heksana. Konsentrasi fraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu konsentrasi 5% yang diperoleh dari hasil orientasi. Pembuatan larutan uji fraksi daun sirih merah dilakukan dengan cara mengencerkan fraksi daun sirih merah dengan masing-masing pelarut, agar fraksi daun sirih merah dapat larut secara sempurna, hal ini sesuai dengan prinsip *like dissolve like* yang berarti suatu senyawa akan terlarut pada pelarut dengan sifat yang sama.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah mengandung senyawa seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Sirih Merah

Jenis Uji	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Mg+HCl pekat	Merah	+
Tannin	FeCl ₃	Hitam	+
Saponin	<i>Aquadestilata</i>	Busa Stabil	+

Uji Antibakteri *Escherichia coli* dan *Propionibacterium acnes*

Zona hambat yang terbentuk dari hasil uji antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Propionibacterium acnes* terdapat pada Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Diameter Rata-Rata Zona Hambat (mm) terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Sampel	Diameter Zona Hambat			Rata-Rata
	RI	RII	RIII	
Fraksi Aquadestilata 5%	11,5	9,5	8	9,66
Fraksi N-Heksan 5%	15	13,5	0	9,5
Fraksi Etil Asetat 5%	2	5	6	4,33
Kontrol positif +Aquadestilata	21,5	22	23	22,17
Kontrol positif +N-Heksan	24	25	25	24,67
Kontrol positif +Etil Asetat	28	29	28	28,33
Pelarut Aquadestilata	0	0	0	0
Pelarut N-Heksan	0	0	0	0
Pelarut Etil Asetat	8,5	8	8	8,16

Tabel 3. Diameter Rata-Rata Zona Hambat (mm) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*

Sampel	Diameter Zona Hambat			Rata-Rata
	RI	RII	RIII	
Fraksi Aquadestilata 5%	9	8,5	8	8,5
Fraksi N-Heksan 5%	8	9	7	8
Fraksi Etil Asetat 5%	3	7	7	5,66
Kontrol positif + Aquadestilata	21	22	22	21,66
Kontrol positif + N-Heksan	23	25	24	24
Kontrol positif + Etil Asetat	27	28	27,5	27,5
Pelarut Aquadestilata	0	0	0	0
Pelarut N-Heksan	0	0	0	0
Pelarut Etil Asetat	12	6	6	8

Hasil menunjukkan bahwa fraksi *aquadestilata*, etil asetat, dan n-heksan daun sirih merah memiliki diameter rata-rata zona hambat terkecil yaitu pada fraksi etil asetat yaitu sebesar 4,33 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan 5,66 terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. Sedangkan pada penghambatan terbesar terdapat pada fraksi *aquadestilata* dengan diameter rata-rata zona hambat sebesar 9,66 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan 8,5 mm terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. Penggunaan kloramfenikol sebagai kontrol positif memberikan penghambatan yang signifikan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Propionibacterium acnes*. Kontrol negatif yang digunakan yaitu masing-masing pelarut fraksi. *Aquadestilata* dan n-

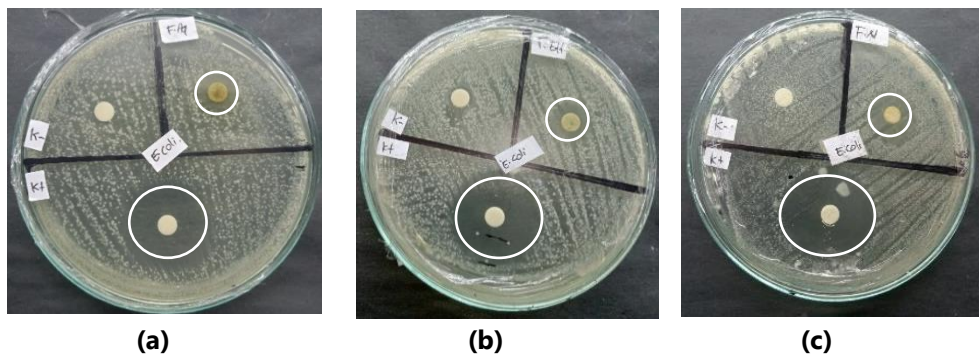
heksan tidak memberikan zona hambat, sedangkan etil asetat sebagai control negatif menimbulkan zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Propionibacterium acnes*. Menurut Pringgenies¹⁰ Apabila pada control negatif etil asetat terjadi pembentukan zona hambat maka dilakukan pengurangan dengan diameter zona hambat yang terbentuk pada fraksi etil asetat.

Fraksi *aquadestilata*, fraksi N-heksan, dan fraksi etil asetat daun sirih merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Propionibacterium acnes* hal ini diduga karena fraksi daun sirih merah dapat menarik senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, dan tannin yang memiliki aktivitas antibakteri. Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan mendenaturasi protein sel bakteri, merusak membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi bakteri dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri.¹¹ Fenol dan protein membentuk ikatan hidrogen yang mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Dimana ikatan hydrogen akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma. Sehingga permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu akan terjadi ketidakseimbangan dalam sel yang menyebabkan sel menjadi lisis.¹²

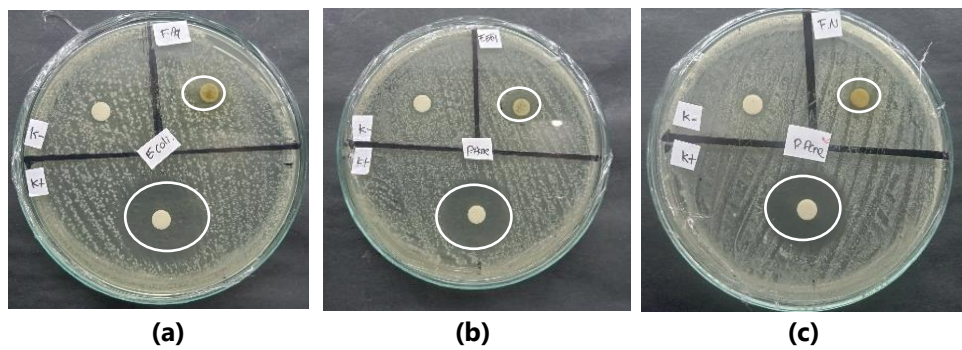
Mekanisme dari saponin sebagai senyawa antibakteri dengan menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin menjadi senyawa antibakteri karena zat aktif permukaannya sama dengan detergen, sehingga saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri serta merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel bakteri sangat mengganggu kelangsungan hidup dari bakteri tersebut. Saponin akan berpindah melalui membran luar dan dinding sel yang rentan lalu mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel.¹³

Mekanisme kerja senyawa tanin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menyebabkan sel bakteri menjadi lisis. Hal ini dikarenakan pada senyawa tannin mempunyai target dinding polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna, sehingga sel bakteri akan mati. Selain itu, tanin memiliki kemampuan untuk menginaktifkan enzim bakteri serta mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel.¹¹

Menurut Saraswati, respon hambatan pertumbuhan bakteri dikategorikan menurut zona hambat yang dihasilkan. Bakteri dikategorikan sangat kuat apabila memiliki diameter hambatan > 20 mm, kategori kuat 10-19 mm, kategori sedang 5-10 mm dan kategori lemah dengan diameter < 5 mm.¹⁴Fraksi *aquadestilata* merupakan fraksi teraktif dalam menghasilkan zona hambat dan termasuk dalam kategori sedang.



Gambar 1. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih Merah Terhadap Bakteri *Escherichia coli*
Keterangan : a. fraksi *aquadestilata*
b. fraksi etil asetat
c. fraksi n-heksan



Gambar 2. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih Merah Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*
Keterangan : a. fraksi *aquadestilata*
b. fraksi etil asetat
c. fraksi n-heksan

Analisis Data

Uji normalitas dari hasil uji antibakteri fraksi n-heksan, etil asetat, dan *aquadestilata* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Propionibacterium acnes* ditunjukkan pada Tabel 4 dan 5.

Tabel 4. Uji Normalitas terhadap Bakteri *E.coli*

Fraksi	Shapiro Wilk	
	Jumlah Pengulangan	p-value
fraksi aquadestilata	3	0.843
fraksi n-heksan	3	0.174
fraksi etil asetat	3	0.463
k+ dan aquadestilata	3	0.637
k+ dan n-heksan	3	0
k+ dan etil asetat	3	0
Pelarut etil asetat	3	0

Tabel 5. Uji Normalitas terhadap Bakteri *P.acnes*

Fraksi	Shapiro Wilk	
	Jumlah Pengulangan	p-value
fraksi aquadestilata	3	1.00
fraksi n-heksan	3	1.00
fraksi etil asetat	3	0.00
k+ dan aquadestilata	3	0.00
k+ dan n-heksan	3	1.00
k+ dan etil asetat	3	1.00
Pelarut aquadestilata	3	0.00
Pelarut n-heksan	3	0.00
Pelarut etil asetat	3	0.00

Data hasil pengamatan zona hambat diuji normalitasnya dengan metode Shapiro Wilk. Terdapat data dengan nilai signifikansi $P < 0,05$ menunjukkan data terdistribusi tidak normal sehingga analisis dilanjutkan dengan uji non parametric Kruskal wallis. Program statistik yang digunakan adalah SPSS 26.0 dengan taraf signifikansi 95%.

Analisis data menggunakan uji kruskal wallis dengan signifikansi $P < 0,05$ menunjukkan bahwa pemberian fraksi *aquadestilata*, etil asetat, dan n-heksana memberikan pengaruh yang signifikan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Propionibacterium acnes* penyebab penyakit jerawat.

4. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

- Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun sirih merah yaitu flavonoid, saponin, dan tannin.
- Fraksi daun sirih merah yang memiliki zona hambat paling luas yaitu fraksi *aqudestilata* 5% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 9,6 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan 8,5 mm pada *Propionibacterium acnes* ATCC 11827.

DAFTAR PUSTAKA

- Hendra and Resti. 2015. *Treatment for acne vulgaris. J.majority*. 2015;4(2):87–95.
- Kumar B, Pathak R, Mary PB, Jha D, Sardana K, Gautam HK. 2016. *New insights into acne pathogenesis: Exploring the role of acne-associated microbial populations*. Dermatologica Sin. 2016;34(2):67–73.
- Rahmadani F. 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (Lannea coromandelica) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Helicobacter pylori, Pseudomonas aeruginosa*. Jakarta.; 2015.
- Solikhah AM, Darmawati S, Prastiyanto ME. 2018. *Analisis Profil Protein Propionibacterium acnes Multidrug Resistance (MDR) dengan SDS-PAGE*, Manuscript.

Universitas Muhammadiyah Semarang; 2018.

- ⁵ Sulvita N. 2018. *Efektivitas Minyak Habbatussauda (Nigellasativa) terhadap Pertumbuhan Escherichia coli*. J Kesehatan.
- ⁶ Syafriana V, Rusyita R. 2017. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (Piper Crocatum) Terhadap Pertumbuhan Propionibacterium acnes*. Sainstech Farma,. 2017;10(2):9–11.
- ⁷ Beon AS, Batista G. 2010. *Identifikasi Komponen Fitokimia dalam Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper crocatum)*. J Kesehat.
- ⁸ Astuti OR, Candrasari A, Romas MA, Hasbi M. 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. 2012;4(1):9–16.
- ⁹ Indriati, Gustiana., Agustina., Widiana R. 2012. *Daya Hambat Sari Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav) terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia colli dan Staphylococcus aureus*. J Sainstek. 2012;4 (2):141–144.
- ¹⁰ Pringgenies D, Setiyati WA, Wibowo DS, Djunaedi A. 2020. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jeruju Acanthus ilicifolius terhadap Bakteri Multi Drug Resistant*. J Kelaut Trop. 2020;23(2):145–156.
- ¹¹ Sapara, T., Waworuntu, O., & Juliatri. 2016. *Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (Impatiens Balsamina L.) terhadap Pertumbuhan Porphyromonas Gingivalis*. *Pharmacon: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5 (4), 10–17.
- ¹² Rijayanti, R., Luliana, S., & Trianto, H. . 2014. *In vitro Antibacterial Activity test Of Ethanol Extracts Bacang mango (Mangifera foetida L.) Leaves Against Staphylococcus aureus*. Naskah Publikasi Universitas Tanjungpura, 1(1), 10–12.
- ¹³ Ernawati, & Sari, K. 2015. *Kandungan Senyawa Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Alpukat (Persea americana P.Mill) terhadap Bakteri Vibrio alginolycus*. *Jurnal Kajian Veteriner*, 3 (2), 203–211.
- ¹⁴ Saraswati. 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*. FNUR, Kedokteran F, Ilmu dan, Farmasi PS