

Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Biji Manjakani (*Quercus infectoria*) Dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Antibacterial Activity Combination of Manjakani Seed Extract (*Quercus infectoria*) and Red Betel Leaf (*Piper crocatum*) Against the Growth of *Klebsiella pneumoniae*.

Ayu Ashari ^{1*}

Tiara Dini Harlita²

Ganea Qorry Aina³

¹Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Kalimantan Timur, Samarinda, Indonesia

² Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Kalimantan Timur, Samarinda, Indonesia

³ Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Kalimantan Timur, Samarinda, Indonesia

*email: nonaranita@gmail.com

Abstrak

Tanaman potensial yang terdapat di Indonesia dan dapat dimanfaatkan untuk pengobatan infeksi saluran kemih diantaranya yaitu: biji manjakani (*Quercus infectoria*) dan daun sirih merah (*Piper crocatum*). Biji manjakani secara farmakologi diklaim memiliki aktivitas biologis seperti anti-inflamasi, antibakteri dan antifungi. Daun sirih merah berpotensi sebagai antibakteri pada pengobatan penyakit infeksi. Tujuan penelitian ini mengetahui adanya aktivitas antibakteri pada kombinasi ekstrak biji manjakani dan daun sirih merah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae*. Jenis penelitian yang digunakan adalah *studi true experiment* dengan rancangan acak lengkap (RAL) tiga faktor yaitu jenis pelarut (*n*-heksan, etil asetat, etanol 96%), perbandingan (1:1, 1:2, 2:1) dan konsentrasi (75% dan 100%) dengan masing-masing perlakuan dilakukan dua kali pengulangan. Penelitian ini dilakukan di laboratorium mikrobiologi labkes provinsi kaltim. Populasi dalam penelitian ini adalah tanaman manjakani (*Q. infectoria*) dan tanaman sirih merah (*P. crocatum*) dan diuji menggunakan teknik difusi agar metode Kirby Bauer dengan kontrol positif (*Ciprofloxacin*) dan kontrol negatif (*aquadest*). Analisis data yang digunakan adalah *One Way Anova* dan uji lanjutan metode *Duncan* dengan taraf signifikansi 0,05. Hasil yang didapatkan terdapat pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak biji manjakani dan daun sirih merah terhadap pertumbuhan *K. pneumoniae*. Konsentrasi yang paling efektif terdapat pada ekstrak etanol 96% kombinasi 2:1 konsentrasi 100% sebesar 13,97 mm dan efektivitasnya sebesar 55,74% dengan kontrol positif *ciprofloxacin* 5µg sebesar 25,06 mm. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak kombinasi biji manjakani (*Q. infectoria*) dan daun sirih merah (*P. crocatum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *K. pneumoniae*, namun potensinya masih dibawah *ciprofloxacin*.

Kata Kunci:

Antibakteri, *Ciprofloxacin*, *Klebsiella pneumoniae*, Manjakani (*Quercus infectoria*), Sirih Merah (*Piper crocatum*).

Keywords:

Antibacterial, *Ciprofloxacin*, *Klebsiella pneumoniae*, Manjakani Seeds (*Quercus infectoria*), Red Betel (*piper crocatum*).

Abstract

Potential plants found in Indonesia that can be used for the treatment of urinary tract infections include: Manjakani seeds (*Quercus infectoria*) and red betel leaves (*Piper crocatum*). Manjakani seeds are pharmacologically claimed to have biological activities such as anti-inflammatory, antibacterial and antifungal. Red betel leaf has the potential as an antibacterial in the treatment of infectious diseases. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of the combination of manjakani seed extract and red betel leaf in inhibiting the growth of *Klebsiella pneumoniae* bacteria. The type of research used is true experiment study with a completely randomized design (CRD) with three factors, namely the type of solvent *n*-hexane, ethyl acetate, ethanol 96%, ratio (1:1,1:2,2:1) and concentration (75%,100%) with each treatment being repeated twice. This research was conducted in the microbiology laboratory, Labkes, East Kalimantan. The population in this study is the manjakani plant and red betel plant and tested using the agar diffusion technique method Kirby Bauer with positive control (*Ciprofloxacin*) and negative control (*aquadest*). Data analysis used is *One Way ANOVA* and advanced test methods *Duncan* with a significance level of 0,05. The results obtained showed that there was an effect of antibacterial activity of Manjakani seed extract and red betel leaf on growth *K. pneumoniae*. The most effective concentration was found in ethanol 96% extract, (2:1 combination of 100% concentration) of 13,97 mm and an effectiveness of 55,74% with a positive control *ciprofloxacin* 5µg of 25,06 mm. It can be concluded that the combined extract of manjakani seeds and red betel leaves has antibacterial activity against bacteria *Klebsiella pneumoniae*, but the potential is still low of *ciprofloxacin*.

PENDAHULUAN

Di Indonesia penyakit infeksi masih termasuk dalam sepuluh penyakit terbanyak, salah satunya adalah penyakit infeksi saluran kemih (ISK). Menurut *World Health Organization* (WHO), ISK menempati posisi kedua tersering pada tubuh dalam penyakit infeksi setelah infeksi saluran pernafasan dan jumlah kasus yang dilaporkan pertahunnya terdapat sebanyak 8,3 juta kasus. Berdasarkan data Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI) tahun 2014, jumlah penderita ISK di Indonesia mencapai 90-100 kasus per 100.000 penduduk per tahun atau sekitar 180.000 kasus per tahun (Nemin, 2019). Bakteri utama penyebab ISK yang didapati di urin sebagian besar adalah *Escherichia coli* (85%) kemudian *Klebsiella sp.* dan *Streptococcus sp.* dan beberapa bakteri lain seperti *Proteus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan beberapa bakteri lainnya (Lubis, 2019).

Antibiotik yang biasa digunakan dalam pengobatan ISK adalah *ciprofloxacin*. Antibiotik ini merupakan golongan fluorokuinolon yang paling banyak digunakan untuk pengobatan terutama yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif (Listyorini, 2019). Berdasarkan data Kementerian Kesehatan (Kemenkes) tahun 2011, berbagai studi menemukan adanya penggunaan antibiotik secara tidak tepat sekitar 40-62% untuk penyakit-penyakit yang sebenarnya tidak memerlukan antibiotik. Pada penelitian kualitas penggunaan antibiotik di berbagai bagian rumah sakit ditemukan adanya 30%-80% yang tidak didasari oleh indikasi (Muntasir *et al.*, 2020). Penggunaan antibiotik yang terus-menerus dengan dosis yang tidak tepat dan pola minum yang tidak sesuai akan menyebabkan resistensi antibiotic yang tentunya akan berdampak pada pengobatan dan tingkat kesembuhan yang terhambat. Biji manjakani (*Q. Infectoria*) merupakan tanaman tradisional yang diklaim memiliki berbagai aktivitas biologis seperti anti-inflamasi (Triandini *et al.*, 2018),

antibakteri (Himalaya, 2017) dan antifungi (Yanti *et al.*, 2016). Skrining fitokimia manjakani menunjukkan adanya kandungan fenol, flavonoid, steroid, triterpen, tanin sekitar 50-70% , saponin, alkaloid dan asam galat yang juga merupakan senyawa aktif yang bertanggung jawab sebagai antibakteri (Himalaya, 2017). Daun sirih merah (*P. crocatum*) juga berpotensi sebagai antibakteri karena mengandung senyawa fenol yang berpotensi sebagai antibakteri (Wiladatika, 2013), dan senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antimikroba yang aktif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif yang mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri dan menghambat motilitas bakteri (Listyorini, 2019).

Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa baik ekstrak biji manjakani maupun daun sirih merah mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Asparinda & Juwitaningsih (2020) telah melakukan uji aktivitas antibakteri fraksi non polar gal manjakani pada bakteri Gram negatif yaitu *E. coli* dengan metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi bertingkat menggunakan pelarut aseton dan *n*-heksan. Rohadi *et al.*, (2019) juga pernah meneliti uji daya hambat ekstrak etanol daun sirih merah terhadap bakteri *E. coli* menggunakan metode ekstraksi tunggal. Namun, dalam penelitian yang akan dilakukan ini peneliti menggunakan metode ekstraksi dan pelarut yang berbeda yaitu metode ekstraksi bertingkat dengan tiga pelarut yang berbeda kepolarnya yaitu *n*-heksan sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar dan etanol 96% sebagai pelarut polar agar dapat diketahui aktivitas antibakteri pada masing-masing fraksi dari pelarut dalam menghambat pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae*.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti tertarik untuk meneliti dengan judul “Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Biji Manjakani (*Quercus infectoria*) dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Klebsiella pneumoniae*”.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah *studi true experiment* dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) tiga faktor yaitu kombinasi ekstrak biji manjakani (*Q. infectoria*) dan daun sirih merah (*P. crocatum*) dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan etanol 96%. Konsentrasi 75% dan 100% yang diencerkan dalam *aquadest* dengan perbandingan 1:1, 1:2 dan 2:1. Kontrol positifnya menggunakan *ciprofloxacin* 5µg dan kontrol negatifnya adalah *aquadest* steril.

IDENTIFIKASI TUMBUHAN

Determinasi tumbuhan manjakani (*Q. infectoria*) dan sirih merah (*P. crocatum*) dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman.

PREPARASI SAMPEL

Biji Manjakani dan daun sirih merah dicuci terlebih dahulu sampai bersih agar tidak terdapat kotoran yang dapat mencemari ekstrak. Biji manjakani lalu dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C selama 1x24 jam kemudian biji dihaluskan menggunakan *grinding mesh* sampai menjadi serbuk halus. Sedangkan daun sirih merah ditiriskan, dipotong dengan ketebalan ±2 cm kemudian di keringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C selama 1 jam mengacu pada (Rohadi et al., 2019). Setelah itu, dihaluskan menggunakan *blender* sampai halus dan disaring menggunakan saringan. Serbuk yang diperoleh ditimbang dan disimpan dalam wadah botol kering.

EKSTRAKSI SENYAWA ANTIBAKTERI

Pembuatan ekstrak biji manjakani dan daun sirih merah menggunakan metode maserasi bertingkat mengacu pada (Harlita et al., 2018). Serbuk biji manjakani dan daun sirih merah masing-masing ditimbang sebanyak 1000 gr kemudian dimasukkan dalam wadah kaca dan dimaserasi dengan pelarut *n*-heksan sebanyak

2000 ml (perbandingan 1:2 (b/v)). Sampel dimaserasi selama 3x24 jam dengan perlakuan diaduk setiap 1 jam. Filtrat dipisahkan dari residu dengan cara disaring menggunakan kertas saring. Residu tersebut kemudian ditambahkan pelarut etil asetat sebanyak 2000 ml. Sampel dimaserasi selama 3x24 jam dengan perlakuan diaduk setiap 1 jam. Filtrat dipisahkan dari residu dengan cara disaring menggunakan kertas saring kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 2000 ml. Sampel dimaserasi selama 3x24 jam dengan perlakuan diaduk setiap 1 jam. Filtrat dipisahkan dari residu dengan cara disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan dari ketiga pelarut tersebut kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan putar 30 rpm hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh ditimbang, dihitung nilai rendemennya, dimasukkan ke dalam botol steril untuk mencegah kontaminasi dan disimpan.

UJI BEBAS ETANOL

Hasil ekstraksi terlebih dahulu dilakukan uji bebas etanol dengan cara meletakkan sedikit ekstrak dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 2 tetes asam sulfat (H₂SO₄) pekat dan 1 ml kalium dikromat, apabila ada perubahan warna dari jingga menjadi hijau kebiruan, maka ekstrak mengandung etanol (Klau et al., 2021).

PEMBUATAN LARUTAN UJI

Masing-masing ekstrak kental yang diperoleh dibuat larutan dengan konsentrasi 10 mg/mL, dengan menimbang 1 gr ekstrak kemudian dilarutkan dalam 100 mL *aquadest* steril, dan dihomogenkan. Ekstrak yang tidak dapat larut sempurna ditambahkan pengemulsi berupa *Tween 80*. Kombinasi ekstrak dibuat dengan mencampurkan masing-masing ekstrak biji manjakani dengan daun sirih merah dengan perbandingan 1:1, 1:2 dan 2:1.

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KOMBINASI

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode disc difusi Kirby-Bauer. Dan perbandingan kombinasi yang digunakan adalah 1:1, 1:2 dan 2:1 dengan konsentrasi 75% dan 100%. Bakteri ujinya adalah *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883. Uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Timur, pada Laboratorium Mikrobiologi. Kontrol positif yang digunakan adalah *Ciprofloxacin* dan kontrol negatifnya adalah *aquades* steril.

Siapkan suspensi bakteri uji yang telah distandarisasi dan media kultur MHA plate. Kultur bakteri uji diambil menggunakan kapas lidi steril, kemudian diinokulasikan secara *spread* pada medium MHA plate. Kertas cakram steril berdiameter 6 mm, ditetesi dengan larutan kombinasi ekstrak yang telah dibuat sebanyak 15 µl, kemudian diletakkan pada permukaan media MHA plate dan ditekan menggunakan pinset agar menempel sempurna pada permukaan media. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan penggaris pada batas terpanjang dan batas terpendek daerah hambat yang terbentuk dalam satuan milimeter (mm).

ANALISIS DATA

Aktivitas penghambatan dihitung menggunakan persamaan : (Harlita, T. et al., 2022)

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{(d_2 - d_1)}{d_1} \times 100\%$$

Keterangan :

d1 = diameter disc (6 mm)

d2 = diameter zona hambat (mm)

persentase aktivitas penghambatan kemudian dianalisis menggunakan ragam *analysis varian* (ANOVA) dan uji lanjutan DMRT. Efektivitas antibakteri kemudian dihitung dengan membandingkan diameter zona hambat yang dihasilkan oleh antibiotik kontrol

positif yaitu *ciprofloxacin*. Efektivitas antibakteri terhadap antibiotik dapat dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut: (Harlita, T. et al., 2022)

$$E = \frac{D}{Da} \times 100\%$$

Keterangan:

E : efektivitas antibakteri (%)

D : diameter zona hambat kombinasi ekstrak (mm)

Da : diameter zona hambat antibiotik kontrol positif (mm)

HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

Hasil identifikasi tumbuhan manjakani dengan Nomor: 051/UN17.7.025.16/HA/VI/2023 menyatakan bahwa tumbuhan manjakani merupakan spesies *Quercus infectoria* Olivier.

Hasil identifikasi tumbuhan daun sirih merah Nomor: 050/UN17.7.025.16/HA/VI/2023 menyatakan bahwa sirih merah yang digunakan merupakan spesies *Piper crocatum* Ruiz & Pav.



Gambar 1. Biji manjakani (a) segar; (b) setelah dihaluskan



Gambar 2. Daun sirih merah (a) segar; (b) setelah dihaluskan

Biji manjakani dan daun sirih merah diiris dan dikeringkan untuk mengurangi kadar air. Irisan tersebut kemudian dihaluskan dengan tujuan memperluas permukaan agar proses ekstraksi lebih efektif.

Tabel I. Nilai Rendemen dari Ekstrak Biji Manjakani dan Daun Sirih Merah

Jenis Ekstrak	Jenis Pelarut	Bobot Ekstrak (gr)	Warna Ekstrak	Rendemen(%)
Biji Manjakani	<i>n</i> -heksan	15,42	Hijau Muda	1,5 %
	Etil Asetat	440,87	Kuning Kecoklatan	44,1%
	Etanol 96%	353,65	Coklat Kehitaman	35,4%
Daun Sirih merah	<i>n</i> -heksan	25,20	Kuning Kehijauan	2,52%
	Etil Asetat	62,14	Hijau Tua	6,21%
	Etanol 96%	58,71	Hijau Kehitaman	5,87%

Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antibakteri, hasil ekstraksi dilakukan uji bebas etanol untuk membebaskan ekstrak dari etanol sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi, dan tidak akan menimbulkan positif palsu pada perlakuan sampel. Hasil yang diperoleh dari uji tersebut adalah larutan tidak berubah warna yang terjadi sehingga dapat disimpulkan bahwa kedua ekstrak telah bebas etanol dan dapat dilanjutkan dengan menguji ekstrak terhadap bakteri *K. pneumoniae*.

Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak kombinasi biji manjakani dan daun sirih merah terhadap bakteri *K. pneumoniae* dilakukan menggunakan teknik *disc* difusi *Kirby-Bauer*. Sebelum melakukan uji aktivitas terhadap berbagai perbandingan kombinasi dan konsentrasi ekstrak terlebih dahulu dilakukan uji terhadap masing-

masing ekstrak biji manjakani dan daun sirih merah dengan konsentrasi 10 mg/mL (Gambar 3). Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak manjakani dan ekstrak sirih merah pada setiap pelarut positif menghambat pertumbuhan *K. pneumoniae*. Hasil uji pada masing-masing ekstrak dapat dilihat pada Tabel II.



Gambar 3. (a) Diameter zona hambat ekstrak biji manjakani terhadap bakteri *K. pneumoniae*; (b) Diameter zona hambat ekstrak daun sirih merah terhadap bakteri *K. pneumoniae*

Tabel II. Diameter zona hambat antibakteri ekstrak terhadap pertumbuhan *K. pneumoniae*

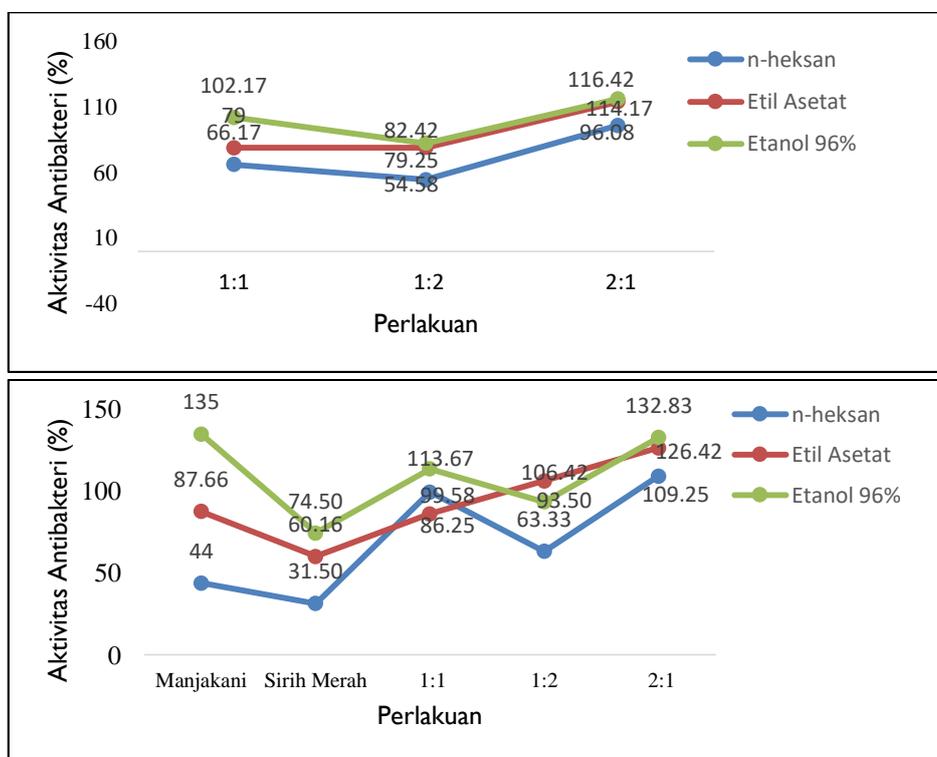
Pelarut	Ekstrak			
	Biji Manjakani		Daun Sirih Merah	
	Diameter Zona Hambat	Aktivitas Antibakteri	Diameter Zona Hambat	Aktivitas Antibakteri
<i>n</i> -heksan	8,64 mm	44%	7,89 mm	31,5%
Etil Asetat	11,26 mm	87,66%	9,61 mm	60,16%
Etanol 96%	14,10 mm	135%	10,47 mm	74,5%

Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak biji manjakani dan daun sirih merah dengan konsentrasi 10 mg/mL pada perbandingan yang berbeda (1:1, 1:2, dan 2:1) dengan konsentrasi (75% dan 100%) terhadap

bakteri *K. pneumoniae* didapatkan aktivitas penghambatan yang bervariasi, hasil uji aktivitas kombinasi ekstrak disajikan pada Tabel III dan Gambar 4.

Tabel III. Diameter zona hambat antibakteri kombinasi ekstrak biji manjakani dan daun sirih merah terhadap pertumbuhan *K. pneumoniae*

Konsentrasi	Pelarut	Jenis Pelarut					
		<i>n</i> -heksan		Etil Asetat		Etanol 96%	
		Diameter Zona Hambat	Aktivitas	Diameter Zona Hambat	Aktivitas	Diameter Zona Hambat	Aktivitas
75%	1:1	9,93 mm	65,5%	10,74 mm	79,00%	12,13 mm	102,16%
	1:2	9,28 mm	54,66%	10,89 mm	81,50%	10,95 mm	82,50%
	2:1	11,77 mm	96,16%	12,85 mm	114,16%	12,99 mm	116,50%
100%	1:1	11,83 mm	97,16%	11,18 mm	86,33%	12,82 mm	113,66%
	1:2	9,80 mm	63,33%	12,39 mm	106,50%	11,61 mm	93,50%
	2:1	12,56 mm	109,33%	13,58 mm	126,33%	13,97 mm	132,83%



Gambar 4. Grafik aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak biji manjakani dan daun sirih merah terhadap pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae* (a) Konsentrasi 75%; (b) Konsentrasi 100%

Grafik diatas menunjukkan bahwa pada ekstrak kombinasi biji manjakani dan daun sirih merah menggunakan pelarut *n*-heksan, aktivitas antibakteri meningkat dibandingkan antibakteri tanpa kombinasi. Pada pelarut etil asetat, pada perbandingan 1:1 aktivitas antibakteri yang dihasilkan lebih kecil dibandingkan dengan aktivitas antibakteri pada ekstrak biji manjakani, tetapi perbedaannya tidak signifikan. Antibakteri kembali meningkat saat dikombinasikan dengan

perbandingan 1:2 dan 2:1. Pada ekstrak kombinasi biji manjakani dan daun sirih merah menggunakan pelarut etanol 96%, aktivitas antibakteri menurun saat dikombinasikan dengan perbandingan 1:1, 1:2 dan 2:1.

Efektivitas antibakteri kombinasi ekstrak biji manjakani dan daun sirih merah diperoleh dengan membandingkan daya hambatnya dengan daya hambat kontrol positif yaitu antibiotik *ciprofloxacin* 5 µg sebesar 25,06 mm (Tabel IV).

Tabel IV. Efektivitas antibakteri kombinasi ekstrak biji manjakani dan daun sirih merah terhadap *ciprofloxacin* 5 µg

Jenis Pelarut	Kelompok Perlakuan	Efektivitas Ekstrak	
		Rerata Ulangan	Efektivitas
n-heksan	75% (1:1)	9,93 mm	39,62%
	75% (1:2)	9,28 mm	37,03%
	75% (2:1)	11,77 mm	46,96%
	100% (1:1)	11,83 mm	47,20%
	100% (1:2)	9,80 mm	39,10%
	100% (2:1)	12,56 mm	50,12%
Etil Asetat	75% (1:1)	10,74 mm	42,85%
	75% (1:2)	10,89 mm	27,29%
	75% (2:1)	12,85 mm	51,27%
	100% (1:1)	11,18 mm	44,61%
	100% (1:2)	12,39 mm	49,44%
	100% (2:1)	13,58 mm	55,06%
Etanol 96%	75% (1:1)	12,13 mm	48,40%
	75% (1:2)	10,95 mm	43,69%
	75% (2:1)	12,99 mm	51,83%
	100% (1:1)	12,82 mm	51,15%
	100% (1:2)	11,61 mm	46,32%
	100% (2:1)	13,97 mm	55,74%

Hasil menunjukkan bahwa efektivitas antibakteri tertinggi didapatkan pada ekstrak kombinasi pelarut etanol 96% perbandingan 2:1 konsentrasi 100% terhadap pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae* sebesar 55,74%.

PEMBAHASAN

Hasil uji pada Gambar 2 dan Tabel 2 telah menunjukkan bahwa uji aktivitas antibakteri dari masing-masing fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan etanol 96% pada masing-masing ekstrak biji manjakani dan daun sirih merah mendapatkan hasil bahwa kedua ekstrak tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *K. pneumoniae*. Hal ini ditandai dengan adanya zona hambat yang terbentuk di sekitar disk. Pada ekstrak biji manjakani memiliki daya hambat lebih besar dibandingkan ekstrak daun sirih merah. Hal ini dikarenakan berbedanya kandungan senyawa antara biji manjakani dan daun sirih merah. Uji fitokimia yang dilakukan oleh Himalaya (2017) menyatakan bahwa biji manjakani memiliki kandungan senyawa fenol, flavonoid, steroid, triterpen, tanin, saponin dan alkaloid, sedangkan daun sirih merah memiliki kandungan senyawa minyak atsiri, alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid.

Kandungan senyawa antibakteri dalam ekstrak biji manjakani lebih kompleks dibandingkan daun sirih merah sehingga dapat menjadi faktor aktivitas penghambatan yang lebih besar pada biji manjakani. Hal ini sejalan dengan Listyorini (2019) yang menyatakan bahwa aktivitas antibakteri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kandungan senyawa antibakteri, daya difusi ekstrak, jenis bakteri yang dihambat dan konsentrasi ekstrak yang digunakan. Berdasarkan hal tersebut, pada kombinasi ekstrak dengan perbandingan ekstrak biji manjakani lebih besar dibandingkan daun sirih merah akan membentuk zona hambat yang lebih besar pula.

Tabel III menunjukkan bahwa diameter zona hambat terbesar terdapat pada pelarut etanol 96% perbandingan 2:1 dengan konsentrasi 100% (13,97 mm). Daya hambat terkecil terdapat pada pelarut *n*-heksan perbandingan 1:1 dengan konsentrasi 75% (9,93 mm). Ketentuan kekuatan suatu zat uji terhadap bakteri yaitu bila ukuran diameter zona hambat >20

mm tergolong sangat kuat, 10-20 mm tergolong kuat, 5-10 mm tergolong sedang, dan <5 mm tergolong lemah (T. Harlita & Aina, 2023). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi biji manjakani dan daun sirih merah tergolong sebagai antibakteri dengan kekuatan uji sedang-kuat.

Kekuatan daya hambat suatu ekstrak menunjukkan kemampuan ekstrak tersebut dalam aktivitasnya menghambat pertumbuhan bakteri, dimana semakin lebar diameter zona penghambatannya akan semakin besar pula aktivitas penghambatannya. Berdasarkan Gambar 4, diketahui bahwa aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak biji manjakani dan daun sirih merah dengan penghambatan terbesar yaitu pada pelarut etanol 96% kombinasi 2:1 (biji manjakani:daun sirih merah) sebesar 132,83% dan terkecil pada pelarut *n*-heksan kombinasi 1:2 konsentrasi 75% sebesar 54,66%. Berdasarkan hasil uji DMRT, kombinasi ekstrak dengan pelarut etanol 96% menghasilkan antibakteri tertinggi dan berbeda nyata dengan pelarut yang lainnya dan kombinasi ekstrak dengan pelarut *n*-heksan menghasilkan antibakteri terendah. Terdapat pengaruh perbandingan yang digunakan, ekstrak kombinasi yang menghasilkan antibakteri tertinggi dihasilkan oleh perbandingan 2:1 dan berbeda nyata dengan perbandingan yang lain dan antibakteri terendah dihasilkan oleh perbandingan 1:1. Terdapat pula pengaruh konsentrasi ekstrak dengan F_{hitung} lebih besar dari F_{tabel} dengan hasil antibakteri tertinggi dihasilkan oleh konsentrasi 100%. Kombinasi ekstrak terbaik dihasilkan oleh ekstrak etanol 96% perbandingan 2:1 (100%) dan oleh ekstrak etil asetat perbandingan 2:1 (100%), keduanya merupakan kombinasi yang menghasilkan antibakteri tertinggi. Kombinasi ekstrak *n*-heksan perbandingan 1:1 (75%) merupakan kombinasi yang menghasilkan antibakteri terendah.

Berdasarkan uji statistik tersebut, penelitian ini menunjukkan bahwa dari setiap pelarut yang digunakan, zona hambat terbesar selalu didapatkan pada kombinasi 2:1 dan dengan konsentrasi 100%. Hal

ini menunjukkan bahwa kedua bahan uji memiliki potensi yang saling menunjang jika digabungkan dengan perbandingan yang sama. Tetapi ketika dilakukan kombinasi dengan perbandingan yang lebih besar dari salah satunya, ekstrak biji manjakani lebih memiliki pengaruh yang lebih besar dibandingkan dengan daun sirih merah.

Jenis pelarut yang digunakan berpengaruh terhadap senyawa aktif yang ikut terekstraksi. Pelarut polar akan menarik senyawa yang bersifat polar, sedangkan pelarut non-polar akan menarik senyawa non-polar dan pelarut semi polar akan menarik senyawa polar (Harlita, T. et al., 2022) Pada penelitian ini menggunakan tiga jenis pelarut dengan kepolaran yang berbeda secara berturut-turut adalah *n*-heksan, etil asetat dan etanol 96%. Pada metode maserasi bertingkat didapatkan hasil ekstrak cair yang berkualitas karena masing-masing pelarut akan menarik senyawa yang sesuai dengan tingkat kepolaran sehingga mudah menarik senyawa tanpa ada gangguan yang ikut terekstrak dari senyawa golongan lain dan dapat terdistribusi berdasarkan kepolaran pelarut yang digunakan.

Peneliti mendapatkan ekstrak daun sirih merah sukar larut dalam *aquadest*, sedangkan ekstrak biji manjakani mudah larut dalam *aquadest*. Oleh karena itu, ekstrak daun sirih merah membutuhkan pengemulsi (*Tween 80*) untuk dapat larut sempurna dalam *aquadest*. *Tween 80* merupakan surfaktan non-ionik, berwujud cair, berwarna kekuningan, berminyak, dan larut dalam air, dan digunakan sebagai peningkat kelarutan. Pengemulsi ini tergolong surfaktan non-ionik yang memiliki toksisitas rendah sehingga dapat menaikkan laju kelarutan minyak dengan cara menurunkan tegangan antarmuka zat aktif suatu ekstrak dan medium pelarut sekaligus membentuk misel sehingga molekul minyak akan terbawa oleh misel larut dalam medium. Misel ini berperan dalam pelarutan yang terjadi pada molekul zat yang sukar larut dalam air melalui interaksi yang reversibel dengan misel dari surfaktan larutan sehingga

suatu larutan stabil secara termodinamika. Tween 80 baik digunakan sebagai agen peningkat kelarutan karena memiliki nilai HLB 15, dimana persyaratan sebagai agen pensolubilisasi adalah memiliki nilai HLB \geq 15. (Nurhadi, 2015).

Aktivitas daya hambat yang didapatkan tidak dipengaruhi dari pelarut maupun pengemulsi. Hal ini dibuktikan dengan uji bebas etanol yang dilakukan oleh peneliti dengan hasil tidak adanya perubahan warna dari jingga ke hijau-kebiruan, sehingga ekstrak yang menggunakan pelarut etanol 96% terbukti tidak memiliki kandungan etanol yang tersisa dalam ekstrak. Peneliti juga melakukan uji aktivitas antibakteri pada *aquadest* yang digunakan untuk mengencerkan ekstrak dan pada Tween 80 yang digunakan sebagai pengemulsi pada ekstrak daun sirih merah. Hasil yang didapatkan dari uji tersebut adalah tidak adanya zona hambat pada sekeliling *disc* yang berisi *aquadest* maupun Tween 80 yang artinya dari keduanya tidak memiliki kandungan antibakteri yang dapat mempengaruhi zona hambat yang terbentuk dari kombinasi ekstrak biji manjakani (*Q. infectoria*) dan daun sirih merah (*P. crocatum*).

Kontrol positif digunakan sebagai pembandingan dalam menentukan efektivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak biji manjakani (*Q. infectoria*) dan daun sirih merah (*P. crocatum*). Kontrol positif yang digunakan adalah *ciprofloxacin* 5 μ g. antibiotik *ciprofloxacin* dipilih sebagai kontrol positif karena merupakan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif dengan mekanisme menghambat replikasi DNA dan protein bakteri. *Ciprofloxacin* juga banyak digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif salah satunya adalah penyakit ISK yang disebabkan oleh *K. pneumoniae*. Mekanisme pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae* adalah dengan cara menguraikan laktosa dan replikasi DNA (Pratiwi, 2013). Hasil penelitian terhadap kontrol positif (*Ciprofloxacin*) menghasilkan zona hambat terhadap bakteri uji sebesar 25,06 mm dan kontrol

negatif (*aquadest* dan Tween 80) tidak menunjukkan adanya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri.

Ciprofloxacin 5 μ g sebagai kontrol positif menghasilkan zona hambat sebesar sebesar 25,06 mm terhadap bakteri *K. pneumoniae*. Menurut *Clinic Laboratory Standards Institute* (CLSI) Kriteria pola kepekaan antibiotik *disc* 5 μ g *ciprofloxacin* adalah resisten \leq 15 mm, *intermediate* 16-20 mm dan *sensitive* \geq 21 mm dengan demikian dapat disimpulkan bahwa *ciprofloxacin* 5 μ g sensitif terhadap bakteri *K. pneumoniae*. Pada penelitian ini zona hambat terbesar pada ekstrak kombinasi etanol 96% perbandingan 2:1 dengan konsentrasi 100% didapatkan efektivitas terhadap pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae* sebesar 55,74%. Dengan demikian ekstrak kombinasi biji manjakani (*Q. infectoria*) dan daun sirih merah (*P. crocatum*) memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae*, namun potensinya masih dibawah *ciprofloxacin*.

KESIMPULAN

Hasil dari masing-masing fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan etanol 96% pada masing-masing ekstrak biji manjakani (*Q. infectoria*) dan daun sirih merah (*P. crocatum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae*. Terdapat aktivitas antibakteri pada ekstrak kombinasi biji manjakani dan daun sirih merah dengan perbandingan 1:1, 1:2 dan 2:1 dan konsentrasi 75% dan 100% pada masing-masing fraksi *n*-heksan, etil asetat dan etanol 96% terhadap pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae*. Konsentrasi dan perbandingan yang paling efektif terdapat pada ekstrak etanol 96% kombinasi 2:1 dengan konsentrasi 100% yaitu sebesar 13,97 mm dan efektivitasnya sebesar 55,74% dengan kontrol positif *ciprofloxacin* 5 μ g sebesar 25,06 mm sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak kombinasi biji manjakani (*Q. infectoria*) dan daun sirih merah (*P. crocatum*) memiliki efektivitas antibakteri

terhadap bakteri *K. pneumoniae*, namun potensinya masih dibawah ciprofloxacin.

DAFTAR PUSTAKA

Asparinda, I., & Juwitaningsih, T. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri dan Uji Toksisitas Fraksi Non Polar Gal Manjakani (*Quercus infectoria*). *Acta Pharm Indo*, 8(2), 69–79.

Harlita, T., & Aina, G. 2023. The Antibacterial Activity of Dayak Onion Ethanol Extract (*Eleutherine Palmifolia* (L.) Merr) and Red Ginger (*Zingiber Officinale* Rosc Var. Rubrum) on Growth Gi Tract Pathogen Bacteria. *Jurnal Analis Medika Biosans (JAMBS)*, 10(1), 61–69.

Harlita, T., Aina, G., Kartini, R. (2022). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) dan Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc Var. Rubrum) Terhadap Pertumbuhan Salmonella typhy. *Sains Medisina*, 1(2), 109–117.

Harlita, T. D., Oedjijono, & Asnani, A. 2018. The Antibacterial Activity of Dayak Onion (*Eleutherine palmifolia* (L.) merr) Towards Pathogenic Bacteria. *Tropical Life Sciences Research*, 29(2), 39–52. <https://doi.org/10.21315/tlsr2018.29.2.4>

Himalaya, D. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Manjakani (*Quercus infectoria* Gall) Terhadap Bakteri Vginosis dan Candida Penyebab Keputihan (Leukorrhea). *Journal of Midwifery*, 5(1), 38–44.

Klau, M. L. C., Indriarini, D., & Nurina, R. L. 2021. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli Secara in Vitro. *Cendana Medical Journal (CMJ)*, 9(1), 102–111. <https://doi.org/10.35508/cmj.v9i1.4942>

Listyorini, D. (2019). Uji Daya Hambat Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Terhadap Bakteri Escherichia coli. *Karya Tulis Ilmiah*. STikes Bhakti Husada Mulia Madiun.

Lubis, A. A. G. (2019). Uji Resistensi Aantibiotika Terhadap Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Kemih (ISK) Di RSUP H. Adam Malik Medan. *Karya Tulis Ilmiah*. Politeknik Kesehatan Kemenkes RI Medan.

Muntasir, Abdulkadir, W. S., Harun, A. I., Priska Ernestina Tenda, Makkasau, Muliyadi, Saksosno, R. Y., Fernandez, S., & Wonga, T. M. (2021). *Antibiotik dan Resistensi Antibiotik*. Rizmedia Pustaka Indonesia.

Nemin, A. M. (2020). Karakteristik Pasien Infeksi Saluran Kemih Dirumah Sakit Umum Lasinrang Kabupaten Pinrang Provinsi Sulawesi Selatan Tahun

2018-2019. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin, Makassar.

Nurhadi, G. (2015). Pengaruh Konsentrasi Tween 80 Terhadap Stabilitas Fisik Obat Kumur Minyak Atsiri Herba Kemangi (*Ocimum americanum* L.). *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.

Pratiwi, D. S. (2013). Kajian Uji Resistensi Dan Sensitivitas Antibiotik Ceftriaxon dan Ciprofloxacin pada Penderita Infeksi Saluran Kemih di RSUP Fatmawati. *Skripsi*, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.

Rohadi, D., Zamzam, M. Y., & Rachmany, L. S. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli. *Medimuh*, 1(2), 171–178.

Triandini, I. G. A. A. H., Ruqqayah, S., & Astuti, N. L. B. (2018). Jurnal In Vitro Tanaman yang Berpotensi Sebagai Antibiotik Alami Untuk Radang Payudara (Mastitis). *Jurnal Sangkareang Mataram*, 4(3), 14–17.

Wiladatika, M. (2013). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz and Pav.) Dan Siprofloksasin Terhadap Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, dan Klebsiella pneumoniae Beserta Bioautografinya. *Naskah Publikasi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Yanti, N. (2016). Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Gal Manjakani (*Quercus infectoria*) Terhadap Candida albicans. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*, 1(1), 1–9. <https://medium.com/@arifwicaksanaa/pengertian-use-case-a7e576e1b6bf>