

Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap *Klebsiella pneumonia* Penyebab Ulkus Diabetik

Septi Wahyuni ^{a, 1}, Titi Puji Rahayu ^{b, 2}, Naelaz Zukhruf Wahidatul Kiromah ^{c, 3*}

Program Studi Farmasi Program Sarjana, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Gombong, Kebumen

Jl. Yos Sudarso 461 Gombong, Kebumen, Jawa Tengah.

¹septiwidia470@gmail.com; ²titipudji@unimugo.ac.id; ³naela.zukhruf18@gmail.com*

*Korespondensi penulis

INFO ARTIKEL

Sejarah artikel :

Diterima :

20-09-2023

Revisi :

24-06-2024

Disetujui :

24-06-2024

Kata kunci:

Daun sirih hijau

Ulkus diabetik

Ciprofloxacin

Paper disc

ABSTRAK

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan tanaman obat yang memiliki khasiat sebagai pengobatan salah satunya antibakteri dan dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan ulkus diabetik. Ulkus diabetik merupakan salah satu komplikasi penyakit diabetes melitus dengan adanya luka terbuka pada kulit. Senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri pada daun yaitu senyawa fenol. Bakteri *Klebsiella pneumonia* penyebab ulkus diabetik. Tujuan Penelitian, Untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan mengetahui konsentrasi ekstrak daun sirih hijau dengan menggunakan pelarut etanol 96% terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* penyebab ulkus diabetik. Penelitian ini menggunakan metode difusi (*paper disc*) untuk uji antibakteri. Media yang digunakan NA. Kontrol positif yang digunakan ciprofloxacin, seri konsentrasi ekstrak yang digunakan 3%, 5% dan 7,5%. Diameter zona hambat diamati kemudian dianalisis menggunakan uji statistik *One Way Anova*. Hasil Penelitian, Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun sirih hijau terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* penyebab ulkus diabetik pada konsentrasi 3%, 5% dan 7,5% yaitu 4,96 mm, 8,21 mm dan 9,37 mm. Kesimpulan, Ekstrak etanol daun sirih hijau mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* penyebab ulkus diabetik dan zona hambat yang terbaik yaitu 9,37 mm

Key word:

Green betel leaf

Diabetic ulcer

Ciprofloxacin

Paper discs

ABSTRACT

Green betel leaf (*Piper betle*.L) is a medicinal plant that has medicinal properties, one of which is antibacterial and can be used as an alternative treatment for diabetic ulcers. Diabetic ulcers are one of the complications of diabetes mellitus with open wounds on the skin. Compounds that have antibacterial activity in leaves are phenol compounds. *Klebsiella pneumonia* bacteria cause diabetic ulcers. Objective, to determine the antibacterial activity and determine the concentration of green betel leaf extract using 96% ethanol solvent against *Klebsiella pneumonia* bacteria that cause diabetic ulcers. This study used the diffusion method (*paper disc*) for antibacterial testing. The media used was NA. Positive control used ciprofloxacin, extract concentration series used 3%, 5% and 7.5%. The diameter of the inhibition zone was observed and then analyzed using the *One Way Anova* statistical test. Research results of the study showed the antibacterial activity of ethanol extract of 96% green betel leaf against *Klebsiella pneumonia* bacteria that cause diabetic ulcers at concentrations of 3%, 5% and 7.5%, namely 4.96 mm, 8.21 mm and 9.37 mm. Conclusion, green betel leaf ethanol extract has an inhibitory power against *Klebsiella pneumonia* bacteria that causes diabetic ulcers and the best inhibition zone is 9.37 mm



This is an open access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.

Pendahuluan

Diabetes melitus merupakan suatu

gangguan terhadap metabolik dengan meningkatnya kadar gula darah melebihi normal

yang diakibatkan oleh gangguan produksi seperti insulin dan sensitifitas insulin, maupun keduanya (Kesehatan *et al.*, 2020). Diabetes melitus (DM) juga diakibatkan karena gangguan metabolisme dengan ditandai adanya hiperglikemia dan kelainan metabolisme pada karbohidrat, lemak, dan protein. Sehingga dapat menimbulkan beberapa komplikasi diantaranya seperti komplikasi mikrovaskular, makrovaskular, dan neuropatik kronis. Pada komplikasi neuropatik memiliki peranan yang paling besar dalam menimbulkan terjadinya ulkus diabetik (Berryman, 200).

Ulkus diabetik merupakan salah satu komplikasi penyakit diabetes melitus dengan adanya luka terbuka pada kulit lapisan epidermis, dermis, dan hipodermis sehingga jaringan kulit mengalami kematian serta timbulnya bakteri (Sari *et al.*, 2022). Cemar bakteri yang terdapat dalam ulkus diabetik adalah *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella pneumoniae* (Novelni, 2019). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan memperlihatkan bahwa koloni bakteri yang ada di luka kaki diabetik berdasarkan lama menderitanya yaitu *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* (Yusuf & Syam, 2018).

Senyawa antibakteri dibedakan menjadi dua yaitu antibakteri bakteristatik dan antibakteri bakterisidal. Bakteristatik merupakan bakteri yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri dan tidak mematikan sedangkan bakterisidal merupakan bakteri yang dapat membunuh bakteri (Purnamaningsih *et al.*, 2017). Perawatan luka dapat diberikan antibiotik golongan sefalosporin yang efektif untuk membunuh bakteri pada ulkus diabetik (Dendy *et al.*, 2020). Penggunaan obat antibiotik yang terlalu sering digunakan dalam jangka waktu yang lama dapat mengakibatkan terjadinya efek samping (Pratiwi, 2017). Oleh karena itu, saat ini masyarakat banyak menggunakan pengobatan dengan menggunakan bahan herbal karena lebih aman. Sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan salah satu tanaman yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat.

Tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan tumbuhan yang berasal dari daerah tropis. Sirih merupakan tanaman obat yang memiliki khasiat sebagai pengobatan salah satunya sebagai antibakteri (Sadiah *et al.*, 2022). *Klebsiella pneumonia* adalah bakteri gram negatif, bakteri ini dapat memfermentasi karbohidrat untuk menghasilkan asam dan gas, tetapi tidak menghasilkan spora dan tidak memiliki flagel yang mencegahnya bergerak (Tarina & Kusuma, 2017).

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Klebsiella pneumonia* adalah pneumonia atau yang disebut dengan infeksi saluran pernafasan kemudian ada infeksi saluran kemih serta sepsis yaitu suatu komplikasi infeksi yang mengancam jiwa (Dewi *et al.*, 2019). Sepsis merupakan suatu keadaan yang disebabkan oleh infeksi mikroba yang dapat melemahkan respon dari imun tubuh dan mengakibatkan disfungsi organ. Dalam kasus sepsis kaki diabetik suplai darah berkurang untuk melakukan penyembuhan secara alami dan pemberian antibiotik menuju tempat yang terdapat infeksi dibutuhkan penanganan dan apabila infeksi terlalu parah dapat dilakukan amputasi pada kaki (Gunawan *et al.*, 2019). Alasan menggunakan bakteri *Klebsiella pneumoniae* yaitu karena belum ada yang meneliti bakteri tersebut dengan menggunakan ekstrak etanol daun sirih hijau. Pada daun sirih hijau memiliki beberapa senyawa seperti steroid, tanin, flavonoid, saponin, fenol, alkaloid, coumarin dan emodins (Sadiah *et al.*, 2022). Senyawa fenol dan turunannya yang terkandung di dalam ekstrak etanol 96% daun sirih hijau mempunyai aktivitas antibakteri (Alydrus & Khofifah, 2022). Mekanisme kerja senyawa fenol yaitu mendenaturasi protein sel bakteri, sehingga semua aktivitas metabolisme dari sel bakteri terhenti karena semua aktivitas metabolisme sel bakteri dikatalis oleh enzim yang merupakan protein (Adams, 2018).

Senyawa fenol yang terkandung di dalam daun sirih hijau mempunyai sifat polar dengan gugus hidroksil dan karboksil sebagai antibakteri. Oleh sebab itu penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% untuk ekstraksi tanaman daun sirih hijau (Owu *et al.*, 2020). Pelarut etanol 96% memiliki gugus OH yang bersifat polar sehingga mampu untuk menarik metabolit sekunder yang bersifat polar ke semi polar. Berdasarkan latar belakang tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri dengan menggunakan daun sirih hijau terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* (Alydrus & Khofifah, 2022).

Metode

I. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain batang pengaduk, *waterbath*, autoklaf (*American*), bejana maserasi, krus silika, timbangan analitik, kaca preparat, mikroskop, penangas air, oven (*Memmert*), labu spritus, plat KLT GF₂₅₄, *chamber*, pipa kapiler, jarum ose, pinset, mikro pipet, blender

(*Pillips*), alumunium foil, *stopwatch*, cawan petri, inkubator(*Memmert*), media agar, spreader glass, kertas cakram, jangka sorong, alat-alat gelas (*Pyrex*), laminar air flow (*Messgerate*).

Bahan yang digunakan pada praktikum ini antara lain daun sirih hijau (*Piper betle* L.) (berasal dari desa surorejan), etanol 96% (JK CARE), media *Nutrient Agar* (Himedia), bakteri *Klebsiella pneumonia* (Termoscientific), DMSO (CV Sentra Teknosains Indonesia), aquades (WaterOne), antibiotik ciprofloxacine (OGB dexa), NaCl fisiologis 0,9% (PT Widatra Bhakti), FeCl₃ 1%, bubuk Mg, HCl, H₂SO₄, plat silika gel GF₂₅₄ (TLC Silica gel 60 F₂₅₄), n-butanol, asam asetat glasial, akuades, kuarsetin (SIGMA), asam tanat, asam galat, BaCl₂ 1,175%, H₂SO₄ 1%.

2. Jalannya Penelitian

I. Determinasi Tanaman

Tujuan dilakukan determinasi yaitu untuk mengetahui keaslian dari tanaman yang akan digunakan sebagai bahan uji pada penelitian. Determinasi sendiri dilakukan di Laboraturium Sistematika Tumbuhan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.

II. Pembuatan Simplisia Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L)

Daun sirih hijau disortasi basah lalu dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, lalu ditiriskan, selanjutnya dirajang atau di potong-potong kecil-kecil. Kemudian dikeringkan pada suhu 50-60°C dilemari atau tempat pengering selama 3-5 hari selanjutnya sortasi kering. Kemudian simplisia dapat dihaluskan menggunakan blender sehingga berubah menjadi serbuk dan diayak menggunakan ayakan nomor 60 sehingga diperoleh serbuk yang halus (Kursia *et al.*, 2016).

III. Ekstraksi Serbuk Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L)

Sampel yang digunakan serbuk simplisia daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebanyak 500 gram, kemudian direndam pada bejana maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 3 L selama kurang lebih lima hari serta diaduk beberapa kali untuk mendapatkan konsentrasi jenuh. Cairan maserat kemudian disaring untuk memperoleh maserat, kemudian diuapkan dengan *waterbath* dengan suhu 60°C (Lister, 2021). Setelah menjadi

ekstrakkemudian dilakukan penyimpanan pada suhu yang sejuk kisaran 8-15°C dan disimpan dalam wadah kedap udara (Khotimah *et al.*, 2018).

IV. Standarisasi Ekstrak

Setelah dilakukan pembuatan ekstrak etanol selanjutnya dilakukan standarisasi ekstrak yang terdiri dari uji organoleptis, kadar air, kadar abu total, dan kadar abu tidak larut asam.

V. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia terdiri atas uji tanin, flavonoid dan fenol. Tujuan skrining fitokimia yaitu untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam simlisia tersebut.

VI. Uji Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis dilakukan terhadap senyawa yang bersifat antibakteri yaitu flavonoid, tanin dan fenol. Pembuatan fase diam menggunakan plat silika gel GF₂₅₄ dibuat dengan ukuran 2 x 10 cm. Kemudian diberi tanda garis pada tepi atas dan bawah plat dengan jarak 2 cm untuk menunjukkan posisi awal toloan dan tepi atas sebagai tanda batas dari proses elusi. Selanjutnya plat silika gel diaktifkan dengan cara dipanaskan dengan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 10 menit untuk menghilangkan kadar air pada plat KLT (Papatungan *et al.*, 2019).

Pembuatan fase geraknya menggunakan pelarut n-butanol:asam asetat glasial:akuades (6:2:2). Senyawa pembanding yang digunakan kuarsetin (flavonoid), asam tanat (tanin) dan asam galat (fenol) , larutan FeCl₃ digunakan sebagai pereaksi semprot untuk menyemprot hasil kromatogram agar bercak terlihat lebih jelas sekaligus digunakan sebagai penanda adanya senyawa fenol yang ditandai dengan terbentuknya warna hitam pada bercak. Hasil kromatogram diamati pada sinar tampak bercak berwarna kuning, sinar UV 254 bercak berwarna hitam dan UV 365 nm bercak berwarna jingga dan hitam pada tanin (Septiani, S.W., Kiromah, N.Z.W., & Rahayu, 2020).

VII. Sterilisasi Alat

Sterilisasi dengan cara alat dibungkus dengan menggunakan kertas kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 150°C selama 2 jam, untuk jarum ose disterilkan dengan cara dipijarkan pada nyala api lampu spritus. Bahan-bahan seperti media NA dan akuades disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1,5

atm (Arie *et al.*, 2020).

VIII. Pembuatan Media Pertumbuhan dan Media Agar Miring

Pembuatan media dilakukan dengan cara menimbang media *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 38 gram kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 1000 ml kemudian diaduk hingga homogen dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 10-15 menit hingga tercampur. Kemudian disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Kurama *et al.*, 2020). Kemudian sebanyak 10 ml larutan NA dituangkan kedalam tabung reaksi dan diletakkan dengan posisi miring biarkan memadat. Media miring digunakan untuk peremajaan bakteri uji (Kurama *et al.*, 2020).

IX. Perbanyak Kultur Bakteri

Diambil masing-masing sebanyak 1 ose dari biakan murni bakteri *Klebsiella pneumonia* diambil kemudian diinokulasikan dengan cara digores pada media Nutrien Agar (NA) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Kurama *et al.*, 2020).

X. Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri yang telah diremajakan kemudian diambil satu ose kemudian disuspensikan kedalam 2 ml larutan NaCl 0,9% steril, setelah itu dihomogenkan (Kurama *et al.*, 2020). Setelah itu kekeruhan disetarakan dengan satuan baku *MC Farland* $1,5 \times 10^8$ FCU/ml.

XI. Pembuatan Seri Konsentrasi

Pembuatan larutan dengan konsentrasi 3%, 5% dan 7,5% dengan cara ekstrak daun sirih hijau ditimbang sebanyak 0,15 gram, 0,25 gram dan 0,375 gram dengan menambahkan 5 ml DMSO pada masing-masing konsentrasi (Lister, 2021).

XII. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun sirih hijau dilakukan menggunakan metode difusi cakram (*paper disc*). *Paper disc* dengan diameter 6 mm disiapkan sebanyak 25 buah, tiap 5 buah paper disk direndam ke dalam masing-masing konsentrasi 3%, 5%, 7,5% ekstrak daun sirih hijau selama \pm 15 menit. Ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif. Kemudian siapkan 5 cawan petri yang sudah disterilkan terlebih dahulu dan luar cawan petri sudah digambar atau dibagi menjadi 5 bagian. Selanjutnya medium NA

steril kemudian dituang secara aseptis ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 20 ml dan biarkan memadat. Lalu digoreskan suspensi bakteri menggunakan swab steril pada media yang telah padat secara zigzag, masing-masing *paper disc* ditanamkan pada cawan petri yang berisi medium NA dan biakan (*Klebsiella pneumonia*). Kemudian diinkubasi selama 1x 24 jam pada suhu 37°C. Dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali pada masing-masing bakteri. Selanjutnya diukur zona hambatnya menggunakan jangka sorong (Simanjuntak *et al.*, 2020)

XIII. Analisis data

Data yang diperoleh pada pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L*) terhadap penghambatan bakteri *Klebsiella pneumonia* dianalisis secara statistic menggunakan *Uji One Way Anova* dengan menggunakan SPSS, dimana sebelumnya dilakukan uji Shapiro Wilk terlebih dahulu untuk menentukan data yang diperoleh normal atau tidak. Data yang dimasukkan dalam uji statistik adalah hasil dari diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi.

Hasil dan Pembahasan

I. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan di Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta pada tanggal 9 Mei 2023. Hasil dari determinasi tanaman menunjukkan bahwa sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian ini merupakan tanaman sirih hijau (*Piper betle.L*). Surat keterangan dengan Nomor 240/Lab.Bio/B/V/2023.

II. Ekstrasi Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*)

Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) yang digunakan merupakan daun yang segar dan berwarna hijau. Daun sirih hijau (*Piper betle L.*) di maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Alasan menggunakan pelarut ini karena etanol merupakan suatu pelarut yang bersifat polar sehingga mampu untuk menarik senyawa antibakteri seperti fenol, tanin dan flavonoid dimana senyawa tersebut merupakan senyawa polar. Alasan lainnya karena pelarutnya mudah didapatkan, efisiensi serta aman untuk lingkungan (Hakim & Saputri, 2020). Rendemen ekstrak yang dihasilkan sebesar 14,55%. Apabila semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak.

III. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Skrining fitokimia dilakukan dengan cara melakukan uji tabung. Uji tabung yang akan diamati kandungan senyawanya meliputi senyawa tanin, flavonoid dan fenol. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa senyawa tanin menghasilkan nilai positif karena warna yang dihasilkan berwarna hijau kehitaman, pada senyawa flavonoid menghasilkan nilai positif karena warna yang dihasilkan menunjukkan berwarna merah tua dan pada senyawa fenol menghasilkan nilai positif karena warna yang dihasilkan berwarna hitam. Penelitian ini sebanding dengan penelitian (Lister, 2021) dan (Pinatik *et al.*, 2017) yang menunjukkan kandungan senyawa tanin, flavonoid dan fenol.

Tabel I. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Uji	Pereaksi	Hasil	Literatur (Manarisip <i>et al.</i> , 2020)
Tanin	2-3 tetes FeCl ₃	+	Hijau kehitaman
Flavonoid	HCl + Mg	+	Merah tua
Fenol	H ₂ O panas + FeCl ₃	+	Kehitaman

Hasil dari uji tabung tanin dinyatakan positif karena hasil warna yang didapatkan berwarna hijau kehitaman pada (tabel I) setelah larutan ekstrak ditambahkan dengan beberapa tetes larutan FeCl₃. Tanin merupakan suatu senyawa kelompok polifenol yang tersusun dari C₆ (cincin benzene) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH) (Noer *et al.*, 2018). Mekanisme kerja tanin sebagai anti bakteri yaitu dengan cara menyebabkan sel bakteri menjadi lisis. Hal ini dapat terjadi karena tanin mempunyai target pada dinding polipeptida dinding sel bakteri (Niken *et al.*, 2022). Pengujian flavonoid dinyatakan positif flavonoid karena warna yang dihasilkan pada saat uji tabung berwarna merah tua pada (tabel I) setelah ditambahkan HCl dan Mg. Tujuan penambahan dari logam Mg dan HCl yaitu sebagai pereduksi inti benzopiron yang terjadi dalam struktur flavonoid sehingga dapat membentuk gram flavilium berwarna merah tua dan jingga (Reiza *et al.*, 2019). Hasil kandungan pada senyawa fenol pada uji tabung yaitu positif fenol karena warna yang diperoleh berwarna kehitaman dilihat pada (tabel I). Warna berubah setelah ditambahkan dengan sedikit air panas dan beberapa tetes larutan

FeCl₃ pada larutan ekstrak. Fenol merupakan zat kristal yang tak berwarna yang mempunyai bau khas. Rumus kimia dari senyawa fenol yaitu C₆H₅OH dan strukturnya memiliki gugus hidroksil (-OH) yang berikatan dengan cincin fenil. Senyawa fenol mampu untuk merusak membran sel sehingga sehingga dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel mikroba (Pallawagau *et al.*, 2019).

IV. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) kemudian dilakukan uji standarisasi ekstrak. Uji organoleptik ekstrak seperti warna, bau, dan bentuk. Hasil uji organoleptik ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) yaitu berwarna hijau kehitaman, baunya khas ekstrak sirih dan berbentuk ekstrak kental semi cair. Kemudian dilakukan uji kadar air dimana uji ini bertujuan untuk mengetahui rentang tentang banyaknya kandungan air yang terdapat dalam ekstrak daun sirih hijau. Persyaratan yang baik untuk kandungan kadar air yang baik adalah <10%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar air yang diperoleh pada penelitian yaitu 0,19% memenuhi setandar mutu (Najib *et al.*, 2018). Selanjutnya dilakukan uji kadar abu total dan kadar abu tidak larut dalam asam dimana ekstrak dimasukan kedalam krus atau wadah kemudian dilakukan pemijaran sehingga menghasilkan abu. Tujuan dari kadar abu adalah untuk melihat kadar abu yang didapatkan seperti pengotor yang berasal dari tanah atau pasir. Hasil masing-masing yang didapatkan dari pengujian kadar abu total dan kadar abu tidak larut dalam asam adalah 12,5 dan 0,5%.

V. Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan senyawa kimia dengan menggunakan dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan pada penelitian ini yaitu plat silika gel GF₂₅₄ dengan ukuran plat yang digunakan 2 x 10 cm. Silika gel ini mampu berfluoresensi dengan baik pada sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm . Plat silika gel memiliki sifat yang polar. Sebelum digunakan plat silika gel diaktifkan terlebih dahulu dengan cara di oven suhu yang digunakan 105°C selama 10 menit. Tujuan dari dilakukan dioven yaitu untuk menghilangkan kandungan air yang terdapat pada plat silika gel sehingga pada saat proses elusidasi dari fase diam berjalan dengan baik (Oktaviantari *et al.*, 2019).

Pemilihan fase gerak yang digunakan untuk mengelusi terdiri dari n-butanol, asam asetat glasial dan akuades dengan perbandingan (6:2:2). Alasan menggunakan fase gerak tersebut adalah karena bersifat polar sehingga mampu digunakan untuk mengelusi senyawatanin, flavonoid dan fenol yang sama-sama memiliki kepolaran yang sama. Senyawa pembanding dengan menggunakan asam tanat (tanin), kuarsetin (flavonoid) dan asam galat (fenol).

Tabel 2. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau

Sampel	Rf	Pengamatan		
		Sinar tampak	Sinar UV 254 nm	Sinar UV 365 nm
Kuarsetin	0.96	Kuning	Hitam	Jingga
Ekstrak	0.93	Kuning	Hitam	Jingga
Asam tanat	0.93	Kuning	Hitam	Hitam
Ekstrak	0.91	Kuning	Hitam	Hitam
Asam galat	0.81	Kuning	Hitam	Hitam
Ekstrak	0.67	Kuning	Hitam	Hitam

Hasil plat KLT dilakukan pengamatan di sinar tampak, UV 254 nm dan 365 nm. Berdasarkan hasil uji KLT pada penelitian ini dengan menggunakan ekstrak etanol daun sirih hijau menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung positif senyawa flavonoid hal ini dapat dilihat pada (Tabel 2) dimana menghasilkan berwarna kuning, hitam, dan jingga untuk nilai Rf yang dihasilkan yaitu 0,93, mengandung positif senyawa tanin hal ini dapat dilihat pada (Tabel 2). Sedangkan mengandung senyawa fenol hal ini dapat dilihat pada (Tabel 2) dimana sebelum disemprot larutan FeCl₃ berwarna kuning, hitam dan hitam sedangkan setelah disemprot larutan FeCl₃ berwarna kuning, hitam dan hitam untuk nilai Rf yang dihasilkan yaitu 0,67. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan untuk nilai Rf kuarsetin dan asam tanat sebanding dengan penelitian dari (Septiani, S.W., Kiromah, N.Z.W., & Rahayu, 2020) karena standar nilai Rf kuarsetin dan asam tanat yaitu 0,91-0,98 dan 0,91-0,95. Sedangkan untuk nilai Rf asam galat kurang sebanding dari penelitian karena standar dari nilai Rf yaitu 0,76 (Nurul Octaviana & Febriyanti, 2023).

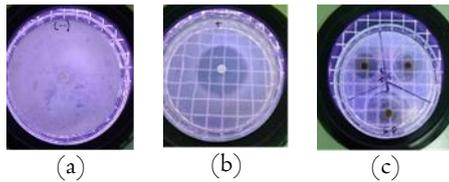
VI. Aktivitas Antibakteri Tipis Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.).

Pada uji antibakteri dari ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan 3 kelompok perlakuan ekstrak, kelompok positif, dan kelompok negatif pada tabel 3.

Tabel 3. Zona Hambat Ekstrak Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Konsentrasi (%)	Zona hambat (mm)					Rata-rata (mm) ± SD
	R1	R2	R3	R4	R5	
Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0
Kontrol (+)	33,	30,	30,	27,5	27,4	29,97
3%	9	5	5	5,7	5	±2,66
5%	4	4,2	4,2	5,7	6,7	4,96±1,18
7,5%	5,5	6,7	9,1	9,5	10,2	8,21±1,98
	5	9,3	10,	10,5	10,9	9,37±1,97

Berdasarkan hasil uji antibakteri dari ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Klebsiella pneumonia* menunjukkan bahwa konsentrasi 3% memiliki diameter zona hambat paling kecil yaitu 4,96±1,18 mm dengan kategori daya hambat lemah, hal ini dapat terjadi karena beberapa hal seperti pada saat pembuatan suspensi atau pun saat penyebaran suspensi di media agar yang kurang merata, alat yang digunakan saat sterilisasi kemungkinan masih ada mikroba atau bakteri. Sedangkan pada konsentrasi 5% dan 7,5% memiliki diameter zona hambat yang besar yaitu 8,21±1,98 dan 9,37±1,97 mm, kontrol positif yang diperoleh lebih besar dari seri konsentrasi yaitu 29,97±2,66 mm sedangkan kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini menggunakan DMSO (*Dimetil Sulfoksida*), hasil yang didapatkan tidak ada zona hambat. Berdasarkan data yang telah didapatkan kemudian dilakukan dengan menggunakan uji statistik. Hasil yang didapatkan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kontrol negatif, kontrol positif dan seri konsentrasi ekstrak. Jika nilai (p<0,05) maka dapat dikatakan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan sedangkan nilai (p>0,05) maka dapat dikatakan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan.



Gambar 4. Hasil Zona Hambat Ekstrak Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Keterangan: (a) kontrol negatif, (b) kontrol positif, (c) konsentrasi 3%, 5% dan 7,5%

Berdasarkan hasil uji zona hambat yang paling besar didapatkan dari uji ekstrak etanol daun sirih hijau terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah $9,37 \pm 1,97$ pada konsentrasi 7,5%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan maka hasil yang didapatkan semakin besar pula. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh (Lister, 2021) dengan menggunakan ekstrak dan konsentrasi yang sama ternyata hasil yang diperoleh berbeda dengan penelitian ini, hal ini dikarenakan media agar yang digunakan berbeda. Karena media agar itu menentukan kepadatan dari media biakan sehingga hal ini dapat mempengaruhi ukuran dari zona hambatnya (Sari et al., 2022).

Kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik ciprofloxacin. Antibiotik ini memiliki cara kerja dengan cara mempengaruhi enzim bakteri DNA gyrase pada bakteri yang bersifat gram positif dan gram negatif (Meila et al., 2020). Sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO (*Dimetil Sulfoksida*). DMSO merupakan suatu pelarut yang dapat digunakan untuk melarutkan senyawa ekstrak baik polar maupun non polar. Tujuan dari penggunaan larutan DMSO adalah supaya tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil uji antibakteri dengan ekstrak yang digunakan (Rahmi & Putri, 2020)

Senyawa aktif yang digunakan sebagai antibakteri pada ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L*) yaitu fenol. Fenol memiliki mekanisme kerja dengan cara berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses absorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen, mengganggu kerja di dalam membrane sitoplasma yang mengganggu transpor aktif dan kekuatan proton (Putri, Dwi et al., 2014).

Simpulan dan Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L*) memiliki aktivitas terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* penyebab ulkus diabetik.

Zona hambat yang didapatkan memiliki diameter zona hambat yang baik yaitu 9,37 mm.

Saran bagi penelitian selanjutnya bisa menaikkan seri konsentrasi dari ekstrak etanol daun sirih hijau sehingga mampu menghasilkan diameter zona hambat yang kuat, selain itu bisa mencari konsentrasi bunuh minimum (KBM) dan konsentrasi hambat minimum (KHM) pada ekstrak etanol daun sirih hijau terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* penyebab ulkus diabetik.

Daftar Pustaka

- Adams, M. A. (2018). Kajian Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa Racemosa*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*. *Plant, Cell and Environment*, 7 No. 1 Th(2), 192–201. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01412.x>
- Agustina W. Djumaa, Loisa R. Y. Ollab, N. F. (2019). Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Agustina. *Karya Tulis Ilmiah*, 136–142.
- Alydrus, N. L., & Khofifah, N. (2022). Efektifitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L*) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Indonesian Health Journal*, 1(1), 56–61.
- Arie, A. K., Lintang, R. A. J., Mangindaan, R. E. P., Windarto, A. B., Losung, F., & Longdong, S. N. J. (2020). Isolasi dan Skrining Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Symbion Nudibranchia *Phyllidiella pustulosa* dan *Thuridilla lineolata*. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 8(2), 40.
- Berryman, L. Y. (2000). Pharmacotherapy Handbook. 2nd Edition. In *The Annals of Pharmacotherapy* (Vol. 34, Issue 12). <https://doi.org/10.1345/aph.10237>
- Dendy, D., Nasrul, E., & Alia, E. (2020). Identifikasi Bakteri Gram Negatif Dan Uji Sensitivitas Antibiotik Ulkus Kaki Diabetes Di Rsup Dr. M. Djamil Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 8(4), 56–61. <https://doi.org/10.25077/jka.v8i4.1111>
- Dewi, N., NMA Tarini, & NND Fatmawati. (2019). Deteksi Gen fimH pada Isolat Klinis *Klebsiella pneumoniae* di RSUP Sanglah Denpasar. *E-Jurnal Medika*, 8(4), 1–6.
- Gunawan, B., Pangalila, F., & Ludong, M. (2019). Hubungan Tingkat Keparahan

- Sepsis Dengan Diabetes Melitus Terkontrol Dan Tidak Terkontrol Menggunakan Parameter HbA1C Di Rumah Sakit Royal Taruma Jakarta Barat Periode 2015-2017. *Tarumanagara Medical Journal*, *1(2)*, 277–290.
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika*, *6(1)*, 177–180. <https://doi.org/10.33084/jsm.v6i1.1641>
- Kesehatan, J. I., Husada, S., Victoria, C., & Divandra, R. (2020). Madu Sebagai Dressing Pada Penyembuhan Ulkus Diabetikum Honey as Dressing Treatment for Diabetic Ulcer Healing. *Juni*, *11(1)*, 532–539. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v10i2.345>
- Khotimah, H., Agustina, R., & Ardana, M. (2018). Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, *8*(November 2018), 1–7. <https://doi.org/10.25026/mpc.v8i1.295>
- Kurama, G. M., Maarisit, W., Karundeng, E. Z., & Potalangi, N. O. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsung (*Dendrophloe* sp) Terhadap Bakteri *Klebsiella Pneumoniae*. *Biofarmasetikal Tropis*, *3(2)*, 27–33. <https://doi.org/10.55724/j.biofar.trop.v3i2.281>
- Kursia, S., Lebang, J. S., Taebe, B., Burhan, A., Rahim, W. O. ., & Nursamsiar. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, *3(2)*, 72–77.
- Lister, I. N. E. (2021). Perbandingan Uji Efektivitas Ekstrak Bengkuang (*Pachyrizus Arosus*) Dan Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes*. *Jurnal Keperawatan Priority*, *4(1)*, 60–68.
- Manarisip, G. E., Rotinsulu, H., & Fatimawali. (2020). Standardization Of Green Betel Leaf Extracts (*Piper betle* L.) Belanda Dan Daun Jati Hijau. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, *4(2)*, 241–245.
- Meila, O., Nurmutiya, & V, A. (2020). Analisa Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Diare di Ruang Rawat Inap Penyakit Dalam RSUP Persahabatan. *Jurnal MIDPRO*, *12(1)*, 135–145.
- Najib, A., Malik, A., Ahmad, A. R., Handayani, V., Syarif, R. A., & Waris, R. (2018). Standardisasi Ekstrak Air Daun Jati Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, *10(2)*, 726. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v10i2.5919>
- Niken, N., Yusuf, R. N., & Annita, A. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak and Antibacterial Test Against *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmakon-Program Studi Farmasi*, *9*(November), 533–541.
- Noer, S., Pratiwi, R. D., & Gresinta, E. (2018). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin dan Flavonoid) sebagai Kuersetin Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.). *Jurnal Eksakta*, *18(1)*, 19–29. <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol18.iss1.art3>
- Novelni, R. (2019). Identifikasi dan Uji Resistensi Bakteri pada Pasien Ulkus Diabetikum di Bangsal Interne RSUP Dr. M. Djamil Padang. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, *8(2)*, 67–74. <https://doi.org/10.51887/jpfi.v8i2.550>
- Nurul Octaviana, Y., & Febriyanti, R. (2023). Penetapan Kadar Total Fenol Pada Ekstrak Akar Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk) Hasil Proses Infudasi Dari Beberapa Merek Yang Beredar Di Pasaran. *Jurnal Ilmiah Pharmacy*, *10(1)*, 1–10.
- Oktaviantari, D. E., Feladita, N., & Agustin, R. (2019). Identifikasi Hidrokuinon dalam Sabun Pemutih. *Jurnal Analis Farmasi*, *4(2)*, 91–97.
- Owu, N. M., Fatimawali, ., & Jayanti, M. (2020). Uji Efektivitas Penghambatan Dari Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Biomedik:JBM*, *12(3)*, 145. <https://doi.org/10.35790/jbm.12.3.2020.29185>
- Pallawagau, M., Yanti, N. A., Jahiding, M., Kadidae, L. O., Asis, W. A., & Hamid, F. H. (2019). Penentuan Kandungan Fenolik Total Liquid Volatile Matter dari Pirolysis Kulit Buah Kakao dan Uji Aktivitas Antifungi terhadap *Fusarium oxysporum*.

- ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 15(1), 165.
<https://doi.org/10.20961/alchemy.15.1.24678.165-176>
- Paputungan, W. A., Lolo, W. A., & Siampa, J. P. (2019). Aktivitas Antibakteri Dan Analisis Klt-Bioautografi Dari Fraksi Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora* Pierre ex A. Froehner). *Pharmacoin*, 8(3), 516.
<https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29325>
- Pinatik, N. J., Joshep, W. B. S., & Akili, R. H. (2017). Efektivitas Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* Linn.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli*. *E-Journal Universitas Sam Ratulangi*, 6, 1–9.
- Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik. *Jurnal Pro-Life*, 4(3), 418–429.
- Purnamaningsih, N., Kalor, H., & Atun, S. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coliatcc II229* Dan *Staphylococcus Aureus Atcc25923*. 22, 140–147.
- Putri, Dwi, D., Nurmagustina, D. E., & Chandra, Agung, A. (2014). Kandungan total fenol dan aktivitas antibakteri kelopak buah rosela merah dan ungu sebagai kandidat feed additive alami pada broiler. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 14(3), 174–180.
<http://jurnal.polinela.ac.id/index.php/JPP/T/article/download/157/127>
- Rahmi, M., & Putri, D. H. (2020). The Antimicrobial Activity of DMSO as A Natural Extract Solvent Aktivitas. *Serambi Biologi*, 5(2), 56–58.
- Rambe D.Z, N. C. . & A. (2019). Analisis Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Mikroorganisme Indikator Mastitis. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 4(2), 230–236.
- Reiza, I. A., Rijai, L., & Mahmudah, F. (2019). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 10, 104–108.
<https://doi.org/10.25026/mpc.v10i1.371>
- Sadih, H. H., Cahyadi, A. I., Windria, S., Program, M., Kedokteran, S., Mikrobiologi, D., Ilmu, D., Dasar, K., Kedokteran, F., Padjadjaran, U., & Barat, J. (2022). Kajian Potensi Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) sebagai Antibakteri. *Jurnal Sain Veteriner*, 40, 128–138.
<https://doi.org/10.22146/jsv.58745>
- Sari, R., Apridamayanti, P., & Pratiwi, L. (2022). Efektivitas SNEDDS Kombinasi Fraksi Etil Asetat Daun Cengkokodok (*Melastoma malabathricum*)-Antibiotik terhadap Bakteri Hasil Isolat dari Pasien Ulkus Diabetik. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 7(2), 105–114.
<https://doi.org/10.21776/ub.pji.2022.007.02.5>
- Septiani, S.W., Kiromah, N.Z.W., & Rahayu, T. P. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ganitri (*Elaeocarpus ganitrus* Roxb.) dari Kabupaten Kebumen Terhadap Bakteri *Salmonella typhi*. *Journal University Research Colloquium*, 8(2), 89–100.
<http://jos.unsoed.ac.id/index.php/api/article/view/3237>
- Simanjuntak, H. A., Nababan, H., & Gurning, K. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Tumbuhan Balsem (*Polygala paniculata* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Biologica Samudra*, 2(1), 60–65.
<https://doi.org/10.33059/jbs.v2i1.2315>
- Tarina, N. T. I., & Kusuma, S. A. F. (2017). Deteksi Bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Jurnal Farmaka*, 15(2), 119–126.
- Yusuf, S., & Syam, Y. (2018). Berdasarkan Lama Menderita Luka. *Jurnal Kesehatan Manarang*, 4(2), 87–92.