

Fraksinasi Ekstrak Daun Sirih dan Ekstrak Gambir serta Uji Antibakteri *Streptococcus mutans*

Irvan Herdiana^{1*}, Nur Aji²

^{1,2}Program Studi DIII Farmasi Poltekkes Kemenkes Tasikmalaya

¹tvirus2588@gmail.com, ²nuraji090689@gmail.com

ABSTRAK

Salah satu tanaman obat yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu sirih dan gambir telah terbukti memiliki aktivitas terhadap *Streptococcus mutans*. Penggunaan kombinasi ekstrak tersebut menyebabkan penurunan aktivitas antibakteri, maka perlu dilakukan ke tahap fraksinasi. Tujuan dari penelitian ini yaitu melakukan fraksinasi pada ekstrak daun sirih dan ekstrak gambir dan uji aktivitas terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Sampel penelitian ini adalah ekstrak gambir dan daun sirih. Penelitian dimulai dengan ekstraksi daun sirih dan gambir dengan menggunakan etanol 96%, uji mutu ekstrak, kemudian fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan n-butanol. Metode Diameter Daya Hambat (DDH) dipakai dengan cara dihitung zona bening, berupa diameter (mm). Pengolahan data menggunakan standar deviasi. Hasil uji DDH tertinggi pada fraksi etil asetat ekstrak daun sirih pada konsentrasi 20%, yaitu 8-13 mm dan fraksi etil asetat ekstrak gambir pada konsentrasi 20%, yaitu 0,4-2,5 mm. Hasil uji kombinasi fraksi etil asetat sirih dan gambir konsentrasi 20%, yaitu 8-11,4 mm, nilai daya hambat lebih kecil dibandingkan dengan fraksi tunggal etil asetat ekstrak sirih, menunjukkan bahwa kombinasi fraksi ekstrak tidak sinergis atau antagonis.

Kata Kunci

Gambir, Sirih, Fraksi, *Streptococcus mutans*

ABSTRACT

One of the medicinal plants which has antibacterial activity, namely betel and gambier has been shown to have activity against *Streptococcus mutans*. The use of the extract combination causes a decrease in antibacterial activity, it is necessary to proceed to the fractionation stage. The purpose of this study is to do the fractionation of betel leaf extract and gambier extract and test the activity of *Streptococcus mutans*. This research is an experimental study. The sample of this research is gambier extract and betel leaf. The study began with extraction of betel leaf and gambier using 96% ethanol, extract quality test, then fractionation using n-hexane, ethyl acetate and n-butanol. The inhibitory diameter (DDH) method used by calculating the clear of diameter (mm). Data processing uses standard deviations. The highest DDH test results in the ethyl acetate fraction of betel leaf extract at a concentration of 20%, which is 8-13 mm and gambier extract ethyl acetate fraction at a concentration of 20%, which is 0.4-2.5 mm. The test results of a combination of betel ethyl acetate fraction and gambier concentration of 20%, which is 8-11.4 mm, the inhibitory value is smaller than the single fraction of ethyl acetate betel extract, the combination of extract fraction is not synergistic or antagonistic.

Key Words

Gambir, Betel, Fraction, *Streptococcus mutans*.

Received : 20 Mei 2020
Revised : 31 Oktober 2020
Accepted : 21 November 2020

Correspondence* : Irvan Hardiana, Program Studi DIII Farmasi Poltekkes Kemenkes Tasikmalaya, Jl. Cilolohan No.35 Kecamatan Tawang Kota Tasikmalaya 46115, Email: tvirus2588@gmail.com

PENDAHULUAN

Pengendalian plak adalah upaya membuang dan mencegah penumpukan plak pada permukaan gigi. Upaya tersebut dapat dilakukan secara mekanis maupun kimiawi. *Streptococcus mutans* merupakan salah satu bakteri utama penyebab terjadinya plak pada gigi. Bakteri ini merupakan organisme paling kariogenik di rongga mulut karena kemampuan asidurik dan asidogeniknya tinggi.¹ Menurut Berkowitz, dalam *Journal of the Canadian Dental Association*, koloni *Streptococcus mutans* dan beberapa perilaku makan dapat meningkatkan risiko plak pada gigi sebesar 30%.²

Salah satu tanaman obat yang memiliki banyak manfaat yaitu sirih (*Piper betle* L.), selain untuk upacara adat Moeljanto, R.D dalam bukunya menyebutkan daun sirih dapat mengatasi berbagai macam penyakit yaitu; kelebihan kadar kolesterol, gangguan jantung, asma, polip, rematik dll.³ Penelitian lain menyebutkan, ekstrak daun sirih juga telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*.⁴ Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun sirih terhadap *Streptococcus mutans* berada pada konsentrasi 8-12% memiliki nilai Diameter Daerah Hambat (DDH) yang masuk ke dalam respon baik.⁵

Tanaman obat lain yang dikenal memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* adalah gambir (*Uncaria gambir* Roxb). Kandungan zat aktif utamanya adalah katekin, baik dalam bentuk katekin murni atau katekol. Katekin dapat mencegah pembentukan *extracellular glucan* yang berfungsi melekatkan *S. mutans* pada permukaan gigi sedangkan katekol mampu menghambat aktivitas enzim *glucosyltransferase* yang dimiliki *S. mutans*. Enzim ini berkaitan dengan pembentukan plak gigi.⁶ Penelitian Aji N menyebutkan pada konsentrasi 16%-20% ekstrak etanol 96% gambir termasuk ke dalam respon baik.⁵

Metode uji Diameter Daerah Hambat (DDH) yang menggunakan cakram, dengan tingginya konsentrasi dari antimikroba ditentukan oleh difusi dari cakram terhadap pertumbuhan organisme uji yang dihambat penyebarannya sepanjang difusi antimikroba (terbentuk zona jernih disekitar cakram), sehingga bakteri tersebut merupakan bakteri yang sensitif terhadap komponen antimikroba.⁷ Metode ini digunakan dengan pertimbangan bahwa pelarut pada cakram sudah hilang pada proses pengeringan cakram, sehingga tidak mempunyai pengaruh terhadap hasil uji.

Berdasarkan penelitian Aji, N bahwa Diameter Daerah Hambat (DDH) kombinasi ekstrak sirih dan gambir, menghasilkan DDH yang lebih kecil dibandingkan dengan DDH ekstrak, sehingga dapat dinyatakan bahwa kedua ekstrak tidak sinergis atau lebih tepatnya antagonis. Kemungkinan efek antagonis disebabkan karena bahan yang digunakan masih berupa ekstrak kasar, sehingga terjadi banyak interaksi antar komponen dalam ekstrak. Maka perlu dilakukan suatu

proses penyederhanaan komponen dalam ekstrak melalui proses fraksinasi salah satunya dengan metode Ekstraksi Cair-Cair (ECC).⁵

ECC merupakan ekstraksi yang menggunakan dua pelarut yang tidak saling campur dan melibatkan ekstraksi analit dari fase air ke dalam pelarut organik yang bersifat nonpolar atau agak polar. Analit-analit yang mudah terekstraksi dalam pelarut organik adalah molekul-molekul netral yang berikatan secara kovalen dengan substituen yang bersifat nonpolar atau agak polar. Sementara itu, senyawa-senyawa polar dan juga senyawa-senyawa yang mudah mengalami ionisasi akan tertahan dalam fase air.⁸ Metode ECC dapat memisahkan senyawa aktif dengan senyawa-senyawa lain yang dapat menyebabkan antagonis terhadap senyawa aktif lainnya. Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti bermaksud untuk melakukan Fraksinasi Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) dan Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) serta uji antibakteri *Streptococcus mutans*.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April - Juli 2019. Subjek dari penelitian ini adalah bakteri *Streptococcus mutans*. Variabel penelitian ini kombinasi fraksi dari ekstrak gambir dan daun sirih dan pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Farmasi Poltekkes Kemenkes Tasikmalaya. Daun sirih sebanyak 1000g didapatkan dari B2P2TOOT (Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional) Tawamangu. Sebanyak 1000 gram daun sirih dan gambir segar diekstraksi masing-masing dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, dengan cara direndam dalam pelarut etanol selama ± 24 jam proses maserasi dilakukan dua kali pengulangan dengan jumlah da pelarut yang sama. Ekstrak etanol dipisahkan dari pelarutnya dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C, sehingga diperoleh ekstrak kental dan rendemen ekstrak etanol 96% daun sirih dan gambir. Tahap berikutnya dilakukan fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan 3 pelarut yang tidak saling campur, yaitu; n-heksan, n-butanol dan etil asetat. Dilakukan pengulangan untuk tiap pelarut sampai tidak ada perpindahan zat antar pelarut. Tahap selanjutnya dilakukan skrining fitokimia meliputi; alkaloid, polifenol, tannin, flavonoid, steroid dan triterpenoid dan saponin.

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Streptococcus mutans* dan kemudian dilakukan peremajaan selama 1x24 jam dengan suhu 37°C pada agar miring. Selanjutnya dibuat beberapa varian konsentrasi dan diuji dengan metode difusi cakram. Pengukuran zona hambat ekstrak dan fraksi daun sirih dan gambir dilakukan pada 3 cawan petri dengan

tiga perlakuan yang berbeda yaitu kelompok ekstrak, kontrol positif klorheksidin 0,2%, dan kontrol negatif berupa pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi dan fraksinasi.

Metode yang digunakan ialah metode difusi lempeng agar (Kirby-Bauer) yang merupakan metode uji diameter daya hambat langsung. Agar NA dibuat sebanyak 3 cawan petri pada kedua gabungan fraksi etil asetat daun sirih dan gambir. *Streptococcus mutans* disebar secara merata dengan menggunakan swab pada permukaan agar NA. Kertas cakram diberi ekstrak gabungan dengan konsentrasi 20%, 15%, dan 10%, hal sama dilakukan untuk kontrol positif dan kontrol negatif. Cakram tersebut lalu diletakkan di media agar yang sudah dioleskan bakteri *Streptococcus mutans*, selanjutnya di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37^o.

Zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram diukur diameter vertikal dan diameter horizontal dengan satuan millimeter (mm) menggunakan jangka sorong dan diukur dengan rumus:

$$\text{Diameter zona bening} - \text{Diameter disk} = \text{diameter daya hambat}$$

Data yang digunakan dalam penelitian ini dihitung secara manual dan data yang sudah diolah disajikan dalam bentuk tabel, gambar, dan tulisan.

PEMBAHASAN

Hasil maserasi disaring dan filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya dengan *rottary evaporator* pada suhu 50^o-70^oC dan untuk ekstrak air diuapkan pada waterbath pada suhu 100^oC, sehingga diperoleh ekstrak kental.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi dan Rendemen Ekstrak Daun Sirih dan Gambir

No.	Nama Ekstrak	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%)
1	Daun Sirih	300	34,5	11,5
2	Gambir blok	500	217,5	43,5

Hasil ekstraksi cair-cair ekstrak daun sirih dan ekstrak gambir disaring dan filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya dengan *rottary evaporator* pada suhu 50^o-70^oC dan diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapatkan kemudian dihitung rendemennya.

Hasil pengujian skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun sirih mengandung senyawa polifenol, tanin, steroid, triterpenoid dan saponin. Sedangkan Hasil skrining fitokimia ekstrak gambir menunjukkan bahwa ekstrak mengandung alkaloid, polifenol, tanin, flavonoid dan triterpenoid.

Tabel 2. Hasil Ekstraksi Cair-Cair dan Rendemen Fraksi Ekstrak Daun Sirih

No.	Nama Fraksi	Ekstrak Kental (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%)
1	n-heksan		0,5	2
2	etil asetat	25	12,2	48
3	n-butanol		9,7	38,8
4	Air		1,3	5,2

Tabel 3. Hasil Ekstraksi Cair-Cair dan Rendemen Fraksi Ekstrak Gambir

No.	Nama Fraksi	Ekstrak Kental (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%)
1	n-heksan		0,3	0,3
2	etil asetat	100	33,4	33,4
3	Etanol		38,2	38,2
4	Air		25,5	25,5

Hasil pengujian skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun sirih mengandung senyawa polifenol, tanin, steroid, triterpenoid dan saponin. Sedangkan Hasil skrining fitokimia ekstrak gambir menunjukkan bahwa ekstrak mengandung alkaloid, polifenol, tanin, flavonoid dan triterpenoid.

Ekstrak daun sirih dan gambir dibuat konsentrasi 10%, 15%, dan 20%, dan dimasukkan ke dalam kertas cakram kemudian dikeringkan. Kontrol positif yang digunakan adalah sediaan obat yang mengandung klorheksidin 0,2%. Hasil menunjukkan aktivitas terendah untuk ekstrak sirih konsentrasi 10% dengan diameter zona hambat 4,5 mm dan tertinggi 20 % dengan diameter zona hambat 6,4 mm, sedangkan ekstrak gambir konsentrasi 10% dengan diameter zona hambat 3,5 mm dan tertinggi 20 % dengan diameter zona hambat 8,4 mm.

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Kombinasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Sirih (1:1) dan Gambir terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*

Perlakuan	Diameter Daya Hambat (mm)	
	Fraksi Etil Asetat Ekstrak Sirih dan Gambir (1:1)	
	Rata-rata	SD
10 (%) Kombinasi	8,2	0,6
15 (%) Kombinasi	9,8	0,7
20 (%) Kombinasi	11,3	0,2
Kontrol (+)	5,3	1,2
Kontrol (-)	0	0

SD= Standar Deviasi, (-) = Pelarut, (+) = Klorheksidin 0,2%

Pengujian antibakteri selanjutnya dilakukan pada masing-masing fraksi ekstrak gambir dan fraksi ekstrak sirih dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20%. Hasil menunjukkan aktivitas tertinggi pada fraksi etil asetat ekstrak gambir dengan diameter zona hambat 13,8 mm pada konsentrasi 20% dan fraksi etil asetat daun sirih dengan diameter zona hambat 2,5 mm pada konsentrasi 20%.

Setelah diketahui aktivitas antibakteri dari setiap fraksi ekstrak dan selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri secara kombinasi. Kombinasi yang diambil dari kedua ekstrak yaitu fraksi etil asetat dengan konsentrasi parallel dan perbandingan (1 : 1).

PEMBAHASAN

Ekstraksi maserasi digunakan bertujuan untuk memaksimalkan proses ekstraksi dimana senyawa akan terekstraksi berdasarkan sifat kepolarannya. Pemilihan pelarut berdasarkan komponen utama dari daun sirih yaitu minyak atsiri, pemilihan etanol 95% sesuai dengan sifatnya yang berada pada semi polar dan cenderung polar cukup efektif dalam menyari minyak atsiri. Lama maserasi dilakukan sebanyak 3 kali 24 jam dengan 3 kali penggantian pelarut tiap kali penggantian digunakan 2 liter etanol 95%.

Gambir blok merupakan ekstrak kering dari daun tumbuhan *Uncharia gambir*. Gambir blok yang diperoleh dari pedagang bahan farmasi, gambir blok dihaluskan dan ditambahkan etanol 95% untuk memisahkan bahan tidak larut etanol dari ekstrak gambir.

Penggunaan teknik ekstraksi cair-cair bertujuan untuk memaksimalkan proses ekstraksi, dimana senyawa akan terekstraksi berdasarkan sifat kepolarannya. Ekstraksi ini dilakukan pertama dengan menggunakan pelarut n-heksana yang bersifat non polar untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat non polar dengan air yang sebelumnya sudah mengandung 100 gram ekstrak terlarut, fraksi n-heksan diambil dan selanjutnya ditambahkan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar yang lebih cenderung non polar untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat semi polar dalam fase air, kemudian dipakai n-butanol yang bersifat semi polar yang cenderung polar untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat semi polar dalam fase air. Selain itu teknik ini juga dimaksudkan agar terjadi proses fraksinasi dari pelarut non-polar ke pelarut polar.

Penambahan pelarut yang sama dilakukan secara berulang dalam setiap tahapan pergantian pelarut. Proses ekstraksi dihentikan ketika pelarut bening (tidak berwarna), yang kemudian diganti pelarut berikutnya. Terjadinya warna pada ekstrak menandakan bahwa ada senyawa dari bahan yang terekstraksi, tidak adanya warna, bisa disimpulkan bahwa tidak ada lagi senyawa yang berpindah atau terekstraksi. Proses ini terjadi, karena senyawa pada pelarut yang tidak saling campur akan berpindah atau tetap pada pelarut pertama (air), perpindahan ini disebabkan oleh tingkat

kepolaran senyawa. Senyawa-senyawa non-polar akan berada pada pelarut non-polar, begitupun sebaliknya senyawa-senyawa polar akan berada pada pelarut polar (*like dissolved likes*).

Rendemen pada fraksi ekstrak merupakan perbandingan jumlah fraksi yang diperoleh dengan jumlah ekstrak yang digunakan. Semakin besar rendemen fraksi ekstrak, maka semakin banyak jumlah senyawa yang terekstraksi antar pelarut. Rendemen terbesar ada pada ekstrak etil asetat, dan rendemen terkecil ada pada ekstrak n-heksan. Sifat semi polar dari pelarut etil asetat dan etanol menyebabkan penarikan senyawa dari ekstrak menjadi besar. Rendemen yang kecil terdapat pada ekstrak n-heksan dan air, Hal ini disebabkan jumlah senyawa non polar pada sirih merupakan senyawa minyak atsiri dimana pada beberapa penelitian kandungan minyak atsiri pada sirih $\pm 0,33\%$. Sedangkan pelarut air kecil disebabkan senyawa-senyawa metabolit sudah terekstraksi pada fase pelarut etil-asetat dan etanol, dimana kedua pelarut ini memiliki sifat semi polar.

Rendemen terbesar ada pada ekstrak etanol, dan rendemen terkecil ada pada ekstrak n-heksan. Sifat semi polar dari pelarut etil asetat dan etanol menyebabkan penarikan senyawa dari ekstrak menjadi besar, dimana senyawa-senyawa non polar dan polar akan ikut ketarik ke pelarut semi polar. Rendemen yang kecil terdapat pada ekstrak n-heksan dan air, hal ini disebabkan jumlah senyawa non polar pada gambir kecil. Sedangkan pada fraksi air jumlah rendemen tidak terlalu kecil disebabkan senyawa-senyawa metabolit sudah terekstraksi pada fase pelarut etanol, walaupun pada gambir terdapat senyawa-senyawa polar.

Penapisan fitokimia daun sirih adalah alkaloid, flavonoid, senyawa terpenoid, saponin, dan tanin. Separasi dilakukan terlebih dahulu pada ekstrak dibasakan dengan amonia kemudian ditambahkan kloroform. Fase kloroform diambil, dibagi dua dan ditambahkan pereaksi Mayer dan Dragendorff.¹⁵

Hasil skrining fitokimia ekstrak gambir menunjukkan bahwa ekstrak mengandung alkaloid, polifenol, tanin, flavonoid dan triterpenoid. Penelitian Husnul hasil dari penapisan fitokimia ekstrak etanol 95% gambir mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin, yang membedakan dengan hasil uji adalah saponin. Pada pengujiannya menunjukkan hasil negatif dikarenakan busa yang terbentuk kurang dari 1 cm. Selain itu adanya hasil positif pada steroid dan terpenoid. Hasilnya berbeda, disebabkan oleh penggunaan bahan asal yang berbeda. Pada gambir senyawa penciri, berada pada katekin yang merupakan senyawa tannin. Senyawa-senyawa yang lain bukan merupakan senyawa penciri, oleh sebab itu tidak semua senyawa tersebut ada pada tanaman gambir. Senyawa-senyawa lain terkandung dalam tanaman, salah satunya disebabkan oleh lingkungannya, dimana lingkungan berpengaruh terhadap kandungan metabolit sekunder.¹⁶

Hasil pengujian skrining fitokimia menunjukkan bahwa alkaloid terdapat pada fraksi air, hal ini menunjukkan bahwa senyawa alkaloid yang ada pada daun sirih bersifat polar. Beberapa alkaloid yang bersifat polar memiliki rantai C (Karbon) pendek dan gugus fungsi yang meningkatkan kepolaran sehingga hanya dapat larut dalam pelarut air, alkaloid tersebut memungkinkan untuk tidak tertarik ke pelarut lain yang memiliki kepolaran lebih rendah daripada air.

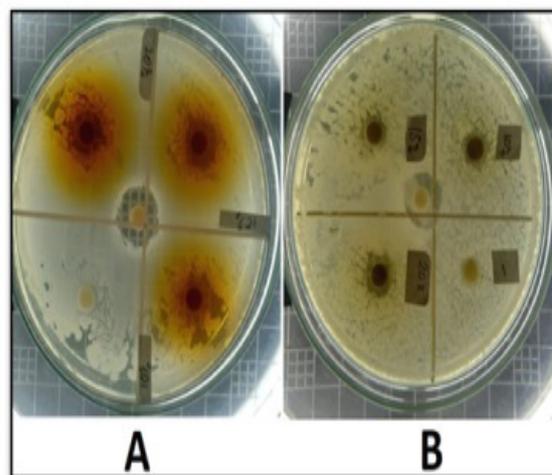
Polifenol terdapat pada semua fraksi, sehingga diduga banyak turunan polifenol yang terdapat pada ekstrak daun sirih. Salah satu polifenol yang terdapat pada ekstrak sirih adalah tannin. Senyawa tannin tidak terdapat pada air, walaupun senyawa tersebut dapat terlaut dalam pelarut polar, hal ini disebabkan tannin sudah terambil oleh semua fraksi pada pelarut nonpolar ke semipolar. Hasilnya dapat disimpulkan bahwa tannin pada sirih bersifat semipolar, kondisi ini juga terjadi untuk senyawa steroid, karena hasil negatif terjadi hanya pada fraksi air.

Terpenoid dan triterpenoid merupakan senyawa yang tersusun oleh unit isoprena. Pada semua fraksi positif (+) terpenoid, hal ini terjadi karena unit terpenoid tersusun oleh 2 (dua) unit sampai ≥ 8 (unit) isoprena. Kelompok monoterpen masih larut dalam pelarut polar pada substituen dengan kondisi pada rantai samping mempunyai gugus fungsi yang dapat menambah kepolaran terpenoid ini. Berbeda dengan triterpenoid yang disusun oleh 6 (enam) unit isoprena, golongan senyawa ini cenderung nonpolar sampai semi polar sehingga pada fraksi n-butanol dan air hasilnya negative (-).

Alkaloid tidak terdapat pada fraksi manapun, padahal pada ekstrak gambir menunjukkan hasil positif (+). Salah satunya, kemungkinan disebabkan oleh proses fraksinasi atau perbedaan reagen yang digunakan pada proses skrining. Pengujian alkaloid terhadap sampel terlebih dahulu dilakukan separasi untuk memisahkan alkaloid dengan tanin. Hasil positif terjadi, disebabkan oleh adanya tanin dalam ekstrak yang dapat menyebabkan positif palsu.

Polifenol dan tannin terdapat pada semua fraksi, sehingga diduga banyak turunan polifenol yang terdapat pada ekstrak daun gambir. Salah satu polifenol yang terdapat pada ekstrak sirih adalah tannin. Senyawa tannin merupakan senyawa yang dapat terlaut dalam pelarut polar. Senyawa steroid tidak terdapat pada n-butanol dan air, hal ini disebabkan steroid sudah terambil oleh semua fraksi pada pelarut nonpolar ke semipolar. Hasilnya dapat disimpulkan bahwa steroid pada gambir merupakan phytosterol yang mempunyai rantai samping panjang sehingga bersifat non-polar sampai dengan semipolar. Sedangkan hal yang sama mungkin terjadi pada terpenoid dan triterpenoid seperti pada fraksi ekstrak daun sirih.

Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi cakram kertas den-



Gambar 1. a. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Gambir (10%, 15%, dan 20%), b. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sirih (10%, 15%, dan 20%)

gan media Nutrien Agar (NA). Metode difusi cakram merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Disk yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media Agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media Agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar.⁹

Aktivitas ekstrak sebagai antibakteri dapat dilihat dari kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Semakin kecil konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri, maka semakin besar potensi ekstrak tersebut sebagai antibakteri. Ekstrak dengan konsentrasi kecil yang mempunyai aktivitas besar, disebut efektif sebagai antibakteri.¹⁰

Uji aktivitas dilakukan pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20% hal ini berdasarkan penelitian sebelumnya bahwa aktivitas antibakteri ada pada konsentrasi diatas $\geq 10\%$ penambahan konsentrasi dilakukan berdasarkan rumus $n^{(+5)}$, konsentrasi terbesar yang dipakai 20%, dengan acuan bahwa aktivitas antibakteri yang terjadi diatas $\geq 20\%$ dianggap kurang efektif karena harus memakai ekstrak lebih banyak dan pemakaian jadi tidak efisien jika diaplikasikan pada penggunaan simplisi secara klinis. Penggunaan klorheksidin 0,2% sebagai kontrol positif didasari oleh pengujian sebelumnya dan sudah teraplikasikan dalam produk sediaan yang digunakan di rongga mulut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua konsentrasi ekstrak sirih dan gambir berada pada kategori baik dan sangat kuat.¹¹ Ekstrak gambir memiliki daya hambat lebih besar dibandingkan ekstrak sirih, walaupun tidak berbeda jauh. Hasil uji standar deviasi menyebutkan bahwa sebaran data pada sampel homogen dengan tidak adanya nilai dari standar deviasi yang melebihi 2 (dua). Hal ini menunjukkan kedekatan tiap data tidak

terlalu jauh dan data dapat diterima.

Terbentuknya hambatan pertumbuhan *Streptococcus mutans* diduga terjadi akibat adanya aktivitas antimikroba zat-zat aktif yang terkandung di dalam ekstrak etil asetat daun sirih. Pertumbuhan bakteri yang terhambat atau kematian bakteri akibat suatu zat antibakteri dapat disebabkan oleh penghambatan terhadap sintesis dinding sel, penghambatan terhadap fungsi membran sel, penghambatan terhadap sintesa protein atau penghambatan terhadap sintesis asam nukleat.¹²

Fraksi etil asetat ekstrak daun sirih memiliki daya hambat terbesar terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, yaitu pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20% dengan respon hambatan pertumbuhan (sangat kuat) menurut tabel respon pertumbuhan daya hambat oleh Pan dkk. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa agen sebagai antibakteri terfraksinasi pada fraksi n-heksan dan etil asetat. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa golongan triterpenoid yang diperkuat dari hasil uji skrining fitokimia, dimana senyawa tersebut teridentifikasi pada fase yang cenderung non polar dan diduga merupakan senyawa minyak atsiri. Selain itu sirih memiliki kandungan minyak atsiri yang komponennya adalah eugenol dimana eugenol memiliki aktivitas degradasi dinding sel dan lisis sel sehingga menyebabkan kematian pada sel.¹³

Hasil berbeda terjadi pada fraksi ekstrak gambir, dimana kemampuan sebagai antibakteri berkurang, bahkan tidak ada. Hilangnya kemampuan antibakteri tersebut, diduga karena agen-agen antibakteri pada gambir bersifat sinergis (saling mendukung) dan aktivitas akan hilang jika senyawa-senyawa tersebut dipisahkan. Salah satu senyawa sebagai agen antibakteri yaitu katekin yang memiliki kemampuannya sebagai antibakteri, dengan gugus fungsi polifenol yang mudah berikatan dengan senyawa organik lain terutama protein yang membentuk senyawa kompleks. Setelah diketahui aktivitas antibakteri dari setiap fraksi ekstrak dan selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri secara kombinasi. Kombinasi yang diambil dari kedua ekstrak yaitu fraksi etil asetat dengan konsentrasi paralel dan perbandingan (1 : 1).

Tujuan dilakukan kombinasi paralel yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri antara sirih dengan gambir pada fraksi sama ketika dilakukan pengujian secara tunggal, walaupun pada sirih DDH masuk kategori sangat kuat dan di gambir kategori lemah. Hasil kombinasi secara paralel menghasilkan diameter daerah hambat kategori sangat kuat. Namun memiliki Nilai DDH lebih kecil dari pada konsentrasi tunggalnya, yaitu pada fraksi etil asetat daun sirih, hal ini menunjukkan bahwa kombinasi fraksi ekstrak tidak sinergis atau antagonis. Berkurangnya aktivitas antibakteri pada kombinasi ekstrak dapat disebabkan ekstrak kasar yang mengandung banyak komponen fitokimia yang kemungkinan memiliki mekanisme ker-

ja yang berbeda.¹⁴

KESIMPULAN

Aktivitas daya hambat ekstrak daun sirih dan gambir pada bakteri *Streptococcus mutans* terjadi pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20%, semuanya lebih dari ≥ 6 mm dengan kategori sangat kuat. Sedangkan pada fraksi ekstrak sirih daya hambat hanya pada fraksi n-heksan dan etil asetat dengan kategori sangat kuat. Pada fraksi ekstrak gambir daya hambat hanya pada fraksi etil asetat dengan kategori lemah. Hasil kombinasi fraksi etil asetat ekstrak sirih dan gambir, nilai daya hambat lebih kecil dibandingkan dengan fraksi tunggal etil asetat ekstrak sirih, hal ini menunjukkan bahwa kombinasi fraksi ekstrak tidak sinergis atau antagonis.

Conflict of Interest

Peneliti tidak memiliki kepentingan apapun dalam penelitian ini, yang dapat mempengaruhi proses dan hasil penelitian.

Authors Contribution

IH berkontribusi dalam merencanakan konsep penelitian, mengkomodasi permasalahan yang muncul dan solusi alternatif, dan mengorganisir pelaksanaan penelitian. NA berkontribusi dalam merencanakan konsep penelitian, mengkomodasi permasalahan yang muncul dan solusi alternatif, mengorganisir pelaksanaan penelitian.

Acknowledgment

Terima kasih penulis sampaikan pada ka. Unit laboratorium terpadu ibu Kusmiyati, M.Kes yang telah memfasilitasi ruangan laboratorium dan alatnya, serta mahasiswa Anggun MH dan Resy L yang ikut membantu dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Korithoski, Bryan, Kirsten Krastel, and Dennis G. Cvitkovitch. "Transport and metabolism of citrate by *Streptococcus mutans*." *Journal of bacteriology* 187.13. 2005: 4451-4456.
2. Berkowitz, Robert J. "Causes, treatment and prevention of early childhood caries: a microbiologic perspective." *Journal-Canadian Dental Association* 69.5. 2003: 304-307.
3. Moeljanto, Rini Damayanti. *Khasiat & manfaat daun sirih: obat mujarab dari masa ke semasa*. AgroMedia. 2003.
4. Raden Bonifacius BEK. Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap *Streptococcus mutans* (Skripsi). Surakarta: Universitas Sebelas Maret. 2010. h 12 & 18.
5. Aji, N. Formulasi Sediaan Gel Pembersih Gigi Kombinasi Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle* L.) Dan Ekstrak Gambir (*Uncaria Gambir* Roxb.) Secara *In Vitro*. Jakarta Selatan. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila Jakarta. 2016.
6. Febriana, N. C. "Pemanfaatan Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) Sebagai Sediaan Obat Kumur." *Sekripsi sarjana. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor*. 2006.
7. Jawetz, Ernest, et al. "Mikrobiologi kedokteran." *Jakarta: EGC*. 2005.
8. Temidayo, Abe Rita. "Extraction and isolation of flavonoids present in the methanolic extract of leaves of *Acanthospermum hispidum* Dc." *Global Journal of Medicinal Plant Research* 1.1. 2013: 111-23.
9. Pratiwi, Sylvia T. "Mikrobiologi farmasi." *Jakarta: Erlangga*. 2008: 22-32.
10. Herdiana I, Setyahadi S, and S. Partomuan. "Isolasi Dan Iden-

- tifikasi Senyawa Kimia Dari Ekstrak Etil Asetat Daun Sirsak Dan Uji Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 31987." *Media Informasi* 13.2. 2017: 16-22.
11. Pan, Xiaodong, et al. "The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT." *Food Control* 20.6. 2009: 598-602.
 12. Jawetz, E., J. L. Melnick, and E. A. Adelberg. "Mikrobiologi kedokteran edisi XXII." *Jakarta: Salemba Medika*. 2001.
 13. Dobl, P., and H. Nossek. "The effect of zinc chloride mouthwashes on caries-inducing plaque streptococci. 2. In vivo studies of the antibacterial effect of zinc chloride on the total streptococcal flora of the dental plaque." *Zahn-, Mund-, und Kieferheilkunde mit Zentralblatt* 78.5. 1990: 393-396.
 14. Adwan, Ghaleb, and Mohammad Mhanna. "Synergistic effects of plant extracts and antibiotics on *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens." *Middle-East Journal of Scientific Research* 3.3. 2008: 134-139.
 15. Inayatullah, Seila. "Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*." 2012.
 16. Warnida, Husnul, Agustiani Masliyana, and Sapri Sapri. "Formulasi Ekstrak Etanol Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) Dalam Bedak Anti Jerawat." *Jurnal Ilmiah Manuntung* 2.1 2017: 99-106.