

Artikel Penelitian

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Minyak Atsiri Sirih Hijau Terhadap Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*
*(Antibacterial Activity of Ethanolic Extract and Green Piper Betle Leaf Essential Oil Against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*)*

Khoirun Nisyak*, A'yunil Hisbiyah, Arinil Haqqo

Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Anwar Medika, Sidoarjo, Indonesia

Korespondensi: nisachemist@gmail.com

Abstrak. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah jenis bakteri *Staphylococcus aureus* yang mengalami resistensi terhadap antibiotik jenis metisilin dan turunannya. MRSA merupakan salah satu bakteri patogen yang menjadi penyebab terjadinya infeksi nosokomial di tempat pelayanan kesehatan. Daun sirih hijau (*Piper betle* Linn) merupakan salah satu tanaman obat yang telah lama digunakan oleh masyarakat Indonesia. Penelitian bertujuan untuk mengetahui potensi aktivitas antibakteri tanaman sirih hijau terhadap MRSA. Bahan uji yang digunakan dari daun sirih hijau meliputi ekstrak etanol dan minyak atsiri. Ekstrak etanol daun sirih hijau diperoleh dengan metode maserasi, sedangkan minyak atsiri daun sirih hijau diperoleh dengan metode distilasi uap. Kandungan senyawa kimia dalam ekstrak etanol daun sirih hijau diidentifikasi melalui skrining fitokimia. Identifikasi senyawa kimia dalam minyak atsiri sirih hijau dianalisa menggunakan Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (KG-SM). Ekstrak etanol daun sirih mengandung senyawa flavonoid, tannin, polifenol, saponin, dan terpenoid. Minyak atsiri daun sirih hijau mengandung senyawa kavikol, beta-karyofilena, dan turunan senyawa sesquiterpene. Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri MRSA dilakukan dengan metode difusi *Kirby Bauer*. Berdasarkan hasil penelitian, minyak atsiri daun sirih lebih menghambat pertumbuhan MRSA dibandingkan dengan ekstrak etanol sirih hijau.

Kata kunci: *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), antibakteri, daun sirih hijau, ekstrak etanol daun sirih hijau, dan minyak atsiri daun sirih hijau

Abstract. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) is a type of *Staphylococcus aureus* bacteria that is resistant to antibiotics of the methicillin type and its derivatives. MRSA is a pathogenic bacteria that causes nosocomial infections in health care area. Green betel leaf (*Piper betle* Linn) is a medicinal plant that has long been used by Indonesians. This study aims to determine the potential antibacterial activity of green betel plant against MRSA. The test materials used from green irih leaves include ethanol extract and essential oil. The ethanol extract of green betel leaf was obtained by the maceration method, while the essential oil of green betel leaf was obtained by the steam distillation method. The content of chemical compounds in the ethanol extract of green betel leaves was identified through phytochemical screening. Identification of chemical compounds in green betel essential oil was analyzed using Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS). The ethanol extract of green betel leaves



contains flavonoids, tannins, polyphenols, saponins, and terpenoids. Green betel leaf essential oil contains chavicol, beta-caryophyllene, and sesquiterpene derivatives. The antibacterial activity test against MRSA bacteria was carried out using the Kirby Bauer diffusion method. Based on the research results, betle leaf essential oil inhibited MRSA growth more than green betel ethanol extract.

Keywords: *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA), antibacterial, green betel leaf, green betel leaf ethanol extract, and green betel leaf essential oil*

PENDAHULUAN

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang mengalami resistensi atau kekebalan terhadap antibiotik jenis metisilin dan turunannya (Shrestha *et al.*, 2018). Sebagian besar bakteri MRSA telah resisten terhadap *ampicillin* 83,1%, *amikacin* 40,7%, *gentamycin* 54,2%, *chloramphenicol* 20,3% dan *cefotaxime* 72,9% (Karina *et al.*, 2015). Patogenitas bakteri *S. aureus* sering dihubungkan dengan infeksi luka bernanah baik pada manusia maupun pada hewan, yang merupakan penyebab utama kasus piemia. Infeksi serius dapat berupa pneumonia, mastitis, meningitis, dan infeksi saluran kemih (Kuswiyanto, 2017). Sindrom syok toksik pada infeksi *S. aureus* ini dapat timbul secara tiba-tiba dengan gejala demam tinggi, muntah, diare, ruam, hipotensi, dan gagal ginjal.

Penggunaan antimikroba (bakteri dan fungi) yang tidak rasional telah menyebabkan banyak mikroba patogen yang beradaptasi dengan lingkungannya dan menjadi resisten terhadap obat tersebut. Meningkatnya masalah resistensi menyebabkan kebutuhan akan bahan antimikroba baru yang dapat mengatasi masalah resistensi juga meningkat, oleh karena itu pencarian antimikroba baru termasuk dari tanaman terus dilakukan. Tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan antimikroba harus mengandung senyawa aktif yang mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri patogen (Effa & Puetri, 2015).

Sirih hijau (*Piper betle* Linn.) merupakan tanaman anggota suku Piperaceae yang sudah digunakan oleh masyarakat Indonesia sejak lama (Munawaroh & Yuzammi, 2017). Daun sirih hijau memiliki kandungan senyawa fitokimia seperti tanin, saponin, flavonoid yang berfungsi sebagai antimikroba (Vifta *et al.*, 2017) dan antioksidan (Nisyak, 2017). Eric *et al.* (2006) menyebutkan daun sirih hijau memiliki kandungan utama lain berupa senyawa golongan alkaloid, terpenoid, steroid, dan fenolik. Senyawa fitokimia dalam tumbuhan yang berperan dalam memberikan aktivitas farmakologi memiliki beberapa kelemahan salah satunya yaitu tidak stabil terhadap pengaruh suhu dan intensitas cahaya tinggi sehingga mudah teroksidasi, seperti senyawa flavonoid dan polifenol (Saputra, 2016). Daun sirih hijau mengandung 4,2% minyak atsiri yang sebagian besar terdiri dari *betephenol* yang merupakan isomer *eugenol allypyrocatechine*, *cineol*, *methyl eugenol*, *caryophyllen* (seskuiterpen), *kavikol*, *kavibekol*, *estragol* dan *terpinen* (Hermawan, 2007). Kandungan fenol (karvakrol) dan fenilpropanoid (*eugenol* dan *kavikol*) di dalam minyak atsiri daun sirih hijau dilaporkan berfungsi sebagai antimikroba (bakterisida dan fungisida yang sangat kuat) (Kurniawati *et al.*, 2014).



Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau dan minyak atsiri sirih hijau terhadap MRSA. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode uji daya hambat difusi disk. Metode ini memiliki kelebihan yaitu mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan biaya relatif murah.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian *experimental laboratory* dengan model rancangan *post test only design*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – Juli 2020 di Laboratorium Kimia Organik, Laboratorium Mikrobiologi, dan Laboratorium Instrumen Universitas Anwar Medika.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan meliputi daun sirih hijau (*Piper betle* L.) diperoleh dari Materia Medica Batu Jawa Timur, isolat bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Lab Mikrobiologi STIKES Rumah Sakit Anwar Medika), media *Muller Hinton Agar* (MHA); *Nutrien Broth* (NB); dan *Nutrien Agar* (NA), etanol 96% *p.a.*, akuades dan pereaksi untuk skrining fitokimia. Alat yang digunakan meliputi pipet mikro, cawan petri, kertas cakram, timbangan analitik, *Gas Chromatography-Mass Spectrofotometer* (GC-MS), *waterbath, chamber, vortex mixer, hotplate, autoclave, shaker incubator, laminar air flow, rotary vacuum evaporator* dan alat-alat gelas.

Prosedur Kerja

Ekstraksi Daun Sirih Hijau

Sebanyak 500 g daun sirih hijau dicuci bersih, kemudian dikeringkan dan dihaluskan serta diayak dengan pengayak ukuran 100 mesh. Serbuk yang didapatkan ditimbang sebanyak 100 g. Serbuk simplisia direndam dalam 300 mL pelarut etanol 96% selama 3x24 jam dan diambil filtratnya dengan penyaringan. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapatkan ditimbang dan dihitung rendemennya.

Isolasi Minyak Daun Sirih Hijau

Sebanyak 200 g daun sirih hijau kering dimasukkan ke dalam alat distilasi uap. Proses distilasi dilakukan selama 5 jam dengan menggunakan bantuan uap air. Minyak yang diperoleh dikeringkan dengan $MgSO_4$ anhidrat, diukur indeks bias, dan ditimbang massanya. Kandungan senyawa dari minyak atsiri sirih hijau dianalisa menggunakan GC-MS.

Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau

Kandungan senyawa kimia dari ekstrak etanol daun sirih hijau dianalisa menggunakan metode skrining fitokimia. Adapun metode skrining fitokimia yang digunakan sebagai berikut

Vol. 5 No. 1 Desember Tahun 2022

(Agustina et al., 2020):

a. Uji alkaloid

Ekstrak daun sirih hijau ditotolkan pada plat KLT silika gel G60 F254 dibuat dengan panjang 10 cm dan lebar 3 cm. Fase gerak yang digunakan untuk melakukan identifikasi senyawa alkaloid adalah etil asetat, methanol dan air dengan perbandingan (100:13,5:10). Reaksi positif ditunjukkan beberapa alkaloid memberikan fluoresensi biru atau kuning.

b. Uji senyawa flavonoid

Ekstrak daun sirih hijau ditotolkan pada plat KLT silika gel F254 dan dielusi dengan eluen berupa campuran kloroform: etil asetat: butanol dengan perbandingan 5:4:1. $AlCl_3$ 10% digunakan sebagai penampak bercak. Hasil positif adanya kandungan senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya bercak berwarna kuning setelah disemprot dengan $AlCl_3$ 10% dan berwarna biru jika dilihat dibawah sinar UV 254 nm.

c. Uji senyawa tannin

Ekstrak daun sirih hijau ditotolkan pada plat silika gel F254. Fase gerak yang digunakan yaitu metanol: etil asetat dengan perbandingan 7:3 dan pereaksi semprot $FeCl_3$ 5% sebagai penampak bercak. Penyemprotan $FeCl_3$ 5% pada tannin terhidrolisis ditunjukkan dengan terbentuknya bercak berwarna biru kehitaman dan pada tanin terkondensasi ditunjukkan dengan terbentuknya bercak berwarna hijau-kecoklatan.

d. Uji senyawa terpenoid

Ekstrak daun sirih hijau ditotolkan pada plat silika gel F254. Fase gerak yang digunakan yaitu kloroform : metanol dengan perbandingan 1:3 dan pereaksi semprot H_2SO_4 10% sebagai penampak bercak. Hasil positif adanya kandungan senyawa terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya bercak berwarna merah kecoklatan berfluoresensi hijau jika diamati dibawah sinar UV 365 nm.

e. Uji antrakuinon

Fase gerak yang digunakan adalah n-heksan-etilasetat (3:7), dengan penampak noda larutan KOH 10% dalam metanol. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna noda kuning, kuning cokelat, merah, ungu, hijau dan ungu.

Uji antibakteri terhadap MRSA

Uji aktivitas antibakteri ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 kelompok perlakuan yaitu 2 sampel (ekstrak etanol daun sirih hijau dan minyak atsiri daun sirih hijau) dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm, kontrol positif (meropenem 30 μ g), dan kontrol negatif (akuades steril). Uji antibakteri secara *in vitro* pada penelitian ini menggunakan metode Uji *Difusi Kirby Bauer* (Prasetya et al., 2019). Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan menginokulasi bakteri *S.aureus* pada media Nutrient Agar (NA) pada suhu 37 °C selama 24 jam. Empat ose koloni Methicillin Resistant *S.aureus* (MRSA) hasil biakan di media NA diambil dengan ose steril dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi



media Nutrient Broth (NB) dan dihomogenkan dengan *vortex mixer*. Inkubasi pada suhu 37 °C selama dua jam.

Media Mueller Hinton (MH) dibuat dengan dengan cara menimbang 38 g bubuk media MH dalam 1 L akuades, kemudian dituang ke dalam cawan petri. Setelah MHA sudah siap, pada bagian bawah plat cawan petri dibuat garis-garis pembagian dengan menggunakan spidol dan dilabeli masing-masing ekstrak. Setelah itu penyiapan larutan sampel (ekstrak kental daun sirih hijau dan minyak atsiri sirih hijau). Tiap larutan sampel dibuat dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm. Lidi kapas steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri pada media NB dan digoreskan pada permukaan cawan agar MH dengan metode *swab* sampai seluruh permukaan tertutup rapat dengan goresan-goresan. Setelah itu menempelkan kertas cakram yang sudah direndamkan ke sampel uji. Jarak antara cakram satu dengan lainnya tidak kurang dari 15 mm. Setelah penempelan kertas cakram, cawan agar MH segera diinkubasi pada suhu 37 °C selama 16-18 jam. Pengukuran zona hambatan dilakukan dengan cara pengamatan manual tanpa kaca pembesar. Diameter zona hambatan yang diukur adalah area jernih di sekitar cakram (tidak ada pertumbuhan bakteri). Pengukuran dilakukan dari ujung satu ke ujung yang lain melalui titik tengah cakram. Penilaian terhadap zona hambatan dengan hasil penilaiannya berupa sensitif (S), *intermediate* (I), dan resisten (R).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun sirih hijau diekstraksi dengan pelarut etanol 96% menggunakan metode maserasi, diperoleh rendemen ekstrak etanol sebesar 47%. Keuntungan metode maserasi yaitu dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Dewandari *et al.*, 2013). Sedangkan penggunaan pelarut etanol 96% yaitu di dalam daun sirih hijau terkandung turunan senyawa fenol yang bersifat polar. Etanol merupakan jenis pelarut *universal* yang bersifat polar sehingga dapat menarik senyawa polifenol dalam suatu tumbuhan (Setyawan *et al.*, 2017).

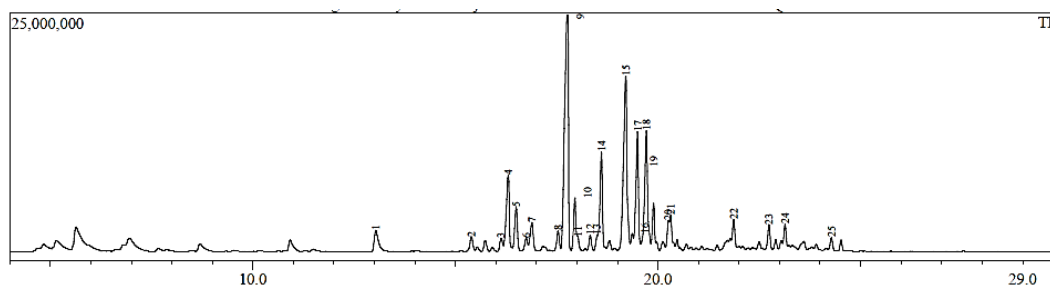
Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau

No	Metabolit Sekunder	Hasil
1	Flavonoid	+
2	Alkaloid	+
3	Tanin dan Polifenol	+
4	Saponin	+
5	Terpenoid	+

Ekstrak etanol daun sirih hijau dianalisa kandungan senyawa metabolit sekundernya melalui skrining fitokimia. Simaremare (2014) menyebutkan bahwa skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan memberi gambaran

tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol daun sirih hijau disajikan pada Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan hasil yang selaras dengan penelitian Vifta *et al.* (2017), daun sirih hijau memiliki kandungan senyawa fitokimia seperti tanin, saponin, flavonoid yang berfungsi sebagai antimikroba serta mempunyai daya antiseptik seperti halnya dengan antibiotika. Saputra (2016) menunjukkan kandungan utama lain dari daun sirih yaitu senyawa alkaloid, terpenoid/steroid, dan fenolik. Perbedaan hasil uji skrining fitokimia tersebut dapat disebabkan beberapa faktor seperti perbedaan pelarut yang digunakan, perbedaan metode pengujian, perbedaan lingkungan tempat dan umur tumbuh daun sirih hijau serta perbedaan kepekaan metode uji yang digunakan terhadap jumlah kandungan kimia dari bahan alam yang diuji. Perbedaan metode tersebut dapat juga tidak mampu mendeteksi kandungan senyawa yang jumlahnya hanya sedikit setelah melalui proses ekstraksi (Purwati *et al.*, 2017).

Minyak atsiri daun sirih hijau diisolasi dengan metode distilasi uap, dengan rendemen minyak atsiri sebesar 4%. Minyak atsiri yang diperoleh berwarna kuning jernih, nilai indeks bias 1,205, dan beraroma khas tanaman sirih. Kandungan senyawa dari minyak atsiri dari daun sirih hijau dianalisa menggunakan GC-MS. Kromatogram minyak atsiri daun sirih hijau disajikan pada Gambar 1 dan kandungan senyawa ditunjukkan pada Tabel 2. Berdasarkan hasil analisa GC-MS, minyak daun sirih hijau mengandung 25 senyawa kimia dengan komponen utama meliputi trans-Caryophyllene (24,71%), alpha-Amorphene (16,33%), dan alpha-Selinene (10,12%). Kandungan senyawa minyak atsiri sirih hijau menunjukkan bahwa sebagian besar golongan senyawa tersebut termasuk golongan terpenoid sub kelas seskuiterpen, dimana ketiga senyawa ini memiliki atom karbon sebanyak 15. Golongan senyawa seskuiterpen memiliki daya antimikroba. Salah satu sifat golongan senyawa seskuiterpen sebagai antimikroba karena golongan senyawa ini bersifat hidrofob yang dapat menyebabkan gangguan integritas pada sel bakteri dengan cara menurunkan pH sel, menurunkan cadangan ATP intrasel, terabsorpsi dan terpenetrasi kedalam sel bakteri, kemudian bakteri akan mengalami presipitasi dan denaturasi protein, dan akan melisiskan membran sel bakteri (Rizkita, *et al.*, 2017).

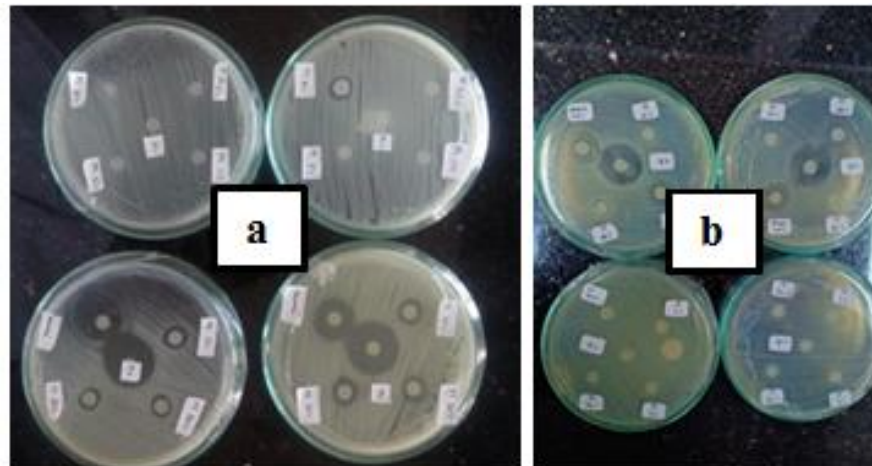


Gambar 1. Kromatogram minyak atsiri daun sirih hijau

Tabel 2. Kandungan senyawa minyak atsiri daun sirih hijau

Puncak	Waktu Retensi (min)	Kadar (%)	Nama Senyawa
1	13.033	1.94	Kavikol
2	15.391	0.83	delta – Elemene
3	16.117	0.94	1-(1-Ethyl-2,3-Dimethyl-Cyclopent-2-Enyl)-
4	16.304	6.08	Ethanone
5	16.498	3.20	Eugenol
6	16.746	0.87	alpha – Copaena
7	16.888	2.28	beta – Boubonene
8	17.537	1.08	beta – Elemene
9	17.769	24.71	alpha – Bergamotene
10	17.947	3.31	trans – karyofilena
11	18.025	0.61	Germacrene – D
12	18.327	0.81	Zingiberene
13	18.492	0.87	Alloaromadendrene
14	18.603	6.21	beta – Farnesene
15	19.204	16.33	alpha – Humulene
16	19.358	0.99	alpha – Amorphene
17	19.494	8.39	beta – Farnesene
18	19.71	10.12	beta – Selinene
19	19.889	2.74	alpha – Selinene
20	20.250	1.59	beta – Bisabolane
21	20.31	1.66	(-) – alpha – Panasinsen
22	21.868	1.29	delta – Cadinene
23	22.736	1.43	(-) – Caryophyllene oxide
24	23.134	1.07	Veridiflorol
25	24.277	0.63	Aromadendrenepoxide – (II) Isoaromadendrenepoxid

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri sampel minyak atisiri, ekstrak dan nanopartikel ekstrak sirih hijau terhadap bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Setiap sampel dibuat variasi konsentrasi 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, dan 25 %. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik meropenem 30 µg dan kontrol negatifnya akuades steril. Hasil uji aktivitas antibakteri ditunjukkan pada Gambar 2 dan Tabel 3.



Gambar 2. Uji antibakteri dari (a) minyak atsiri daun sirih hijau dan (b) ekstrak etanol daun sirih hijau

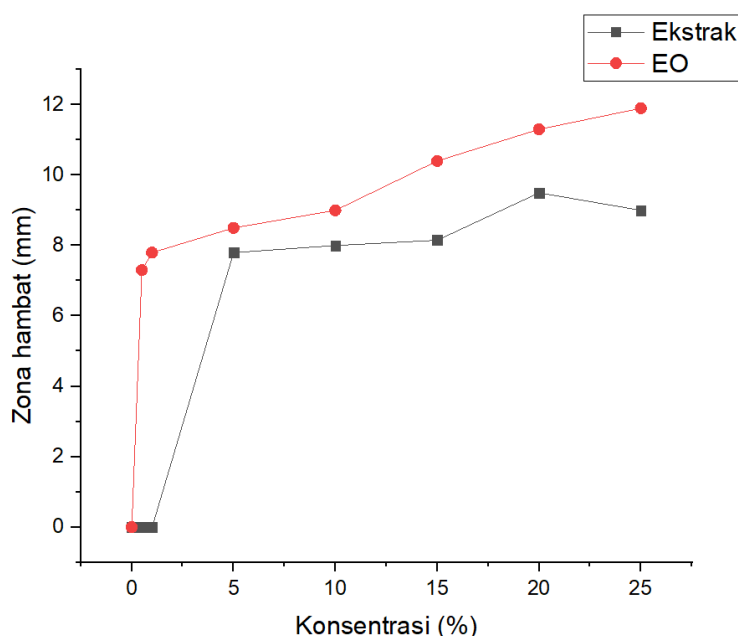
Tabel 3. Data zona hambat aktivitas antibakteri terhadap MRSA

Sampel	Konsentrasi (%)	Zona Hambat (mm)
Ekstrak Daun Sirih Hijau	0.5	0
	1	0
	5	7.8
	10	8
	15	8.15
	20	9.5
	25	9
	Minyak Atsiri Daun Sirih Hijau	0.5
1		7.8
5		8.5
10		9
15		10.4
20		11.3
25		11.9
Aquades steril		
Meropenem		12.5

Zona bening atau zona hambat yang terbentuk akibat adanya aktivitas metabolit sekunder

dan senyawa aktif yang terkandung dalam sampel yang diuji. Senyawa antibakteri yang terkandung diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA Gram positif dengan cara menembus dinding sel (Moubayed at al., 2017). Dinding sel bakteri Gram positif memiliki susunan sederhana terdiri dari 60-100% peptidoglikan, yang terbuat dari N-asetil glukosamin dan N-asetil muramat. Penyusunan dinding sel yang sederhana dan tidak adanya selaput luar menyebabkan senyawa antibakteri dapat menembus dinding sel dan mengganggu proses biosintesis dinding sel (Steffy et al., 2018). Data hasil zona hambat yang diperoleh termasuk dalam kategori intermediet, dimana rentang zona hambat yang diperoleh berada dalam kisaran 16 – 20 mm (Effa & Puetri, 2015).

Perbandingan aktivitas antibakteri dari ekstrak daun sirih hijau dan minyak atsiri daun sirih hijau disajikan pada Gambar 3. Pada konsentrasi rendah (0,5%) minyak atsiri daun sirih hijau sudah menunjukkan aktivitas antibakteri, ditunjukkan dengan adanya nilai zona hambat sebesar 7,3 mm. Ekstrak daun sirih hijau baru menunjukkan aktivitas antibakterinya pada konsentrasi 5%, zona hambat sebesar 7,8 mm. Berdasarkan grafik pada Gambar 3, semakin besar konsentrasi sampel maka semakin besar zona hambat yang dihasilkan. Pada konsentrasi 25%, minyak atsiri dari daun sirih hijau memberikan nilai zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak daun sirih hijau. Perbandingan aktivitas antibakteri tersebut dipengaruhi oleh kandungan senyawa yang terdapat pada sampel uji.



Gambar 3. Perbandingan aktivitas antibakteri dari ekstrak dan minyak atsiri daun sirih hijau

Ekstrak daun sirih hijau memberikan hasil uji antibakteri terhadap MRSA lebih kecil



dibandingkan dengan minyak atsiri dari daun sirih hijau. Pada ekstrak etanol daun sirih hijau tidak dilakukan fraksinasi, sehingga senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak kasar beraneka ragam, meliputi golongan flavonoid, antrakuinon, alkaloid, dan lain-lain. Hal tersebut mengakibatkan aktivitas dari masing-masing senyawa aktif yang saling sinergis untuk menghambat aktivitas bakteri MRSA, sehingga menghasilkan zona hambat yang kecil. Attamimi et al. (2017) menyatakan bahwa ekstrak kasar dari tanaman bersifat endointeraksi, yaitu interaksi yang terjadi di antara banyak senyawa yang terdapat dalam ekstrak kasar tanaman sehingga menimbulkan modifikasi sifat farmakologis dari senyawa tersebut. Sifat Endointeraksi tersebut menunjukkan potensi senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun sirih hijau.

Skринing fitokimia yang dilakukan pada ekstrak etanol daun sirih hijau mengandung beberapa golongan senyawa kimia seperti golongan flavonoid, tanin dan polifenol, saponin serta terpenoid. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dapat dibagi menjadi tiga yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Golongan flavonoid dalam menghambat fungsi membran sel bakteri dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan phospholipase. Metabolisme energi pada bakteri untuk biosintesis makromolekul akan terhambat jika pada sitokrom C reduktase dihambat oleh flavonoid (Rijayanti *et al.*, 2014).

Rahman *et al.* (2017) menyatakan mekanisme kerja senyawa golongan tanin dalam menghambat atau membunuh bakteri yaitu melalui perusakan membran sel bakteri karena toksisitas tanin dan pembentukan ikatan kompleks ion logam dari tanin yang berperan dalam toksisitas tanin. Bakteri yang tumbuh dalam kondisi aerob memerlukan zat besi untuk berbagai fungsi termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Adanya ikatan antara tanin dan zat besi akan menyebabkan terganggunya berbagai fungsi bakteri. Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) termasuk golongan bakteri fakultatif aerob dan anaerob. Mekanisme antibakteri golongan senyawa fenol atau polifenol yaitu dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sitoplasma yang menyebabkan kebocoran komponen intraseluler dan koagulasi sitoplasma pada bakteri, sehingga sel bakteri akan lisis (Sudarmi *et al.*, 2017).

Mekanisme kerja sebagai antibakteri untuk golongan senyawa saponin yaitu dengan mendenaturasi protein bakteri karena zat aktif permukaan saponin mirip dengan deterjen dimana tegangan permukaan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membran bakteri akan dirusak oleh saponin (Sudarmi, *et al.*, 2017). Aktifitas antibakteri terpenoid diduga melibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipofilik (Ngajow *et al.*, 2013). Senyawa fenolik dan terpenoid memiliki target utama yaitu membran sitoplasma yang mengacu pada sifat alamnya yang hidrofobik (Ngajow *et al.*, 2013). Terpenoid dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel bakteri kekurangan nutrisi, pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Haryati *et al.*, 2015).

Septiani, *et al.* (2017) menyebutkan bahwa bakteri Gram positif memiliki struktur Gram

dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat). Asam teikoat merupakan polimer yang larut dalam air, yang berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar atau masuk, karena sifat larut air inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel bakteri Gram positif bersifat lebih polar. Senyawa flavonoid dan tanin merupakan bagian yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid yang non polar. Hal tersebut menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri Gram positif lebih besar dari pada bakteri Gram negatif.

Pembentukan zona hambat terbesar pada minyak atsiri sirih hijau dapat dipengaruhi oleh kandungan senyawanya yang tersusun dari golongan seskuiterpen seperti trans-karyofilena, α -amorphane, dan β -selinena. Mekanisme kerja golongan terpenoid khususnya minyak atsiri dipengaruhi oleh berat molekul senyawa serta karakteristik volatilitasnya. Sehingga minyak atsiri mudah berikatan dengan protein bakteri yang mengakibatkan kerusakan dinding bakteri. Senyawa antimikroba akan menghambat sintesa dinding sel, meningkatkan permeabilitas membran dan merusak sel bakteri. Sifat karakteristik dari minyak atsiri sebagai antimikroba adalah minyak atsiri akan berikatan dengan membran sel bakteri, sehingga mempengaruhi struktur sel dan permeabilitas membran. Kerusakan sel bakteri akan terus berlanjut dengan ditandai keluarnya ion-ion yang diikuti dengan kematian sel (Pramesti, 2014). Moo et al., (2020) menyatakan mekanisme kinerja senyawa karyofilin sebagai antibakteri melalui perubahan permeabilitas membran bakteri dan menyebabkan pembentukan pori non-selektif. Hal tersebut menginduksi kebocoran intraseluler bakteri yang menyebabkan kerusakan dan hilangnya integritas membran, dan menyebabkan kematian sel bakteri.

Berdasarkan hasil analisa data secara statistik uji *T-test independent* terhadap data zona hambat aktivitas antibakteri, diperoleh nilai Sig. (2-tailed) sebesar 0,072. Nilai tersebut lebih besar dibandingkan 0,05, sehingga dapat disimpulkan secara statistik bahwa aktivitas antibakteri dari ekstrak daun sirih hijau dan minyak atsiri tidak berbeda nyata secara signifikan. Berdasarkan perbandingan nilai t, didapatkan nilai t hitung sebesar 1,967, lebih kecil dibandingkan dengan nilai t tabel ($\alpha=0,05$), $1,967 < 2,71$, maka dapat disimpulkan tidak ada perbedaan rata-rata zona hambat yang diberikan oleh ekstrak daun sirih hijau dengan minyak atsiri daun sirih hijau.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan minyak atsiri daun sirih dapat menghambat pertumbuhan MRSA dalam konsentrasi rendah (0,5%). Hasil analisa statisti menunjukkan aktivitas antibakteri dari ekstrak daun sirih hijau dan minyak atsiri tidak berbeda nyata secara signifikan ($p>0,05$). Aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih hijau dan minyak atsiri daun sirih hijau dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktifnya.

DAFTAR PUSTAKA

Agustina, E., Andiarna, F., & Hidayati, I. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang

- Hitam (Black Garlic) Dengan Variasi Lama Pemanasan. *Al-Kauniah: Jurnal Biologi*, 13(1), 39–50. <https://doi.org/10.15408/kauniah.v13i1.12114>
- Attamimi, F. A., Ruslami, R., & Maskoen, A. M. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) Dibanding dengan Klorheksidin terhadap *Streptococcus sanguinis*. *Majalah Kedokteran Bandung*, 49(2), 94–101. <https://doi.org/10.15395/mkb.v49n2.1053>
- Dewardari, K. T., Yuliani, S., & Yasni, S. (2013). Ekstraksi dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Sirih Merah (*Piper crocatum*). *J. Pascapanen*, 10, 58–65.
- Effa, & Puetri, N. R. (2015). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Isolat dari Penderita Faringitis. *SEL*, 2(2), 57–65.
- Haryati, N. A., Saleh, C., & Erwin. (2015). Uji Toksisitas Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 13(1), 35–40.
- Hermawan, A. (2007). *Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L .) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus Dan Escherichia coli Dengan Metode Difusi Disk*.
- Karina, Anggraini, D., & Oyong, N. (2015). Pola Resistensi *Staphylococcus* Koagulase Negatif Terhadap Antibiotik yang Diisolasi dari Kultur Darah Neonatus Tersangka Sepsis di Instalasi Perawatan Neonatus RSUD Arifin Achmad Provinsi Riau Periode 01 Januari-31 Desember 2014. *Jom FK*, 2(2), 1–9.
- Kurniawati, D., Rukmi, I., & Lunggani, A. T. (2014). Aktivitas Antimikroba Kombinasi Rebusan Daun Sirih Hijau (*Piper betla*) Dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Biologi*, 3(1), 55–61.
- Kuswiyanto. (2017). *Buku Ajar Analis Kesehatan* (1st ed.; E. A. Mardella, ed.). Jakarta: EGC.
- Moo, C. L., Yang, S. K., Osman, M. A., Yuswan, M. H., Loh, J. Y., Lim, W. M., ... Lai, K. S. (2020). Antibacterial activity and mode of action of β -caryophyllene on *Bacillus cereus*. *Polish Journal of Microbiology*, 69(1), 49–54. <https://doi.org/10.33073/pjm-2020-007>
- Moubayed, N. M. S., Al Hourri, H. J., Al Khulaifi, M. M., & Al Farraj, D. A. (2017). Antimicrobial, antioxidant properties and chemical composition of seaweeds collected from Saudi Arabia (Red Sea and Arabian Gulf). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(1), 162–169. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.05.018>
- Munawaroh, E., & Yuzammi. (2017). Keanekaragaman Piper (Piperaceae) Dan Konservasinya Di Taman Nasional Bukit Barisan Selatan, Provinsi Lampung. *Media Konservasi*, 22(2), 118–128.
- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA UNSRAT*, 2(November 2013), 128–132.
- Nisyak, K. (2017). Aktivitas Antioksidan Dan Sitotoksik Ekstrak Metanol Kulit Batang Kamboja (*Plumeria acuminata*) Terhadap Sel Kanker Leher Rahim Antioxidant and Cytotoxic Activity



Vol. 5 No. 1 Desember Tahun 2022

- of Methanolic Extract of Kamboja Stem Bark (*Plumeria acuminata*) on Cervical Cancer Cell L. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 10(1), 1–7.
- Pramesti, E. D. (2014). Aktivitas Antibakteri Minyak Biji Pala (*Myristica fragrans* H) Terenkapsulasi Pada Pure Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* L.). *IPB*.
- Prasetya, Y. A., Nisyak, K., Hisbiyah, A., & Iftitah, D. (2019). *Aktivitas Nanokomposit ZNO-Ag dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. 0–3.
- Purwati, S., Lumowa, S. V. T., & Samsurianto. (2017). Skrining Fitokimia Daun Saliara (*Lantana camara* L.) Sebagai Pestisida Nabati Penekan Hama Dan Insidensi Penyakit Pada Tanaman Holtikultura Di Kalimantan Timur. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, 153–158.
- Rahman, F. A., Haniastuti, T., & Utami, T. W. (2017). Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(1), 1–7. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.22146/majkedgiind.11325>
- Rijayanti, R. P., Luliana, S., & Trianto, H. F. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Universitas Tanjungpura*.
- Rizkita, A. D., Cahyono, E., & Mursiti, S. (2017). Isolasi dan Uji Antibakteri Minyak Daun Sirih Hijau dan Merah terhadap *Streptococcus mutans*. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(3), 280–286.
- Saputra, G. (2016). *Karakterisasi Nanoenkapsulasi Kitosan - Ekstrak Etanol 70% Daun Sirih (Piper betle Linn) Dengan Metode Gelasi Ionik*.
- Septiani, Dewi, E. N., & Wijayanti, I. (2017). Aktivitas Antibakteri Ekstrak lamun (*Cymodocea rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *IJFST*, 13(1), 1–6.
- Setyawan, E. I., Samirana, P. O., Dewi, P. E. M. U., & Putra, I. G. N. A. D. (2017). *Studi Pelepasan Senyawa Polifenol Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.) Matrik Patch Mukoadesif Methocel A15*. 13(1), 1–7.
- Shrestha, N. K., Fraser, T. G., & Gordon, S. M. (2018). Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* Infections among Patients Colonized with Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Infection*, 0(0). <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.03.045>
- Simaremare, E. S. (2014). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*, 11(01), 98–107.
- Steffy, K., Shanthi, G., Maroky, A. S., & Selvakumar, S. (2018). Potential bactericidal activity of *S. nux-vomica*–ZnO nanocomposite against multidrug-resistant bacterial pathogens and wound-healing properties. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 50(February), 229–239. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.07.009>
- Sudarmi, K., Darmayasa, I. B. G., & Muksin, I. K. (2017). Uji Fitokimia Dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium cumini*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Dan



Vol. 5 No. 1 Desember Tahun 2022

Staphylococcus aureus ATCC. *DOAJ*, 2(September), 47–51.

Vifta, R. L., Wansyah, M. A., & Hati, A. K. (2017). Aktivitas Antibakteri Salep Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle*L.) Terhadap Infeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Kartika : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(2), 56. <https://doi.org/10.26874/kjif.v5i2.117>