Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol. 8, No. 1, 2003, 31 – 34
Akreditasi Dikti Depdiknas RI No. 69/DIKTI/Kep/2000

ISSN : 1410-0177

Uji Antimikroba Minyak Atsiri Sirih (*Piper betle* L.)

Adek Zambrud Adnan, Marlina, Kasmarnelli Kasmi
Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Andalas

Diterima : 15 Februari 2003, Disetujui : 25 Maret 2003

Abstract

The steam distillation of essential oil of leaves of daun sirih (*Piper betle* L.) has been done. The antimicrobial activity of the essential oil was tested by using agar diffusion method. It was found that at the optimum dose (2.5 ml/paper disc) the zone diameter of inhibitory growth of *Micrococcus luteus, Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa, Escherchia coli* were 20.5, 11.7, 13.0, 12.7 mm respectively. The inhibition of the growth of tested fungi *Candida albicans* and *Trichophyton mentagrophytes* were 15.3, 21.0 mm respectively.

Key words : antimicrobial test, essential oil, *Piper betle*

Pendahuluan

Piper betle Linn (Piperaceae) di Sumatera Barat dikenal dengan nama sirih, berupa tumbuhan merambat dengan akar lekat, dengan ketinggian 5-15 m. Daunnya mempunyai rasa pedas dan aroma aromatik yang khas. Tumbuh subur pada ketinggian 100 – 900 m di atas permukaan laut (Backer, C.A. and R.B.C Van den Brink, 1965; Ridley, N.H., J. Hutchinson, 1967). Di Sumatera Barat daun sirih digunakan sebagai campuran ritual adat kunyahan sirih yang terdiri dari daun sirih, kepingan biji pinang, sadah (kapur sirih) dan gambir. Sirih telah lama dikenal masyarakat sebagai tumbuhan obat tradisional. Bagian tumbuhan yang digunakan sebagai obat adalah daun, akar dan biji. Tetapi yang paling banyak digunakan sebagai obat adalah bagian daun sirih, yang diantaranya digunakan sebagai karminatif, stimulans, ekspektorans, tonikum, adstringent, stomatikum, disentri, demam dan penggunaan lainnya . Menurut Ptelot minyak sirih yang didestilasi di Kamboja, Laos dan Vietnam mengandung betel-fenol (isomer eugenol) dan chavicol dan berbagai senyawa fenol lainnya sedangkan menurut Valenzuela minyak daun sirih mengandung alil pirokatekhin, terpen, cineol, karyopilen, cadinen dan menton (Perry, L.M., 1980).

Daun sirih yang tumbuh di Jawa mengandung minyak atsiri dengan aroma yang khas. Kandungan minyak atsiri sirih yang utama antara lain ialah α-pinen, limonen, kamfen, β-pinen, DL-kamfer, borneol, safrol, kopaena. (Agusta, A., 2000).

Corresponding author : Telp. 62-751-71682, Fax: 62-751-73118
E-mail : adek_adnan@yahoo.com

Pada penelitian sebelumnya (Armilus, 1987) telah melakukan penelitian aktifitas antimikroba sari air daun sirih terhadap *Candida albicans*. Sari daun sirih diperoleh dengan variasi penyarian simplisia 25, 50 dan 75 % dan variasi lama penyarian 15, 30 dan 60 menit. Dari penelitian ternyata penyarian simplisia 75 % selama 15 dan 30 menit memberikan potensi hambat yang cukup baik, yakni 14,5 dan 11,5 mm.

Mengingat banyaknya penggunaan daun sirih dalam pengobatan penyakit infeksi, dan sejauh ini belum ada penelitian yang memadai tentang potensi minyak sirih yang disuling dari tumbuhan sirih di Sumatera Barat, maka pada penelitian ini akan dicoba untuk mempelajari aktifitas antimikroba minyak atsiri sirih yang merupakan komponen utama dari daun sirih. Dengan penelitian ini ini diharapkan minyak sirih akan dapat dikembangkan potensinya menjadi obat antimikroba moderen. Penelitian dilakukan dengan metoda difusi agar menggunakan cakram kertas, terhadap Bakteri Gram positif, Gram negatif dan jamur.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan ialah : daun *Piper betle*, natrium sulfat, natrium klorida, metanol, etanol, formalin, gom arab, *Nutrient Agar (NA) (Merck), Sabourud Dextrosa Agar (SDA) (Merck), Micrococcus luteus* ATCC 9342 , *Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Escherichia coli, Candida albicans, Trichophyton mentagrophytes.*

Alat

Alat yang digunakan antara lain ialah : Alat penentuan minyak atsiri menurut Materi Medika Indonesia, Spektrometer UV-VIS (*Shimadzu*), Inkubator *(Gallenkamp*), autoklaf (*All American, Model Nr 25 X*), timbangan analtis, pipet mikro, petri dish, jarum ose, lampu spiritus, alat gelas lainnya.

Pelaksanaan Penelitian

Destilasi minyak sirih

Daun sirih segar dipotong sampai diamater lebih kurang 1 cm, ditimbang sebanyak 500 g dimasukkan kedalam labu 5 l, kemudian diisi air sampai selengahnya dan dipasangkan alat penentuan minyak atsiri menurut Materia Medika Indonesia. Setelah kondensor dihubungkan dengan air pendingin, labu dipanaskan dengan *heating mantel* sampai air dalam labu mendidih, desilasi kontinnyu dilakukan selama 8 jam. Minyak yang terpisah dikumpulkan, kemudian air yang ikut tersuling dipisahkan dengan corong pisah. Lapisan minyak atsiri dikeringkan dengan natrium sulfat eksikatus, kemudian disaring dengan kaca masir dengan tekanan rendah menggunakan aliran keran.

Uji antimikroba minyak Piper betle (Vanden Berghe, D.A. and Vlietink, A.J., 1991)

- Sterilisasi alat
  Lemari aseptis disterilkan dengan menyemprotkan etanol 70 %. Cakram, cawan petri, erlenmeyer, tabung reaksi di sterilkan di autoclave. Jarum ose, pinset dan pipet di sterilkan dengan nyala bunsen.
- Penyiapan sampel uji
  Disiapkan sampel uji larutan minyak atsiri *Piper betle* dalam etanol 96% dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25% v/v. Kedalam setiap cakram ditetes-kan larutan minyak *Piper betle* sebanyak 10 µl, sehingga diperoleh cakram-cakram yang mengandung 0,5, 1,0, 1,5, 2 dan 2,5 µl minyak *Piper betle*.
- Penyiapan media perbenihan
  a. Penyiapan media *nutrient agar (NA)*
     Media NA (dengan komposisi untuk 1 liter: pepton 5,0 g, ekstrak daging 3,0 g, agar 12 g) ditimbang sebanyak 10 g, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambah air suling sebanyak 500 ml. Campuran diaduk sampai homogen, ditutup dengan kapas yang dibungkus kain kasa, kemudian dipanaskan sampai homogen dan bening. Erlenmeyer dengan isinya dibungkus dengan alumunium foil kemudian disterilkan dalam autoclave pada suhu 121 ^{0} C dan tekanan 15 lbs selama 20 menit.
  b. Media *Sabouraud Dextrosa Agar (SDA)*
     Media SDA (dengan komposisi untuk 1 liter : dekstrosa P 40 g, campuran sama banyak digesti peptik jaringan hewan dan digesti pankreatik kasein P 10 g, agar P 15 g) ditimbang sebanyak 32,5 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambah air suling samapai 500 ml. Kemudian ditutup dengan kapas yang dibungkus dengan kain kas. Erlenmeyer dan isinya dibungkus dengan alumunium foil kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121 ^{0} C dan tekanan 15 lbs selama 20 menit.
- Penyiapan mikroba uji
  Bakteri uji *Micrococcus luteus, Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli* dari stok kultur diremajakan dengan medium NA, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Bakteri kemudian disuspesikan dengan larutan NaCl fisiologis sampai diperoleh kekeruhan T 25 % pada λ_{maks} 580 nm.
  Jamur uji *Candida albicans* dan *Trichophyton mentagrophytes* dari stok kultur diremajakan dengan medium SDA, kemudian diinkubasi selama 48 - 72 jam. Koloni jamur kemudian disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis steril sampai diperoleh kekeruhan T 90 % pada λ_{maks} 530 nm.

Hasil dan Pembahasan

Dari destilasi uap daun sirih segar sebanyak 5 kg dengan alat penentuan minyak atsiri menurut Materia Medika Indonesia diperoleh minyak atsiri *Piper betle* sebanyak 37 ml (rendemen 0,74 % v/b). Destilasi uap dilakukan 10 kali dengan masing-masingnya menggunakan sampel segar daun sirih yang dipetik dipagi hari sebanyak 0,5 kg. Minyak atsiri *Piper betle* hasil destilasi yang diperoleh berupa cairan bening dengan warna kekuning-kuningan dengan aroma dan rasa yang khas, bobot jenis 0,9214 g/ml.

Uji antimikroba dilakukan dengan metoda difusi agar menggunakan cakram kertas, dengan pertimbangan minyak atsiri *Piper betle* bersifat lipofil tidak larut dalam air. Dengan metoda difusi akan sukar memperoleh konsentrasi minyak yang homogen dalam biakan. Dalam menyiapkan berbagai konsentrasi minyak *Piper betle* dilakukan dengan melarutkan minyak atsiri dalam etanol 96%.

Hasil uji antibakteri minyak atsiri *Piper betle* ditampilkan pada Tabel 1 dan Gambar 1 sedangkan hasil uji anti jamur ditampilkan pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Pada Tabel 1 dan Gambar 1 dapat dilihat bahwa minyak atsiri *Piper betle* memberikan hambatan terhadap bakteri Gram positif *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis* dan juga terhadap bakteri Gram negatif *Pseudomonas*

aeruginosa dan *Escherichia coli*. Hambatan yang paling besar diberikan oleh dosis optimum 2,5 µl/cakram dimana memperlihatkan diameter hambatan pertumbuhan mikroba uji *Micrococcus luteus, Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli* berturut-turut 20,5; 11,7; 13,0; 12,7 mm.

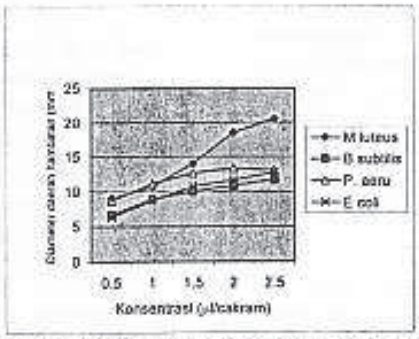
Walaupun pada bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* terlihat hambatan pertumbuhan yang paling besar pada dosis 2,0 µl/cakram (13,3 mm), tetapi ini dianggap bukan dosis optimum. Hal ini diperkirakan bersumber dari kesalahan teknis pada ulangan uji ke dua yang memberikan hambatan 14 mm. Dengan demikian sesuai dengan teori dalam uji antimikroba, dimana dosis yang lebih besar biasanya juga akan memberikan efek yang lebih besar, maka dosis optimum dianggap adalah 2,5 µl yang memberikan hambatan pertumbuhan 13 mm.

Pada Tabel 2 dan Gambar 2 juga dapat dilihat bahwa minyak *Piper betle* memberikan hambatan pertumbuhan terhadap jamur uji *Candida albicans* dan *Trichophyton mentagrophytes* dengan dosis optimum 2,5 µl/cakram yang memberikan diameter hambatan pertumbuhan berturut-turut 15,3 dan 21,0 mm.

Dari Tabel 1 dan Tabel 2 juga dapat dilihat bahwa minyak *Piper betle* memberikan potensi yang kuat terhadap *Micrococcus luteus* dan *Trichophyton mentagrophytes* (diameter hambatan > 20 mm), potensi medium terhadap *Candida albicans* (diameter hambatan > 15 mm) dan potensi lemah (diameter 10-15 mm) terhadap *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, dan Bacillus subtilis*.

Tabel 1: Hasil Uji antimikroba minyak *Piper betle* terhadap bakteri Gam + dan Gram -

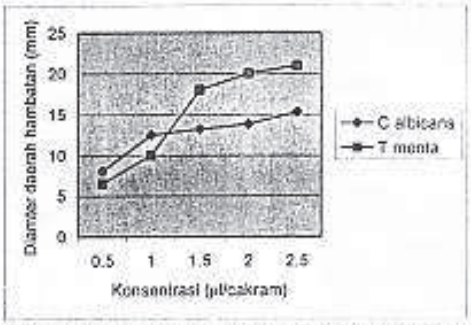
Mikroba uji	Dosis minyak (µl/cakram)	Diameter daerah hambatan (mm)		
		X1	X2	X
Micrococcus luteus	2,5	20	21	20,5
	2	18	19	18,5
	1,5	13	15	14
	1	10,8	10,5	10,65
	0,5	9	9	9
Bacillus subtilis	2,5	11,4	12	11,7
	2	11	10,6	10,8
	1,5	10	10	10
	1	8,8	9	8,9
	0,5	7	6,3	6,65
Pseudomonas aeruginosa	2,5	13	13	13
	2	12,6	14	13,3
	1,5	12,3	13	12,65
	1	11	11,2	11,1
	0,5	10	7,3	8,65
Escherichia coli	2,5	12,6	12,8	12,7
	2	11,5	11,6	11,55
	1,5	10,7	10,8	10,75
	1	8,4	8,9	8,65
	0,5	6	6,4	6,3



Gambar 1. Hasil uji antimikroba minyak *Piper betle* terhadap jamur

Tabel 2: Hasil Uji antimikroba minyak *Piper betle* terhadap jamur

Jamur uji	Dosis minyak (□l/cakram)	Diameter daerah hambatan (mm)		
		X1	X2	X
Candida albicans	2,5	16	14,6	15,3
	2	14,5	13,2	13,85
	1,5	14	12,4	13,2
	1	13	12	12,5
	0,5	10	6	8
Trichophyton mentagrophytes	2,5	21	21	21
	2	20	20	20
	1,5	18	18	18
	1	9	11	10
	0,5	7	6	6,5



Gambar 2. Diagram hambatan minyak *Piper betle* terhadap jamur

Kesimpulan

Dari destilasi kontinyu 5 kg daun segar *Piper betle* L. diperoleh 37 ml minyak atsiri berupa cairan bewarna kuning dengan aroma dan rasa yang khas dengan bobot jenis 0,9214 g/ml (rendemen 0,74 %)

Minyak atsiri *Piper betle* memberikan hambatan terhadap bakteri Gram positif *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis* dan juga terhadap bakteri Gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Hambatan yang paling besar diberikan oleh dosis optimum 2,5 □l/cakram dimana memperlihatkan diameter hambatan pertumbuhan mikroba uji *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* berturut-turut 20,5; 11,7; 13,0; 12,7 mm.

Minyak *Piper betle* memberikan hambatan pertumbuhan terhadap jamur uji *Candida albicans* dan *Trichophyton mentagrophytes* dengan dosis optimum 2,5 □l/cakram yang memberikan diameter hambatan pertumbuhan berturut-turut 15,3 dan 21,0 mm.

Minyak *Piper betle* memberikan potensi yang kuat terhadap *Micrococcus luteus* dan *Trichophyton mentagrophytes* (diameter hambatan > 20 mm), potensi medium terhadap *Candida albicans* (diameter hambatan > 15 mm) dan potensi lemah (diameter 10 – 15 mm) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis*.

Daftar Pustaka

Agusta, A, 2000, Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia, ITB, Bandung, hal 86.

Armilus, 1987, Uji Mikrobiologi dari beberapa jenis Daun Sirih yang ada di Sumatera Barat terhadap jamur Candida, Tesis Sarjana Farmasi FMIPA Universitas Andalas.

Perry, L.M. 1980. Medicinal Plants of East and Southeast Asia, Attributed Properties and Uses, The MIT Press, Cambridge, Massachusetts, and London, England. Hal. 312-313.

Van den Berghe, D.A. and Vlietink, A.J., 1991, Screening Methods for Antibacterial and Antiviral Agents from Higher Plants in Methods in Plant Biochemistry Volume 6. Assays for Bioactivity, Series Editors P.M. Dey and J.B. Harborne, Edited by K. Hostettmann, Academic Press, London, San Diego, New York, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto, p 47 – 69.