



dapat diakses melalui: <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmuo/index>



Analisis Senyawa Tannin Dan Aktifitas Antibakteri Fraksi Buah Sirih (*Piper betle* L) Terhadap *Streptococcus mutans*

Venila Makatamba^{a*}, Fatimawalia^a, Gerald Rundengan^a

^aProgram Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Sam Ratulangi, Manado Indonesia

KATA KUNCI

Buah Sirih
Senyawa Tannin
Antibakteri
Streptococcus Mutans

ABSTRAK

Kerusakan gigi salah satunya adalah karies gigi yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans*. Buah sirih (*Piper betle* L) dapat digunakan untuk tanaman obat karena memiliki kandungan senyawa tanin sebagai antibakteri. Tujuan penelitian untuk mengetahui kandungan senyawa tanin dan uji aktifitas antibakteri fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Jenis penelitian ini ialah *Deskriptif Analitik*. Pengujian kandungan senyawa tanin secara kualitatif ekstrak buah sirih menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan spektrofotometer Uv-Vis serta pengujian antibakteri pada konsentrasi 3%, 4%, 5% dan 6% untuk masing-masing fraksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga fraksi: n-heksan, kloroform dan etil asetat positif mengandung senyawa tanin. Pengujian antibakteri pada konsentrasi 3%, 4%, 5% dan 6% menunjukkan adanya aktifitas antibakteri dari ketiga fraksi: n-heksan, kloroform dan etil asetat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan daya hambat berturut-turut untuk fraksi n-heksan 12.883 ± 0.510 ; 12.600 ± 1.455 ; 13.916 ± 2.877 ; 13.550 ± 3.347 , untuk fraksi kloroform 16.400 ± 1.646 ; 16.450 ± 1.053 ; 17.183 ± 1.830 ; 17.916 ± 1.338 dan fraksi etil asetat 16.400 ± 1.200 ; 16.000 ± 0.327 ; 16.850 ± 1.253 ; 17.450 ± 1.297 . Sehingga dapat disimpulkan ekstrak buah sirih mengandung senyawa tanin dan ketiga fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat memiliki aktifitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dengan kategori kuat.

KEYWORDS

Betel Fruit
Tannin Compounds Antibacterial
Streptococcus Mutans.

ABSTRACT

Tooth decay one of which is dental caries caused by *Streptococcus mutans* bacteria. Betel fruit (*Piper betle* L) can be used for medicinal plants because it contains tannin compounds as antibacterial. The purpose of this study was to determine the content of tannin compounds and test the antibacterial activity of the n-hexane, chloroform and ethyl acetate fractions against *Streptococcus mutans*. This type of research is *Descriptive Analytic*. Testing the content of tannin compounds qualitatively betel fruit extract using thin layer chromatography (TLC) and Uv-Vis spectrophotometer and antibacterial testing at concentrations of 3%, 4%, 5% and 6% for each fraction. The results showed that all three fractions: n-hexane, chloroform and ethyl acetate positively contained tannin compounds. Antibacterial testing at concentrations of 3%, 4%, 5% and 6% showed antibacterial activity of the three fractions: n-hexane, chloroform and ethyl acetate against *Streptococcus mutans* with inhibitions for the n-hexane fraction 12.883 ± 0.510 ; $12,600 \pm 1,455$; $13,916 \pm 2,877$; $13,550 \pm 3,347$, for the chloroform fraction $16,400 \pm 1,646$; $16,450 \pm 1,053$; $17,183 \pm 1,830$; $17,916 \pm 1,338$ and the ethyl acetate fraction $16,400 \pm 1,200$; $16,000 \pm 0.327$; $16,850 \pm 1,253$; $17,450 \pm 1,297$. So it can be concluded that betel fruit extract contains tannin compounds and the three fractions of n-hexane, chloroform and ethyl acetate have antibacterial activity against *Streptococcus mutans* with a strong category

TERSEDIA ONLINE

01 Agustus 2020

Pendahuluan

Sirih (*Piper betle* L) merupakan salah satu jenis tumbuhan dari famili Piperaceae. Masyarakat Indonesia sendiri telah mengenal daun sirih sebagai bahan yang dapat menguatkan gigi, menyembuhkan

luka-luka kecil di mulut, menghilangkan bau badan, menghentikan perdarahan gusi, dan sebagai obat kumur (Yendriwati, 2008). Berbagai komponen utama dari daun sirih menunjukkan adanya efek antiseptik, bakterisidal, dan antioksidan.

Penelitian mengenai tanaman sirih yang dapat menghambat aktivitas bakteri juga pernah dilakukan Novita (2016) mengemukakan Fraksi daun sirih (*Piper betle* L) yang memiliki aktivitas tertinggi terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* adalah fraksi n-heksan.

Karies gigi atau gigi berlubang merupakan penyakit gigi terlokalisir yang merusak jaringan keras gigi yang terjadi karena adanya interaksi dari beberapa faktor, yaitu host (gigi), bakteri, substrat (diet), dan waktu. Karies disebabkan karena terabaikannya kebersihan rongga mulut sehingga terjadi penumpukan plak. Bakteri yang berperan penting dalam pembentukan plak adalah bakteri yang mampu membentuk polisakarida ekstraseluler, yaitu bakteri dari genus *Streptococcus*.

Penelitian oleh Nurdianti, et al. (2016) menyatakan ekstrak daun sirih memiliki senyawa saponin, tannin, dan polifenol berpotensi sebagai antibakteri dan antiseptik terhadap *Streptococcus mutans* dengan cara menghambat aktivitas bakteri tersebut. Aktivitas yang terjadi karena kandungan polifenol dan tannin yang terdapat pada ekstrak daun sirih.

Tanin adalah salah satu senyawa aktif metabolit sekunder yang mempunyai beberapa khasiat seperti sebagai astringen, anti diare, antibakteri dan antioksidan. Senyawa tannin terdiri dari dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Ummah (2010) melaporkan bahwa senyawa tanin dalam ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Berdasarkan hal-hal diatas penelitian mengenai tanaman sirih hanya berfokus pada daun sirih, disisi lain penggunaan buah sirih di beberapa daerah di Sulawesi Utara sudah banyak di gunakan oleh masyarakat. Untuk itu mendorong penulis untuk melakukan penelitian mengenai analisis senyawa tannin dan aktifitas antibakteri fraksi buah sirih (*Piper betle* L) terhadap *Streptococcus mutans*.

Material dan Metode

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2019 – Februari 2020 di Laboratorium Farmasi advance (lanjut) Program Studi Farmasi, Universitas Sam Ratulangi.

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah lampu UV 254 dan 366 nm, autoklaf, Vortex Mixer (Hwashin), Oven (Ecocell), seperangkat alat kromatografi lapis tipis dan kromatografi preparatif, inkubator, Spektrofotometer UV-Vis, (Shimadzu 00780), timbangan analitik (KERN AC 22 – 4M) dan alat-alat gelas (pirex).

Bahan-bahan yang dipakai dalam penelitian ini adalah Simplisia Kering buah sirih (*Piper Betle* L), etanol 96% (teknis), n-heksana (teknis), kloroform

(teknis dan p.a), etil asetat (teknis dan p.a), Feri klorida (FeCl_3), serbuk NA (nutrient agar), akuades, n-butanol (p.a), methanol (p.a), asam asetat (p.a), bakteri *Streptococcus mutans*, HCl pekat, asam askorbat, serbuk gelatin, formaldehid, NaCl, antibiotik amoxicillin.

Pengambilan Sampel

Sampel buah sirih (*Piper betle* L) diambil dari Pulau Tagulandang dengan titik koordinat lokasi sampel $2^\circ 19'59''\text{N}$ $125^\circ 23'23''\text{E}$. Selanjutnya dibersihkan kemudian dikering anginkan. Buah yang telah kering dihaluskan dengan cara digerus, kemudian diayak dengan menggunakan ayakan 60 mesh sehingga diperoleh simplisia buah sirih.

Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi.

Ekstraksi

Sebanyak 550 g simplisia kering dimasukkan ke dalam bejana maserasi dan ditambahkan pelarut etanol 96% 2.750 mL selama 5x24 jam dengan beberapa kali pengocokan. Ekstrak hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring 16x16 cm, sehingga diperoleh filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental.

Fraksinasi

40 gram ekstrak yang dihasilkan dilarutkan dalam etanol : air (100 : 200) dengan penambahan 3 mL asam askorbat 10 mM kemudian etanolnya diuapkan sehingga hanya tersisa ekstrak air. Ekstrak air buah sirih. selanjutnya dimasukan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut n-heksan 200 mL kemudian dikocok hingga homogen. Sampel dibiarkan selama 10-15 menit hingga terdapat dua lapisan. Masing-masing kedua lapisan air dan n-heksan ditampung dalam wadah yang berbeda. Perlakuan yang sama dilakukan pada pelarut kloroform dan etil asetat. Masing-masing fraksi selanjutnya dievaporasi sampai didapat fraksi n-heksan, kloroform, etil asetat dan air.

Uji Fitokimia Senyawa Tanin Pada Ekstrak Buah Sirih

Masing-masing fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etil asetat dimasukan ke dalam tabung reaksi dan direaksikan dengan larutan Feri klorida 1 %, jika fraksi mengandung tanin akan terbentuk warna hijau kehitaman atau biru tua, sesuai dengan yang telah dilakukan Sa'adah (2010). Selanjutnya identifikasi menggunakan larutan gelatin, dilakukan dengan menambahkan larutan gelatin pada masing-masing fraksi, jika terbentuk endapan putih maka positif mengandung tanin.

Selanjutnya dilakukan uji fitokimia untuk membedakan antara tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis dengan menambahkan formaldehid 3 % + HCl 1 N (2:1) untuk menentukan adanya tanin terkondensasi, jika terbentuk endapan warna merah muda maka positif mengandung tanin terkondensasi. Filtrat hasil uji tanin terkondensasi

diuji dengan Feni klorida 1 % untuk menentukan tanin terhidrolisis. Jika menunjukkan warna biru tinta atau hitam maka fraksi positif mengandung tanin terhidrolisis. Sesuai yang telah dilakukan oleh Sa'adah (2010). Fraksi yang menunjukkan positif tanin dilakukan uji aktivitas antibakteri *S. mutans*.

Identifikasi Senyawa Tanin dengan KLT

Pencarian eluen dengan KLT dilakukan menggunakan fase gerak n- butanol : asam asetat : air (BAA) (4:1:5) , Etil asetat : kloroform : asam asetat 10 % (7:2:1) , Metanol : kloroform (4:1) , dan n-heksan : etil asetat (6:4).

Identifikasi dengan KLT menggunakan plat silika gel GF₂₅₄. Plat KLT diaktivasi terlebih dahulu didalam oven pada suhu 100-110 °C selama ±60 menit. Setiap campuran fase gerak dimasukan dalam *chamber* lalu ditutup rapat dan dilakukan proses penjuanan selama 30 menit. Fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat kemudian ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat menggunakan pipa kapiler. Plat KLT yang sudah ditotolkan dimasukan ke dalam *chamber* yang berisi fase gerak yang telah jenuh, selanjutnya *chamber* ditutup rapat hingga fase geraknya mencapai jarak 1 cm dari tepi atas plat. Kemudian plat diangkat dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Noda yang terbentuk diperiksa dengan lampu UV 254 nm dan 366 nm, dan masing-masing noda diukur harga R_fnya. Pengembangan yang menunjukkan noda terbanyak dan terpisah dengan baik itu yang akan digunakan selanjutnya.

Pemisahan dengan eluen n-heksan : etil asetat (6:4) yang memberikan pemisahan terbaik pada KLT. Noda yang terbentuk diperiksa dengan lampu UV 366 nm dan diukur harga R_fnya. Noda pada KLT selanjutnya dikeruk dan diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 200-800 nm.

Pengujian Antibakteri *Streptococcus mutans*

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat dilakukan pada berbagai konsentrasi 3%, 4%, 5% dan 6%. Pada pengujian aktivitas antibakteri digunakan metode sumuran. Sebanyak 50 µl fraksi uji, kontrol negatif (CMC), kontrol positif (amoxicillin) dimasukkan kedalam sumur kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk bakteri dan diamati diameter hambat. Zona penghambatan antibakteri diukur berdasarkan jari-jari (mm) penghambatan berupa area bening di sekeliling sumur uji.

Analisis Data

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan antar konsentrasi, maka dilakukan analisis statistika menggunakan uji ragam satu arah (One Way ANOVA) menggunakan aplikasi IBM SPSS statistic 25.

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi

Proses ekstraksi dari simplisia buah sirih dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Tujuan digunakan metode maserasi, yaitu untuk

menyari zat-zat aktif yang terkandung dalam simplisia buah sirih. Pelarut yang digunakan dalam penyarian zat aktif adalah pelarut etanol 96% yang bersifat polar. Berdasarkan hasil dari 2,5 kg sampel basah didapat 550 gram simplisia buah sirih dan hasil maserasi setelah dievaporasi sebanyak 79,58 gram ekstrak kental dengan nilai rendemen 14,46%. Faktor yang mempengaruhi yaitu dari segi waktu untuk memperoleh zat aktif yang lebih banyak dibutuhkan waktu dan proses yang lama karena ekstraksi ini tidak menggunakan bantuan panas. Semakin besar rendemen yang dihasilkan, maka semakin efisien perlakuan yang diterapkan. Berdasarkan hasil rendemen dapat diasumsikan bahwa komponen bioaktif yang terkandung dalam buah sirih lebih banyak.

Fraksinasi

Ekstrak kental buah sirih selanjutnya difraksinasi dengan metode cair-cair. Metode ini berfungsi untuk melarutkan senyawa-senyawa yang masih terikat pada sampel buah sirih dengan kepolaran yang berbeda. Penambahan asam askorbat bertujuan untuk mencegah oksidasi tanin selama proses ekstraksi, sehingga jika terjadi oksidasi diharapkan bukan tanin tapi asam askorbat (Ummah, 2010). Terbentuknya 2 lapisan dimana massa jenis yang paling besar akan berada pada bagian bawah. Ekstraksi ini dilakukan sebanyak 3 kali untuk setiap pelarut, filtrat yang diperoleh dari setiap pelarut kemudian di evaporasi sehingga di dapatkan fraksi n-heksan sebanyak 2,82 gram, fraksi kloroform 4,97 gram, fraksi etil asetat 5,52 gram dan fraksi air 5,48 gram.

Uji Fitokimia Senyawa Tanin

Uji fitokimia ini merupakan salah satu uji kualitatif yang berguna untuk mengidentifikasi kandungan senyawa-senyawa aktif yang terdapat dalam sampel. Hasil uji fitokimia senyawa tanin dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Identifikasi senyawa tanin dengan skrining fitokimia

Sampel	Fraksi	Tanin		Keterangan	
		FeCl ₃ 1%	Larutan gelatin	FeCl ₃ 1%	Larutan gelatin
Buah sirih (<i>piper betle</i> L)	N-heksan	+	+	Hijau kehitaman	Endapan putih
	Kloroform	+	+	Hijau kehitaman	Endapan putih
	Etil asetat	+	+	Hijau kehitaman	Endapan putih

Ket : + mengandung senyawa tanin

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat positif mengandung tanin terhadap uji FeCl₃ 1% dengan menghasilkan perubahan warna hijau kehitaman yang menunjukan adanya senyawa tanin yang membentuk kompleks dengan FeCl₃ (Sangi, *et al.* 2008). Hasil uji fitokimia ketiga fraksi pada penambahan larutan gelatin menunjukan adanya endapan putih. Tanin merupakan himpunan polihidroksi fenol yang dapat dibedakan dengan

senyawa fenol lainnya karena sifat tanin dapat mengendapkan protein. Berdasarkan tabel 1 ke tiga fraksi menunjukkan adanya endapan putih, hal ini berarti dalam fraksi yang diuji mengandung tanin.



Gambar 1. Pengujian jenis golongan tanin

Hasil uji fitokimia untuk membedakan antara tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Pada menambahkan formaldehid 3 % + HCl 1 N (2:1) untuk menentukan adanya tanin terkondensasi atau katekol, tidak terbentuk endapan warna merah muda pada ketiga fraksi, namun terbentuknya warna coklat kehitaman pada fraksi kloroform dan fraksi etil asetat serta coklat kekuningan pada fraksi n-heksan menunjukkan adanya katekin. Tanin terkondensasi biasanya tidak dapat dihidrolisis, melainkan terkondensasi yang kebanyakan terdiri dari polimer flavonoid dan menghasilkan produk yang tidak larut dalam air atau polar.

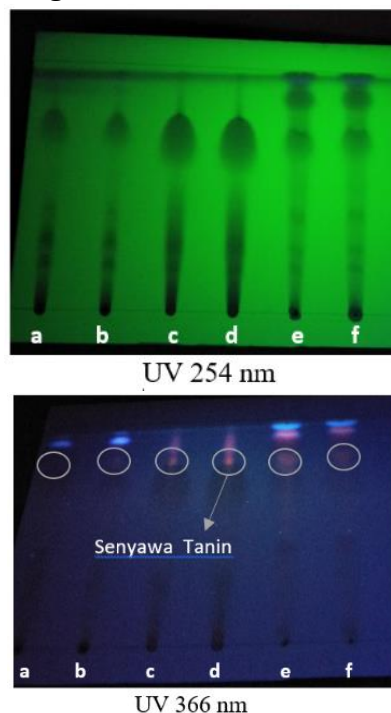
Menurut Harbone (1996) dan Robinson (1995), Penambahan HCL pada sampel tumbuhan digunakan untuk mendeteksi katekin dan leukoantosianidin, terbentuknya warna coklat kuning menunjukkan adanya katekin sedangkan timbulnya warna merah menunjukkan adanya leukoantosianidin.

Uji Kualitatif Senyawa Tanin dengan KLT

Uji ini diawali dengan pemilihan eluen yang tepat. Eluen yang baik adalah eluen yang dapat memisahkan senyawa dalam bentuk noda dengan jumlah yang banyak. Pemisahan tanin dengan beberapa variasi eluen terbaik dari berbagai penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya, diantaranya n- butanol : asam asetat : air (BAA) (4:1:5) , Etil asetat : kloroform : asam asetat 10 % (7:2:1) , Metanol : kloroform (4:1) , dan n-heksan : etil asetat (6:4). Penjenuhan berfungsi untuk mempermudah proses elusi dengan adanya tekanan dari uap pelarut. Proses elusi di hentikan bila eluen telah mencapai tanda batas atas. Noda yang dihasilkan dideteksi dibawah lampu UV 254 nm dan 366 nm.

Eluen n-heksan : etil asetat (6:4) merupakan eluen terbaik yang mampu memberikan pemisahan terbaik dibandingkan dengan variasi lainnya. Eluen ini mampu memisahkan banyak noda dan terdapat noda yang menunjukkan adanya senyawa tanin. Pemisahan noda yang menunjukkan adanya senyawa tanin dilakukan kembali pada KLT 10 x 20 cm dengan eluen n-heksan : etil asetat (6:4). Ketiga fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat ditotolkan pada plat KLT dengan jarak pada setiap fraksi 1 cm.

Noda yang terbentuk kemudian disinari dengan lampu UV 254 dan 366. Hasil KLT ketiga fraksi dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Hasil KLT Fraksi etil asetat (a,b); kloroform (c,d) dan n-heksan (e,f)

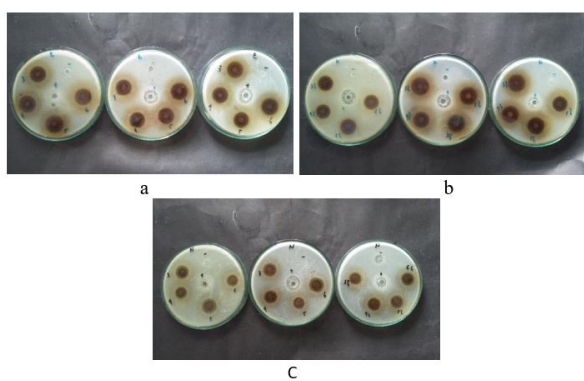
Dari hasil yang didapat noda yang berwarna ungu atau lembayung berada pada nilai Rf 0,81 untuk fraksi etil asetat ; Rf 0,87 untuk fraksi kloroform dan Rf 0,87 untuk fraksi n-heksan yang disinari dengan UV 366 nm merupakan senyawa tanin. Penampakan noda pada lampu UV 366 nm karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus ausokrom yang terikat pada kromofor yang ada pada noda yang menunjukkan adanya tanin yang memiliki gugus kromofor dan ausokrom. Noda yang menunjukkan adanya senyawa tanin kemudian di kerok dan di identifikasi lebih lanjut menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-800 nm.

Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan untuk memperkuat adanya senyawa tanin yang terkandung didalam fraksi buah sirih. Untuk isolat fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat masing-masing berada pada panjang gelombang 280 nm; 285,50 nm dan 282 nm. Senyawa polifenol dapat dideteksi pada spektrum uv-vis yang terdapat antara panjang gelombang 200-400 nm (Harbone, 1987). Untuk asam tanat sebagai pembanding berada pada panjang gelombang 340 nm. Perbedaan yang di dapat antara isolat dari ketiga fraksi dengan pembanding asam tanat dikarenakan senyawa tanin yang terkandung dalam tanaman buah sirih lebih kompleks dan sebelumnya telah dilaporkan untuk spektrum UV dengan panjang gelombang maksimum 281 nm adalah khas dari proanthocyanidins (tanin terkondensasi) (Karamac, et.al., 2007).

Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Streptococcus mutans*

Hasil uji aktivitas antibakteri *Streptococcus mutans* fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi etil asetat dipaparkan pada Tabel 2 dan Gambar 3 Tabel 2. Rerata Diameter Hambat (mm) Masing-Masing Fraksi Terhadap *Streptococcus mutans*

Fraksi	N	Rata rata diameter zona hambat				Kontrol positif (amoxicillin)	Kontrol negatif	sig.
		3%	4%	5%	6%			
n-heksan	3	12.88 3±0.5 10	12.60 0±1.4 55	13.91 6±2.8 77	13.55 0±3.3 47	9.983 ±4.93 0	0.000 ±0.00 0	
Kloroform	3	16.40 0±1.6 46	16.45 0±1.0 53	17.18 3±1.8 30	17.91 6±1.3 38	13.55 0±0.5 22	0.000 ±0.00 0	<0.05
Etil asetat	3	16.40 0±1.2 00	16.00 0±0.3 27	16.85 0±1.2 53	17.45 0±1.2 97	14.70 0±1.5 61	0.000 ±0.00 0	



Gambar 3. Zona hambat yang terbentuk pada (a) Fraksi etil asetat; (b) Fraksi kloroform; (c) Fraksi n-heksana

Tabel 2 menunjukkan bahwa fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat konsentrasi 3%, 4%, 5% dan 6% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* dengan diameter zona hambat pada ketiga fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat yaitu >10 mm dan digolongkan dalam kategori kuat. Sedangkan untuk kontrol positif memiliki diameter zona hambat >10 mm dan dikategorikan kuat.

Untuk hasil dari aktivitas antibakteri, dapat dilihat bahwa ketiga fraksi memiliki aktivitas lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif amoxicillin 500 mg. Hal ini dikarenakan amoxicillin yang sudah resisten terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Menurut Clinical & Laboratory Standard Institute (2014), standar pengujian antibiotik terhadap *S. mutans* untuk amoxicillin sensitive jika zona hambat ≥ 16 mm.

Hasil analisis secara statistik berdasarkan uji One Way ANOVA untuk mengetahui secara pasti apakah terdapat perbedaan aktivitas antibakteri yang nyata diantara konsentrasi 3%, 4%, 5%, 6% fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi etil asetat. Berdasarkan analisis statistik ANOVA terdapat perbedaan signifikan jika ditunjukkan dengan $P < 0.05$ dan tidak terdapat perbedaan signifikan dengan $P > 0.05$. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pada fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat terdapat perbedaan yang signifikan pada

setiap konsentrasi dengan taraf sig. $p < 0.05$. Pada hasil juga menunjukkan, semakin tinggi konsentrasi, semakin semakin besar zona hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil ini juga didukung oleh Roslizawaty *et.al* (2013), Meningkatnya konsentrasi zat menyebabkan meningkatnya kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuan dalam membunuh suatu bakteri juga semakin besar.

Kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak buah sirih yg bersifat antibakteri adalah Fenol, Flavonoid, Tannin, Kavikol dan Estragol. Sehingga dapat disimpulkan bahwa aktifitas antibakteri *Streptococcus mutans* dari fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat buah sirih dikarenakan adanya senyawa tersebut pada setiap fraksi dan untuk fraksi kloroform yang memiliki zona hambat paling besar dikarenakan kandungan senyawa aktif yang bersifat antibakteri lebih banyak dari pada fraksi etil asetat dan n-heksanintens

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat buah sirih (*Piper betle* L) positif mengandung senyawa tanin. Pada uji antibakteri fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat buah sirih (*Piper betle* L) dengan masing-masing konsentrasi 3%, 4%, 5% dan 6% memiliki aktifitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dengan kategori kuat.

Daftar Pustaka

- Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2014. Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing; 20th Informational Supplement. CLSI Document M100-S24, Wayne. 34(1)
- Harbone, J.B. 1987. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro. ITB, Bandung.
- Karmać, M., A.Kosińska., Rybarczyk, A., and Amarowicz R. 2007. Extraction and chromatographic separation of tannin fractions from tannin-rich plant material. *Polish Journal of Food & Nutrition sciences*. 57(4): 471– 474.
- Novita, W. 2016. Uji Aktifitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih (*Piper Betle* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans* Secara In Vitro. *Jambi medical journal*. 4 (2): 1-2
- Nurdianti, L., W.S Annissya., Y.M Pamela., E . Novianti., M. Audia., dan E.Kurniasari. 2016. Formulasi Sediaan Pasta Gigi Herbal Kombinasi Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle*) dan Kulit Buah Jeruk Lemon (*Citrus Limon* Burm F.) sebagai Pemutih dan Antiseptik pada Gigi. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 16(1): 177-187.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Terjemahan Kosasih Padmawinata. ITB, Bandung.
- Roslizawaty., N.Y. Ramadani., Fakhurrazi dan Herrialfian. 2013. Aktivitas Antibakterial Ekstrak Etanol dan Rebusan Sarang Semut (*Myrmecodia*

- sp.) terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Medika Veterinaria*. **7(2)**: 91-94
- Sa'adah, L. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) [Skripsi]. Jurusan Kimia, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Sangji, M., M.R.J. Runtuwene., H.E.I Simbala., dan V.M.A Makang. 2008. Analisis fitokimia tumbuhan obat di kabupaten minahasa utara. *Chemistry Progress*. **1(1)**: 47-53
- Ummah, M.K. 2010. Ekstraksi Dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) (kajian variasi pelarut) [disertasi]. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Yendriwati H. 2008. Efek Antibakteri Sediaan Daun Sirih (*Piper Betle* L), Obat Kumur Minyak Essensial dan Povidone Iodine 1% Terhadap *Streptococcus mutans*. *Dentika Dental Jurnal*. **13(2)**:8-1