

**PERBANDINGAN POTENSI EKSTRAK TERPURIFIKASI,
EKSTRAK ETANOL 96% DAN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN
SIRIH MERAH SEBAGAI ANTIBAKTERI *Streptococcus mutans***

***COMPARISON OF THE POTENTIAL OF PURIFIED EXTRACT, 96%
ETHANOL EXTRACT AND 70% ETHANOL EXTRACT OF RED
BELT LEAVES AS ANTIBACTERIAL *Streptococcus mutans****

Yohanista Putri Atan¹, Eni Kartika Sari^{1*}, Mega Karina Putri¹

¹ Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Akbidyo, Yogyakarta,
Indonesia

*Corresponding author email: kartikasarieni83@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini dilatarbelakangi oleh pengembangan agen antibakteri alami untuk mengatasi *Streptococcus mutans*, penyebab utama karies gigi yang memengaruhi 60-90% populasi global. Resistensi bakteri terhadap antibiotik sintetik semakin meningkat, sementara penggunaan antiseptik konvensional berisiko menimbulkan iritasi mukosa oral. Daun sirih merah (*Piper crocatum*) menjadi kandidat potensial karena kandungan senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, dan tanin yang bersifat antibakteri. Namun, efektivitasnya belum optimal akibat variasi metode ekstraksi dan ketiadaan data komparatif terkait polaritas pelarut serta proses purifikasi. Proses purifikasi dengan heksan menjadi krusial untuk menghilangkan komponen non-aktif (misalnya klorofil) yang dapat mengganggu aktivitas senyawa target. Studi sebelumnya hanya fokus pada ekstrak etanol tanpa membandingkan konsentrasi pelarut 96% dan 70% atau fraksi hasil pemurnian. Variasi pelarut diduga mempengaruhi profil senyawa aktif, seperti flavonoid dan tanin yang lebih larut dalam etanol 70%. Temuan bahwa ekstrak etanol 70% menunjukkan efektivitas tertinggi (10,4 mm) dibanding etanol 96% (5,27 mm) dan fraksi tidak larut heksan (7,25 mm), antar ekstrak mengindikasikan perlunya optimasi metode ekstraksi senyawa pemurnian untuk memaksimalkan retensi senyawa bioaktif. Penelitian ini menjawab kebutuhan mendesak akan standarisasi formulasi fitofarmaka berbasis bukti ilmiah, khususnya dalam menentukan kombinasi pelarut dan teknik purifikasi yang optimal. Hasilnya dapat menjadi dasar pengembangan antibakteri alamiah yang aman, efektif, dan terukur, sekaligus mengurangi ketergantungan pada antibiotik sintetik yang berisiko resistensi berbasis bukti ilmiah, khususnya dalam menentukan kombinasi pelarut dan teknik purifikasi yang optimal. Hasilnya dapat menjadi dasar pengembangan antibakteri alamiah yang aman, efektif dan terukur, sekaligus mengurangi ketergantungan pada antibiotik sintetik yang berisiko resistensi.

Kata kunci: Antibakteri, daun sirih merah, purifikasi, *streptococcus mutans*.

Abstract

This study is motivated by development of natural antibacterial agents to combat

Streptococcus mutans, the primary causative agent of dental caries affecting 60-90% of the global population. Resistance of bacteria to synthetic antibiotics is increasingly prevalent, while the use of conventional antiseptics carries the risk of oral mucosal irritation. Red betel leaf (*Piper crocatum*) is a promising candidate due to its bioactive compounds such as alkaloids, flavonoids and tannins that exhibit antibacterial properties. However, its effectiveness has not been optimized due to variations in extraction methods and the lack of comparative data regarding solvent polarity and purification processes. Purification using hexane is crucial to remove non-active components (e.g., chlorophyll) that may interfere with the activity of target compounds. Previous studies have focused only on ethanol extracts without comparing solvent concentrations of 96% and 70% or purified fractions. Variations in solvent polarity are suspected to influence the profile of active compounds, such as flavonoids and tannins, which are more soluble in 70% ethanol. Findings that the 70% ethanol extract showed the highest effectiveness (10.4 mm inhibition zone) compared to 96% ethanol (5.27 mm) and the non-hexane soluble fraction (7.25 mm) indicate the need to optimize extraction and purification methods to maximize the retention of bioactive compounds. This research addresses the urgent need for standardization of phytopharmaceutical formulations based on scientific evidence, particularly in determining the optimal combination of solvents and purification techniques. The results can form the basis for developing safe, effective, and measurable natural antibacterial agents, thereby reducing dependence on synthetic antibiotics that carry the risk of resistance.

Keyword: Antibacterial, purification, red betel leaf, *streptococcus mutans*.

PENDAHULUAN

Penyakit mulut dan gigi merupakan masalah kesehatan yang sangat umum dan serius di Indonesia, dengan prevalensi karies gigi mencapai 88,8% menurut Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018). Karies gigi adalah kerusakan jaringan keras pada lapisan gigi yang disebabkan oleh metabolisme bakteri, terutama *Streptococcus mutans*, dari makanan yang kaya gula (Amalia, 2021). Tingginya angka kejadian karies gigi ini menjadi perhatian penting karena berdampak luas terhadap kesehatan masyarakat dan kualitas hidup.

Pengembangan agen antibakteri alami menjadi sangat penting mengingat meningkatnya resistensi

antibakteri terhadap antibiotik sintetik serta resiko efek samping penggunaan antiseptic konvensional, seperti iritasi mukosa oral. Daun sirih merah (*Piper crocatum*) merupakan kandidat potensial karena mengandung senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* (Andhiarto 2019; Amiluddin, 2023; Yanti, 2023). Namun efektivitas ekstrak daun sirih merah dapat terhambat oleh keberadaan zat ballast seperti klorofil yang dapat melemahkan aktivitas senyawa metabolit lainnya. Daun sirih merah tua menunjukkan kandungan Klorofil A 70,93 ppm, sedangkan Klorofil B pada 35,77 ppm (Magfiroh, 2017).

Oleh karena itu proses purifikasi menggunakan daun dengan pelarut

serupa seperti heksan, menjadi penting untuk menghilangkan klorofil dan komponen pengganggu lainnya sehingga meningkatkan konsentrasi dan efektivitas senyawa aktif dalam ekstrak (Yunita dan Khodijah, 2020; Januarti *et al.*, 2019). Selain itu, variasi konsentrasi pelarut etanol 96% dan 70% juga mempengaruhi profil senyawa yang terekstraksi, dimana etanol 70% yang lebih polar diduga mampu melarutkan senyawa antibakteri seperti flavonoid, secara lebih optimal dibandingkan etanol 96% (Mubarak *et al.*, 2018). Penelitian sebelumnya belum banyak membandingkan pengaruh konsentrasi pelarut dan hasil purifikasi terhadap aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah yang telah dipurifikasi menggunakan heksan, serta membandingkannya dengan ekstrak etanol 70% dan 96%. Penelitian ini penting untuk mengetahui apakah penghilangan zat *ballast* melalui purifikasi dapat meningkatkan daya hambat antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah dalam standarisasi formulasi fitofarmaka yang aman, efektif dan terukur, sekaligus mengurangi ketergantungan antibiotik sintetik yang berisiko resistensi.

METODE PENELITIAN

Bahan

Objek yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun sirih merah dan

bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175, dengan bahan lain yang digunakan adalah etanol 96%, etanol 70%, akuades, heksan, kapas, HCl, serbuk Mg, FeCl₃ 1%, H₂SO₄, BaCl₂(2H₂O), NaCl 0,9%, Dimetil sulfoksida (DMSO), pereaksi Liebermann Burchard, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer dan pereaksi Wagner, *Nutrient* agar (NA) (semua bahan dan bakteri dibeli di Lutfi Kimia, Indonesia).

Tahapan Penelitian

Determinasi Tanaman

Determinasi sirih merah (*Piper crocatum* L.) telah dilakukan uji Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada.

Preparasi Sampel

Daun sirih merah dicuci hingga bersih dari kotoran dan debu, kemudian tiriskan, lalu dilakukan pemotongan untuk mempercepat proses pengeringan. Daun sirih merah lalu dikeringkan pada dehidrator suhu 50° C. Pengeringan dilakukan untuk mencegah sampel ditumbuhi mikroba dan memudahkan penghalusan. Selanjutnya sampel dihaluskan lalu diayak (Handayono dan Pranoto, 2020).

Pembuatan Ekstrak Kasar

Serbuk daun sirih merah dimaserasi dengan etanol 70% dan 96% pada rasio 1:7 dalam waktu 3 hari, lalu pisahkan filtrat dan residu. Metode maserasi digunakan karena sesuai untuk senyawa yang rentan pada suhu panas (Handayono dan Pranoto, 2020). Residu

yang dihasilkan di remaserasi kembali (1:3) selama 2 hari. Remaserasi dilakukan untuk menyari senyawa yang masih tersisa dalam residu (Zahranisa, 2022).

Purifikasi

Purifikasi dilakukan dengan teknik ekstraksi cair-cair. Satu gram ekstrak etanol 96% dilarutkan dalam 75 mL akuades dan dicampur 75 mL heksan dalam corong pisah. Selanjutnya, homogenkan dan diamkan hingga terbentuk dua fase, lalu pisahkan. Proses ini diulang sebanyak 3 kali, lalu dipekatkan (Chairunisa *et al.* 2022).

Skrining fitokimia

Satu gram ekstrak dilarutkan dalam 50 mL akuades, dipanaskan, filtrat kemudian disaring dan dibagi untuk pengujian flavonoid, polifenol, tanin, saponin, dan alkaloid.

Alkaloid

Penelitian yang dilakukan oleh (Yulia *et al.* 2023) menunjukkan hasil positif dengan menggunakan filtrat 25 mL ditambah 3 tetes HCl, lalu dibagi pada 3 tabung reaksi, ditambah 3 tetes reagen Dragendorff, Mayer dan Wagner. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna merah bata (Dragendorff), endapan putih (Mayer) dan endapan coklat (Wagner).

Flavonoid

Pada penelitian tersebut peneliti menambahkan filtrat 1 mL, sesepora serbuk Mg dan 1 mL HCl menunjukkan hasil positif flavonoid dibuktikan dengan adanya perubahan warna merah.

Saponin

Filtrat 10 mL dipanaskan, lalu dikocok. Jika terbentuk busa selama 10 menit, artinya positif saponin.

Tanin

Filtrat 1 mL ditambah 3 tetes FeCl_3 1%. Jika berubah hijau kehitaman menandakan positif tanin.

Steroid/Terpenoid

Ekstrak 1 spatula dilarutkan 10 mL heksan, lalu diamkan 15 menit. Selanjutnya saring, filtrat diuapkan sampai kering, lalu ditetesi 5 tetes reagen Liebermann Burchard. Jika berubah hijau menandakan positif steroid dan jika berwarna ungu positif terpenoid.

Sterilisasi Alat

Proses sterilisasi media menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Semua alat dibungkus untuk mencegah terjadinya kontaminasi setelah keluar dari autoklaf. Alat seperti jarum ose disterilkan menggunakan pemijaran api bunsen (Kamal dan Tiara, 2019).

Pembuatan Media Agar

Media yang digunakan adalah NA. NA ditimbang 0,46 gram dan dilarutkan dengan 20 mL aquades. Sebanyak 5 mL media NA dituangkan ke dalam 3 tabung reaksi dan ditutup. Selanjutnya membuat media dasar dengan melarutkan 2,3 gr NA dalam 100 mL aquades. Sedangkan media pembenihan dibuat dengan melarutkan 5,75 gr NA dalam 250 mL aquades. Media-media ini menggunakan autoklaf 121°C untuk disterilkan selama 15 menit. sebagai lapisan dasar dan kedua (Muljono dan Manampiring, 2016).

Peremajaan Bakteri

Peremajaan dilakukan dengan tujuan memperoleh isolat aktif agar pertumbuhan bakteri bisa dimaksimalkan (Sari et al. 2022). *Streptococcus mutans* diambil, kemudian digores pada media NA dengan posisi miring, lalu diinkubasi dalam oven suhu 37°C selama 24 jam. Hal ini dikarenakan sudah berlangsung fase logaritmik pada bakteri, dimana bakteri selalu melakukan pembelahan dan jumlah sel meningkat (Mahfud et al. 2022; Amiluddin et al. 2023).

Pembuatan Larutan McFarland

Larutan H₂SO₄ 9,5 mL dicampur dengan 0,5 mL larutan BaCl₂.2H₂O dan diaduk hingga larutan keruh, kemudian dibandingkan dengan suspensi bakteri yang akan dibuat (Rahmida et al. 2023).

Suspensi Bakteri

Bakteri yang diremajakan diambil untuk disuspensikan dengan 5 mL larutan NaCl 0,9%. Larutan NaCl digunakan karena menyerupai cairan dalam tubuh (Ibrahim et al. 2021).

Pelarutan Ekstrak

Pembuatan larutan konsentrasi 15% ekstrak daun sirih merah dilakukan dengan pengenceran menggunakan labu takar 5 mL. Ekstrak diambil sesuai dengan perhitungan pengenceran kemudian ditambahkan DMSO 10%.

Uji Antibakteri

Penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran. Metode ini digunakan karena sampel yang diuji memiliki aktivitas tidak hanya pada permukaan media saja tetapi dapat

menyerap sampai pada bagian dasar media, sehingga memudahkan pengukuran luas zona hambat. Media agar dilubangi menggunakan *cork borer*, lalu sampel uji diinkubasi dalam oven. Berikutnya dilakukan pengukuran zona hambat (Dewi et al. 2021).

Analisis Data

Data uji yang dihasilkan adalah senyawa metabolit sekunder dan diameter zona hambat. Data hasil skrining fitokimia diperoleh berdasarkan positif atau negatif mengandung senyawa metabolit sekunder. Sedangkan, data zona hambat menggunakan metode uji *One Way ANOVA*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Hasil identifikasi sampel yang telah dilakukan di Laboratorium (No. 00517/S.Tb./I/2024) menegaskan bahwa tanaman yang diidentifikasi adalah sirih merah (*Piper crocatum* L).

Pembuatan Ekstrak Etanol

Daun sirih merah dipanen dipanen di Bangunhardjo, sewon, Bantul, Yogyakarta pada Februari 2023. Sampel kemudian dicuci bersih dan dipotong, lalu keringkan dengan dehidrator suhu 50°C. Dehidrator digunakan karena suhunya dapat diatur sehingga proses pengeringan lebih efisien (Handayono dan Pranoto, 2020).

Pengeringan dilakukan pada suhu 50°C untuk menjaga keutuhan senyawa metabolit sekunder seperti tanin dan flavonoid. Suhu diatas 50°C dapat merusak senyawa seperti tanin

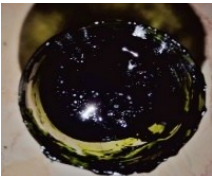
dan flavonoid, sementara suhu di bawah 30°C dapat meningkatkan risiko pertumbuhan mikroba (Hilda *et al.* 2023; Warnis *et al.* 2020). Proses pengeringan berlangsung selama 1 hari dan memperoleh rendemen simplisia sebesar 17,53%.

Sampel kemudian diblender dan diayak agar ukuran serbuk seragam. Serbuk ditimbang, kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi. Serbuk seberat 400 gram dimaserasi dengan etanol 96%, sementara serbuk seberat 200 gram dimaserasi dengan etanol 70% selama 3 hari dengan pengadukan untuk meningkatkan interaksi antara bahan dan pelarut (Nugraheni *et al.* 2022). Setelah proses maserasi,

dilakukan pemisahan filtrat dan residu menggunakan kertas saring. Residu kemudian diremaserasi kembali, selama 2 hari (Zahrannisa, 2022).

Filtrat dipekatkan diatas *waterbath* untuk mendapatkan ekstrak kental dan menghilangkan pelarut (Sayakti *et al.* 2022). Hasil rendemen ekstrak **Tabel 1** berbeda dengan penelitian Herdiana dkk. (2023), dimana rendemen ekstrak etanol 96% dari daun sirih merah memenuhi syarat dengan nilai 17,91%. Perbedaan ini disebabkan oleh metode yang digunakan Herdiana (2023) mengganti pelarut setiap 24 jam selama 3 hari, sehingga berhasil memperoleh rendemen yang memenuhi syarat.

Tabel 1. Karakteristik ekstrak etanol daun siri merah.

Organoleptis	Hasil Pengamatan	
	Ekstrak Etanol 70%	Ekstrak Etanol 96%
Warna	Hijau kehitaman	Coklat kehitaman
Bentuk	Kental	Kental
Bau	Khas	Khas
Randemen	13,38%	16,56%
Gambar		

Tabel 1 menunjukkan ekstrak etanol 70% memperoleh rendemen lebih besar dibanding ekstrak etanol 96%. Hasil ini sejalan dengan penelitian Wahyudi dan Minarsi (2023), bahwa ekstrak etanol 70% dari jahe emprit memiliki rendemen yang lebih besar dibanding dengan ekstrak etanol 96%.

Purifikasi ekstrak Etanol 96% Daun Sirih Merah

Ekstrak etanol 96% daun sirih merah dipurifikasi. Purifikasi ekstrak dilakukan untuk meningkatkan efek farmakologis senyawa aktif (Oktaviana *et al.* 2023). Purifikasi dalam penelitian ini menggunakan larutan penyari yang berbeda polaritas yaitu heksan dan air. Luhurningtyas *et al.* 2021 dalam penelitiannya menyatakan heksan dipilih karena dapat menarik senyawa

yang bersifat nonpolar seperti minyak atsiri, klorofil dan lainnya. Senyawa yang tidak larut dalam heksan akan tetap berada dalam larutan air yang bersifat polar.

Hasil pada **Tabel 2** menunjukkan bahwa rendemen ekstrak

tidak larut heksan lebih tinggi dibanding ekstrak larut heksan. Warna hijau kehitaman pada ekstrak larut heksan disebabkan adanya klorofil, yang terlarut dalam heksan (Herdiana dan Aji., 2020).

Tabel 2. Karakteristik ekstrak terpurifikasi larut dan tidak larut heksan.

Organoleptis	Ekstrak Larut Heksan	Ekstrak Tidak Larut Heksan
Warna	Hijau kehitaman	Coklat kehitaman
Bau	Khas	Khas
Bentuk	Kental	Kental
Randemen	21,2%	32,8%
Gambar		

Tabel 3. Hasil uji skrining fitokimia.

Metabolit Sekunder	Pereaksi dan Perubahan Warna	Ekstrak Etanol 90%	Ekstrak Etanol 70%	Ekstrak Larut Heksan	Ekstrak Tidak Larut Heksan
Alkaloid	Wagner (endapan coklat)	+	+	-	+
	Mayer (endapan putih)	-	-	-	-
	Dragendorff (endapan jingga)	+	+	-	+
Flavonoid	Beberapa tetes HCl+ sedikit serbuk Mg (warna merah, kuning atau jingga)	+	+	-	+
Tanin	Beberapa tetes FeCl ₃ (hijau kehitaman atau biru kehitaman)	+	+	-	+
Saponin	Dikocok (terbentuk busa selama 10 menit)	+	+	-	+
Terpenoid/ Steroid	Liebermann Burchard (warna merah kecoklatan/hijau muda)	+	-	+	-

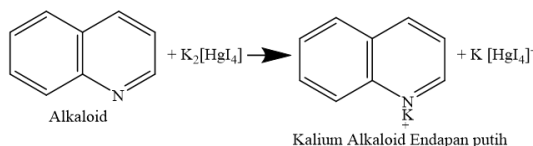
Skrining Fitokimia

Alkaloid

Alkaloid diuji menggunakan reagen Mayer, Dragendorff dan

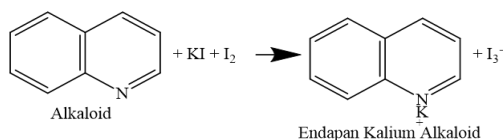
Wagner. Penambahan HCl dapat menarik kandungan alkaloid dalam ekstrak. HCl akan membentuk garam alkaloid dan memisahkannya dengan

komponen lain dalam sel tumbuhan yang juga terekstrak (Safitri dan rosdiana, 2021).



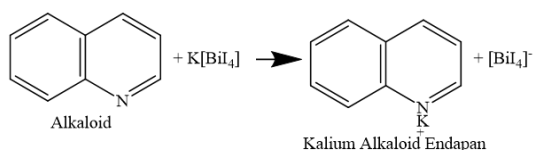
Gambar 1. Reaksi alkaloid dengan reagen Mayer (Amalia, 2023).

Reagen Mayer dilarutkan dalam raksa (II) klorida ($HgCl_2$) dan kalium iodida (KI) membentuk endapan putih jika terdapat alkaloid (Oktapiya dkk., 2022).



Gambar 2. Reaksi alkaloid dengan reagen Wagner (Kopon, 2020).

Hasil uji ion logam K^+ membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen alkaloid, membentuk kompleks kalium alkaloid (Harahap, 2023).

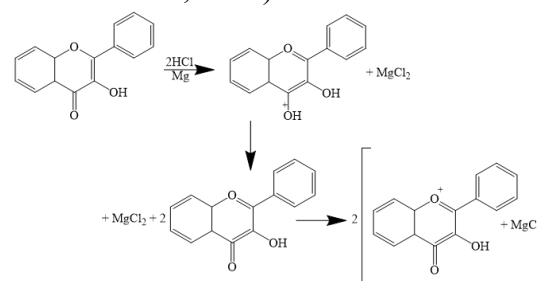


Gambar 3. Reaksi alkaloid dan reagen Dragendorff (Affandy *et al.* 2021).

Ion Bi_3^+ bereaksi dengan KI, menghasilkan senyawa Bismut (III) iodida, membentuk senyawa kalium tetraiodobismutat. Nitrogen dalam alkaloid akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K^+ (Harahap, 2023).

Flavonoid

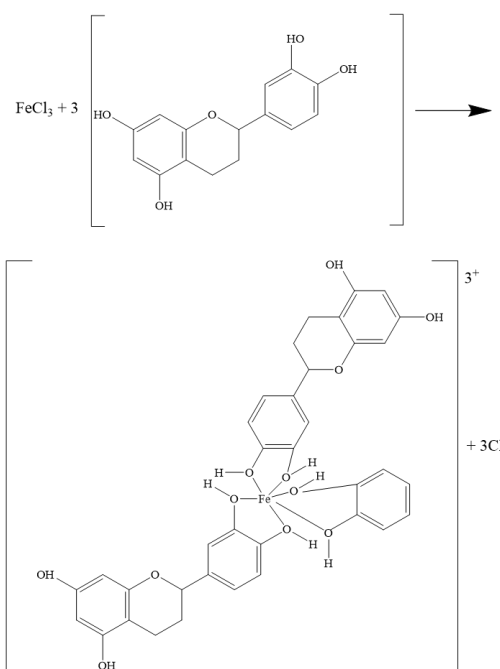
Mg dan HCl pekat ditambahkan dengan tujuan agar inti benzopiron pada struktur flavonoid tereduksi, sampai ada perubahan merah atau jingga (Karlina dan Nasution, 2023).



Gambar 4. Reaksi reduksi flavonoid (Oktavia dan Sutoyo, 2021).

Tanin

Koordinasi ion Fe^{3+} dengan atom O dari gugus $-OH$ yang melepaskan atom H menyebabkan perubahan warna pada tanin (Firmansyah *et al.* 2022).

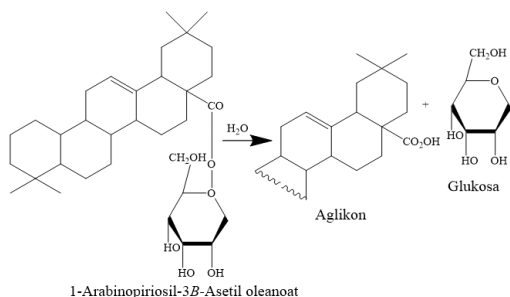


Gambar 5. Reaksi Tanin (Amalia, 2023).

Saponin

Saponin memiliki gugus polar dan nonpolar yang aktif pada

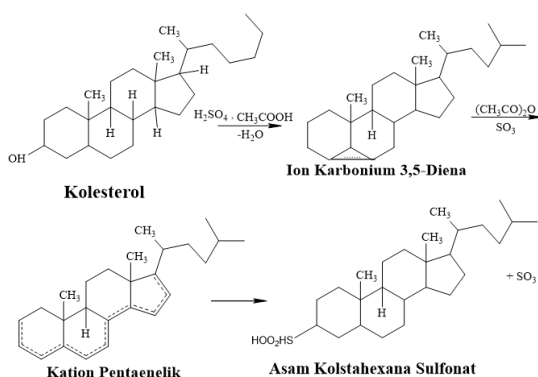
permukaan. Gugus polar mengarah keluar, sedangkan gugus nonpolar ke dalam. Kondisi inilah yang mempengaruhi adanya busa ketika dikocok dengan air (Hanifa *et al.* 2021).



Gambar 6. Reaksi Saponin (Amalia, 2023).

Steroid

Steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrat (Fransiska *et al.* 2021).



Gambar 7. Reaksi Steroid (Amalia, 2023)

Tabel 3 menunjukkan ekstrak etanol 70% dan tidak larut heksan mengandung senyawa polar seperti alkaloid, saponin dan tanin, serta semi polar yaitu flavonoid. Sedangkan ekstrak etanol 96% memiliki senyawa steroid yang bersifat nonpolar sebagai tambahan. Hasil ini sejalan dengan penelitian Herdiana (2023), yaitu

ekstrak etanol 96% mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan ekstrak larut heksan hanya mengandung senyawa steroid.

Uji Antibakteri

Tabel 4 menunjukkan ekstrak etanol 96%, etanol 70%, tidak larut heksan dan larut heksan memiliki perbedaan efektivitas. Menurut penelitian Candrasari (2021) ekstrak etanol 70% sirih merah diketahui dapat mengganggu pertumbuhan bakteri gram positif kategori kuat pada konsentrasi 20%. Hasil ini sejalan dengan penelitian ini, meskipun pada konsentrasi yang sedikit berbeda, yaitu 15%. Kontrol negatif tidak membentuk zona bening pada media, ini membuktikan DMSO tidak memiliki efektivitas antibakteri.

Data hasil uji antibakteri dianalisis menggunakan SPSS untuk menentukan ada tidaknya perbedaan efektivitas antibakteri dari beberapa ekstrak daun sirih merah dengan uji *One Way ANOVA* dengan syarat data harus terdistribusi normal dan homogen ($\text{sig.} > 0,05$).

Tabel 5 menunjukkan perlakuan purifikasi pada ekstrak menghasilkan perbedaan yang signifikan dalam efektivitas antibakteri. **Tabel 4** menyatakan ekstrak etanol 96% dan tidak larut heksan memiliki kategori yang sama. Namun, diameter zona hambat dari ekstrak tidak larut heksan lebih besar. Hal ini menegaskan pemisahan senyawa berdasarkan kepolaran berpengaruh pada aktivitas antibakteri.

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri.

Sampel Uji	Diameter Zona Hambat			Rata-Rata SD	Kategori Kekuatan Zona Hambat
	R1	R2	R3		
Ekstrak etanol 96%	5,1	6,2	4,5	5,27±0,86	Sedang
Ekstrak etanol 70%	9,6	11,1	10,5	10,4±0,75	Kuat
Ekstrak tidak larut heksan	6,65	7,25	7,85	7,25±0,6	Sedang
Ekstrak larut heksan	0	0	0	0,00±0	-
DMSO	0	0	0	0,00±0	-

Tabel 5. Hasil uji *post hoc*.

Sampel uji	Sampel uji	Sig.	Keterangan
Ekstrak etanol 96%	Ekstrak etanol 70%	0,441	Tidak berbeda signifikan
Ekstrak etanol 96%	Ekstrak tidak larut heksan	0,000	Berbeda signifikan
Ekstrak etanol 70%	Ekstrak tidak larut heksan	0,000	Berbeda signifikan

Ekstrak larut heksan tidak memiliki zona hambat karena uji fitokimianya hanya positif senyawa steroid. Hal ini juga dipengaruhi oleh klorofil sebagai zat pengotor yang dapat melemahkan senyawa metabolit lain, sehingga menyebabkan ekstrak tidak memiliki aktivitas antibakteri (Armansyah *et al.* 2022). Ekstrak daun sirih merah memiliki senyawa flavonoid, steroid, tanin, dan saponin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Marfuah *et al.* 2018).

Flavonoid sebagai antibakteri mencegah aktivitas sel, senyawa steroid mencegah pertumbuhan bakteri dengan mengganggu sintesis protein sehingga terjadi perubahan komponen penyusun sel bakteri. Tanin bekerja dengan mengerutkan dinding ataupun membran sel yang menyebabkan sel tidak bisa melakukan aktivitas hidup. Senyawa metabolit lain yang dapat merusak permeabilitas membran sel bakteri adalah saponin (Afif dan Asmilah, 2017).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dibuktikan adanya perbedaan efektivitas antara ekstrak etanol 96%, ekstrak etanol 70%, ekstrak terpurifikasi larut heksan dan tidak larut heksan sebagai antibakteri *Streptococcus mutans*. Ekstrak etanol 70% daun sirih merah lebih efektif dijadikan sebagai antibakteri dengan kategori zona hambat kuat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih penulis kepada LPPM STIKes Akbidyo yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiff, F. E., & Amilah, S. 2017. Efektivitas Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Terhadap Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *STIGMA: Jurnal Matematika dan Ilmu*

- Pengetahuan Alam Unipa*, 10(1), 12-16.
- Amalia, R. 2021. *Karies Gigi: Perspektif Terkini Aspek Biologis, Klinis dan Komunitas*. Yogyakarta: UGM Press.
- Amalia, P. 2023. Skrining Fitokimia Hasil Ekstraksi Daun *Handeuleum* (*Graptophyllum pictum* L. Griff.) Menggunakan Metode Maserasi dan Sokletasi dengan Variasi Kepolaran Pelarut. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, 10(9), 2839-2846.
- Amiluddin, M. I., Islawati, I., & Amirullah, A. 2023. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *Nuhela Journal of Injury*, 2(1), 7-16.
- Andhiarto, Y., Andayani, R., & Ilmiyah, N. H. 2022. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) dengan Metode Ekstraksi Perkolasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri. *Journal of Pharmacy Science and Technology*, 2(1), 102-111.
- Candrasari, A., Romas, M. A., & Astuti, O. R. 2012. Uji Daya Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Candida albicans* ATCC 10231 Secara In Vitro. *Biomedika*, 4(1), 6-19.
- Dewi, S. D., & Hanifa, D. N. C. 2021. Karakterisasi dan Aktivitas Antibakteri Minyak Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(02), 371-379.
- Firmansyah, T., & Oriana, E. 2022. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit Putih *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe. *Acta Holistica Pharmaciana*, 4(1), 20-24.
- Fransiska, A. N., Masyrofah, D., Marlian, H., Sakina, I. V., & Tyasna, P. S. 2021. Identifikasi Senyawa Terpenoid dan Steroid Pada Beberapa Tanaman Menggunakan Pelarut N-Heksan. *Jurnal Health Sains*, 2(6), 733-741.
- Handoyo, D. L. Y., & Pranoto, M. E. 2020. Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(2), 45-54.
- Harahap, S. 2023. Alkaloid and Flavonoid Phytochemical Screening On Balakka Leaves (*Phyllanthus emblica* L.). *Formosa Journal of Science and Technology*, 2(8), 2069-2082.
- Herdiana, I., & Aji, N. 2020. Fraksinasi Ekstrak Daun Sirih dan Ekstrak Gambir Serta Uji Antibakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 19(03), 100-106.
- Herdiana, I., Haerussana, A. N. E. M., Syahla, N., Melawati, N., & Diniyati, S. N. 2023. Potensi Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau, Sirih

- Merah dan Sirih Hitam Terhadap Bakteri *Propionibacterium acne*. *Jurnal Bahana Kesehatan Masyarakat*, 7(2), 52-57.
- Hilda, L., Hasibuan, R. R., Putri, D. M., Simanjutak, R. A. S., Hajjah, A., Hasibuan, S. H., & Nasution, M. 2023. *Bunga Rampai Kimia Herbal Dan Manfaat*. Bandung: Mega Press Nusantara.
- Januarti, I. B., Wijayanti, R., Wahyuningsih, S., & Nisa, Z. (2019). Potensi Ekstrak Terpurifikasi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Antioksidan dan Antibakteri. *Journal Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(2), 60-68.
- Kamal, S. E., & Tiara, D. L. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Pepino (*Solanum muricatum* Ait) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasi Sandi Karsa*, 5(1), 15–18.
- Karlina, V. R., & Nasution, H. M. 2022. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* DC) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal of Health and Medical Science*, 1(2), 131-139.
- Kopon, A. M., Baunsele, A. B., & Boelan, E. G. 2020. Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Asal Pulau Timor. *Akta Kimia Indonesia*, 5(1), 43-52.
- Luhurningtyas, F. P., Susilo, J., Yuswantina, R., Widhiastuti, E., & Ardiyansah, F. W. 2021. Aktivitas Imunomodulator dan Kandungan Fenol Ekstrak Terpurifikasi Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc. Var. Rubrum). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 4(1), 51-59.
- Mahfud, N., Islawati, I., & Ridwan, A. 2022. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan Konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* Penyebab Karies Gigi. *Nuhela Journal of Injury*, 1(2), 1-8.
- Marfuah, I., Dewi, E. N., & Rianingsih, L. 2018. Kajian Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 7(1), 7-14.
- Mubarak, F., Sartini, S., & Purnawanti, D. 2018. Effect of Ethanol Concentration on Antibacterial Activity of Bligo Fruit Extract (*Benincasa hispida* Thunb) to *Salmonella typhi*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 5(3), 76-81.
- Nasyanka, A. L. 2020. *Pengantar Fitokimia*. Jawa Timur: Qiara Media.
- Nugraheni, Z. V., Rachman, T. M., & Fadlan, A. 2022. Ekstraksi

- Senyawa Fenolat Dalam Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*). *Akta Kimia Indonesia*, 7(1), 69-76.
- Oktapiya, T. R., & Pratama, N. P. 2022. Analisis Fitokimia dan Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Sasambo Journal of Pharmacy*, 3(2), 105-110.
- Oktavia, F. D., & Sutoyo, S. 2021. Skrining Fitokimia Kandungan Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan *Selaginella doederleinii*. *Jurnal Kimia Riset*, 6(2), 141.
- Oktaviana, N. A., Marah, N. H., & Putra, R. P. 2023. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Terpurifikasi Daun Jeruk Lemon (*Citrus limon* L.) Osbeck dengan Metode DPPH. *Mantra Bhakti*, 1(1), 25-32.
- Rahmida, Y. P., Darsono, P. V., & Noval, N. 2023. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Pinang (*Areca catechu* L.) Terhadap *Streptococcus mutans* Penyebab Karies Gigi. *Sains Medisina*, 1(4), 221-226.
- Safitri, A., & Roosdiana, A. 2021. Biokimia Bahan Alam: Analisis dan Fungsi. *Malang: Media Nusa Creative*.
- Sari, R., Apridamayanti, P., & Pratiwi, L. 2022. Efektivitas SNEDDS Kombinasi Fraksi Etil Asetat Daun Cengkodok (*Melastoma malabathricum*) Antibiotik Terhadap Bakteri Hasil Isolat Dari Pasien Ulkus Diabetik. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 7(2), 105-114.
- Sayakti, P. I., Anisa, N., & Ramadhan, H. 2022. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Menggunakan Metode CUPRAC. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 14(1), 97-106.
- Wahyudi, A. T., & Minarsih, T. 2023. Pengaruh Ekstraksi dan Konsentrasi Etanol Terhadap Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Var. *Amarum*). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 6(01), 30-38.
- Wahyuni, I. T., & Setiarso, P. 2022. Karakterisasi Elektrokimia Ekstrak Klorofil Dari Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Pada pH Basa Sebagai *Sensitizer* Pada *Dye Sensitized Solar Cell* (DSSC). *Journal of Chemistry*, 10(2), 41-47.
- Warnis, M., Aprilina, L. A., & Maryanti, L. 2020. Pengaruh Suhu Pengeringan Simplisia Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.). *Seminar Nasional Kahuripan*, 3(1), 264-268.
- Yulia, Y., Idris, M., & Rahmadina, R. 2022. Skrining Fitokimia dan Penentuan Kadar Flavonoid Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Desa Dolok Sinumbah dan Raja Maligas Kecamatan Hutabayu Raja. *Jurnal Ilmu Biologi dan Terapan*, 6(1), 49-56.
- Yunita, E., & Khodijah, Z. 2020.

Pengaruh Konsentrasi Pelarut Etanol Saat Maserasi Terhadap Kadar Kuersetin Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) Secara Spektrofotometri UV-Vis, *Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(2), 273-280.
Zahrannisa, D. L., & I. K., D. 2022.

Evaluasi Mutu Fisik Sediaan Pasta Gigi Kombinasi Ekstrak Kayu Siwak (*Salvadora persica*) dan Daun Mint (*Coleus amboinicus* L.), *Jurnal Kefarmasian dan Gizi*, 2(1), 31-41.