

PENGARUH EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper cf. fragile* Benth.) TERHADAP BAKTERI PENYEBAB SAKIT GIGI

Moerfiah, Fira Diah Setiawaty Supomo
FMIPA-UNPAK

ABSTRAK

Sakit gigi merupakan efek yang dibawa oleh gigi busuk yang disebabkan oleh bakteri yang memproduksi asam dalam mulut. Bakteri ini bertanggungjawab dalam pemecahan fermentasi gula. Bakteri penghasil asam menyerang email yang melindungi gigi, nyeri disebabkan oleh korosif email gigi dan terpaparnya ujung syaraf gigi. Berdasarkan hasil kromatogram kandungan daun sirih merah sama dengan sirih biasa seperti alkaloid, flavonoid, tanin dan minyak atsiri. Senyawa-senyawa inilah yang diduga berpotensi sebagai antibakteri. Oleh karena itu, dilakukan pengujian antibakteri dengan mengukur LDH ekstrak daun sirih merah. Simplisia daun sirih merah memiliki kadar air sebesar 1,0239% dan rendemen sebesar 14,4818%. Pengujian dilakukan dengan konsentrasi 2,5%; 5%; 7,5% dan 10%. Data yang dihasilkan dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan program software SAS (*Statistic Analyze System*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri penyebab sakit gigi dan konsentrasi yang paling baik adalah 10% dengan rata-rata LDH adalah 16,4166 mm. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin.

Keyword : Ekstrak daun, *Piper cf. fragile* Benth., sakit gigi

PENDAHULUAN

Glukosa merupakan bagian utama menu diit penduduk Indonesia. Diantara kerugian yang paling banyak disorot dari pemakaian gula dalam makanan adalah kerusakan dan pengeroposan gigi, terutama pada anak-anak. Hasil Survei Kesehatan Nasional 2002 menunjukkan, prevalensi gigi berlubang di Indonesia berkisar 60%. Melihat kondisi ini, maka dicarilah alternatif pengobatan dengan menggunakan obat bahan alam karena diyakini tidak memiliki efek samping yang membahayakan serta harganya lebih ekonomis. Salah satu tanaman obat yang dimanfaatkan untuk mengatasi masalah kesehatan gigi dan mulut adalah tanaman sirih.

Umumnya masyarakat mengenal tanaman sirih berdaun hijau. Tetapi belakangan, jenis sirih lain yaitu sirih merah (*Piper cf. fragile* Benth.) selain sebagai tanaman hias ternyata sirih merah juga mampu mengobati berbagai jenis

penyakit dan telah terbukti baik secara empiris dan praklinis.

Secara umum daun sirih mengandung minyak atsiri 1-4,2%, hidroksikavikol, kavikol 7,2-16,7%, kavibetol 2,7-6,2%, allilfikatekol 0-9,6%, karvakrol 2,2-5,6%, eugenol 26,8-42,5%, eugenol metileter 4,2-15,8%, p-simen 1,2-2,5%, sineol 2,4-15,8%, karyofilen 3-9,8%, kadinen 2,4-15,8%, estragol, terpen, seskuiterpen, fenil propana, tanin, diastase 0,8-1,8%, gula, pati (Winarto, 2007).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun sirih merah (*Piper cf. fragile* Benth.) terhadap bakteri penyebab sakit gigi.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi : cawan petri, jarum ose, oven, tabung reaksi, rak tabung reaksi, bunsen, timbangan, kertas cakram, pinset, otoklaf, inkubator, kain batis, grinder, batang

Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah(Moerfiah, dkk)

pengaduk, penjepit kayu, kulkas, penangas air, spidol, penggaris, ayakan mesh 16, *laminar air flow*, tabung jar dan alat-alat gelas kimia lainnya.

Bahan yang digunakan meliputi : daun sirih merah (*Piper cf. fragile* Benth.), biakan murni bakteri penyebab sakit gigi, media *Brain Heart Infusion*, media agar *Mueller Hinton*, *sheep blood*, amoksisilin 25 µg sebagai kontrol positif, akuabides, etanol 96%, NaCl fisiologis 0,9%, HCl 2N, HCl Pekat, Pereaksi Mayer, Pereaksi Bouchardat, serbuk magnesium, FeCl₃, minyak kelapa.

Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan dan Laboratorium Bakteriologi Balai Besar Veteriner di Bogor.

Pembuatan Simplisia

Daun sirih merah dikumpulkan dari perkebunan di daerah Ciapus di Bogor. Daun sirih dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel, dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Daun yang telah bersih dan bebas dari sisa air cucian dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C selama 24 jam, setelah itu simplisia kering dibersihkan kembali dari kotoran yang mungkin tidak hilang pada saat pencucian.

Tahap selanjutnya simplisia kering digrinder sehingga menjadi simplisia serbuk, setelah itu serbuk simplisia diayak dengan menggunakan mesh 16, kemudian disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat.

Penetapan Kadar Air Simplisia

Penetapan kadar air dilakukan dengan menggunakan metoda gravimetri dilakukan dengan cara : sebanyak ± 2 gram serbuk simplisia ditimbang dan dimasukkan ke dalam krus tertutup yang sebelumnya dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara lebih dahulu. Kemudian serbuk simplisia di

keringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam lalu didinginkan dalam desikator lalu ditimbang. Pengeringan dilanjutkan dan ditimbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (DepKes, 2000).

Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Merah

Sediaan ekstrak etanol dibuat dengan cara maserasi, yaitu dengan merendam simplisia sebanyak 30 g dalam 300 ml pelarut etanol 96% selama 24 jam sambil sekali-sekali diaduk. Setelah 24 jam, ekstrak disaring melalui kain batis dan ampasnya diperas. Ampas ditambah cairan pelarut secukupnya, diaduk kemudian disaring sehingga diperoleh ekstrak sebanyak 300 ml. Setelah itu cairan ekstrak diuapkan dengan alat penguap (*Rotary evaporator*) sampai berbentuk cairan kental, kemudian dilanjutkan dengan menggunakan penangas air dengan suhu antara 40°C-50°C sampai diperoleh ekstrak kental dan hasilnya ditimbang (DepKes, 2000). Rendeman ekstrak total dihitung dengan membandingkan berat awal simplisia dan berat ekstrak yang dihasilkan.

Pengujian Fitokimia

a. Pemeriksaan Kandungan Flavonoid

Sejumlah 0,5 g ekstrak etanol daun sirih merah ditambah 100 ml air panas, kemudian didihkan selama 5 menit, disaring sehingga diperoleh filtrat yang digunakan sebagai larutan percobaan. Ke dalam 5 ml larutan percobaan ditambahkan serbuk magnesium dan 1 ml HCl pekat. Selanjutnya ditambahkan amil alkohol dikocok dengan kuat dan dibiarkan memisah. Terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga dalam larutan amil alkohol menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid (Depkes, 1995).

b. Pemeriksaan Kandungan Tanin

Ekstrak etanol daun sirih merah sebanyak 0,5 g ditambahkan 3 tetes FeCl₃, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru kehitaman untuk

Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah(Moerfiah, dkk)

tanin galat dan warna hijau kehitaman untuk tanin katekol (Depkes, 1977).

c. Pemeriksaan Kandungan Saponin

Ekstrak etanol daun sirih merah sebanyak 0,5 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, di tambahkan 10 ml air panas dan didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 menit, hasilnya positif bila pada penambahan satu tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang (DepKes, 1977).

Isolasi Bakteri Uji

Bakteri penyebab sakit gigi diambil dari biakan murni yang berasal dari sampel orang yang memiliki karies pada gigi dan abses pada gusi. Isolasi dilakukan dengan cara memasukkan kapas yang telah steril ke dalam karies gigi selama 1 menit setelah itu kapas dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media BHI setelah itu di masukkan ke dalam tabung jar lalu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam.

Inokulasi dan Pengujian untuk Bakteri Penyebab Sakit Gigi

Inokulasi dan pengujian untuk bakteri dilakukan dengan cara:

1. Pembuatan stok dan inokulum bakteri
 - Biakan murni diinokulasikan pada media cair dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan BHI untuk pengujian digunakan biakan berumur 1 hari.
 - Dibuat pengenceran serial 1:10, 1:100, 1:1000 dan seterusnya dengan cara menyiapkan beberapa tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan NaCl fisiologis. Bakteri yang disuspensikan diambil sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi pertama dan dikocok homogen maka akan diperoleh larutan dengan konsentrasi 10^{-1} .
 - Larutan pada tabung reaksi pertama diambil sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi kedua yang berisi 9 ml larutan NaCl

fisiologis 0,9% steril dan dikocok homogen, maka akan diperoleh dengan konsentrasi 10^{-2} dan seterusnya sampai diperoleh larutan dengan konsentrasi 10^{-6} (Simmons & Craver, 1990).

2. Pembuatan ekstrak uji dengan konsentrasi 2,5% ; 5% ; 7,5% dan 10%.
3. Pengujian Lebar Daerah Hambat (LDH)

Pada pengujian ini digunakan metode difusi kertas cakram, kertas cakram dicelupkan ke dalam ekstrak daun sirih merah steril selama 15 menit kemudian dikeringkan selama 5 menit lalu diletakkan di atas lempeng agar darah dengan menggunakan pinset steril, cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam tabung jar di dalam inkubator, lalu diamati dan diukur dengan menggunakan penggaris lebar daerah hambat (LDH) masing-masing kertas cakram terhadap pertumbuhan bakteri. LDH diukur dari diameter zona bening yang terbentuk. Untuk kontrol positif menggunakan amoksisilin yang telah jadi yaitu 25 µg sedangkan kontrol negatif adalah minyak kelapa.

Parameter Penelitian

Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini adalah lebar daerah hambat yang terbentuk di sekeliling kertas cakram pada pengujian antibakteri dengan menggunakan metode difusi kertas cakram. Pengukuran menggunakan penggaris. Parameter tambahan penelitian ini adalah menguji kandungan senyawa flavonoid, saponin dan tanin dalam ekstrak etanol daun sirih merah secara kualitatif melalui analisis fitokimia.

Analisis Data

Data hasil pengukuran lebar daerah hambat ekstrak etanol daun sirih merah dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan program software SAS (*Statistic Analyze System*).

HASIL DAN PEMBAHASAN
Serbuk Simplisia Daun Sirih Merah

Tabel 1. Hasil penetapan kadar air dan rendemen ekstrak

Kadar air simplisia	Rendemen (%)
1,0239%	14,4818

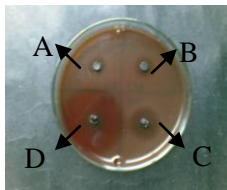
Tabel 2. Hasil analisis kualitatif ekstrak etanol daun sirih merah

Senyawa	Hasil	Kesimpulan
Flavonoid	Warna kuning	+
Saponin	Buih lama hilang (Stabil)	±
Tanin	Warna hijau kehitaman	+++

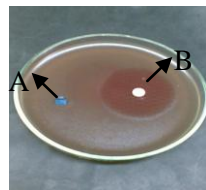
Keterangan: ± = Stabil + = Sedikit pekat
 +++ = Sangat pekat

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi kertas cakram (*Paper disc*), dengan konsentrasi larutan ekstrak 10%; 7,5%; 5%; 2,5%. Sebagai kontrol positif digunakan amoksisilin 25 µg, sedangkan kontrol negatif adalah minyak kelapa. Penggunaan minyak kelapa bertujuan untuk melarutkan ekstrak daun sirih merah dan ternyata minyak kelapa sebagai pelarut tidak memiliki aktivitas antibakteri.



Gambar 1



Gambar 2

Keterangan gambar:

- A. LDH ekstrak daun sirih merah konsentrasi 2,5%
 B. LDH ekstrak daun sirih merah konsentrasi 5%
 C. LDH ekstrak daun sirih merah konsentrasi 7,5%
 D. LDH ekstrak daun sirih merah konsentrasi 10%
- A. LDH kontrol negatif
 B. LDH kontrol positif

Berdasarkan tahapan pengujian yang telah dilakukan terlihat adanya perbedaan diameter hambatan dari masing-masing konsentrasi yang disebabkan oleh kecepatan konsentrasi ekstrak yang Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah(Moerfiah, dkk)

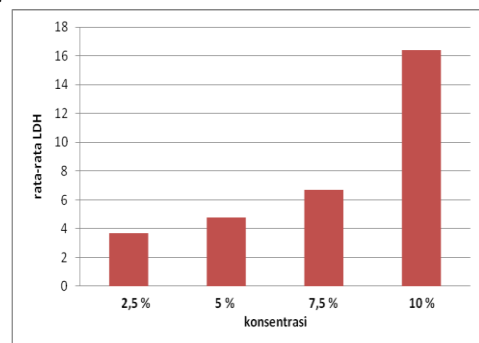
berdifusi ke medium agar (Gambar 1 dan 2). Perbedaan lebar daerah hambat ini juga dipengaruhi oleh kesensitifan dari organisme uji, medium kultur dan kondisi inkubasi, kecepatan difusi antibakteri, dan konsentrasi senyawa antibakteri (Prescott, 2005)

Tabel 3. Rata-rata LDH (mm) ekstrak etanol daun sirih merah

Konsentrasi ekstrak	2,5%	5%	7,5%	10%
Rata-rata	3,667 ^d	4,75 ^c	6,6833 ^b	16,416 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh sangat beda nyata

Dari table 3 diatas hasil rata-rata LDH menunjukkan bahwa konsentrasi 10% mempunyai perbedaan sangat nyata efektifitas antibakterinya terhadap bakteri penyebab sakit gigi dibandingkan semua deret konsentrasi yang dibuat. Lebar daerah hambat ini berupa lebar daerah hambat yang absolut, artinya bersifat bakterisidal. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin besar lebar daerah hambat yang dihasilkan (Gambar 3).



Gambar 3. Histogram Lebar Daerah Hambat pertumbuhan bakteri penyebab sakit gigi pada ekstrak etanol yang dihasilkan pada masing-masing perlakuan.

Hasil pengukuran lebar daerah hambat dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan program software SAS (*Statistic Analyze System*) analisis data (Lampiran 5) diketahui bahwa konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah

berpengaruh sangat beda nyata terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri penyebab sakit gigi ($P < 0,01$). Setelah dilanjutkan dengan uji Duncan diketahui bahwa semua perlakuan sangat beda nyata. Konsentrasi 10% sangat beda nyata dengan konsentrasi 7,5%; 5% dan 2,5%. Penghambatan disekitar pertumbuhan ditunjukkan oleh luasnya wilayah jernih zona hambat kertas cakram (Brander *et al.*, 1991).

Adanya zona hambat di sekitar kertas cakram karena ekstrak mengandung flavonoid, saponin dan tanin berdasarkan analisis fitokimia (Gambar 1) dan juga senyawa-senyawa lainnya yang terdapat dalam daun sirih merah. Senyawa flavonoid dan tanin merupakan turunan fenol yang dapat mengakibatkan terjadinya denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri. Menurut Siswandono dan Bambang (1995) turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada konsentrasi tertentu terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan lemah dan segera menyebabkan penguraian diikuti penetrasi fenol ke dalam sel bakteri dan menyebabkan koagulasi protein membran sehingga membran sel bakteri menjadi lisis, selain itu dapat juga menyebabkan timbulnya kebocoran konstituen sel yang *essensial* sehingga sel bakteri mengalami kematian.

Menurut Robinson (1995), senyawa saponin bersifat sebagai *surfactant agent* yang kuat seperti sabun, karena dapat menurunkan tegangan permukaan antar sel. Saponin yang diadsorpsi pada permukaan sel akan menyebabkan kerusakan dengan meningkatnya permeabilitas membran, sehingga bahan-bahan esensial tersebut yang dibutuhkan oleh bakteri untuk hidup menjadi hilang dan dapat menyebabkan terjadinya kematian terhadap sel.

Lebar daerah hambat absolut yang terbentuk selain karena kandungan senyawa flavonoid, saponin dan tanin juga karena khasiat kandungan senyawa Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah

lainnya. Heyne (1987) menyatakan bahwa daun sirih mengandung kavikol yang mempunyai daya bakterisida lima kali lebih kuat dibanding fenol. Kemampuan daun sirih sebagai antibakteri plak gigi yang diteliti oleh Sundari dkk., (1992) menunjukkan bahwa minyak atsiri daun sirih dengan konsentrasi 0,25% menunjukkan daya antibakteri dan dalam pasta gigi menunjukkan daya antiseptik dimulai pada konsentrasi 0,5%. Menurut Suwondo dkk., (1992) perasan, infus, ekstrak air-alkohol, ekstrak heksan, kloroform maupun etanol daun sirih mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri gingivitis dan bakteri pembentuk plak (*Streptococcus mutans*). Minyak atsiri dan ekstrak daun sirih mempunyai aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri gram positif dan negatif serta menunjukkan aktivitas antifungi terhadap beberapa macam kapang. Daya antibakteri minyak atsiri disebabkan karena kandungan senyawa fenol dan turunannya yang dapat mendenaturasi protein sel bakteri.

Kontrol positif menggunakan antibiotik Amoksisilin 25 µg diperoleh hasil LDH 17,55 mm, tanpa dilakukan pengulangan. Antibiotik Amoksisilin menghasilkan lebar daerah hambat yang absolut terhadap bakteri penyebab sakit gigi karena amoksisilin merupakan jenis antibiotik yang memiliki spektrum luas, yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif (Siswandono & Bambang, 1995).

Pengukuran adanya kekuatan antibiotik dan antibakteri menurut Suryawiria (1978) dipergunakan metode Davis Stout dengan ketentuan :

1. Sangat kuat (daerah hambat 20 mm atau lebih).
2. Kuat (daerah hambat 10-20 mm).
3. Sedang (daerah hambat 5-10 mm).
4. Lemah (daerah hambat < 5 mm).

Dari ketentuan diatas dapat dikatakan amoksisilin mempunyai kekuatan kuat karena lebar daerah hambat yang dihasilkan sebesar 17,55 mm dan ekstrak (Moerfiah, dkk)

etanol daun sirih merah mempunyai kekuatan yang sama karena lebar daerah hambatnya sebesar 16,4166 mm.

KESIMPULAN

Kesimpulan

1. Ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper cf. fragile* Benth.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab sakit gigi.
2. Ekstrak etanol daun sirih merah pada konsentrasi 10%; 7,5%; 5% dan 2,5% memberikan pengaruh sangat nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab sakit gigi.
3. Konsentrasi ekstrak daun sirih merah yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri penyebab sakit gigi yaitu konsentrasi 10%.
4. Berdasarkan hasil pengujian fitokimia secara kualitatif ekstrak etanol daun sirih merah mengandung flavonoid, saponin dan tanin.

DAFTAR PUSTAKA

- Brander, G. C., Pough, D. M, Bywater, R. J & Jenkins, W. L. 1991. *Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics*. 5th Editions. Brailler Tindal, London. 418-419 p.
- DepKes RI. 1977. *Materia Medika Indonesia*, Jilid 1. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- _____.1995. *Materia Medika Indonesia*, Jilid VI. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.

- _____.2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan. Jakarta.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jilid 1. Badan Litbang Departemen Kehutanan. Jakarta.
- Prescott LM. 2005. *Microbiology 2nd Edition*. New York : Mc. Grow-Hill.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi Edisi ke-IV* (Diterjemahkan oleh Padmawina, K). Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Simmons, G. S and J, Craver. 1990. *Antibiotic Sencitivity Tests Using The Disc Method*. Austrchian Bureau Of Animal Health. P. Appendix A.
- Siswandono & Bambang S. 1995. *Kimia Medisinal*. UNAIR Press. Surabaya.
- Sundari, S., Koensoemardijah dan Nusratini. 1992. *Minyak Atsiri Dalam Pasta Gigi; Stabilitas Fisis dan Daya Antibakteri*. Warta Tumbuhan Indonesia Jakarta.
- Suryawiria, U. 1978. *Mikroba lingkungan Edisi kedua*. ITB. Bandung.
- Suwondo, S., Sidik., Somadilaga R.S, dan Soelarko R.M. 1992. *Aktivitas Antibakteri Daun Sirih Terhadap Bakteri Gigivitis dan Baktei Pembentuk Plak/karies Gigi (Streptococcus mutans)*. Warta Tumbuhan Obat Indonesia 1(1) 1-4. Jakarta.
- Winarto, W. P. 2007. *Tanaman Obat Indonesia untuk Pengobat Herbal Jilid 2*. PT. Karyasari Herba Media. Jakarta.