Borneo Journal Of Medical Laboratory Technology
BJMLT
http://journal.umpalangkaraya.ac.id/index.php/bjmlt

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Klebsiella pneumoniae* ESBL dan Non-ESBL

Antibacterial Activity Test Of Ethanol Extract Of Green Betel Leaves (Piper Betle L.) Against The Growth Of Klebsiella pneumoniae ESBL And Non-ESBL Bacteria

Puput Handayani[1]*

Widaninggar Rahma Putri[1]

Dhiah Novalina[1]

[1]Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

[1]Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

[1]Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

email: puputpatandi3011@gmail.com

Abstrak

Resistensi antibiotik menjadi masalah kesehatan global serius yang memberikan peluang pemanfaatan senyawa bioaktif dari bahan alami seperti daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai alternatif antibakteri. Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* ESBL dan non-ESBL menggunakan konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50%. Penelitian ini merupakan penelitian *Experimental control group* menggunakan metode difusi cakram untuk uji antibakteri. Media yang digunakan *Muller Hinton Agar* (MHA), adapun kontrol positifnya *Chloramphenicol* 30 µg/mL dan kontrol negatif DMSO (*Dimetil sulfoksida*) 10%. Analisis data menggunakan uji *One Way Anova*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau tidak membentuk zona hambat terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ESBL pada semua variasi konsentrasi, sedangkan bakteri non-ESBL membentuk zona hambat seiring kenaikan variasi konsentrasi dengan zona hambat terbesar pada konsentrasi 50% (13,25 mm). Uji *One Way Anova* diperoleh nilai signifikansi < 0,001 (p < 0,05) dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirih hijau hanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* non-ESBL, dan tidak memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri ESBL.

Kata Kunci:
Antibakteri, Daun sirih hijau, ESBL *Klebsiella pneumoniae*

Keywords:
Antibacterial, ESBL, Green betel leaves, Klebsiella pneumoniae

Abstract

Antibiotic resistance is a serious global health problem that provides an opportunity to utilize bioactive compounds from natural ingredients such as green betel leaves (Piper betle L..) as an antibacterial alternative. This study aims to determine the antibacterial activity of ethanol extract of green betel leaves (Piper betle L..) against the growth of Klebsiella pneumoniae ESBL and non-ESBL bacteria using concentrations of 20%, 30%, 40%, and 50%. This study is an Experimental control group study using the disc diffusion method for antibacterial testing. The media used are Muller Hinton Agar (MHA), while the positive control is Chloramphenicol 30 µg/mL and the negative control is DMSO (Dimethyl sulfoxide) 10%. Data analysis used the One Way Anova test. The results showed that green betel leaf extract did not form an inhibition zone against Klebsiella pneumoniae ESBL bacteria at all concentration variations, while non-ESBL bacteria formed an inhibition zone as the concentration variation increased with the largest inhibition zone at a concentration of 50% (13.25 mm). One Way Anova test, fourd a significance value of <0.001 (p <0.05. It can be concluded that green betel leaf extract only has antibacterial activity against the growth of non-ESBL Klebsiella pneumoniae bacteria, and does not have antibacterial activity against ESBL bacteria.

PENDAHULUAN

Resistensi antibiotik didefinisikan sebagai kompetensi mikroorganisme dalam menghambat aktivitas dari agen antimikroba, sehingga antibiotik kehilangan efisiensinya untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Putri *et al*., 2023). Pada tahun 2019, *Antimicrobial Resistance* (AMR) dilaporkan berkontribusi langsung terhadap 1,27 juta kematian dan menyebabkan 4,95 juta kematian di seluruh dunia (Suryanditha *et al*., 2024). Laporan Sistem Pengawasan dan Penggunaan Antimikroba Global (GLASS) tahun 2022 juga menunjukkan tingginya tingkat

resistensi pada berbagai patogen bakteri umum, termasuk bakteri *Klebsiella pneumoniae* (WHO, 2023).

Klebsiella pneumoniae adalah bakteri patogen penyebab pneumonia, infeksi saluran kemih, serta infeksi nosokomial, yang berdampak serius bagi individu (Labunda *et al*., 2024). Infeksi bakteri ini umumnya diobati menggunakan antibiotik golongan beta-laktam seperti meropenem, kloramfenikol, siprofloksasin, dan ampisilin. Namun, sebagian bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat menghasilkan enzim ESBL (*Extented Spectrum Beta-Lactamase*) yaitu kelompok enzim yang memecah antibiotik sehingga dapat menghidrolisis cincin betalaktam pada antibiotik dan menyebabkan resistensi terhadap antibiotik tersebut (Wahid, 2020).

ESBL adalah suatu enzim yang diproduksi oleh bakteri tertentu untuk bekerja menginaktivasi antibiotik golongan beta-laktam yang mampu menghidrolisis penisilin, sefalosporin generasi pertama hingga ketiga, serta aztreonam. Selain itu, penggunaan obat florokuinolon juga sering kali menunjukan resistensi terhadap bakteri penghasil ESBL (Fadil *et al*., 2022). Prevalensi bakteri ini cenderung mengalami peningkatan, karena memiliki kemampuan untuk bertahan dalam jangka waktu yang lama (Wahid, 2020). Di Indonesia, infeksi bakteri penghasil ESBL dilaporkan cukup tinggi. Penelitian *Antimicrobial Resistance in Indonesia*: *Prevalence* and *Prevention* (AMRIN *Study*) melaporkan bahwa tingkat kejadian ESBL pada *Klebsiella pneumoniae* mencapai 36% (Sinanjung *et al*., 2024). Data Kementrian kesehatan di Indonesia menunjukan peningkatan resistensi antimikroba dengan rata-rata 63,5% pada periode 2022 hingga 2024 (Kementrian Kesehatan, 2024). Meningkatnya resistensi bakteri *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBL membuka peluang pengembangan senyawa antibakteri dengan memanfaatkan bahan alami seperti daun sirih hijau (*Piper betle* L.).

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) diketahui mengandung senyawa bioaktif, seperti steroid, tanin, flavonoid, saponin, fenol, alkaloid, coumarin dan emodins yang memiliki aktivitas antibakteri (Hayyudiah *et al*., 2024). Penelitian oleh Wahyuni *et al*. (2024), mengungkapkan bahwa senyawa fenolik dan turunannya yang terkandung di dalam ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) menunjukan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan variasi konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50% terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBL dan non-ESBL.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *Experimental control group* dengan teknik difusi cakram kertas untuk membandingkan diameter zona hambat ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBL dan non-ESBL. Penelitian ini telah memiliki izin dengan nomor 0483/PI.24.2/II/2026.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini ialah autoklaf GEA LS-100, inkubator B-ONE OV-65, oven, *laminar air flow* ROBUST, *disk mill SY-2200*, gunting, neraca analitik, bejana maserasi, *vacuum rotary evaporator* HEIDOLPH, cawan porselen, batang pengaduk, *waterbath* Immert WNB 45, bunsen, *erlenmeyer*, *magnetic stirrer*, hotplate, cawan petri, tabung reaksi, pipet volume, pinset, ayakan 40 mesh, dan jangka sorong (mm).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain simplisia daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang diperoleh dari PT. Lansida Indoplant, pelarut etanol 96% CV. Sentra Teknosains Indonesia, isolat bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang terkonfirmasi penghasil ESBL yang tersedia di Laboratorium Mikrobiologi RS PKU Muhammadiyah Yogyakarta dan non-ESBL (ATCC 13883) dari Indilab Scientific, DMSO (*Dimetil sulfoksida*) 10% CV. Sentra Teknosains Indonesia, *Chloramphenicol*

30 µg/mL Oxoid CT0013B, *paper disc*, media *Mueller Hinton Agar* (MHA) Oxoid CM0337B, aquadest, swab steril, karet gelang, kertas/koran dan NaCl 0,9% steril.

Pemilihan Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Pemilihan daun sirih hijau diambil dari tanaman yang dibudidayakan tanpa pestisida kimia berlebihan atau yang tumbuh secara alami. Kondisi daun harus segar dan sehat untuk menjaga kandungan senyawa bioaktif. Berdasarkan penelitian Primadiamanti *et al* (2020), daun sirih yang optimal untuk ekstraksi adalah daun yang tidak terlalu muda atau tua karena memiliki konsentrasi zat aktif yang tinggi.

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

Simplisia daun sirih hijau yang diperoleh dari PT. Lansida Indoplant diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%. Etanol 96% salah satu pelarut yang mampu mengekstrak senyawa aktif antibakteri yang bersifat polar secara optimal sehingga dapat menarik senyawa antibakteri seperti fenol, tanin, dan flavonoid (Hakim & Saputri, 2020). Proses ekstraksi dilakukan melalui metode maserasi selama 24 jam untuk mengoptimalkan penarikan senyawa metabolit sekunder dari simplisia. Filtrat hasil ekstraksi kemudian diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C untuk menghilangkan sebagian besar pelarut etanol. Selanjutnya, ekstrak yang diperoleh dituangkan ke dalam cawan porselen dan dipanaskan menggunakan *water bath* untuk menguapkan sisa etanol 96% sehingga diperoleh ekstrak kental daun sirih hijau.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Satu ose isolat bakteri diambil kemudian disuspensikan kedalam 2 mL NaCL 0,9% steril. Setelah itu dihomogenkan, lalu kekeruhan disetarakan dengan satuan baku *Mc Farland* 1,5x10^8 FCU/ mL menggunakan PhoenixSpec.

Pembuatan Seri Konsentrasi Ekstrak

Larutan ekstrak daun sirih hijau dibuat dengan variasi konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50%. Untuk konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50%, ekstrak daun sirih hijau ditimbang masing-masing sebanyak 1 g, 1,5 g, 2 g, dan 2,5 g, kemudian dilarutkan dalam 5 mL DMSO 10%. Setiap larutan dihomogenkan hingga ekstrak larut sempurna.

Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram (*paper disc*). *Paper disc* direndam kedalam ekstrak daun sirih hijau dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50%. selama ± 60 menit. *Chloramphenicol* digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan DMSO sebagai kontrol negatif. Suspensi bakteri diambil menggunakan swab steril dan digoreskan secara merata pada media MHA. Selanjutnya, masing-masing *paper disc* diletakkan pada permukaan media MHA yang telah diinokulasi bakteri (*Klebsiella pneumoniae* ESBL dan non-ESBL). Kemudian diinkubasi selama 1x 24 jam dengan suhu 37°C. Pengulangan dilakukan sebanyak 6 kali pada masing-masing perlakuan. Selanjutnya dilakukan pengukuran diameter zona hambat menggunakan jangka sorong (mm).

Analisis Data

Data hasil pengukuran diameter zona hambat yang didapatkan pada pengujian akivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ESBL dan non-ESBL dianalisis secara statistik menggunakan Uji *One Way Anova* dalam perangkat SPSS. Sebelum dianalisis, data diuji terlebih dahulu menggunakan uji Shapiro-Wilk untuk menentukan normalitas distribusinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

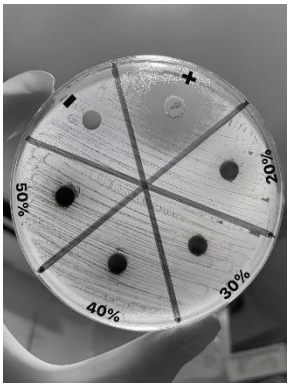
HASIL

Penelitian ini menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Dilakukan uji standarisasi terlebih dahulu terhadap ekstrak daun sirih hijau tersebut.

Tabel I. Hasil uji standarisasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.)

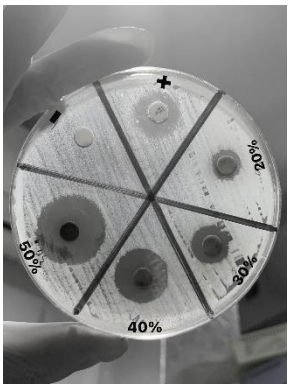
Parameter	Hasil	Satuan	Metode
Kadar Air	6.82	% v/b	Gravimetri
Tekstur	Ekstrak Kental	-	Organoleptik
Warna	Hijau kehitaman	-	Organoleptik
Bau	Khas sirih yang tajam	-	Organoleptik
Rasa	Pahit	-	Organoleptik

Hasil uji kadar air ekstrak menunjukan nilai sebesar 6.82 %. Tujuan pengujian ini untuk mengetahui banyaknya jumlah air yang terkandung didalam ekstrak daun sirih hijau. Hasil uji organoleptik menunjukkan tekstur ekstrak yang kental, warna hijau kehitaman, bau khas sirih yang tajam, dan rasa pahit.



Gambar I. Hasil zona hambat ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ESBL

Hasil uji aktivitas antibakteri pada gambar I menunjukkan bahwa esktrak etanol daun sirih hijau tidak menghasilkan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBL.



Gambar II. Hasil zona hambat ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* non-ESBL

Gambar II menunjukan zona hambat yang dihasilkan pada uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* non-ESBL.

Tabel II. Zona hambat ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ESBL dan non-ESBL

Perlakuan (%)	Rata-rata Diameter Zona Hambat ± SD (mm)			
	ESBL	Kategori	NON-ESBL	Kategori
Kontrol Positif (*Chloramphenicol* 30 µg/mL)	13.33 ± 2.08	Intermediate	18.50 ± 1.74	Sensitif
Kontrol Negatif	0	-	0	-
Kons. 20	0	-	8.50 ± 1.04	Sedang
Kons. 30	0	-	10.00 ± 1.41	Sedang
Kons. 40	0	-	11.50 ± 3.31	Kuat
Kons. 50	0	-	13.25 ± 3.94	Kuat

Berdasarkan tabel II, hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* ESBL, menunjukan bahwa kontrol positif *Chloramphenicol* menghasilkan rata-rata diameter

zona hambat sebesar 13.33 mm, yang mengindikasikan bahwa adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri tersebut. Kontrol negatif dan seluruh konsentrasi ekstrak etanol daun sirih hijau tidak menunjukan adanya pembentukan zona hambat (0 mm). Hasil ini mengindikasikan DMSO sebagai kontrol negatif tidak memiliki aktivitas antibakteri, serta ekstrak etanol daun sirih hijau pada konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50% tidak menunjukan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBL.

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* non-ESBL menunjukkan perbedaan hasil diameter zona hambat, dimana semakin tinggi tingkat konsentrasi maka semakin besar diameter zona hambat yang dihasilkan. Menurut Julianti *et al*. (2020), diameter zona hambat dapat dikategorikan sebagai berikut: untuk diameter >20 mm dikategorikan sangat kuat, untuk 10-20 mm dikategorikan kuat, 5-10 mm dikategorikan sedang dan <5 mm dikategorikan lemah. Berdasarkan hasil pengujian terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* non-ESBL, ekstrak etanol daun sirih hijau pada konsentrasi 20% (8.50 mm) dan konsentrasi 30% (10.00 mm) dikategorikan sedang, untuk konsentrasi 40% (11.50 mm) dan konsentrasi 50% (13.25 mm) dikategorikan kuat. C*hloramphenicol* sebagai kontrol positif memiliki rata rata diameter zona hambat sebesar 18.50 mm dan kontrol negatif tidak di dapatkan zona hambat yang artinya DMSO tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Tabel III. Hasil uji statistika (*One Way Anova*) bakteri *Klebsiella pneumoniae* ESBL dan non-ESBL

Perlakuan	Hasil Signifikansi Uji *One Way Anova* (p < 0.05)	
	ESBL	**NON-ESBL**
Kontrol Positif	<0.001*	<0.001*
Kontrol Negatif	1.000	<0.001*
Konsent 20%	1.000	<0.001*
Konsent 30%	1.000	<0.001*
Konsent 40%	1.000	0.002*
Konsent 50%	1.000	0.027*

*signifikan

Berdasarkan Tabel II, hasil uji ANOVA untuk *Klebsiella pneumoniae* ESBL menunjukkan nilai signifikansi <0,05 pada kontrol positif, yang berarti terdapat perbedaan signifikan antar zona hambat. Sementara itu, kontrol negatif dan seluruh variasi konsentrasi ekstrak menunjukkan nilai signifikansi >0.05, sehingga tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* non-ESBL, kontrol positif, kontrol negatif, dan seluruh variasi konsentrasi ekstrak menunjukkan nilai signifikansi <0,05. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kontrol dan variasi konsentrasi ekstrak tersebut.

PEMBAHASAN

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* ESBL dan non-ESBL, dilakukan dengan menggunakan metode difusi kertas cakram. Menurut Putri *et al*. (2023), metode ini merupakan salah satu metode yang sering digunakan untuk menguji aktivitas antimikroba dengan cara meletakkan cakram kertas yang telah diresapi dengan larutan uji pada permukaan medium agar. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Area bening mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Katili *et al*., 2020).

Berdasarkan hasil penelitian, setiap konsentrasi ekstrak etanol daun sirih hijau menunjukan diameter zona hambat yang berbeda. Pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* ESBL tidak terbentuk zona hambat, yang kemungkinan disebabkan oleh sifat resistensi bakteri tersebut. Menurut Armabar & Ropiqa. (2024), bakteri ini memiliki mekanisme pertahanan yang lebih kompleks karena mampu menghasilkan enzim E*xtended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL), akibatnya kekuatan antibakteri alami seringkali tidak mampu melawan mekanisme pertahanan enzimatis yang dimiliki oleh bakteri penghasil ESBL.

Bakteri penghasil ESBL memiliki struktur genetik tambahan berupa plasmid pembawa gen resistensi yang bertanggung jawab merusak struktur aktif antibiotik (Rahma *et al*., 2024). Gen pada plasmid menghasilkan protein yang memodifikasi struktur target antibiotik di dalam sel bakteri. Hal ini menyebabkan antibiotik tidak dapat berikatan secara optimal, sehingga efektivitasnya dalam menghambat atau membunuh bakteri menurun hingga hilang (Dewangga *et al*., 2022). Tabel II menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak tertinggi belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* ESBL. Hal ini mengindikasikan bahwa kekuatan resistensi bakteri jauh lebih tinggi daripada aktivitas antibakteri senyawa aktif dalam ekstrak, sehingga diperlukan meningkatkan variasi konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi lagi (Padang *et al*., 2025).

Berdasarkan kriteria *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), diameter zona hambat C*hloramphenicol* dikategorikan sensitif apabila >18 mm, intermediate pada rentang 13–18 mm, dan resisten apabila <12 mm. Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae* ESBL menunjukkan rata-rata kontrol positif 13.33 mm dalam kategori intermediate. Menurut Indratama *et al*. (2025), mekanisme kerja dari *Chloramphenicol* yaitu mempengaruhi proses sintesis protein dari bakteri dengan menghambat sintesis enzim *Peptidyl transferase* yang berperan sebagai katalisator untuk membentuk ikatan-ikatan peptida. Jika bakteri memiliki sifat intermediate, maka bakteri tersebut dapat menghasilkan enzim *Chloramphenicol acetyltransferase* yang dapat merusak aktivitas dari antibiotik sehingga aktivitas antibakterinya menjadi terbatas.

Hasil penelitian pada tabel II menunjukan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* non-ESBL. Diameter zona hambat yang dihasilkan semakin besar seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak. Hal ini sesuai dengan penelitian Wahyuni *et al*. (2024), yang menyatakan semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirih hijau akan menunjukkan peningkatan diameter zona hambat pada bakteri tersebut. Konsentrasi ekstrak 50% menghasilkan diameter zona hambat terbesar yakni 13.25 mm, sehingga menjadi konsentrasi paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *bakteri Klebsiella pneumoniae* non-ESBL dalam penelitian ini. Namun, daya hambat ekstrak pada konsentrasi 50% masih lebih rendah dibandingkan kontrol positif *Chloramphenicol* 30 µg/mL, yang menunjukkan bahwa efektivitas antibakteri ekstrak belum setara dengan antibiotik standar.

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau berasal dari kandungan senyawa bioaktif seperti saponin, tannin, flavonoid, terpenoid, fenol, serta steroid. Saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri serta mengubah struktur dan fungsinya, sehingga menyebabkan denaturasi protein, kerusakan membran, dan lisis. Senyawa flavonoid menghambat aktivitas metabolisme sel bakteri (Sartika *et al*., 2023). Tannin bekerja dengan cara bereaksi terhadap membran sel, menginaktivasi enzim serta menghambat fungsi materi genetik (Windriani & Safitri, 2020). Fenol bersifat toxic terhadap bakteri karena menghambat kerja enzim dari mikroba (Lawarti & Cahyaningrum, 2022). Penggunaan bahan alam memiliki beberapa kelebihan antara lain tidak bersifat toksik, efek samping yang ditimbulkan sangat kecil dan memiliki efek terapeutik yang bersifat konstruktif sehingga relatif lebih aman digunakan (Owu *et al*., 2020).

Hasil penelitian diuji statistik menggunakan *One Way Anova* untuk mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri yang signifikan antar kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Berdasarkan hasil uji pada tabel III diperoleh nilai p value < 0,05, yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sirih hijau memberikan perbedaan yang signifikan terhadap aktivitas antibakteri pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* ESBL maupun non-ESBL. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa variasi konsentrasi ekstrak berpengaruh terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri.

Uji aktivitas antibakteri merupakan uji yang digunakan untuk menguji kepekaan suatu bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri seperti ekstrak tumbuhan yang bertujuan untuk mengetahui daya kerja dari suatu bahan dalam menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri (Martsiningsih *et al*., 2024). Terdapat berbagai faktor yang memengaruhi hasil uji aktivitas antibakteri, di antaranya konsentrasi antibakteri, jumlah inokulum bakteri, suhu, pH lingkungan, jenis pelarut, kandungan senyawa aktif, serta konsentrasi sampel yang diuji (Pelealu *et al*., 2021).

Pada hasil penelitian ini diameter zona hambat yang diperoleh lebih rendah dibandingkan hasil penelitian Raudah & Wahid. (2022), perbedaan tersebut mengindikasikan bahwa metode difusi cakram dengan penetesan langsung ekstrak daun sirih hijau pada disk cakram mampu memberikan peningkatan aktivitas antibakteri ekstrak secara signifikan.

Menurut Rahmah *et al*. (2024), jumlah senyawa aktif antibakteri yang terserap pada disk cenderung lebih besar karena seluruh volume yang diteteskan akan terkonsentrasi pada permukaannya. Hal ini menyebabkan difusi senyawa kedalam media agar lebih tinggi sehingga menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar. Pada metode perendaman disk cakram, tidak semua senyawa aktif dapat terserap secara optimal karena keterbatasan kapasitas absorpsi kertas disk, sehingga jumlah senyawa yang berdifusi ke dalam media menjadi lebih sedikit.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yaitu konsentrasi ekstrak yang digunakan relatif terbatas sehingga belum menunjukkan potensi aktivitas antibakteri secara optimal, khususnya terhadap bakteri ESBL. Pada penelitian ini belum mengidentifikasi secara spesifik kadar senyawa aktif dalam ekstrak yang berperan dalam aktivitas antibakteri. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjutan dengan metode yang lebih komprehensif, variasi konsentrasi yang lebih luas, serta analisis fitokimia dengan lebih spesifik menganalisis zat bioaktif pada daun sirih hijau.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

I. Ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBL pada seluruh konsentrasi yang diuji (20%, 30%, 40%, dan 50%). Namun, ekstrak tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* non-ESBL pada semua variasi konsentrasi.
II. Terdapat peningkatan diameter zona hambat seiring dengan kenaikan konsentrasi ekstrak, dimana konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50% menghasilkan zona hambat yang semakin besar, sehingga menunjukkan adanya perbedaan signifikan terhadap diameter zona hambat. Sementara itu, pada bakteri ESBL tidak ditemukan perbedaan diameter zona hambat.
III. Konsentrasi 50% merupakan konsentrasi paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* non-ESBL, yang ditunjukkan oleh diameter zona hambat terbesar, namun konsentrasi tersebut tetap tidak efektif terhadap *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBL.

penelitian selanjutnya disarankan menggunakan metode ekstraksi atau bahan ekstrak yang berbeda serta pelarut lain selain etanol guna memperoleh senyawa aktif yang lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBL. Selain itu, perlu dilakukan peningkatan variasi konsentrasi ekstrak dengan rentang yang lebih luas atau konsentrasi yang lebih tinggi untuk mengetahui potensi aktivitas antibakteri secara lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

Armabar, M. D., & Ropiqa, M. (2024). Identifikasi Dan Karakterisasi Bakteri Penghasil ESBL Pada Sampel Urin Pasien Infeksi Saluran Kemih Di Rumah Sakit Kartika Husada. *Journal Pharmacy Of Tanjungpura*, *2*(1), 1–13.

Dewangga, V. S., Nirwana, A. P., & Destivani Virliana Widjayanti, L. D. V. (2022). Perbandingan Daya Hambat Variasi Ekstrak Etanol Biji

Pepaya(*Carica Papaya* L.) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* ESBL. *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*, 181–191.

Fadil, M., Rasyid, R., & Hidayat, M. (2022). Gambaran Sensitivitas Bakteri Penghasil Enzim ESBL terhadap Beberapa Antimikroba di RSUP Dr. M. Djamil Padang Periode 2018-2019. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*, *2*(2), 87–94.

Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika*, *6*(1), 177–180.

Hayyudiah, R., Dahliah, Abbas Zavey Nurdin, & Rachmat Faisal Syamsu. (2024). Literature Review: Manfaat dan Bioaktivitas Daun Sirih (*Piper Betle* L.) Sebagai Antibakteri. *Jurnal Mahasiswa Kedokteran*, *4*(3), 248–258.

Indratama, I. N.Y., Rosyunita., Hasbi, N., Octora, M., & Rizqullah, R. (2025). Profile of Gram-Negative Bacteria Extended Spectrum Beta Lactamase ESBL in The *Caecum* of Broiler Chickens. *Jurnal Biologi Tropis*, 25(4), 4745-4757.

Julianti, J., Maarisit, W., Potalangi, N., & Kanter, J. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Umbi Bawang Dayak *Eleutherine palmifolia* L. Merr. Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Biofarmasetikal Tropis*, *3*(1), 159–165.

Katili, Y. I., Wewengkang, D. S., & Rotinsulu, H. (2020). Uji Aktivitas Antimikroba Dari Jamur Laut Yang Berasosiasi Dengan Organisme Laut Karang Lunak *Lobophytum* Sp. *Pharmacon*, *9*(1), 108–115.

Kementrian Kesehatan RI. (2024). Waspada Bakteri Kebal Antibiotik. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.

Labunda, A. I., Fatayati, I., & Slamet, S. (2024). Identifikasi Bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada SWAB Luka Diabetes Mellitus di Klinik Perawatan Luka Kota Pontianak. *Malahayati Health Student Journal*, *4*(2), 598–604.

Lawarti, R. A., & Cahyaningrum, S. E. (2022). Potential Antibacterial Activity of Hydroxyapatite Composite And Green Betel Leaf Extract (*Piper betle* L.) Against *Streptococcus mutans* Bacteria. *Indonesian Journal of Chemical Science*, *11*(1), 41–49.

Martsiningsih, M. A., Widada, S. T., & Pudyastuti, R. R. (2024). Sosialisasi Faktor Yang Mempengaruhi Uji Sensitivitas Bakteri Penyebab Pneumonia (*Kelbsiella Pneumoniae*) Kepada Ahli Teknologi Laboratorium. *Jurnal Pengapdian Masyarakat*, *2*(10), 1478–1487.

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), 145–152.

Padang, E. S., Hafzari, R., & Gultom, E. S. (2025). Potential of Fig Fruit Ethanol Extract (*Ficus carica* L.) Against *Staphylococcus aureus* MRSA and *Klebsiella pneumoniae* ESBL Bacteria. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*, *14*(2), 1033–1038.

Pelealu, E., Wewengkang, D. S., & Abdullah, S. S. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Spons Leucetta Chagosensis Dari Perairan Pulau Mantehage Sulawesi Utara Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *Pharmacon*, *10*(2), 834.

Primadiamanti, A., Amura, L., & Ulfa, A. M. (2020). Analisis Senyawa Fenolik Pada Ekstrak Daun Sirih Hijau *(Piper betle* L.). *Jurnal Farmasi Malahayati*, *3*(1), 23–31.

Putri, C. I., Wardhana, M. F., Andrifianie, F., & Iqbal, M. (2023). Literature Review: Kejadian Resistensi Pada Penggunaan Antibiotik. *Jurnal Medula*, *13*(3), 219–225.

Putri, R. N., Wahidah, S. N., Hosiyah, Hafidz, I. T. A., & Faisal. (2023). Uji Daya Hambat Antimikroba Secara Difusi Sumuran dan Difusi Paper Disk. *Journal of Science, Engineering and Information Systems Research*, *1*(4), 28–33.

Rahma, P. C., Widyantara, A. B., & Nailufar, Y. (2024). Gambaran Pola Kepekaan Antibiotik Bakteri *Klebsiella Pneumoniae* Penghasil Extended Spectrum Beta Laktamase Di Icu Rumah Sakit Pku Muhammadiyah Yogyakarta. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, *5*(3), 7829–7836.

Rahmah, W. N., Ramdhani, F. H., & Hidayani, A. (2024). Gambaran Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dengan Metode DISC dan Sumuran. *Jurnal Surya Medika*, *10*(2), 344–348.

Raudah, S., & Wahid, R. S. A. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piperbetle*L.) dan Daun Sirih Merah (*PiperCrocatumRuiz & Pav*) terhadap Bakteri pada Luka Diabetes Mellitus Secara invitro. *Proceeding 2nd SETIABUDI – CIHAMS*, 59–69.

Sartika, D., Irwandi, I., Novelni, R., & Alena, M. (2023). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Dari Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L.) Dengan Menggunakan Gen 16s Rrna Serta Uji Aktivitas Antibakterinya. *Jurnal Kesehatan Medika Saintika*, *14*(2), 394.

Sinanjung, K., Fatrinawati, Istiqomah, & Mayasari, G. (2024). Faktor Risiko Infeksi Bakteri Penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) pada pasien ICU di RS Jogja Tahun 2023. *Informasi dan Promosi Kesehatan*, *3*(2), 118–229.

Suryanditha, P. A., Widhidewi, N. W., Paramasatiari, A. A. A. L., & Wedari, N. L. P. H. (2024). Karakteristik bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan kepekaannya terhadap antibiotik di Badan Rumah Sakit Umum Tabanan tahun 2018 – 2020. *Jurnal Intisari Sains Medis*, *15*(1), 314–318.

Wahid, H. (2020). Identifikasi *Extended Spectrum Beta Laktamase* (ESBL) Antibiotika Golongan Sefalosporin pada Bakteri *Acinetobacter*

baumannii. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, *2*(4), 379–384.

Wahyuni, S., Rahayu, T. P., & Kiromah, N. Z. W. (2024). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap *Klebsiella pneumonia* Penyebab Ulkus Diabetik. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, *5*(2), 126–134.

Windriani, I., & Safitri, 1Cikra Ikhda Nur Hamidah. (2020). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau Dan Buah Asam Jawa Terhadap *Salmonella Typhi* Secara Mikrodilusi. *Jurnal Marinade*, *7*(2), 28–40.

World Health Organization. (2023). Resistensi Antimikroba. Diambil dari https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance pada 18 November 2025.