

**Antibacterial Activities of Sirih Merah (*Piper crocatum*) Leaf Extracts**  
(Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah)

Puspa Julistia Puspita<sup>1\*</sup>, Mega Safithri<sup>1</sup>, Nirmala Peni Sugiharti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Biochemistry, Bogor Agricultural University, Bogor, 16680, Indonesia*

Received : 3 December 2018 ; Accepted: 23 January 2019

---

\*Corresponding author: Puspa Julistia Puspita; Departemen Biokimia, Jl. Agatis Gd. Fapet Lt. 5, Wing 5, Bogor 16680; Telp/Fax. +62251-8423267; E-mail: [puspajulistia@gmail.com](mailto:puspajulistia@gmail.com)

---

**ABSTRACT**

*Piper crocatum* is one of medicinal herbal plants with a large number of benefits. Usually herbal plants have activity as antibacterial agent. Therefore, the objectives of this research were to obtain information on antibacterial activities of the leaf extracts of *Piper crocatum* against four types of bacteria, in that *Staphylococcus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* and then to analyze the phytochemistry of the leaf extracts of *Piper crocatum*. The leaves of *Piper crocatum* were extracted by maceration and reflux using ethanol 30%. The assays of the antibacterial activities and phytochemistry on the extracts were carried out using the method of Maria Bintang. Results showed that the yield of the extraction using ethanol by maceration method was 20.8%. Meanwhile, using the reflux method, the yield was obtained about 26.25%. The phytochemistry analysis showed that the leaf extracts of *Piper crocatum* contained alkaloid, steroid and tanin. According to this study, it was found that the leaf extract of *Piper crocatum* can be used to inhibit the growth of *B. subtilis* and *P. aeruginosa*, but can not inhibit the growth of *E. coli* and *S. aureus*.

**Keywords:** antibacterial, maceration, medicinal herbal plant, *Piper crocatum*, reflux.

**ABSTRAK**

*Piper crocatum* adalah tanaman obat herbal dengan sejumlah besar manfaat. Biasanya tanaman herbal memiliki fungsi sebagai antibakteri. Oleh karena itu tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan informasi mengenai aktivitas antibakteri dari ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap empat jenis bakteri, yaitu *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta untuk menemukan senyawa fitokimia pada ekstrak daun sirih merah tersebut. Daun sirih merah diekstraksi dengan metode maserasi dan reflux menggunakan etanol 30%. Pengukuran aktivitas antibakteri dan fitokimia dilakukan dengan menggunakan metode Maria Bintang. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh rendeman dari ekstrak etanol dengan metode maserasi sebesar 20.8, sedangkan dengan metode reflux rendeman yang dihasilkan sebesar 26.25%.

*Analisis fitokimia ekstrak daun sirih merah ditemukan memiliki kandungan alkaloid, steroid dan tanin. Berdasarkan dari hasil penelitian juga diperoleh bahwa ekstrak daun sirih merah dapat menghambat pertumbuhan B. substilis dan P.aeuruginosa, tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan dari E.coli dan S. aureus.*

**Kata kunci :** antibakteri, maserasi, *Piper crocatum*, reflux, tanaman obat herbal.

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia terletak di daerah khatulistiwa yang beriklim tropis dengan kelembaban udara tinggi. Indonesia kaya akan sumber daya alam baik itu hayati dan nonhayati. Khusus sumber daya alam hayati, Indonesia terkenal sebagai negara yang banyak mempunyai berbagai jenis tumbuhan.

Telah banyak dihasilkan berbagai macam obat tradisional berbahan dasar tanaman obat alami yang disebut dengan jamu. Ramuan herbal yang berasal dari tanaman sudah banyak terbukti dapat mengobati berbagai penyakit. Tanaman sirih merah (*Piper crocatum*) adalah tanaman yang hingga sekarang masih digunakan sebagai pelengkap upacara adat seperti di daerah Yogyakarta (Astuti *et al.*, 2014). Sirih merah memiliki kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, senyawa polifenolat dan minyak atsiri (Lestari ABS, 2014; Safithri *et al.*, 2012). Senyawa aktif yang terkandung oleh tanaman sirih merah menyebabkan tanaman ini memiliki banyak potensi untuk mengobati berbagai penyakit, diantaranya berpotensi sebagai antioksidan, antihiperqlikemia, antikan-ker dengan meningkatkan proliferasi sel kanker dan juga dapat sebagai antidiabetes (Safithri dan Fahma, 2008; Alfarabi *et al.*, 2010; Safithri, 2011).

Pemanfaatan sirih merah sebagai bahan antibakteri alami mempunyai keuntungan karena kemungkinan senyawa tersebut lebih aman

dibandingkan dengan penggunaan bahan sintetik. Penggunaan bahan sintetik banyak menimbulkan kekhawatiran tentang efek sampingnya yang merugikan kesehatan. Berdasarkan kandungan senyawa dari sirih merah yaitu senyawa polifenolat, tanaman ini juga dapat berpotensi sebagai antibakteri. Pelezar dan Chan (1988) melaporkan beberapa kelompok bahan antibakteri adalah fenol, alkohol, halogen, logam berat dan detergen (Pelezar 1988). Potensi sirih merah sebagai antibakteri belum banyak dilakukan, sehingga ini mendorong untuk dilakukannya penelitian terkait aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram negatif dan Gram positif. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Astuti (2014) melaporkan bahwa fungi endofit dari sirih merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus substilis* dan *Staphylococcus aureus* (Astuti *et al.*, 2014). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui kandungan fitokimia sirih merah dan menguji potensi aktivitas antibakteri daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap 4 jenis bakteri, yaitu Gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Bacillus substilis*) dan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*).

## 2. METODOLOGI

### **Pembuatan Media Agar Pepton Yeast Glukosa (PYG) (Bintang, 1993)**

Sebanyak 10 gram pepton, 10 gram ekstrak yeast, dan 20 gram glukosa dan 15 gram

agar dilarutkan dalam 1 L akuades, dengan pH yang diukur  $\pm 7.0$ . Campuran diaduk sambil dipanaskan hingga larut, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 20 mL. Media agar kemudian disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit dan didinginkan pada suhu kamar.

#### **Pembuatan Media NB**

Media NB digunakan untuk penentuan aktivitas antibakteri. Sebanyak 2.5 gram ekstrak yeast, 5 gram tripton, dan 2.5 gram NaCl dilarutkan di dalam 450 mL akuades. Larutan ini diukur pHnya pada rentang 7.0 – 7.2 dan kemudian ditera masing-masing sebanyak 25 mL dan disterilkan di dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 120°C.

#### **Ekstraksi (Safithri 2004)**

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi yaitu daun sirih merah segar ditimbang sebanyak 50 gram, kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 30% sebanyak 250 mL di atas shaker pada suhu kamar selama 24 jam. Selanjutnya disaring dan filtrat diambil serta sisanya dilakukan ekstraksi lagi dengan volumen yang jernih. Ekstraksi dilakukan sampai pelarut jernih. Hasil yang diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator ( $T < 60^\circ\text{C}$ ). Kemudian didestilasi uap untuk mengeluarkan fraksi volatilnya, setelah itu didapat fraksi non volatil.

Ekstraksi dengan cara refluks yaitu serbuk daun sirih merah ditimbang sebanyak 20 gram, kemudian direfluks menggunakan pelarut etanol sebanyak 100 mL pada suhu 60-70°C. Filtrat yang diperoleh disaring dan diuapkan pelarutnya dengan rotary evaporator pada suhu 40°C dan tekanan 60 mmHg. Setelah itu diperoleh ekstrak etanol.

#### **Analisis Fitokimia (Harborne 1987)**

Senyawa yang diidentifikasi adalah senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid dan tanin.

**Uji Alkaloid.** Sebanyak 0.1 gram ekstrak daun sirih merah dilarutkan dengan 5 mL kloroform dan 3 tetes  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan 2 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 M. Lapisan atas (asam) diambil, lapisan ini diteteskan pada lempeng tetes dan ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorf, Mayer dan Wagner yang akan menimbulkan endapan dengan warna berturut-turut merah, jingga, putih dan cokelat.

**Uji Flavonoid.** Sebanyak 0.1 gram ekstrak daun sirih merah ditambahkan 5 mL metanol 30%, lalu dipanaskan selama 5 menit. Filtrat ditambahkan dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Warna merah karena penambahan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  menunjukkan adanya flavonoid. Sebagai pembanding digunakan buah pinang.

**Uji Tanin.** Sebanyak 0.1 gram ekstrak daun sirih merah ditambah dengan 5 mL akuades kemudian dididihkan selama 5 menit. Selanjutnya dilakukan penyaringan dan filtrat yang didapat ditambahkan dengan 5 tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Jika terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

**Uji Saponin.** Sebanyak 0.1 gram ekstrak daun sirih merah ditambah dengan 5 mL akuades lalu dipanaskan 100°C selama 5 menit. Kemudian dikocok selama 5 menit. Busa yang terbentuk setinggi tidak kurang dari 1 cm dan tetap stabil setelah didiamkan selama 15 menit menunjukkan adanya saponin.

**Uji Triterpenoid dan Steroid.** Sebanyak 0.1 gram ekstrak daun sirih merah ditambahkan 5 mL etanol 30% lalu dipanaskan dan disaring. Filtrat diuapkan, lapisan eter ditambah dengan pereaksi Lieberman Buchard (3 tetes

asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat). Terbentuk warna hijau atau biru menunjukkan adanya steroid dan warna merah atau ungu menunjukkan adanya senyawa triterpenoid.

### Uji Aktivitas Antibakteri (Bintang 1993)

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan ampisilin dengan konsentrasi 0.1 mg/mL sebagai kontrol positif.

**Peremajaan Bakteri Uji.** Biakan bakteri dibuat di media agar miring yang kemudian dinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Isolat bakteri kemudian disimpan pada suhu 4-5°C sebelum digunakan. Bakteri yang akan digunakan pada uji aktivitas adalah bakteri yang telah diremajakan di media *Nutrient Broth* (NB) kemudian diinkubasi dalam inkubator bergoyang selama 24 jam pada suhu 37°C.

**Uji Aktivitas Antibakteri.** Aktivitas antibakteri diuji dengan menggunakan metode sumur. Biakan bakteri diinokulasikan 1 ose pada 10 mL media NB, kemudian diinkubasi pada inkubator bergoyang pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian nilai OD diukur pada panjang gelombang 620 nm. Apabila nilai OD > 1 maka biakan yang diambil sebanyak 50 µL, bila OD < 1 maka biakan yang diambil 100 µL. Lalu biakan tersebut disebar di media cawan. Kemudian, sebanyak 20 mL media agar PYG dituangkan ke dalam cawan dan digoyang untuk meratakan media ke seluruh permukaan cawan. Sumur pada agar dibuat dengan diameter 5.5 mm menggunakan pipet tetes yang telah diasah ujungnya, kemudian ekstrak sebanyak 50 µL dimasukkan ke dalam lubang tersebut, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 25, 50, 75, 100 mg/mL. Zona bening yang terbentuk di sekeliling lubang diukur sebagai zona hambat.

## 3. HASIL

### Rendeman Ekstrak Daun Sirih Merah

Ekstraksi daun sirih merah dilakukan dengan metode maserasi dan refluks dengan menggunakan pelarut etanol 30% dengan bobot sampel 50 gram dan 20 gram secara berurutan. Hasil pada Tabel 1 menunjukkan bahwa bobot ekstrak pekat lebih besar dihasilkan dengan menggunakan metode maserasi sebesar 10.4 gram dibandingkan metode refluks yaitu sebesar 5.25 g dengan nilai rendeman secara berurutan yaitu 20.8% dan 26.25%. Hasil pada Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai rendeman yang dihasilkan dari metode refluks lebih besar jika dibandingkan dengan metode maserasi.

### Senyawa Fitokimia Ekstrak Daun Sirih Merah

Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada suatu tanaman secara kualitatif. Uji fitokimia yang dilakukan pada ekstrak daun sirih merah dilakukan untuk memastikan senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antibakteri. Senyawa yang diuji adalah alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, triterpenoid, dan saponin. Hasil yang ditunjukkan pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah mengandung alkaloid, steroid, dan tanin baik pada ekstrak hasil maserasi dan refluks. Selain itu, pada uji alkaloid, sampel menunjukkan hasil positif terhadap ketiga pereaksi yang ditunjukkan dengan terben-

Tabel 1. Hasil ekstraksi sirih merah dengan metode maserasi dan refluks

Pengujian	Hasil	
	Ekstrak Maserasi	Ekstrak Refluks
Bobot ekstrak	10.4 g	5.25 g
Rendemen	20.8%	26.25%

Tabel 2. Kandungan senyawa fitokimia ekstrak daun sirih merah

Senyawa Fitokimia	Sampel	
	Ekstrak etanol 30% (refluks)	Ekstrak etanol 30% (maserasi)
Alkaloid	+	+
Flavonoid	-	-
Saponin	-	-
Triterpenoid	-	-
Steroid	+	+
Tanin	+	+

Ket:

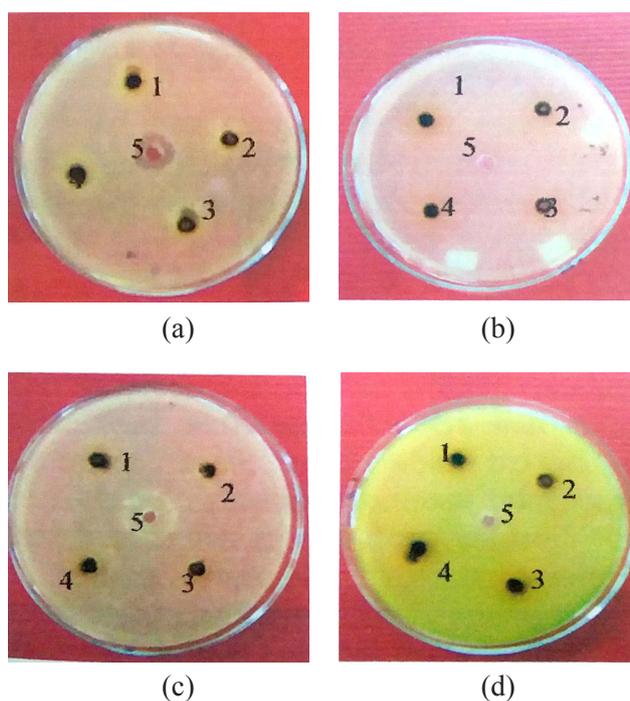
+ = mengandung senyawa uji

- = tidak mengandung senyawa uji

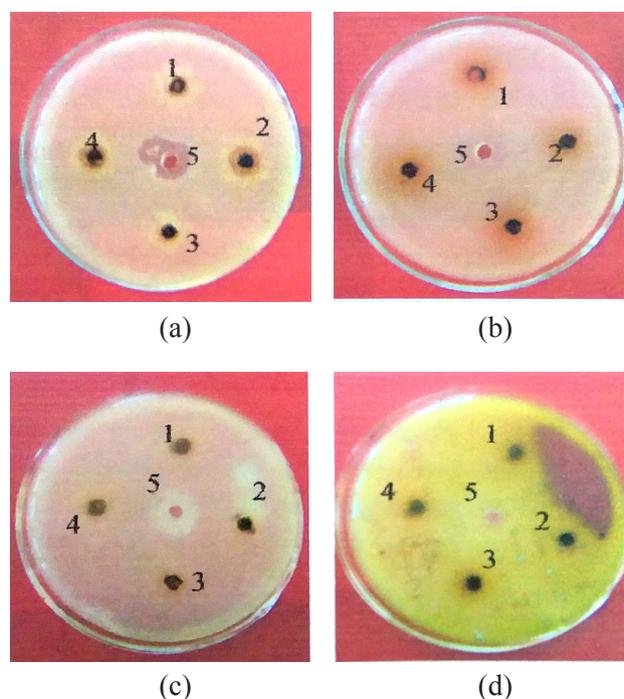
tuknya warna coklat dengan pereaksi Wagner, terbentuk endapan putih dengan pereaksi Mayer dan terbentuk endapan merah dengan pereaksi Dragendorff (Gambar tidak ditampilkan).

### Aktivitas Antibakteri

Bakteri yang diuji aktivitasnya adalah bakteri Gram positif, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* dan bakteri Gram negatif, yaitu *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan ekstrak yang diperoleh dari hasil maserasi dan hasil refluks dengan menggunakan ampisilin sebagai standar. Aktivitas antibakteri dilihat melalui zona bening yang terbentuk di sekitar sumur (Gambar 1 dan 2). Dari hasil yang ditunjukkan pada Gambar 1 dan 2 memperlihatkan bahwa semakin besar zona bening yang terbentuk menunjukkan semakin besar aktivitas antibakterinya yang juga dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak. Hasil yang ditunjukkan pada Gambar 1 dan 2 didukung oleh hasil pada Tabel 3 yang menunjukkan bahwa terhadap keempat bakteri uji, ekstrak daun sirih merah terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dari ekstrak secara maserasi dan refluks dan menghambat *P. aeruginosa* dari



Gambar 1. Aktivitas antibakteri ekstrak (maserasi) daun sirih merah (1). 25 mg/mL, (2). 50 mg/mL, (3). 75 mg/mL, (4). 100 mg/mL, (5) Ampisilin 0.1 mg/mL terhadap bakteri uji *B.subtilis* (a), *S.aureus* (b), *E.coli* (c), *P.aeruginosa* (d).



Gambar 2. Aktivitas antibakteri ekstrak (refluks) daun sirih merah (1). 25 mg/mL, (2). 50 mg/mL, (3). 75 mg/mL, (4). 100 mg/mL, (5) Ampisilin 0.1 mg/mL terhadap bakteri uji *B.subtilis* (a), *S.aureus* (b), *E.coli* (c), *P.aeruginosa* (d).

metode maserasi saja. Sedangkan ampisilin sebagai kontrol positif terbukti memiliki pengaruh terhadap aktivitas keempat bakteri uji. Akan tetapi ekstrak daun sirih merah tidak memiliki aktivitas terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E.coli*.

Penghambatan pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dan *P. aeruginosa* berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk paling baik pada konsentrasi 100 mg/mL yaitu 1.12-1.32 mm (*B.substilis*) dan 1.03 mm (*P.aeruginosa*), sedangkan zona bening terkecil diameternya diperoleh dengan penggunaan 25 mg/mL konsentrasi sampel (Tabel 3).

Tabel 3. Aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah terhadap bakteri uji

Bakteri Uji	Konsentrasi (mg/mL)	Zona Hambat (mm)		
		Ekstrak maserasi	Ekstrak refluks	Ampisilin 0.1 mg/mL
<i>B.substilis</i>	25	0.89	0.79	1.55
	50	1.03	0.94	
	75	1.09	1.24	
	100	1.12	1.32	
<i>S.aureus</i>	25	-	-	1.42
	50	-	-	
	75	-	-	
	100	-	-	
<i>E.coli</i>	25	-	-	1.27
	50	-	-	
	75	-	-	+
	100	-	-	
<i>P.aeruginosa</i>	25	0.95	-	1.23
	50	1.02	-	-
	75	0.95	-	-
	100	1.03	-	-

#### 4. PEMBAHASAN

Ekstraksi daun sirih merah menggunakan dua metode, yaitu maserasi dan refluks. Perbedaan keduanya adalah jika maserasi dilakukan dengan teknik perebusan, sedangkan refluks dengan menggunakan panas (Safithri dan Fahma 2008). Pelarut yang digunakan adalah etanol

30%, didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Marlina (2008) serta Alfarabi (2010) yang menyatakan bahwa pelarut air dan etanol menghasilkan senyawa aktif pada ekstrak daun sirih merah (Marlina, 2008; Alfarabi et al., 2010). Selain itu, aturan Depkes 1981, bahwa untuk mengekstrak tanaman obat herbal digunakan etanol 30% yang paling baik, dan dalam penggunaan aplikasi obat herbal menurut Darusman et al. (2001), pelarut polar seperti etanol sering digunakan untuk pembuatan jamu dan obat-obatan fitofarmaka (Darusman et al., 2001).

Dari hasil yang diperoleh pada Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai rendemen ekstrak daun sirih merah secara refluks lebih baik dibandingkan secara maserasi. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan rendemen ekstrak daun sirih merah yang diperoleh pada penelitian Septiani (2017) dengan menggunakan pelarut etanol 70% yaitu hanya sebesar 10.10% dengan metode maserasi (Septiani 2017). Perbedaan nilai rendemen menurut Azwanida (2015) dipengaruhi oleh jenis pelarut, rasio pelarut terhadap sampel, ukuran partikel sampel, waktu ekstraksi dan suhu ekstraksi (Azwanida 2015). Semakin kecil ukuran partikel sampel maka akan meningkatkan luas permukaan antara sampel dan pelarut untuk terekstrak sempurna, sehingga akan mempengaruhi nilai rendemen.

Senyawa fitokimia merupakan senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam senyawa bioaktif dan mempunyai peranan penting dalam penelitian obat yang dihasilkan dari tumbuh-tumbuhan. Pengujian senyawa fitokimia dilakukan secara kualitatif dan perlu dilakukan untuk membuktikan senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antibakteri. Prinsip yang digunakan untuk mengekstrak senyawa pada tanaman obat adalah *like dissolve*

like, artinya sifat kepolaran suatu senyawa akan menentukan pelarut yang digunakan untuk mengekstrak senyawa tersebut. Berdasarkan Tabel 2, menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah mengandung senyawa alkaloid, steroid dan tanin yang ditunjukkan hasil positif pada uji fitokimia dan menunjukkan hasil negatif pada senyawa flavonoid, saponin dan triterpenoid.

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini terkait senyawa fitokimia sedikit berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Safithri dan Fahma (2008) serta Weni (2014) yang menyatakan bahwa ekstrak daun sirih merah mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan tanin pada ekstrak kasar 70% etanol (Safithri dan Fahma 2008; Weni 2014). Penelitian ini menggunakan pelarut 30% etanol dan negatif terhadap flavonoid. Menurut Pelezar dan Chan (1988) senyawa yang bersifat antimikroba antara lain alkohol, senyawa fenolik, klor, iodium, dan etilen oksida (Pelezar 1988). Flavonoid, senyawa fenolik, hidrokuinon dan tanin termasuk golongan senyawa fenol. Harborne (1987), dalam penelitiannya mengatakan bahwa flavonoid adalah senyawa yang dapat larut air dan berperan sebagai faktor pertahanan alam (Harborne 1987). Harborne juga mengungkapkan bahwa etanol 70% lebih baik dalam mengekstrak senyawa flavonoid. Sehingga dapat dikatakan bahwa konsentrasi etanol 30% tidak cukup baik dalam mengekstrak senyawa flavonoid.

Hasil analisis pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah mengandung senyawa steroid. Senyawa steroid pada tanaman terdapat pada lapisan malam (lilin) daun dan buah yang berfungsi sebagai pelindung dari serangga dan mikroba. Steroid menurut Zhu *et al.* (2000) dan Varricchio *et al.* (1967) dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (Zhu *et al.*, 2001; Varricchio *et al.*, 1967).

Senyawa alkaloid juga terdapat pada ekstrak daun sirih merah. Alkaloid adalah senyawa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen yang terbentuk dan biasanya terdapat dalam bentuk gabungan sebagai bagian dari sistem siklik (Harborne 1987). Senyawa alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif dengan mendorong terjadinya lisis sel dan perubahan morfologi bakteri (Karou 2006; Jouvenaz *et al.*, 1972)

Tanin juga berpotensi sebagai senyawa antibakteri. Tanin adalah senyawa polifenol yang dapat larut dalam air, gliserol, metanol, hidroalkoholik, propilena glikol tetapi tidak larut dalam benzena, kloroform, eter, petroleum eter dan karbondisulfida (Harborne 1987). Mekanisme penghambatan senyawa tanin sebagai antibakteri dengan cara bereaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim-enzim esensial, dan destruksi atau inaktivasi fungsi material genetik (Brannen LA and PM 1993).

Penentuan aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode sumur. Metode ini dilakukan dengan membiarkan sampel meresap ke dalam media bakteri dan dibiarkan selama 18-24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C. Pengukuran zona bening sebagai bentuk dari aktivitas antibakteri dilakukan pada media pepton yeast glukosa (PYG). Media ini mengandung glukosa sebagai sumber karbon dalam jumlah yang banyak untuk pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada Gambar 1, 2 dan Tabel 3 dinyatakan bahwa senyawa antibakteri yang ada pada ekstrak daun sirih merah mampu menghambat pertumbuhan *B.substilis* dan *P.aeruginosa*, tapi tidak mampu menghambat bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Berdasarkan tahapan terlihat adanya perbedaan diameter hambatan dari ekstrak etanol. Perbedaan besar kecil diameter hambatan ini dapat disebabkan

kan adanya perbedaan kecepatan ekstrak berdifusi ke medium agar. Faktor lain penyebab perbedaan diameter hambatan dari ekstrak etanol tersebut adalah perbedaan konsentrasi senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak tersebut baik ekstrak yang diperoleh secara maserasi maupun secara refluks. Prescott (2005), menyatakan bahwa ukuran dari zona hambat dipengaruhi oleh kesensitifan dari organisme uji, medium kultur, kondisi inkubasi, kecepatan difusi dari senyawa antibakteri dan konsentrasi senyawa antibakteri (Prescott 2005).

Senyawa antibakteri yang kemungkinan berperan adalah alkaloid, steroid dan tannin dengan mekanisme yang berbeda-beda. Alkaloid menghambat aktivitas antibakteri melalui lisis sel (Karou 2006), sedangkan tannin dengan membentuk interaksi dengan membran sel bakteri, inaktivasi enzim yang berperan pada regenerasi bakteri dan destruksi atau inaktivasi fungsi material genetik bakteri (Brannen LA and PM 1993).

Hasil pada Tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak secara maserasi dan refluks memiliki aktivitas penghambatan yang berbeda pada keempat jenis bakteri. Ekstrak daun sirih merah secara maserasi menghasilkan aktivitas yang lebih rendah dibandingkan ekstrak secara refluks dilihat dari zona hambat yang terbentuk pada bakteri *B.substilis*, akan tetapi ekstrak secara refluks tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *P.aeruginosa* seperti yang dimiliki oleh ekstrak secara maserasi. Hal ini diduga adanya mekanisme yang spesifik dari bakteri Gram negatif dan Gram positif dalam menghadapi kondisi tekanan serta dalam mempertahankan kelangsungan hidupnya.

Konsentrasi senyawa antibakteri yang diberikan berbeda-beda dari konsentrasi 25, 50,

75 dan 100 mg/mL. Setiap konsentrasi juga memberikan aktivitas yang berbeda-beda. Berdasarkan Tabel 3 menunjukkan bahwa aktivitas terbesar diperoleh dari konsentrasi ekstrak 100 mg/mL meskipun aktivitasnya masih dikatakan lemah yaitu dibawah 5 mm. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka aktivitas penghambatan suatu senyawa akan semakin tinggi, dikarenakan konsentrasi senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri juga mengalami peningkatan atau semakin besar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hartman (1968) yang menyatakan bahwa diameter zona hambat sebanding dengan konsentrasi (Hartman, 1968).

Gambar 1 dan 2 menunjukkan perbedaan aktivitas ekstrak secara maserasi dan secara refluks. Gambar 1 menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P.aeruginosa* dan *B.substilis*. Berdasarkan zona yang terbentuk, aktivitas penghambatan ekstrak maserasi lebih efektif dalam menghambat bakteri Gram positif yaitu *B.substilis*. Sedangkan pada Gambar 2 ekstrak refluks daun sirih merah hanya memiliki aktivitas penghambatan hanya terhadap bakteri *P.aeruginosa*. Sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak refluks juga efektif dalam menghambat bakteri Gram positif.

Berdasarkan besarnya diameter zona hambat antara *B.substilis* dan *P.aeruginosa* disebabkan karena perbedaan struktur membran sel pada kedua jenis bakteri ini. *B.substilis* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki struktur membran relatif sederhana sehingga memudahkan senyawa aktif untuk masuk dan menginfeksi sel bakteri. Sedangkan pada bakteri Gram negatif, struktur membrannya tebal dan berlapis-lapis, terdiri dari lipoprotein, lipopolisakarida, dan peptidoglikan (Pelezar 1988).

Membran terluar bakteri Gram negatif dapat menghalangi penembusan senyawa antibakteri (Siswandono 1995). Kondisi ini menyebabkan sulitnya senyawa antibakteri untuk dapat masuk ke dalam sel.

Kekuatan senyawa antibakteri ekstrak daun sirih merah berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada Tabel 3 tergolong lemah, karena diameter zona yang terbentuk < 5 mm baik ekstrak maupun standar ampisilin 0.1 mg/mL. Menurut Suryawiria (1978), berdasarkan metode Davis Stout, suatu ekstrak dikatakan sangat kuat apabila daerah hambat 20 mm atau lebih, dikatakan kuat apabila daerah hambat 10 – 20 mm, dikatakan sedang apabila daerah hambat 5 – 10 mm dan dikatakan lemah apabila daerah hambat < 5 mm (Suryawiria 1978). Penggunaan ampisilin sebagai standar sesuai dengan pernyataan Siswandono dan Soekarjo (1995) bahwa ampisilin memiliki spektrum luas, yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif dan Gram positif (Siswandono 1995).

Dari hasil yang diperoleh pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirih merah dengan menggunakan pelarut etanol 30% menghasilkan rendeman 26.25% dengan kandungan fitokimia yaitu berupa alkaloid, steroid dan tanin. Ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *B.substilis* dan *P.aeruginosa* tetapi aktivitasnya lemah baik pada ekstrak maupun pada standar ampisilin yang ditunjukkan dengan zona hambat < 5mm.

## 5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Dr. Mega Safithri, M.Si atas dorongan dan bimbingannya, serta semua pihak yang membantu dalam penelitian ini.

## 6. DAFTAR PUSTAKA

- Alfarabi, M., Bintang, M., Suryani & Safithri, M. 2010. The Comparative Ability of Antioxidant Activity of *Piper crocatum* in Inhibiting Fatty Acid Oxidation and Free Radical Scavenging. *HAYATI Journal of Biosciences* 17(4): 201-204.
- Astuti, P., Wahyono & Nababan, O. A. 2014. Antimicrobial and cytotoxic activities of endophytic fungi isolated from *Piper crocatum* Ruiz & Pav. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 4: S592-S596.
- Azwanida, N. 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength, and limitation. *Medicinal and Aromatic Plants* 4: 196.
- Bintang, M. 1993. Studi antimikroba dari *Streptococcus lactis* BCC2259. Vol. Doctor Banding: Institut Teknologi Bandung.
- Brannen LA & PM, D. 1993. *Antimicrobials in Foods*. New York: Marcel Dekker.
- Darusman LK, Rohaeti E & Sulistiyani. 2001. Kajian senyawa golongan flavonoid asal tanaman bangle sebagai senyawa peluruh lemak melalui aktivitas lipase Vol. Laporan Penelitian Bogor: Pusat Studi Biofarmaka Lembaga Penelitian, IPB.
- Harborne, H. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB.
- Hartman, P. 1968. *Miniaturized Microbiological Methods*. New York: Academic Pr.
- Jouvenaz, D. P., Blum, M. S. & MacConnell, J. G. 1972. Antibacterial activity of venom alkaloids from the imported fire ant, *Solenopsis invicta* Buren. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2(4): 291-293.
- Karou D, A. S., Antonella C, Saydou Y, Carla M, Jacques S, Vittorio C, Alfred ST. 2006. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology* 5(2): 195-299.
- Lestari ABS, D. Y. 2014. Aktivitas antioksidan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) hasil optimasi pelarut etanol-air. *Ilmu Kefarmasian Indonesia* 12(1): 75-79.

- Marlina, P. 2008. Konsentrasi flavonoid dan lethal concentration 50 (LC50) ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*). In *Biokimia*, Vol. Sarjana Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Pelezar MJ, C. E. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Pr.
- Prescott, L. 2005. *Microbiology*. New York: Mc. Grow-Hill.
- Safithri, M. 2004. Aktivitas antibakteri bawang putih (*Allium sativum*) terhadap bakteri mastitis subklinis secara in vitro dan in vivo pada ambing tikus putih (*Rattus novergicus*). In *Kimia*, Vol. Graduate Bogor: Sekolah Pascasarjana, IPB.
- Safithri, M. 2011. Mekanisme antihiperlikemik minuman fungsional campuran sirih merah (*Piper crocatum*) dan kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Blume). Vol. Doctor Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Safithri, M, Fahma, F. 2008. Potency of *Piper crocatum* Decoction as an Antihyperglycemia in Rat Strain Sprague dawley. *HAYATI Journal of Biosciences* 15(1): 45-48.
- Safithri, M., Yasni, S., Bintang, M. & Setiadi Ranti, A. 2012. Toxicity Study of Antidiabetics Functional Drink of *Piper crocatum* and *Cinnamomum burmannii*.
- Septiani, R. 2017. Ekstrak dan fraksi daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) sebagai antioksidan dengan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil. In *Biokimia*, Vol. Sarjana Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Siswandono, S. B. 1995. *Kimia Medisinal*. Surabaya: Airlangga Universitas Pr.
- Suryawiria, U. 1978. *Mikroba Lingkungan*. Bandung: ITB Pr.
- Varricchio, F., Dorrenbos, N. J. & Stevens, A. 1967. Effect of azasteroids on gram-positive bacteria. *Journal of bacteriology* 93(2): 627-635.
- Weni, M. 2014. Aktivitas penghambatan ekstrak sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap pembentukan malondialdehida (MDA) dan enzim tirosinase In *Biokimia*, Vol. Bachelor Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Zhu, Y., Zhu, Q. X. & Jia, Z. J. 2001. Epoxide Sesquiterpenes and Steroids from *Cremanthodium discoideum*. *Australian Journal of Chemistry* 53(10): 831-834.