

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
KELOR (*Moringa oleifera*) DENGAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH
(*Piper betle*) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* SECARA *IN VITRO***

(Skripsi)

Oleh

**NISRINA ZALFA FATIN
2218011122**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
KELOR (*Moringa oleifera*) DENGAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH
(*Piper betle*) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* SECARA *IN VITRO***

Oleh

NISRINA ZALFA FATIN

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Jurusan Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

Judul Skripsi

: PERBANDINGAN AKTIVITAS
ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
KELOR (*Moringa oleifera*) DENGAN
EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper
betle*) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae*
SECARA IN VITRO

Nama Mahasiswa

: Nisrina Zalfa Fatin

No. Pokok Mahasiswa

: 2218011122

Program Studi

: Pendidikan Dokter

Fakultas

: Kedokteran

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Dr. dr. Tri Umiana Soleha, S.Ked., M. Kes
NIP 19760903 200501 2 001

dr. Shinta Nareswari, S.Ked., Sp. A
NIP 19891021 201404 2 001

2. Dekan Fakultas Kedokteran

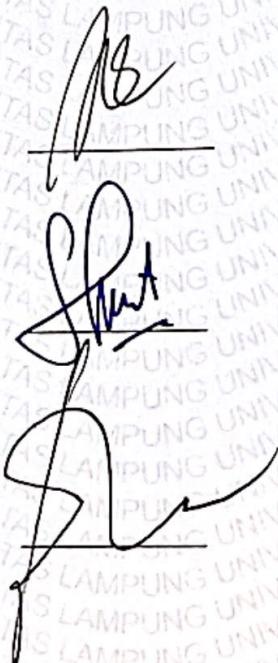
Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc
NIP 19760120 200312 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: Dr. dr. Tri Umiana Soleha, S. Ked., M. Kes

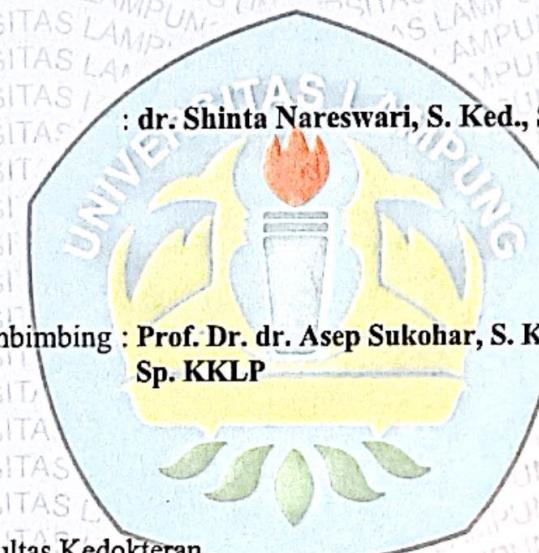


Sekretaris

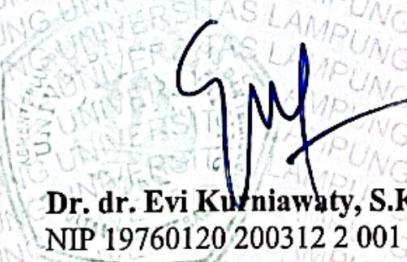
: dr. Shinta Nareswari, S. Ked., Sp. A

Penguji

Bukan Pembimbing : **Prof. Dr. dr. Asep Sukohar, S. Ked., M. Kes,
Sp. KKLP**



2. Dekan Fakultas Kedokteran


Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.

NIP 19760120 200312 2 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 5 Januari 2026

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nisrina Zalfa Fatin

NPM : 2218011122

Program Studi : Pendidikan Dokter

Judul Skripsi : PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera*)
DENGAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle*) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* SECARA IN VITRO

Dengan ini menyatakan bahwa karya ilmiah Skripsi ini merupakan **HASIL KARYA SAYA SENDIRI**. Apabila di kemudian hari terbukti adanya plagiarisme dan kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya bersedia diberi sanksi.

Bandar Lampung, 17 Desember 2025

Mahasiswa,



Nisrina Zalfa Fatin

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Bogor pada tanggal 12 Oktober 2004 sebagai anak kedua dari empat bersaudara, dari pasangan Bapak Adi Firmana dan Ibu Yeni Handayani. Penulis memiliki seorang kakak bernama Inda Fitria Salma serta dua adik bernama Sarah Zahira dan Muhammad Phijar Hakikat.

Penulis menempuh pendidikan dasar, menengah pertama, dan menengah atas di Bogor. Setelah menyelesaikan pendidikan menengah atas, penulis melanjutkan studi sebagai mahasiswi Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran di Universitas Lampung pada tahun 2022 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjalani masa perkuliahan preklinik, penulis aktif terlibat dalam kegiatan organisasi. Penulis bergabung dengan organisasi LUNAR–Medical Research Community (LUNAR-MRC) dan berperan sebagai anggota Divisi Resource Management pada periode 2024–2025. Melalui organisasi tersebut, penulis mengembangkan keterampilan dalam manajemen kegiatan serta koordinasi sumber daya.

“Untuk Mama, Papa, Teteh, dan Adik-adikku. Terima kasih atas dukungan, kasih sayang, dan kepercayaan yang selalu kalian berikan.”

“What stayed with me through the struggle became the reason I could finish.”

SANWACANA

Alhamdulillahirrabilalamin puji syukur senantiasa Penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya Penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi dengan judul “PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) DENGAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle*) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* SECARA *IN VITRO*” disusun sebagai pemenuh syarat guna mencapai gelar sarjana di Fakultas Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, masukan, bantuan, kritik, dan saran dari berbagai pihak. Dengan ini penulis ingin menyampaikan ucapan rasa terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. Dr. dr. Indri Windarti, S.Ked., Sp.PA., selaku Ketua Jurusan Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. dr. Intanri Kurniati, S.Ked., Sp.PK., selaku Kepala Program Studi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
5. Dr. dr. Tri Umiana Soleha, S. Ked., M. Kes., selaku Pembimbing Pertama yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing, memberikan kritik dan saran yang konstruktif selama proses penyusunan skripsi ini. Terima kasih atas segala dukungan dan nasihat yang tidak pernah putus diberikan selama proses penyusunan skripsi, penulis sangat menghargai ilmu yang telah dibagikan;

6. dr. Shinta Nareswari, S. Ked., Sp. A., selaku Pembimbing Kedua, yang bersedia meluangkan waktu dan tenaga, serta dengan sabar memberikan bimbingan, dukungan, kritik, saran yang membangun dalam penyelesaian skripsi ini. Terima kasih atas segala bimbingan dan ilmu yang telah diberikan kepada penulis;
7. Prof. Dr. dr. Asep Sukohar, S. Ked., M. Kes., Sp. KKLP., selaku Pembahas, yang telah meluangkan banyak waktu untuk memberikan masukan, kritik, saran, dan pembahasan yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi yang tidak akan pernah saya lupakan. Terima kasih atas arahan dan nasihat yang tidak pernah putus diberikan selama proses penyusunan skripsi ini;
8. dr. Novita Carolia, S. Ked., M. Sc., selaku Pembimbing Akademik, penulis mengucapkan terima kasih atas segala bimbingan, arahan, dan motivasi yang diberikan selama masa studi hingga penyusunan skripsi ini;
9. Segenap jajaran dosen dan civitas Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, yang telah mendidik dan membantu penulis selama perkuliahan;
10. Para laboran, penulis menyampaikan terima kasih atas bantuan, pendampingan, serta dukungan teknis selama proses penelitian sehingga penelitian dapat berjalan dengan baik dan lancar;
11. Mama dan Papa, dua rumah pertama dalam hidup penulis. Terima kasih untuk Mama yang selalu menjadi cahaya yang tidak pernah padam dalam hidup penulis. Untuk Papa, walaupun sudah tidak lagi mendampingi langkah ini secara fisik, setiap doa dan kenangan Papa akan tetap hidup dalam setiap pencapaian penulis. Semoga Papa menyaksikan dan bangga atas langkah ini dari tempat terbaik di sisi-Nya;
12. Teteh Inda, Sarah, dan Phijar, terima kasih yang dengan cara kalian masing-masing selalu membuat penulis merasa dicintai, ditemani, dan tidak pernah berjalan sendirian;
13. Keluarga besar, terima kasih yang sedalam-dalamnya atas segala doa, dukungan moril dan materiil, serta kepercayaan yang tidak pernah putus selama penulis menempuh pendidikan hingga selesainya skripsi ini;
14. Teman-teman SMP: Aulia, Nabilah, Karin, Suci, Adel, dan Mirfa. Terima kasih karena tetap menjaga hubungan baik hingga sekarang. Kehadiran dan

- dukungan kalian sangat berarti bagi penulis. Terima kasih atas cerita, dukungan, dan kebersamaan yang tidak pernah putus;
15. Trisyia, sahabat SMA yang selalu percaya dan medukung setiap langkah penulis. Terima kasih sudah menjadi teman yang bisa penulis percaya hingga hari ini;
 16. Keluarga DPA 1 (Epitel): Adin Dustin, Yunda Anin, Vania, Karin, Early, Fara, Nazwa, Laras, Yessa, Tia, Ressa, Karina, Anugrah, Timi, dan Dzakwan. Terima kasih telah menjadi rumah pertama di masa preklinik yang penuh lika-liku. Kehadiran kalian membuat perjalanan ini terasa lebih berarti;
 17. Aulia, Adel, dan Ika. Terima kasih karena sudah menjadi orang-orang terdekat yang selalu bisa diajak berbagi, saling mendengar, dan saling menguatkan. Kebersamaan kita benar-benar berarti bagi penulis;
 18. Teman-teman RDH: Lala, Vania, Asbor, Nara, Fayza, Ameera, Alfi, Nawra, Tia. Terima kasih atas kebersamaan, kerja sama, dan pengalaman selama masa preklinik yang membuat segalanya terasa lebih hangat dan bermakna;
 19. Ata, Avis, Sabrina, dan Naya. Terima kasih atas dukungan, kepedulian, dan kebersamaan yang membuat perjalanan di preklinik terasa lebih ringan dan bermakna;
 20. Tiara dan Rifat. Terima kasih atas dukungannya dan ketersediaan dalam menjadi tempat bercerita yang bisa penulis percaya;
 21. Keluarga DPA 6 (Genom): Daffi, Nicole, Lucia, Date, Shifa, Elsy, Caca, Lindi, Dini, Tiara, Gilang, Yubi, dan Ihsan. Terima kasih atas kebersamaan, dukungan, kekompakan, serta kasih sayang yang selalu membuat penulis merasa didukung dan dicintai;
 22. Teman-teman sejawat angkatan 2022 (Troponin-Tropomiosin), terima kasih untuk segala memori indahnya selama 7 semester ini. Semoga perjuangan yang sudah kita lalui dapat membantu kita menjadi dokter yang profesional;
 23. Terima kasih kepada segala pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah mendukung dan membantu dalam penyusunan skripsi ini.
 24. Terima kasih juga kepada diri saya sendiri, yang telah bertahan, berusaha, dan terus melangkah meskipun berbagai tantangan dan kelelahan kerap

datang silih berganti. Terima kasih karena tidak menyerah, tetap percaya pada proses, dan memberikan yang terbaik hingga skripsi ini dapat diselesaikan.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, Penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi kebermanfaatan bagi para pembacanya.

Bandar Lampung, 17 Desember 2025
Penulis

Nisrina Zalfa Fatin

ABSTRACT

Comparison of the Antibacterial Activity of *Moringa oleifera* Leaf Extract and *Piper betle* Leaf Extract Against *Klebsiella pneumoniae* In Vitro

By

NISRINA ZALFA FATIN

Background: Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria, particularly *Klebsiella pneumoniae*, poses a major global health concern due to the organism's ability to produce ESBL and carbapenemase enzymes. This condition encourages the development of alternative antimicrobial sources, including medicinal plants. *Moringa oleifera* and *Piper betle* contain bioactive compounds such as flavonoids, tannins, terpenoids, and saponins that are known to exhibit antibacterial activity. This study aimed to compare the antibacterial effectiveness of ethanol extracts of *M. oleifera* leaves and *P. betle* leaves against *K. pneumoniae* in vitro.

Methods: This experimental research used disc diffusion to assess inhibition zones and broth dilution to determine Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). Each extract was tested in several concentrations, with three replications per group.

Results: Both extracts demonstrated antibacterial activity; however, *P. betle* extract produced markedly larger inhibition zones, indicating stronger bacteriostatic effects. The MIC value of *P. betle* was lower than that of *M. oleifera*, showing that lower concentrations were sufficient to inhibit bacterial growth. Additionally, MBC testing revealed superior bacteriostatic capability in *P. betle* extract compared with *M. oleifera*.

Conclusions: Ethanol extracts of *M. oleifera* and *P. betle* leaves both inhibited the growth of *K. pneumoniae*, but *P. betle* demonstrated significantly greater antibacterial activity across all parameters. These findings support the potential of *P. betle* as a promising natural antibacterial candidate for further development in herbal-based therapies.

Keywords: Antibacterial activity, *Klebsiella pneumoniae*, MBC, MIC, *Moringa oleifera*, *Piper betle*

ABSTRAK

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) DENGAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle*) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* SECARA *IN VITRO*

Oleh

NISRINA ZALFA FATIN

Latar Belakang: Resistensi antibiotik pada bakteri Gram-negatif seperti *Klebsiella pneumoniae* menjadi masalah kesehatan yang semakin meningkat. Bakteri ini mampu menghasilkan enzim ESBL dan karbapenemase yang menyebabkan tingginya tingkat kegagalan terapi. Kondisi tersebut mendorong perlunya pemanfaatan bahan alami sebagai sumber alternatif antibakteri. Daun kelor (*Moringa oleifera*) dan daun sirih (*Piper betle*) diketahui mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, terpenoid, dan saponin yang berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian ini bertujuan membandingkan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelor dan daun sirih terhadap *K. pneumoniae* secara *in vitro*.

Metode: Penelitian eksperimental ini menggunakan metode difusi cakram untuk mengukur zona hambat serta metode dilusi untuk menentukan MIC dan MBC. Ekstrak diuji pada beberapa konsentrasi dengan tiga kali replikasi untuk setiap kelompok perlakuan.

Hasil: Kedua ekstrak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *K. pneumoniae*, namun ekstrak daun sirih memberikan zona hambat lebih besar dibandingkan daun kelor, mencerminkan kemampuan bakteriostatik yang lebih kuat. Nilai MIC ekstrak daun sirih lebih rendah, sehingga konsentrasi yang lebih kecil sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Uji MBC juga menunjukkan bahwa aktivitas bakteriostatik ekstrak sirih lebih tinggi dibandingkan ekstrak kelor.

Kesimpulan: Ekstrak etanol daun kelor dan daun sirih terbukti mampu menghambat pertumbuhan *K. pneumoniae*, tetapi ekstrak daun sirih menunjukkan efektivitas yang lebih tinggi pada seluruh parameter pengujian. Temuan ini mengindikasikan bahwa daun sirih memiliki potensi lebih besar sebagai kandidat antibakteri alami dalam pengembangan alternatif terapi berbasis herbal.

Kata Kunci: Antibakteri, daun kelor, daun sirih, *Klebsiella pneumoniae*, MBC, MIC

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti	6
1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat.....	6
1.4.3 Manfaat Bagi Institusi.....	6
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 7
2.1 Bakteri Uji.....	7
2.1.1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	7
2.1.2 Klasifikasi	8
2.1.3 Morfologi	8
2.1.4 Infeksi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	11
2.2 Tanaman Kelor.....	14
2.2.1 Deskripsi	14
2.2.2 Klasifikasi dan Taksonomi	16
2.2.3 Morfologi	16
2.2.4 Manfaat dan Kandungan Tanaman Kelor.....	17
2.2.5 Penelitian Terdahulu	19
2.3 Tanaman Sirih	20
2.3.1 Deskripsi	20
2.3.2 Klasifikasi dan Taksonomi	21
2.3.3 Morfologi	21
2.3.4 Manfaat dan Kandungan Tanaman Sirih	22
2.3.5 Penelitian Terdahulu	23
2.4 Uji Fitokimia	23
2.4.1 Kandungan Fitokimia Daun Kelor dan Daun Sirih	24
2.4.2 Flavonoid	26

2.4.3 Tanin	26
2.4.4 Terpenoid	27
2.4.5 Alkaloid	27
2.4.6 Saponin	28
2.4.7 Fenol	29
2.5 Ekstraksi.....	29
2.5.1 Metode Ekstraksi	30
2.5.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi	31
2.6 Antibakteri	32
2.6.1 Mekanisme Kerja Antibakteri.....	32
2.7 Uji Aktivitas Antibakteri.....	34
2.7.1 Metode Difusi Cakram.....	34
2.7.2 Metode Dilusi	36
2.8 Uji In Vitro.....	38
2.9 Kerangka Teori	39
2.10 Kerangka Konsep.....	40
2.11 Hipotesis Penelitian	40
BAB III METODE PENELITIAN	41
3.1 Metode Penelitian	41
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	41
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	42
3.3.1 Populasi Penelitian.....	42
3.3.2 Sampel Penelitian	42
3.4 Identifikasi Variabel Penelitian.....	43
3.4.1 Variabel Bebas (<i>independent variable</i>)	43
3.4.2 Variabel Terikat (<i>dependent variable</i>).....	43
3.5 Kriteria Sampel	44
3.5.1 Kriteria Inklusi	44
3.5.2 Kriteria Eksklusi	44
3.6 Definisi Operasional	45
3.7 Instrumen, dan Bahan Penelitian	46
3.7.1 Instrumen Penelitian	46
3.7.2 Bahan Penelitian	46
3.8 Prosedur dan Alur Penelitian	47
3.8.1 Prosedur Penelitian	47
3.8.2 Alur Penelitian	57
3.9 Manajemen Data	58
3.9.1 Sumber Data	58
3.9.2 Analisis Data.....	58
3.10 Etika Penelitian	60
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	61
4.1 Gambaran Umum Penelitian	61
4.2 Hasil Penelitian	62
4.2.1 Determinasi Tanaman	62
4.2.2 Persiapan Sampel dan Ekstraksi	62

4.2.3 Uji Fitokimia.....	63
4.2.4 Peremajaan Bakteri	67
4.2.5 Pembuatan Suspensi Bakteri.....	67
4.2.6 Uji Pendahuluan.....	68
4.3 Analisis Univariat	69
4.3.1 Difusi Cakram.....	69
4.3.2 Uji Dilusi.....	72
4.3.3 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas	78
4.4 Analisis Bivariat.....	79
4.5 Pembahasan.....	80
4.5.1 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor dan Daun Sirih terhadap <i>Klebsiella pneumoniae</i>	80
4.5.2 Perbandingan Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor dan Daun Sirih	84
4.6 Keterbatasan Penelitian.....	86
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	88
5.1 Kesimpulan	88
5.2 Saran	89
DAFTAR PUSTAKA	91
LAMPIRAN	100

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.1 Taksonomi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	8
Tabel 2.2 Taksonomi <i>Moringa oleifera</i>	16
Tabel 2.3 Penelitian Terdahulu Uji Aktivitas Antibakteri Daun Kelor.....	19
Tabel 2.4 Taksonomi <i>Piper betle</i>	21
Tabel 2.5 Penelitian Terdahulu Uji Aktivitas Antibakteri Daun Sirih	23
Tabel 2.6 Uji Kandungan Fitokimia Daun Kelor	24
Tabel 2.7 Uji Kandungan Fitokimia Daun Sirih	25
Tabel 3.1 Kelompok Perlakuan	43
Tabel 3.2 Definisi Operasional.....	45
Tabel 3.3 Kategori Diameter Zona Hambat	53
Tabel 4. 1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kelor	64
Tabel 4. 2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sirih.....	66
Tabel 4. 3 Perhitungan Pengenceran	69
Tabel 4. 4 Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Kelor.....	70
Tabel 4. 5 Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Sirih	71
Tabel 4. 6 Pertumbuhan Bakteri Ekstrak Etanol Daun Kelor Uji Dilusi.....	73
Tabel 4. 7 Pertumbuhan Bakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Uji Dilusi.....	74
Tabel 4. 8 MIC Ekstrak Etanol Daun Kelor dan Daun Sirih.....	75
Tabel 4. 9 MBC Ekstrak Etanol Daun Kelor dan Daun Sirih	76
Tabel 4. 10 Hasil Uji Normalitas dan Uji Homogenitas Zona Hambat	78
Tabel 4. 11 Hasil Uji Normalitas dan Uji Homogenitas MIC	78
Tabel 4. 12 Hasil Mann-Whitney Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Kelor.....	79
Tabel 4. 13 Hasil Mann-Whitney MIC Ekstrak Etanol Daun Sirih	79

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Gambaran <i>Klebsiella pneumoniae</i>	9
Gambar 2. 2 Morfologi Daun Kelor.	16
Gambar 2. 3 Morfologi Daun Sirih.	21
Gambar 2. 4 Kerangka Teori.	39
Gambar 2. 5 Kerangka Konsep.	40
Gambar 3.1 Alur Penelitian.	57
Gambar 4. 1 Dokumentasi Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kelor.	64
Gambar 4. 2 Dokumentasi Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sirih.....	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1 Ethical Clearance FK Universitas Lampung.....	101
Lampiran 2 Hasil Determinasi Daun Kelor.....	102
Lampiran 3 Hasil Determinasi Daun Sirih.....	102
Lampiran 4 Persiapan Sampel.....	103
Lampiran 5 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kelor.....	104
Lampiran 6 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sirih	105
Lampiran 7 Hasil Pengujian <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	106
Lampiran 8 Pertumbuhan Bakteri pada Media Nutrient Agar	107
Lampiran 9 Zona Hambat Ekstrak Daun Kelor.....	108
Lampiran 10 Zona Hambat Ekstrak Daun Sirih.....	109
Lampiran 11 Dilusi Cair Ekstrak Etanol Daun Kelor dan Daun Sirih	110
Lampiran 12 MBC Ekstrak Etanol Daun Kelor	111
Lampiran 13 MBC Ekstrak Etanol Daun Sirih	111
Lampiran 14 Dokumentasi Penelitian	112
Lampiran 15 Data Penelitian Diameter Zona Hambat	113
Lampiran 16 Data Penelitian MIC	114
Lampiran 17 Data Penelitian MBC	114
Lampiran 18 Hasil Analisis Penelitian.....	115

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan antibiotik membawa dampak besar terhadap penanganan infeksi bakteri. Namun, meningkatnya konsumsi yang tidak rasional memicu masalah serius, yakni resistensi antibiotik. Resistensi ini terjadi ketika terapi antibiotik menjadi tidak lagi efektif (Putri *et al.*, 2023). *World Health Organization* (WHO) bahkan menetapkan resistensi antibiotik sebagai salah satu dari sepuluh ancaman kesehatan masyarakat global. Berdasarkan laporan *Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System* (GLASS) 2019, telah terjadi peningkatan resistensi antibiotik di Indonesia, terutama dengan *strain Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* (Suryanditha *et al.*, 2024). Kedua bakteri ini termasuk dalam keluarga *Enterobacteriaceae*, yang diklasifikasikan sebagai bakteri Gram-negatif. Resistensi pada bakteri Gram-negatif multiresisten (MDR-GNB) utamanya disebabkan oleh produksi enzim termasuk *extended-spectrum beta-lactamases* (ESBL) dan karbapenemase. *Klebsiella pneumoniae* termasuk bakteri penghasil ESBL yang menunjukkan resistensi luas terhadap berbagai antibiotik (Bereanu *et al.*, 2024). Sebagai contoh, *isolate* dari RSUP Dr. Soeradji Tirtonegoro Klaten (2017) dan dari pasien *post-surgery* di Medan (2019) dilaporkan menunjukkan resisten terhadap berbagai antibiotik seperti ampicillin, ceftriaxone, cefuroxime, ciprofloxacin, hingga meropenem (Inggraini *et al.*, 2024).

Klebsiella pneumoniae adalah bakteri Gram-negatif bersifat kapsuler, tidak berflagel, non-motil, berukuran 0,3–1,5 μm x 0,6–6,0 μm , tidak berspora, serta mampu melakukan fermentasi laktosa (Inggraini *et*

al., 2024). Bakteri ini umum ditemukan di tanah, air, alat medis, serta tubuh manusia terutama di saluran gastrointestinal dan nasofaring (Suryanditha *et al.*, 2024; G. Wang *et al.*, 2020). Infeksinya dapat mengakibatkan pneumonia, infeksi saluran kemih, sepsis, dan infeksi nosokomial lainnya. Saat ini, *Klebsiella pneumoniae* termasuk dalam kelompok *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Enterobacter* spp (ESKAPE), yaitu enam bakteri patogen penyebab infeksi di layanan kesehatan yang dikenal memiliki resistensi tinggi akibat akumulasi gen resistensi melalui transfer gen horizontal (Suryanditha *et al.*, 2024).

Prevalensi infeksi *Klebsiella pneumoniae* bervariasi secara global, antara lain 13% di Amerika Serikat, 5% di Pakistan, 64,2% di Nigeria, 33,9% di India, 17,4% di Denmark, dan 14,1% di Singapura. Di Indonesia, infeksi *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBL ditemukan sebesar 35,35% dari 297 isolat pasien rawat inap pada bulan Januari hingga April 2005 di RSUD Dr. Soetomo, Surabaya. Prevalensi *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBL kemudian tercatat sebesar 23% pada Januari–Juni 2010, 50,28% pada Januari–November 2011, 58% pada Juli–Desember 2012, dan 38,5% pada Oktober 2014–Mei 2015 di rumah sakit yang sama. Secara nasional, bakteri ini merupakan patogen nosokomial yang sering ditemukan dan berkontribusi terhadap tingginya angka infeksi di rumah sakit. Hal ini diperkuat oleh penelitian Hidayat *et al.*, (2021) pada periode Juli hingga Desember 2019 yang menunjukkan tingginya angka kejadian infeksi oleh *Klebsiella pneumoniae* di Rumah Sakit Umum Daerah Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung. Pada penelitian tersebut *Klebsiella pneumoniae* menjadi salah satu patogen terbanyak penyebab infeksi nosokomial, ditunjukkan dengan frekuensi isolasi yang paling tinggi dari pasien. Dari total 525 pasien yang dirawat di ICU dan ruang rawat inap Non-ICU, *Klebsiella pneumoniae* ditemukan pada 24 dari 133 sampel (18%) di ruang ICU dan 32 dari 355 sampel (9%) di ruang rawat inap Non-ICU (Hidayat *et al.*, 2021; Inggraini *et al.*, 2024).

Melihat tingginya prevalensi infeksi *Klebsiella pneumoniae* yang merupakan salah satu bakteri penyebab resistensi antibiotik, maka pencarian alternatif terapi yang efektif menjadi hal yang mendesak, mendorong para peneliti melakukan pencarian alternatif pengobatan, salah satunya melalui pemanfaatan tanaman obat (Sadiyah *et al.*, 2022). *World Health Organization* (WHO) juga memberikan dukungan terhadap penggunaan obat tradisional apabila telah terbukti aman dan berkhasiat bagi kesehatan, sehingga mendorong semakin banyaknya penelitian terkait pengembangan fitofarmaka. Indonesia dikenal sebagai negara dengan keanekaragaman hayati yang sangat tinggi, khususnya pada jenis tumbuhan yang berpotensi dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Penggunaan tanaman dalam proses pengobatan merupakan pilihan alternatif untuk mencegah dan mengobati penyakit, karena dinilai memiliki risiko efek samping yang relatif lebih ringan serta dapat membantu menekan laju resistensi antibiotik, meskipun penggunaannya tetap berpotensi menimbulkan risiko apabila tidak berada di bawah pengawasan yang tepat. WHO memperkirakan bahwa sekitar 80% populasi di negara berkembang memanfaatkan tanaman sebagai sumber utama pengobatan, dan telah mengidentifikasi lebih dari 2.500 spesies tanaman di dunia yang memiliki manfaat dalam bidang kesehatan. Beberapa tanaman yang telah banyak digunakan dalam penelitian dan terbukti memiliki potensi sebagai antibakteri alami diantaranya adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) (Islamiyati *et al.*, 2023; Mutiara *et al.*, 2024; Naenggolan *et al.*, 2023).

Daun kelor (*Moringa oleifera*) termasuk pada famili *Moringaceae*. Secara historis tanaman ini telah dikenal untuk mengobati infeksi kulit, anemia, asma, bronkitis, epilepsi, diabetes, diare, dan penyakit lainnya. Beberapa studi sebelumnya menunjukkan bahwa terdapat komponen fitokimia dari *Moringa oleifera* termasuk tanin katekol, tanin galat, steroid, terpenoid, flavonoid, saponin, antrakuinon, dan alkaloid. Komponen-komponen ini diketahui memiliki potensi kuat sebagai agen antibakteri dengan merusak membran sel bakteri dan mengganggu

integritas, permeabilitas, dan konsistensi komponen sel bakteri, menyebabkan gangguan fisiologis dan replikasi material genetik sel bakteri, yang mengarah pada kematian sel. Aktivitas antibakteri dari ekstrak *Moringa oleifera* terhadap *Pseudomonas aeruginosa* telah menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 50% cukup signifikan dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* (Islamiyati *et al.*, 2023).

Sementara itu, daun sirih telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat secara empiris untuk mengobati berbagai keluhan seperti mimisan, bau mulut, radang tenggorokan, dan sakit mata (Sadiyah *et al.*, 2022). Daun sirih (*Piper betle*) menunjukkan aktivitas antibakteri, antioksidan, dan antihemolitik yang disebabkan oleh kandungan kimiawi dalam daunnya, seperti saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri. Senyawa saponin sebagai antimikroba mampu merusak membran sitoplasma serta membunuh sel. Flavonoid berperan dalam menghambat proses utama dalam biosintesis prostaglandin, terutama pada jalur siklooksigenase. Tanin diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi, antidiare, antiseptik, astringen, dan diuretik. Ekstrak dan minyak atsiri dari daun sirih menunjukkan aktivitas antibakteri dan antijamur. Dari penelitian oleh Djuma (2019), didapatkan kesimpulan bahwa ekstrak daun sirih hijau mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, dengan diameter zona hambat mencapai 20,3 mm pada konsentrasi 75%. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau dapat menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Sadiyah *et al.*, 2022).

Meski telah banyak studi terkait aktivitas antibakteri daun kelor dan daun sirih, sebagian besar dilakukan secara terpisah dan belum ada penelitian yang secara langsung membandingkan efektivitas keduanya terhadap *Klebsiella pneumoniae*. Selain itu, studi yang membahas aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* masih lebih terbatas dibandingkan dengan bakteri lain seperti *Staphylococcus aureus* atau *Escherichia coli*. Padahal, *Klebsiella pneumoniae* termasuk dalam kelompok bakteri ESKAPE yang menjadi fokus global karena tingkat

resistensinya yang tinggi. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk membandingkan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelor dan daun sirih terhadap *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro* dengan uji aktivitas antibakteri di laboratorium menggunakan metode difusi dan dilusi sebagai simulasi pertumbuhan bakteri, serta menentukan ekstrak mana yang lebih potensial sebagai kandidat terapi alternatif sehingga hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pada perkembangan terapi alternatif berbasis herbal untuk infeksi akibat bakteri resisten.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) dan daun sirih (*Piper betle*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*?
2. Bagaimana perbandingan efektivitas antibakteri antara kedua agen terhadap *Klebsiella pneumoniae* berdasarkan zona hambat, *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle*) terhadap *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro*.
2. Membandingkan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle*) terhadap *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelor dan daun sirih terhadap *Klebsiella pneumoniae* melalui pengujian zona hambat, MIC, dan MBC.

2. Membandingkan efektivitas antibakteri antara ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol daun sirih berdasarkan zona hambat, nilai MIC dan MBC terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

1. Menjadi sarana pembelajaran dan pengalaman dalam melakukan penelitian mikrobiologi, khususnya uji aktivitas antibakteri.
2. Meningkatkan pemahaman tentang resistensi antibiotik dan pemanfaatan tanaman obat sebagai alternatif terapi.

1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai potensi tanaman lokal sebagai agen antibakteri alami.
2. Mendorong pemanfaatan tanaman obat sebagai terapi alternatif yang lebih terjangkau dan mudah diakses, terutama di wilayah dengan keterbatasan akses terhadap antibiotik.

1.4.3 Manfaat Bagi Institusi

1. Menambah referensi ilmiah terkait pemanfaatan tanaman herbal sebagai antibakteri.
2. Menjadi dasar bagi penelitian lanjutan dalam pengembangan fitofarmaka atau formulasi obat tradisional yang aman dan efektif.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri Uji

2.1.1 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri Gram-negatif yang memiliki kapsul, non-motil, dan bersifat fakultatif anaerob, artinya dapat bertahan hidup baik dengan atau tanpa oksigen. Bakteri ini pertama kali diisolasi dari saluran pernapasan pasien yang meninggal akibat pneumonia oleh Edwin Klebs pada tahun 1875, dan kemudian dijelaskan lebih lanjut oleh Carl Friedländer pada tahun 1882. Oleh karena itu, bakteri ini sempat dikenal dengan sebutan *basil Friedländer*. Genus *Klebsiella* mencakup beberapa spesies, seperti *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella rhinoscleroma*, dan yang paling penting secara klinis adalah *Klebsiella pneumoniae*. Spesies ini dikenal sebagai patogen oportunistik dan seringkali menyebabkan infeksi yang berkaitan dengan tindakan medis (iatrogenik), sehingga memiliki dampak yang besar dalam dunia klinis. Pada manusia, *Klebsiella pneumoniae* umumnya dapat hidup sebagai penghuni normal di saluran hidung dan saluran pencernaan tanpa menimbulkan gejala. Namun, kondisi ini dapat berkembang menjadi infeksi apabila sistem kekebalan tubuh melemah, seperti pada penderita diabetes, pasien yang menjalani terapi glukokortikoid, atau penerima transplantasi organ (Chang *et al.*, 2021).

Sebagai patogen oportunistik, *K. pneumoniae* mampu menyebabkan berbagai jenis penyakit pada manusia meliputi bakteremia, pneumonia, dan infeksi saluran kemih (ISK), khususnya pada individu yang memiliki daya tahan tubuh yang rendah atau

pasien yang mendapatkan perawatan di rumah sakit. Bahkan, *K. pneumoniae* merupakan salah satu penyebab utama pneumonia nosokomial dan termasuk sedikit bakteri Gram-negatif yang dapat menyebabkan pneumonia primer. Selain itu, beberapa isolat *K. pneumoniae* termasuk dalam kelompok *Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae* (CRE), yaitu bakteri yang resisten terhadap karbapenem—kelas antibiotik spektrum luas yang umum digunakan. Resistensi ini menjadikan *K. pneumoniae* sebagai ancaman serius bagi kesehatan masyarakat global. World Health Organization (WHO) pun telah mengkategorikan isolat CRE, termasuk *K. pneumoniae*, sebagai "ancaman kritis", yang menandakan perlunya pengembangan antibiotik baru untuk menangani infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini (Abbas *et al.*, 2024).

2.1.2 Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat dilihat pada uraian di bawah ini.

Tabel 2.1 Taksonomi *Klebsiella pneumoniae*

Klasifikasi	Nama
Kingdom	Bacteria
Filum	Proteobacteria
Kelas	Gamma Proteobacteria
Ordo	Eterobacterales
Famili	Enterobactericeae
Genus	Klebsiella
Spesies	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

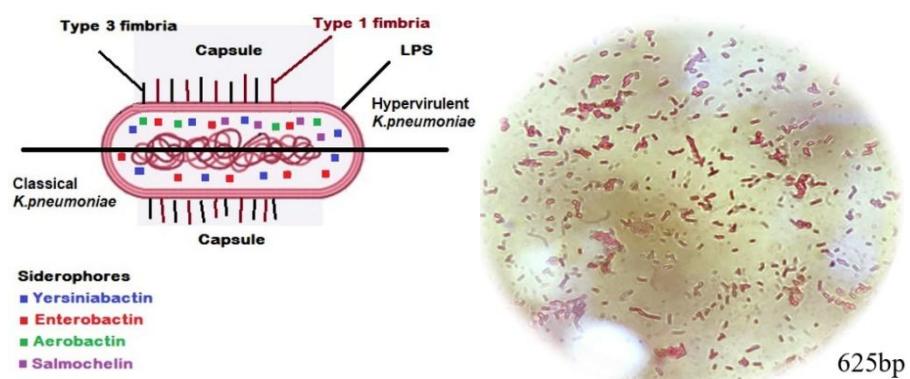
Sumber: (Umarudin *et al.*, 2023)

2.1.3 Morfologi

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri Gram-negatif berbentuk batang (basil) dengan ukuran 0,3–1,5 μm x 0,6–6,0 μm .

Bakteri ini bersifat non-motil atau tidak memiliki kemampuan bergerak. Bakteri ini diselimuti oleh kapsul yang berfungsi melindungi dari tekanan lingkungan, bahan kimia desinfektan, dan sejumlah antibiotik, sehingga menjadikannya salah satu patogen yang berbahaya. Struktur antigeniknya tergolong rumit karena terdiri atas antigen kapsular, antigen somatik, dan endotoksin, bahkan beberapa strain diketahui mampu memproduksi eksotoksin. Bakteri ini dapat menimbulkan beragam infeksi, seperti pneumonia, infeksi akut pada saluran pencernaan, infeksi saluran kemih dan reproduksi, radang selaput mata (konjungtivitis), peradangan selaput otak (meningitis), serta sepsis, termasuk pada hewan seperti anak domba. Selain itu, infeksi *Klebsiella* juga bisa berkembang sebagai infeksi sekunder setelah infeksi virus, yang dapat memperburuk kondisi pasien dan meningkatkan risiko kematian (Lenchenko *et al.*, 2020).

Klebsiella pneumoniae sendiri tergolong bakteri anaerob fakultatif, yaitu mampu tumbuh dalam lingkungan yang mengandung oksigen maupun tanpa oksigen. Penelitian menunjukkan bahwa bakteri ini dapat berkembang baik dalam kondisi aerob maupun anaerob. Secara biokimia, bakteri ini dapat memanfaatkan glukosa dan natrium sitrat, menghasilkan asetil metilkarbinol, memfermentasi inositol, serta menghidrolisis urea, tetapi tidak membentuk indol maupun hidrogen sulfida (Lenchenko *et al.*, 2020).



Gambar 2.1 Gambaran *Klebsiella pneumoniae*.

Sumber: (Karampatakis *et al.*, 2023; Watban & Al-Maaly, 2023)

Koloni *Klebsiella pneumoniae* pada media MacConkey tampak halus, cembung, dan berbentuk bulat, dengan tekstur yang lembap dan berlendir (*mucoid*). Ukuran koloni bervariasi dari kecil hingga besar, dengan pola pertumbuhan yang menunjukkan pergerakan meluas dan mengerut. Sementara itu, pada media nutrient agar, koloni yang terbentuk umumnya berukuran besar, halus, berlendir, serta berwarna putih keabu-abuan atau krem. *K. pneumoniae* merupakan bakteri non-hemolitik, yang menunjukkan hemolis gamma (γ -hemolis) saat ditumbuhkan pada agar darah, yaitu tanpa menyebabkan lisis sel darah merah. Di sisi lain, isolasi *K. pneumoniae* pada media CHROMagar Orientation menghasilkan koloni berwarna biru baja (*steel blue*) yang khas (Watban & Al-Maaly, 2023).

Faktor virulensi bakteri ini terdiri dari tujuh komponen utama, yaitu kapsul yang berperan dalam menghambat fagositosis oleh sistem imun, lipopolisakarida (LPS) yang melindungi bakteri dari sistem komplemen serum inang, *fimbriae* yang memungkinkan adhesi atau penempelan pada permukaan sel inang, siderofor yang berfungsi untuk mengikat dan mengambil zat besi dari lingkungan tubuh inang, bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain, resistensi terhadap serum, dan enzim *extended-spectrum β -lactamases* (ESBLs) yang memberikan perlindungan terhadap antibiotik golongan sefalosporin spektrum luas. Polisakarida kapsular (*K antigen*) dan lipopolisakarida (*O antigen*) pada *Klebsiella pneumoniae* merupakan dua faktor virulensi utama yang berperan penting dalam proses infeksi. Kedua antigen ini memiliki kemampuan untuk mengaktifkan sistem imun bawaan (*innate immune system*), sehingga memicu respons imun terhadap keberadaan bakteri (Choi *et al.*, 2020).

Antigen K, yang merupakan komponen utama kapsul, membantu bakteri menghindari proses fagositosis oleh sel imun. Antigen O, yang merupakan komponen dari struktur lipopolisakarida

di dinding sel bakteri, juga berkontribusi dalam merangsang reaksi imun serta memberikan perlindungan terhadap serangan dari sistem kekebalan tubuh inang. *Klebsiella pneumoniae* secara historis telah diklasifikasikan ke dalam 79 tipe kapsul berbeda berdasarkan serotipe antigen K. Di antara tipe-tipe tersebut, serotipe K1 dan K2 dikenal memiliki fenotipe hipermukoviskus yang khas, yaitu koloni yang sangat berlendir saat ditumbuhkan di media agar. Fenotipe ini disebabkan oleh peningkatan produksi polisakarida kapsul (*capsule polysaccharide/CPS*), yang merupakan faktor virulensi utama dari *K. pneumoniae* (Choi *et al.*, 2020).

2.1.4 Infeksi *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* yang dapat ditemukan secara alami di lingkungan seperti tanaman, tanah, dan air, dan hidup sebagai bagian dari mikrobiota normal pada saluran pernapasan bagian atas (nasofaring) dan saluran pencernaan manusia. *Enterobacteriaceae* adalah kelompok bakteri gram negatif berbentuk batang yang kerap menjadi agen patogen penyebab infeksi nosokomial. *Klebsiella pneumoniae* adalah spesies yang umumnya terlibat dalam infeksi mayor dan menjadi ancaman serius bagi kesehatan manusia. Organ-organ yang paling umum terserang oleh bakteri ini meliputi paru-paru (pneumonia), saluran kemih, aliran darah (bakteremia/sepsis), luka operasi, hingga otak (meningitis). Secara struktur, bakteri ini memiliki susunan antigen yang kompleks, terdiri atas antigen kapsuler, antigen somatik, dan endotoksin; beberapa *strain* juga mampu menghasilkan eksotoksin. Infeksi akibat *Klebsiella* dapat berkembang menjadi infeksi sekunder pasca infeksi virus, yang sering kali memperparah kondisi klinis dan meningkatkan risiko kematian (A. T. Putri *et al.*, 2024; Umarudin *et al.*, 2023).

K. pneumoniae dikenal sebagai salah satu patogen oportunistik yang paling penting, terutama karena perannya dalam infeksi nosokomial dan infeksi yang didapat dari masyarakat (*community-acquired pneumonia/CAP*), khususnya pada individu dengan daya tahan tubuh yang rendah dan menjalani rawat inap di rumah sakit. Peningkatan kasus infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini juga dipengaruhi oleh penggunaan antibiotik yang tidak tepat. Infeksi *K. pneumoniae* seringkali ditemukan pada pasien dengan luka bakar, infeksi saluran pernapasan dan saluran kemih. Namun, dalam beberapa tahun terakhir, bakteri ini juga mulai dikaitkan dengan kejadian abses hati, terutama di beberapa negara Asia (Umarudin *et al.*, 2023).

Berdasarkan perbedaan karakter genetik dan mekanisme patogenesisnya, *Klebsiella pneumoniae* diklasifikasikan menjadi dua tipe utama, yaitu *classical K. pneumoniae* (cKp) dan *hypervirulent K. pneumoniae* (HvKp). Tipe cKp umumnya menunjukkan resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik, namun jarang menimbulkan infeksi saluran kemih (ISK) pada individu sehat. Sebaliknya, HvKp bersifat lebih sensitif terhadap antibiotik, tetapi memiliki kemampuan untuk menyebabkan infeksi yang lebih parah dan invasif, baik pada individu sehat maupun pada mereka yang mengalami gangguan sistem imun. Tipe HvKp kini menjadi perhatian serius di kalangan klinisi karena tingkat kematian yang tinggi pada pasien yang terinfeksi. Selain itu, HvKp juga dianggap memiliki potensi untuk menimbulkan wabah besar, dengan tingkat penularan yang lebih tinggi dibandingkan *Escherichia coli*, bahkan dapat menyaingi dampak wabah seperti SARS-CoV-2. Salah satu contoh kejadian fatal adalah wabah HvKp yang terjadi di unit perawatan intensif (ICU) di rumah sakit di Tiongkok. Secara global, prevalensi infeksi HvKp dilaporkan lebih tinggi di wilayah Asia dibandingkan benua lainnya. Beberapa negara dengan angka kejadian HvKp yang tinggi antara lain Tiongkok

(68,9%), Jepang (16,9%), Vietnam (39%), dan India (7%) (Inggraini *et al.*, 2024).

Selain dikenal sebagai penyebab utama infeksi nosokomial, khususnya pada pasien dengan sistem imun yang lemah, kini *K. pneumoniae* juga semakin sering dilaporkan sebagai penyebab infeksi invasif yang didapat dari komunitas (*community-acquired pneumonia*). Kondisi ini terutama ditemukan pada populasi Asia Tenggara dan ditandai oleh penyebaran infeksi ke berbagai organ serta pembentukan abses multipel. Organ yang biasanya terdampak termasuk hati, meninges, otak, mata, dan dalam beberapa kasus kulit serta jaringan lunak. Sebagian besar pasien dengan sindrom ini memiliki riwayat diabetes melitus (Numan *et al.*, 2024).

Salah satu kasus yang dilaporkan menunjukkan infeksi *K. pneumoniae* invasif yang berasal dari kulit sebagai titik awal. Pasien tersebut mengalami abses di berbagai lokasi, seperti kulit, hati, paru kanan, dan otak. Kultur dari luka, abses hati, dan darah semuanya mengonfirmasi adanya infeksi *K. pneumoniae*. Setelah dilakukan tindakan drainase abses hati dan pemberian antibiotik sesuai hasil uji sensitivitas, pasien berhasil pulih sepenuhnya dalam waktu satu bulan. Laporan ini menekankan pentingnya deteksi dini dan penanganan yang tepat dalam menghadapi sindrom infeksi invasif *K. pneumoniae* yang didapat dari komunitas, demi meningkatkan peluang kesembuhan pasien (Numan *et al.*, 2024).

Mekanisme resistensi antibiotik pada *Klebsiella pneumoniae* terbagi menjadi dua jalur utama, yaitu melalui produksi enzim *extended-spectrum beta-lactamase* (ESBL) dan karbapenemase. Hal ini menjadikan salah satu tantangan besar dalam pengendalian infeksi *K. pneumoniae* karena enzim ESBL dapat menghidrolisis berbagai antibiotik β -laktam, termasuk penisilin dan sefalosporin. Infeksi yang disebabkan oleh *strain K. pneumoniae* penghasil ESBL maupun karbapenemase diketahui memiliki tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi, berkisar antara 22% hingga 72%, terutama pada pasien

rawat inap dengan kondisi sistem imun yang lemah. Bakteri ini menyebar dan menyebabkan infeksi melalui mekanisme transfer gen atau plasmid secara horizontal, yang memungkinkan pertukaran gen resistensi antar bakteri. Bahkan ketika pengobatan telah diberikan dengan antibiotik yang sesuai, tingkat kematian akibat pneumonia yang didapat dari fasilitas layanan kesehatan (*healthcare-acquired pneumonia/HAP*) yang disebabkan oleh *K. pneumoniae* tetap berada di atas 50%. Tingginya angka kejadian dan kematian akibat infeksi bakteri ini paling banyak terjadi pada kelompok rentan seperti bayi baru lahir, pasien dengan leukemia, dan individu dengan gangguan sistem kekebalan tubuh lainnya (Suryanditha *et al.*, 2024).

2.2 Tanaman Kelor

2.2.1 Deskripsi

Indonesia adalah salah satu negara dengan berbagai jenis tanaman. Tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) adalah salah satu tanaman Indonesia yang mengandung antioksidan. Tanaman ini telah diketahui selama bertahun-tahun dan secara alami terbukti berhubungan dengan manfaat dalam kesehatan, dan karena itu digunakan sebagai sarana alternatif pengobatan. Kelor memiliki berbagai nama di beberapa daerah di Indonesia, seperti kelor (Jawa, Sunda, Bali, Lampung), maronggih (Madura), moltong (Flores), keloro (Bugis), ongge (Bima), murong atau barunggai (Sumatera), dan hau fo (Timur). Tanaman ini dapat berkembang di berbagai jenis lingkungan, bahkan sering dijumpai di pekarangan rumah atau di lahan marjinal, dan memiliki daya tahan terhadap kekeringan (Irwan, 2020; Marhaeni, 2021).

Tanaman kelor pertama kali diperkenalkan dari India pada masa penjajahan, seiring dengan masuknya agama Hindu dan Buddha yang turut memengaruhi budaya masyarakat, termasuk dalam hal bercocok tanam. Selain di Indonesia, penyebaran tanaman kelor juga

meluas ke wilayah Asia Selatan, beberapa negara di Asia Tenggara, Semenanjung Arab, kawasan tropis Afrika, Amerika Tengah, Karibia, hingga wilayah tropis di Amerika Selatan. Di Indonesia sendiri, tanaman ini banyak ditemukan di Aceh, Kalimantan, Sulawesi, dan Kupang. Pada zaman dahulu, tanaman ini dianggap memberikan manfaat positif untuk berbagai penyakit, sering kali terkait dengan ritual pengusiran roh jahat atau praktik ilmu hitam. Dengan kuatnya kepercayaan masyarakat terhadap hal-hal mistis pada masa itu, kelor hingga kini masih sering dipersepsikan sebagai tanaman yang memiliki unsur mistis (Dani *et al.*, 2019).

Menurut penelitian yang dipaparkan oleh Fuglie LJ dalam bukunya *The Miracle Tree: The Multiple Attributes of Moringa*, terdapat berbagai vitamin seperti vitamin A, C, B, kalsium, zat besi, serta protein yang sangat tinggi pada daun kelor, namun tetap dapat diserap dan dicerna dengan mudah oleh tubuh manusia. Penelitian mengungkap bahwa tanaman kelor mengandung 46 senyawa antioksidan poten yang mampu mencegah efek dari radikal bebas, ditambah kandungan 18 asam amino di mana 8 diantaranya merupakan asam amino esensial vital untuk pembaruan sel-sel tubuh. Selain itu, kelor juga mengandung 36 senyawa antiinflamasi dilengkapi dengan 90 jenis nutrisi alami, seperti berbagai vitamin dan mineral. Karena kekayaan nutrisi ini, kelor sering disebut sebagai "*Miracle Tree*" atau "*Pohon Kehidupan*" (Krisnadi, 2015).

2.2.2 Klasifikasi dan Taksonomi

Secara sistematis, berikut klasifikasi tanaman kelor:

Tabel 2.2 Taksonomi *Moringa oleifera*

Klasifikasi	Nama
Kingdom	Plantae
Divisi	Spermatophyta
Subdivisi	Angiospermae
Kelas	Dicotyledoneae
Ordo	Brassicales
Famili	Moringaceae
Genus	Moringa
Spesies	<i>Moringa oleifera</i> L.

Sumber: (Marhaeni, 2021)

2.2.3 Morfologi

Tanaman kelor merupakan pohon berkayu lunak dengan diameter batang sekitar 30 cm.



Gambar 2.2 Morfologi Daun Kelor.

Sumber: (Satriyani, 2021)

Daunnya berbentuk menyirip tidak sempurna, kecil, menyerupai telur, berwarna hijau hingga hijau kecokelatan dengan ukuran antara 1 hingga 3 cm dan lebar 4 mm hingga 1 cm. Akar kelor memancarkan aroma serta rasa yang kuat serta pedas dengan bagian dalam berwarna kuning pucat dan tekstur yang berserat serta cukup

lembut. Bunga kelor umumnya berwarna putih kekuningan di Indonesia, dengan kelopak berwarna hijau dan beraroma harum (Marhaeni, 2021).

2.2.4 Manfaat dan Kandungan Tanaman Kelor

Tanaman kelor dikenal memiliki berbagai khasiat karena hampir seluruh bagianya dapat dimanfaatkan untuk pengobatan. Bagian-bagian seperti akar, daun, buah, bunga, dan biji memiliki manfaat spesifik. Akar kelor bermanfaat untuk meredakan perut kembung dan demam, serta dapat dioleskan ke kulit untuk mengatasi iritasi. Daun kelor sering dijadikan sayuran dalam menu sehari-hari. Selain sebagai makanan, daun kelor juga kerap digunakan dalam pengobatan tradisional. Buahnya umumnya diolah menjadi sayur bening atau dicampur santan. Beberapa masyarakat juga mengolah isi buah kelor yang diserut bersama kacang hijau dan santan untuk dijadikan hidangan sehari-hari. Bunga kelor dapat digunakan sebagai tonik, diuretik, serta obat untuk peradangan sendi dan pencuci mata. Batang kelor sering dimanfaatkan masyarakat sebagai pagar hidup atau pembatas lahan, terutama di lahan berbatu atau marginal. Selain itu, kulit batangnya juga dapat digunakan sebagai bahan pangan, dengan cara dikerik hingga terlihat kayunya, lalu ditaburkan ke atas daging atau ikan yang sedang direbus. Tunasnya digunakan untuk mengobati gangguan hati, ginjal, dan nyeri sendi. Biji kelor sering dimanfaatkan dalam pengobatan demam, rematik, dan gangguan kulit, sedangkan daunnya dikenal memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Dani *et al.*, 2019; Isnan & M, 2017).

Penelitian farmakologis terbaru menunjukkan bahwa berbagai ekstrak dari *Moringa oleifera* memiliki beragam aktivitas farmakologis, antara lain sebagai antimikroba, antijamur, antiinflamasi, antioksidan, antikanker, peningkat kesuburan, penyembuh luka, dan manfaat kesehatan lainnya (Pareek *et al.*, 2023). Tanaman kelor juga memiliki sejumlah manfaat terapeutik yang telah

banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional (Isnand M, 2017), di antaranya:

1. Menurunkan berat badan. Dengan meningkatkan dan memperlancar metabolisme tubuh, daun kelor membantu membakar kalori lebih cepat dan efektif, yang berkontribusi pada penurunan berat badan.
2. Antidiabetes, kandungan seng (*zinc*) yang tinggi pada daun kelor berperan penting dalam produksi insulin. Karena itu, kelor memberikan efek signifikan sebagai agen antidiabetes.
3. Mencegah penyakit jantung. Konsumsi daun kelor membantu menurunkan kadar lipid teroksidasi dalam tubuh serta melindungi jaringan jantung dari kerusakan struktural.
4. Menjaga kesehatan rambut. Asupan nutrisi yang lengkap dalam daun kelor mendukung pertumbuhan rambut yang sehat dan mengkilap.
5. Menjaga kesehatan mata. Dengan adanya kandungan vitamin A yang melimpah, yang bisa dimanfaatkan untuk menjaga kejernihan penglihatan. Untuk penggunaan luar, air rebusan daun kelor bisa dimanfaatkan sebagai pencuci mata. Alternatif lainnya adalah menumbuk 3 tangkai daun kelor, mencampurnya dengan segelas air, mendiamkannya hingga mengendap, dan menggunakan airnya sebagai obat tetes mata.
6. Mengatasi rematik. Kandungan kalsium yang melimpah dalam daun kelor dapat memenuhi kebutuhan nutrisi tulang, mengurangi rasa nyeri pada sendi, serta membantu menurunkan jumlah asam urat pada tubuh yang menyebabkan rematik.
7. Mengobati herpes atau kurap. Penyakit kulit seperti herpes yang disebabkan oleh virus famili *Herpetoviridae* dapat diatasi dengan menumbuk 3–7 tangkai daun kelor dan menempelkannya pada area kulit yang terinfeksi.
8. Mengobati penyakit organ dalam seperti luka pada lambung, usus, dan batu ginjal. Konsumsi rutin daun kelor sebagai

makanan atau minuman rebusan dapat membantu meluruhkan batu ginjal dan memperlancar sistem pencernaan. Kelor diketahui memiliki kandungan antioksidan yang tinggi dan efektif untuk gangguan pencernaan.

9. Mengobati kanker. Daun kelor mengandung antioksidan dan kalium yang tinggi, yang berperan dalam menghambat pertumbuhan sel kanker serta membantu mengeliminasi sel-sel abnormal. Kandungan asam amino pada kelor juga berfungsi dalam meningkatkan daya tahan tubuh.

2.2.5 Penelitian Terdahulu

Tabel 2.3 Penelitian Terdahulu Uji Aktivitas Antibakteri Daun Kelor

Nama & Tahun	Judul	Metode	Hasil Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Arfianti (2020)	Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Kelor terhadap <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Uji Difusi Cakram	Zona hambat: 19,2 mm (100%), 16,1 mm (75%), 14,1 mm (50%), 6,63 mm (25%)	Menggunakan ekstrak daun kelor untuk uji terhadap <i>K. pneumoniae</i>	Menggunakan fraksi etil asetat sebagai pelarut; menunjukkan aktivitas antibakteri yang tinggi
Bancessi et al. (2019)	Antibacterial Activity of <i>Moringa oleifera</i> Leaf Extract against <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Uji Difusi Cakram	Zona hambat sebesar 10 mm pada konsentrasi 25% (ekstrak etanol 95%)	Sama-sama menunjukkan potensi antibakteri daun kelor terhadap <i>K. pneumoniae</i>	Konsentrasi lebih rendah dari Arfianti, tetapi tetap menunjukkan efek antibakteri; pelarut etanol 95% memberikan hasil berbeda dibanding etanol biasa

Sumber: (Arfianti, 2020; Bancessi et al., 2020)

2.3 Tanaman Sirih

2.3.1 Deskripsi

Piper betle L., atau yang lebih dikenal dengan sirih, merupakan tanaman dari famili *Piperaceae* yang banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional serta memiliki peran penting dalam berbagai budaya masyarakat Asia, termasuk Indonesia (Silalahi, 2020). Tanaman sirih tumbuh subur di wilayah beriklim sedang hingga basah, dengan curah hujan tahunan berkisar antara 2000–3000 mm, dan memiliki periode kering kurang dari tiga bulan. Tanaman ini termasuk tumbuhan merambat dan penyebarannya di wilayah Nusantara tergolong terbatas. Sirih dikenal sebagai flora identitas Provinsi Kepulauan Riau. Dari sisi etnobotani, sirih memainkan peran penting dalam budaya berbagai suku di Indonesia. Misalnya, budaya “menyirih” umum ditemukan di wilayah Timur seperti Nusa Tenggara Timur dan Papua, sementara di kalangan masyarakat Jawa, sirih digunakan dalam tradisi “cok bakal” sebagai sesajen, atau dalam bentuk “gantal” pada upacara pernikahan. Di kalangan masyarakat Melayu, daun sirih bahkan menjadi simbol penghormatan terhadap tamu (Rahmawati *et al.*, 2020).

Potensi tanaman ini sebagai bahan pengobatan herbal sangat besar karena kekayaan kandungan senyawanya. Pada daunnya diketahui terdapat minyak atsiri 0,8-1,8%, yang terdiri dari senyawa aktif seperti kavikol, fenol sirih (kavibetol), hidroksikavikol (allylpyrocatechol), karvakrol, kariofilen, sineol, tanin, eugenol, p-simen, terpenoid, fenilpropan, riboflavin, asam nikotinat, tiamin, gula, asam amino, vitamin C, pati, dan kadimen estragol. Dengan kandungan tersebut, daun sirih tidak hanya mampu membunuh bakteri, tetapi juga berfungsi sebagai antiinflamasi, pereda gatal, pereda batuk, antiseptik, dan dapat menghentikan pendarahan (Rahmawati *et al.*, 2020).

2.3.2 Klasifikasi dan Taksonomi

Secara sistematis, berikut klasifikasi tanaman sirih:

Tabel 2.4 Taksonomi *Piper betle*

Klasifikasi	Nama
Kingdom	Plantae
Divisi	Magnoliophyta
Subdivisi	Magnoliopsida
Kelas	Magnoliidae
Ordo	Piperales
Famili	Piperaceae
Genus	Piper
Spesies	<i>Piper betle</i> L.

Sumber: (Sarjani *et al.*, 2017)

2.3.3 Morfologi

Tanaman sirih batangnya berwarna coklat kehijauan, bentuknya bulat, beralur, serta dilengkapi dengan buku-buku yang menjadi tempat keluarnya akar. Daunnya tunggal, berbentuk seperti hati di bagian pangkal dan meruncing di ujung, dengan tepi yang rata. Permukaan daun sirih licin, dengan tulang daun yang menyirip, memiliki panjang antara 5 hingga 8 cm dan lebar 2 hingga 5 cm. Daunnya tumbuh secara berseling, bertangkai, dan mengeluarkan aroma khas ketika diremas, dengan panjang daun berkisar antara 6 hingga 17,5 cm dan lebar 3,5 hingga 10 cm (Siregar *et al.*, 2021).



Gambar 2.3 Morfologi Daun Sirih.

Sumber: (Sarjani *et al.*, 2017)

Akar sirih merupakan akar tunggang yang berbentuk lonjong, berwarna coklat kekuningan, tumbuh merambat, dan memiliki banyak tunas baru yang muncul di bagian akar. Batang tanaman sirih berwarna hijau kecoklatan, berbentuk bulat dengan ruas-ruas, dan dilengkapi dengan sulur-sulur tempat tumbuhnya akar. Bunga sirih berbentuk bulir dan terkulai, ditutupi oleh daun pelindung elips dengan diameter sekitar 1 mm. Bunga jantan memiliki tangkai yang panjangnya 1,5 hingga 3 cm dan benang sari yang pendek, sedangkan bunga betina memiliki tangkai antara 2,5 hingga 6 cm dengan kepala putik yang lebih panjang. Buah sirih berbentuk bulat telur kecil dengan ujung gundul dan berwarna abu-abu sampai hitam, ditutupi rambut-rambut halus, tersebunyi, berwarna kehijauan sampai keabu-abuan, dan berdaging. Bagian dalam buah berbentuk bulat pipih dengan biji berwarna hitam, dan setiap buahnya berisi 10 sampai 20 biji (Siregar *et al.*, 2021).

2.3.4 Manfaat dan Kandungan Tanaman Sirih

Tanaman sirih memiliki berbagai manfaat obat, termasuk untuk sakit kepala, sakit kulit, radang mata, hidung berdarah, trakoma, bisul, kerusakan gigi, bau mulut, gusi Bengkak, radang tenggorokan, sariawan, asam urat, penyakit jantung, produksi ASI yang berlebihan, batuk kering, dan keputihan. Tanaman sirih memiliki nilai ekonomis yang tinggi karena banyak kegunaannya yang bermanfaat dalam kehidupan masyarakat, termasuk dalam bidang ekonomi. Salah satu contoh pemanfaatannya yang dapat meningkatkan nilai ekonomi adalah penggunaan daun sirih (*Piper betle*) sebagai bahan dasar pembuatan *hand sanitizer* yang memiliki sifat antiseptik (Siregar *et al.*, 2021).

2.3.5 Penelitian Terdahulu

Tabel 2.5 Penelitian Terdahulu Uji Aktivitas Antibakteri Daun Sirih

Nama & Tahun	Judul	Metode	Hasil Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Wahyuni et al., (2024)	Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau terhadap <i>K. pneumoniae</i>	Uji Difusi Cakram	Zona hambat tertinggi pada 7,5% = 10,9 mm; zona hambat terendah pada 3% = 4 mm	Sama-sama menggunakan ekstrak etanol daun sirih hijau dan metode difusi cakram melawan <i>K. pneumoniae</i>	Menggunakan konsentrasi rendah (3–7,5%) dan hasil zona hambat relatif kecil
Raudah et al. (2022)	Uji Aktivitas Antibakteri Daun Sirih Hijau terhadap <i>K. pneumoniae</i>	Uji Difusi Cakram	Zona hambat tertinggi pada 100% = 26,7 mm; zona hambat terendah pada 20% = 18,7 mm	Sama-sama menunjukkan ekstrak daun sirih efektif sebagai antibakteri terhadap <i>K. pneumoniae</i>	Menggunakan konsentrasi tinggi dari pelarut metanol (20–100%) hasilnya zona hambat jauh lebih besar

Sumber: (Raudah et al., 2022; Wahyuni et al., 2024)

2.4 Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan prosedur yang dilakukan untuk menganalisis kandungan senyawa kimia yang ada dalam sampel tumbuhan atau hewan, baik secara menyeluruh atau hanya pada bagian-bagian spesifik dari sampel tersebut. Tujuan utama dari uji fitokimia adalah untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa bioaktif yang mungkin memiliki efek farmakologis, yang dapat berpotensi menjadi sumber pengembangan obat-obatan baru, termasuk obat dengan sifat antibakteri, antivirus, dan manfaat terapeutik lainnya (Jonathan et al., 2024).

2.4.1 Kandungan Fitokimia Daun Kelor dan Daun Sirih

2.4.1.1 Daun Kelor

Daun kelor memiliki kandungan senyawa kimia seperti flavonoid, alkaloid, steroid, tannin, fenolat, dan triterpenoid yang bekerja sebagai antikanker dan antibakteri. Selain itu, kelor juga mengandung antioksidan seperti vitamin A (alpha & beta-carotene) dan vitamin E, serta karotenoid, yang merupakan antioksidan larut dalam minyak. Senyawa-senyawa ini dapat digunakan untuk mengabsorbsi radikal bebas yang terdapat pada minyak goreng bekas (Novitasari & Nazilah, 2020; Saputra *et al.*, 2020).

Pada penelitian uji kandungan fitokimia pada daun kelor yang dilakukan Rivai, (2020) menunjukkan hasil seperti berikut.

Tabel 2.6 Uji Kandungan Fitokimia Daun Kelor

No	Golongan senyawa	Hasil	Keterangan
1	Flavonoid	+	Terdapat bercak berwarna kuning setelah disemprot AlCl ₃ , 10%
2	Tannin	+	Terdapat bercak berwarna hitam setelah disemprot FeCl ₃ , 5%
3	Terpenoid	+	Terdapat bercak berwarna merah muda kecoklatan setelah disemprot H ₂ SO ₄
4	Alkaloid	+	Terdapat endapan putih setelah ditambahkan pereaksi Dragendorf
5	Saponin	+	Terbentuk busa stabil setelah dipanaskan dan dikocok

Sumber: (Rivai, 2020)

2.4.1.2 Daun Sirih

Daun sirih hijau mengandung berbagai senyawa fitokimia seperti tanin, saponin, dan flavonoid yang berfungsi sebagai antimikroba dan antioksidan. Pada daun ini juga terdapat senyawa utama lainnya seperti alkaloid, terpenoid,

steroid, dan senyawa fenolik. Meskipun senyawa fitokimia memberikan efek farmakologis, beberapa di antaranya memiliki kelemahan, seperti ketidakstabilan terhadap suhu tinggi dan paparan cahaya yang kuat, sehingga mudah mengalami oksidasi, contohnya flavonoid dan polifenol. Daun sirih hijau mengandung sekitar 4,2% minyak atsiri yang sebagian besar terdiri dari betaphenol, cineol, metil eugenol, kariofilen, kavikol, kavibekol, estragol, dan terpinen. Kandungan fenol seperti carvacrol dan senyawa fenilpropanoid seperti eugenol dan kavikol pada minyak atsiri ini diketahui memiliki kemampuan antimikroba yang kuat, baik terhadap bakteri maupun jamur (Nisyak *et al.*, 2022). Pada penelitian (Vifta *et al.*, 2017) juga dapat disimpulkan bahwa kandungan senyawa fitokimia dalam daun sirih hijau, seperti tanin, saponin, dan flavonoid, berfungsi sebagai antimikroba dan memiliki kemampuan antiseptik yang sebanding dengan antibiotik.

Pada penelitian uji kandungan fitokimia pada daun sirih yang dilakukan (N. K. W. Putri *et al.*, 2023) menunjukkan hasil seperti berikut.

Tabel 2.7 Uji Kandungan Fitokimia Daun Sirih

Golongan senyawa	Reagen	Hasil	Ket
Alkaloid	Mayer	Terbentuknya endapan putih	+
Flavonoid	Dragendorff Mg + HCl pekat	Terdapat endapan jingga warna jingga	+
Tanin	FeCl3	Hijau kehitaman	+
Saponin	Akuadest + kocok 10 detik HCl 1 N	Terbentuknya busa	+
Steroid	Kloroform + asam asetat anhidrat + H2SO4	Terbentuknya cincin berwarna hijau	+

Sumber: (Putri *et al.*, 2023)

2.4.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa alami dari tumbuhan yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Antioksidan berfungsi dalam proses penyembuhan luka dengan cara menetralisir radikal bebas sehingga dapat mencegah terjadinya reaksi oksidasi. Tubuh memproduksi antioksidan endogen, namun ketika stres oksidatif meningkat, diperlukan suplementasi antioksidan eksogen. Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang tersusun atas cincin benzopiron dengan gugus fenolik atau polifenolik pada berbagai posisi. Senyawa ini banyak ditemukan dalam buah-buahan, sayuran, biji-bijian, kacang-kacangan, batang, bunga, dan biji tanaman. Keberadaan senyawa fitokimia aktif ini memberikan nilai farmakologis pada tanaman, sehingga flavonoid dikenal luas sebagai agen terapeutik. Flavonoid secara alami disintesis melalui jalur fenilpropanoid dan aktivitas biologisnya sangat bergantung pada mekanisme absorpsi dan ketersediaannya dalam tubuh (Akbar *et al.*, 2024; Febriyanti *et al.*, 2024; Ullah *et al.*, 2020).

Berdasarkan struktur kimianya, flavonoid diklasifikasikan ke dalam beberapa jenis, seperti anthoxanthin (flavanon dan flavanol), flavanon, flavonol, flavan, chalcone, antosianidin, dan isoflavonoid. Contoh flavonoid yang ditemukan secara alami meliputi narigenin dan hesperetin pada jeruk dan anggur, serta antosianin dan glikosida kuersetin pada murbei. Flavonoid telah digunakan secara luas sebagai agen antikanker, antimikroba, antivirus, antiangiogenik, antimalaria, antioksidan, neuroprotektif, antitumor, serta antiproliferatif (Ullah *et al.*, 2020).

2.4.3 Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol dengan massa molekul yang besar (lebih dari 500). Struktur tanin terdiri dari gugus flavan-3-ol

yang terhubung melalui ikatan karbon pada posisi C4-C6 atau C4-C8. Berdasarkan struktur kimianya, tanin dapat diklasifikasikan menjadi dua, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Dalam konteks kesehatan, tanin diketahui memiliki berbagai manfaat, antara lain sebagai obat antidiare, zat antioksidan, antibakteri, dan astringen (Sunani & Hendriani, 2023).

2.4.4 Terpenoid

Terpenoid awalnya dikenal sebagai senyawa hidrokarbon siklik yang berasal dari minyak atsiri tumbuhan dengan rumus molekul $C_{10}H_{16}$. Kini, istilah ini mencakup kelompok metabolit sekunder lain yang berasal dari unit isoprena. Ketika struktur senyawa tersebut mengalami perubahan, maka disebut terpenoid. Bersama dengan steroid, terpenoid tergolong dalam kelompok besar isoprenoid. Terpenoid tidak hanya hadir sebagai hidrokarbon, namun juga dalam bentuk derivat beroksigen seperti alkohol, aldehid, asam karboksilat, keton, ester, dan glikosida. Proses biosintesis terpenoid berlangsung melalui dua jalur utama, yaitu jalur mevalonat (MVA) di sitoplasma dan jalur deoksi-D-xilulosa-5-fosfat (DXP) di plastida. Jalur MVA menghasilkan metabolit sekunder seperti seskuiterpen, sterol, dan triterpen, sedangkan jalur DXP menghasilkan monoterpen, diterpen, dan tetraterpene. Senyawa golongan terpenoid memiliki aktivitas farmakologi yang menarik, berfungsi sebagai antiviral, antibakteri, antiinflamasi, serta menghambat sintesis kolesterol dan memiliki sifat antikanker (Parekh *et al.*, 2024; Soliha *et al.*, 2017).

2.4.5 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa organik yang memiliki struktur cincin siklik dan mengandung satu atau lebih atom nitrogen yang bersifat basa. Senyawa ini banyak ditemukan sebagai metabolit

sekunder dalam tanaman dan hewan, walaupun sebagian besar penelitian farmakologis lebih difokuskan pada alkaloid dari tumbuhan. Alkaloid biasanya disintesis dari asam amino dan ditemukan dalam biji, akar, batang, dan daun dari berbagai famili tanaman seperti *Solanaceae*, *Papaveraceae*, dan *Amaryllidaceae*. Alkaloid bersifat larut dalam kondisi asam dan dapat melewati membran lipid saat netral. Senyawa ini telah dimanfaatkan dalam pengobatan, seperti morfin dan kodein sebagai analgesik, quinine untuk malaria, serta vincristine dan vinblastine sebagai agen antikanker. Selain itu, efek farmakologis lainnya meliputi antibakteri, antiasma, antihiperglikemik, dan sebagai stimulan atau relaksan (Olofinsan *et al.*, 2023).

2.4.6 Saponin

Saponin merupakan senyawa yang bersifat polar dan mudah larut dalam air. Ketika mengalami hidrolisis, senyawa ini akan menghasilkan aglikon. Saponin banyak ditemukan pada berbagai jenis tumbuhan, terutama yang memiliki massa molekul besar. Senyawa ini berbentuk glikosida, di mana molekul gula terikat pada aglikon jenis triterpen atau steroid. Umumnya, gula tersebut menempel pada satu gugus hidroksil (OH), khususnya di posisi C-3, atau bisa juga pada dua gugus OH, atau kombinasi antara satu gugus OH dan satu gugus karboksil (COOH). Untuk memastikan keberadaan saponin pada tanaman seperti rumput mutiara, diperlukan proses identifikasi senyawa. Saponin dikenal memiliki berbagai khasiat, di antaranya sebagai antiradang, antimikroba, serta memiliki aktivitas sitotoksik (Ismawati *et al.*, 2021).

2.4.7 Fenol

Senyawa fenol adalah senyawa yang memiliki gugus hidroksil (-OH) yang melekat langsung pada cincin aromatik hidrokarbon. Aktivitas biologisnya, termasuk antibakteri dan antifungi, dipengaruhi oleh jumlah gugus hidroksil yang terdapat pada cincin benzena. Di dalam tumbuhan, senyawa fenol dapat diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok, antara lain fenol sederhana, benzokuinon, asam fenolat, asetofenon, naftokuinon, xanton, bioflavonoid kumarin, stilben, turunan tirosin, asam hidroksi sinamat, flavonoid, lignan, dan tanin. Fenol merupakan metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tanaman dan memiliki kemampuan untuk merusak membran sel mikroba, sehingga dapat mengubah permeabilitas sel dan menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh sel mikroba (Pallawagau *et al.*, 2019).

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode yang digunakan untuk memisahkan berbagai komponen kimia dari campurannya dengan bantuan pelarut yang tepat. Keberhasilan ekstraksi sangat ditentukan oleh luas permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan langsung dengan pelarut; semakin halus serbuk simplisia, semakin optimal proses ekstraksi. Saat memilih metode ekstraksi, beberapa aspek penting harus diperhatikan, termasuk sifat senyawa, jenis pelarut yang digunakan, dan ketersediaan alat. Struktur kimia senyawa, suhu, dan tekanan juga merupakan faktor penting dalam proses ini. (Huijatusnaini *et al.*, 2021).

Pemilihan pelarut didasarkan pada polaritas senyawa yang ingin diambil. Ekstraksi bertingkat sering digunakan, yaitu dengan memanfaatkan pelarut dari yang paling nonpolar hingga yang paling polar. Urutan umum pelarut yang digunakan terdiri dari heksana atau petroleum eter (nonpolar), diikuti oleh kloroform atau diklorometana, kemudian etanol atau metanol

(semi-polar), dan terakhir air (polar) jika diperlukan. Sebelum proses ekstraksi dilakukan, simplisia dikumpulkan dan dibersihkan dari pengotor melalui proses pemilahan atau pencucian. Proses ekstraksi umumnya terdiri dari tiga langkah utama. Pertama, sejumlah pelarut ditambahkan untuk dikontakkan dengan sampel sehingga terjadi proses difusi. Kedua, senyawa yang diinginkan akan larut ke dalam pelarut membentuk fase ekstrak. Ketiga, fase ekstrak kemudian dipisahkan dari sisa sampel atau residu (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

2.5.1 Metode Ekstraksi

Umumnya, metode ekstraksi diklasifikasikan ke dalam dua kelompok, yang pertama ekstraksi padat-cair, metode ini bertujuan memisahkan senyawa aktif dari campuran padatan, seperti serbuk simplisia. Kedua, ekstraksi cair-cair, digunakan untuk memisahkan senyawa yang terkandung dalam campuran cairan. Terdapat berbagai metode yang dapat digunakan pada penelitian bahan alam, diantaranya adalah maserasi, perkolasii, refluks, soxhletasi, infusa, dekoktasi, destilasi, *counter current extraction*, *ultrasonic extraction*, gelombang mikro, hingga ekstraksi menggunakan pelarut gas superkritis. Di antara metode-metode ini, maserasi dan soxhletasi adalah metode yang paling umum digunakan (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

1. Maserasi

Maserasi merupakan metode yang dipakai untuk bahan yang tidak tahan terhadap panas. Teknik ini dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut tertentu pada temperatur ruangan (20-30°C) selama waktu tertentu, umumnya sambil diaduk selama 15 menit untuk mempercepat pelarutan senyawa aktif. Metode ini tidak merusak senyawa yang mudah rusak akibat panas (termolabil), serta alat dan prosedurnya relatif mudah. Prinsip dasar maserasi adalah kemampuan pelarut untuk melewati dinding sel tumbuhan dan melarutkan zat aktif yang terkandung di

dalamnya. Cairan pelarut akan masuk melalui dinding sel ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Dengan adanya perbedaan konsentrasi, zat aktif akan keluar dari sel dan larut dalam pelarut. Proses ini terus berlanjut hingga tercapai keseimbangan konsentrasi antara zat aktif di dalam dan di luar sel (Anggista *et al.*, 2019; Asworo & Widwiastuti, 2023).

2. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan metode ekstraksi menggunakan alat khusus yang memungkinkan terjadinya ekstraksi secara terus-menerus dengan pelarut segar. Proses ini melibatkan pemanasan pelarut hingga menguap, kemudian uap tersebut dikondensasikan oleh pendingin balik dan menetes ke dalam ruang ekstraksi yang berisi simplisia. Setelah mencapai volume tertentu, pelarut yang mengandung senyawa aktif akan kembali ke labu pemanas melalui saluran samping alat, dan proses ini berulang secara otomatis. Metode ini sangat efisien untuk ekstraksi senyawa aktif, terutama yang tahan panas. Pemilihan pelarut yang tepat sangat penting dalam soxhletasi. Pelarut yang baik adalah pelarut yang memiliki kemampuan melarutkan tinggi terhadap senyawa target, yang sangat bergantung pada kecocokan polaritas antara pelarut dan senyawa yang diekstrak (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

2.5.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi

Adapun faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi mencakup suhu, kecepatan pengadukan, ukuran dan bentuk partikel, kondisi bahan padat, jenis serta jumlah pelarut, serta metode dan durasi ekstraksi. Dalam ekstraksi, perpindahan massa terjadi sebagai proses fisika, di mana zat berpindah dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi yang lebih rendah. Semakin besar perbedaan konsentrasi, semakin cepat laju perpindahan massa hingga mencapai kesetimbangan. Faktor-faktor tersebut sangat penting untuk diperhatikan agar proses ekstraksi dapat berlangsung optimal dan

menghasilkan senyawa aktif yang diinginkan (Anggista *et al.*, 2019; Asworo & Widwiastuti, 2023).

Metode ekstraksi dan ukuran partikel juga berperan penting. Ukuran partikel berpengaruh pada luas permukaan kontak antara bahan dan pelarut. Semakin kecil ukuran partikel, maka luas permukaan kontak akan semakin besar, dan jarak difusi zat terlarut menjadi semakin pendek, sehingga proses ekstraksi dapat terlaksana dengan lebih cepat dan efisien. Lama waktu ekstraksi juga berpengaruh terhadap jumlah senyawa yang berhasil diambil. Jika waktu ekstraksi terlalu singkat, senyawa aktif mungkin belum sepenuhnya larut. Sebaliknya, jika terlalu lama, efektivitas ekstraksi tidak akan meningkat karena pelarut sudah mencapai kejemuhan. Berdasarkan pertimbangan tersebut, digunakan variasi lama maserasi selama 24 jam, 30 jam, dan 36 jam untuk mendapatkan hasil ekstraksi yang optimal (Anggista *et al.*, 2019; Asworo & Widwiastuti, 2023).

2.6 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa metabolit yang dihasilkan atau disintesis oleh berbagai jenis mikroorganisme, yang pada konsentrasi rendah memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan serta reproduksi bakteri. Zat antibakteri yang ideal seharusnya memiliki sifat toksitas selektif, yaitu mampu membunuh atau menghambat mikroorganisme patogen tanpa merusak sel tubuh inangnya. Berdasarkan mekanisme kerjanya, senyawa ini dapat bekerja dengan cara membunuh mikroorganisme secara langsung (bakterisidal) atau dengan menghambat pertumbuhannya tanpa membunuhnya (bakteriostatik) (Nazar, 2023).

2.6.1 Mekanisme Kerja Antibakteri

1. Antibiotik dengan Kerja Target Dinding Sel

Dinding sel bakteri adalah salah satu sasaran yang tepat untuk agen antimikroba. Dinding sel terdiri dari peptidoglikan, yang terdiri dari dua jenis gula, yaitu N-asetilglukosamin dan asam N-

asetilmuramat. Rantai samping peptida pada peptidoglikan membentuk ikatan silang, yang memberikan kekuatan struktural pada dinding sel. Antibiotik yang menargetkan dinding sel bakteri termasuk β -laktam (penisilin, sefaloспорин, karbapenem, dan monobaktam), glikopeptida, daptomisin, dan kolistin. Antibiotik ini menghambat sintesis peptidoglikan, yang merusak dinding sel dan membuat bakteri mudah pecah. Dengan demikian, dinding sel bakteri menjadi titik lemah yang dapat dieksloitasi dalam pengembangan terapi antimikroba (Anggita *et al.*, 2022).

2. Menghambat Sintesis Protein

Sintesis protein adalah proses vital bagi bakteri untuk berkembang biak. Proses ini dimulai dengan transkripsi gen bakteri menjadi RNA dan kemudian diterjemahkan oleh ribosom menjadi protein. Antibiotik yang menghambat sintesis protein bekerja dengan mengintervensi berbagai tahap proses ini, termasuk penghambatan pembacaan mRNA oleh ribosom. Beberapa antibiotik yang menghambat sintesis protein antara lain rifampisin, aminoglikosida, makrolid, tetrasiklin, kloramfenikol, klindamisin, dan linezolid. Antibiotik ini menghambat ribosom bakteri atau enzim yang terlibat dalam sintesis protein (Anggita *et al.*, 2022).

3. Target DNA atau Replikasi DNA

Replikasi DNA adalah proses di mana bakteri menggandakan materi genetiknya untuk pembelahan sel. Antibiotik yang menargetkan DNA bakteri bekerja dengan mengganggu proses ini, misalnya dengan menghambat sintesis nukleotida yang diperlukan untuk pembentukan DNA atau menghambat enzim yang terlibat dalam replikasi DNA. Antibiotik yang menargetkan DNA antara lain sulfa, kuinolon, dan metronidazol. Antibiotik ini mengganggu jalur sintesis folat atau enzim yang terlibat dalam replikasi DNA, yang menghambat kemampuan bakteri untuk berkembang biak (Anggita *et al.*, 2022).

2.7 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri merupakan prosedur yang dipakai untuk menilai kemampuan suatu senyawa atau sampel untuk menghambat dan/atau membunuh bakteri tertentu. Terdapat beberapa metode yang bisa digunakan untuk mengukur aktivitas antibakteri, termasuk difusi, pengenceran, dan mikrodilusi kaldu. Pada metode difusi, terdapat dua jenis yang umum digunakan yaitu difusi cakram dan difusi sumur. Metode difusi bertujuan untuk mengetahui sensitivitas bakteri terhadap antibiotik, yaitu sejauh mana bakteri mampu tumbuh di sekitar sumber antibiotik. Sedangkan metode dilusi, yang meliputi dilusi padat agar dan dilusi cair, digunakan untuk menentukan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) yaitu konsentrasi terkecil dari suatu senyawa yang mampu menghambat atau membunuh bakteri. Dengan menggunakan metode ini, para peneliti dapat mengevaluasi efektivitas senyawa antibakteri dan menentukan dosis yang tepat untuk aplikasi klinis (Nurul *et al.*, 2023).

Selain itu, untuk mendalami lebih lanjut efek antibakteri dari suatu senyawa, terdapat metode lain seperti uji *time-kill* dan metode fluks sitofluorometrik. Uji *time-kill* dapat memberikan informasi tentang sifat efek antibakteri, apakah bersifat bakterisidal (membunuh bakteri) atau bakteriosid (menghambat pertumbuhannya), serta sifat efek tersebut apakah tergantung pada waktu atau konsentrasi. Metode ini juga dapat mengungkapkan kerusakan yang terjadi pada sel mikroorganisme uji. Dengan menggunakan berbagai teknik ini, penelitian tentang aktivitas antibakteri dapat dilakukan secara lebih mendalam untuk mengetahui mekanisme dan efektivitas suatu senyawa dalam melawan infeksi bakteri (Balouiri *et al.*, 2016; Nurul *et al.*, 2023).

2.7.1 Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram merupakan cara yang terstandarisasi dan tepat untuk menguji aktivitas antibakteri, yang disarankan oleh

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) dan European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) dengan waktu inkubasi 16–18 jam untuk mayoritas spesies dan kombinasi obat. Metode yang dikenal sebagai Uji Difusi Cakram Kirby Bauer ini digunakan sebagai alternatif yang efektif untuk metode broth. Prinsip dasar uji ini adalah dengan mengoleskan inokulum bakteri (sekitar $1\text{--}2 \times 10^8$ CFU/mL) ke permukaan lempeng agar Mueller-Hinton berdiameter 150 mm. Kemudian, 12 disk antibiotik dengan konsentrasi tetap ditempatkan pada permukaan agar yang telah diinokulasikan. Media tersebut selanjutnya diinkubasi pada suhu 35–37°C selama 16–24 jam sebelum hasil uji dievaluasi (Nurul *et al.*, 2023).

Jika antibiotik efektif terhadap bakteri pada konsentrasi tertentu, bakteri tidak akan tumbuh di area agar yang memiliki konsentrasi antibiotik lebih tinggi dari konsentrasi efektifnya. Wilayah tanpa pertumbuhan bakteri ini dikenal sebagai zona hambat, yang dapat terlihat dengan perbedaan warna yang jelas dibandingkan dengan daerah pertumbuhan bakteri. Pengukuran diameter zona hambat ini dapat menunjukkan apakah antibiotik efektif dalam pengobatan atau tidak. Semakin besar diameter zona hambat, semakin efektif antibiotik tersebut. Rentang diameter yang tepat sudah terdokumentasi dengan baik dan distandarisasi oleh Clinical & Laboratory Standards Institute (Bhargav *et al.*, 2016).

Uji difusi cakram memiliki banyak kelebihan, seperti biaya yang rendah, fleksibilitas, dan memungkinkan pertumbuhan organisme yang dapat terlihat dengan jelas. Keuntungan lainnya adalah memungkinkan pengujian langsung terhadap kerentanannya (*Direct Susceptibility Testing*, DST). Metode ini sederhana dan hemat biaya, memerlukan peralatan khusus yang minim, sehingga dapat diakses oleh peneliti dengan sumber daya terbatas. Uji ini memungkinkan evaluasi simultan berbagai substansi uji terhadap mikroorganisme tunggal, serta analisis perbandingan aktivitas

antibakterinya. Walaupun memberikan informasi kualitatif, adanya zona hambat yang jelas dapat memberikan indikasi relatif tentang potensi agen antimikroba. Selain itu, protokol terstandarisasi dari uji difusi agar memastikan hasil yang konsisten, memudahkan perbandingan hasil antar studi dan laboratorium (Hossain, 2024; Nurul *et al.*, 2023).

Meskipun uji difusi cakram menawarkan banyak kelebihan, peneliti perlu memperhatikan beberapa keterbatasannya, seperti sifatnya yang kualitatif, variabilitas difusi, aplikasi terbatas, ketergantungan pada kondisi tertentu, dan subjektivitas dalam interpretasi. Uji ini menghasilkan hasil kualitatif yang menunjukkan adanya atau tidak adanya aktivitas antibakteri melalui pembentukan zona hambat, yang digunakan sebagai ukuran relatif aktivitas antibakteri, bukan pengukuran kuantitatif atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Ukuran zona hambat dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti suhu, kelembapan, dan pH, yang memengaruhi laju difusi senyawa uji di agar. Selain itu, variabilitas hasil dapat terjadi karena berat molekul, kelarutan, dan laju difusi, yang memengaruhi penyebaran substansi uji di agar (Hossain, 2024).

2.7.2 Metode Dilusi

Metode dilusi agar dan dilusi broth adalah dua teknik yang penting untuk menentukan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dari agen antimikroba. MIC adalah konsentrasi terendah dari agen antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Perbedaan utama antara kedua metode ini terletak pada media yang digunakan, yaitu metode dilusi agar menggunakan pelat agar, sementara metode dilusi *broth* menggunakan tabung cairan *broth*. Pada kedua metode ini, berbagai konsentrasi agen antimikroba dicampurkan ke dalam media, lalu inokulum bakteri dalam jumlah standar diterapkan ke media tersebut. MIC ditentukan dengan mengamati apakah ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba. Kedua

metode ini penting untuk membantu pemilihan terapi antimikroba yang tepat dan memantau perubahan dalam kepekaan antimikroba dari waktu ke waktu. Selanjutnya, *Minimum Bacterisidal Concentration* (MBC) dapat ditentukan dengan cara menggoreskan larutan tersebut pada media endo agar padat, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. MBC ditetapkan pada konsentrasi terendah di mana tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri pada media (Hasriyani *et al.*, 2021; Hossain, 2024).

Pada metode dilusi agar, sejumlah pelat agar disiapkan dengan konsentrasi berbeda dari agen antimikroba yang diuji. Inokulum bakteri dengan jumlah yang telah distandarisasi kemudian diletakkan di permukaan setiap pelat agar. Setelah diinkubasi, pelat-pelat tersebut diperiksa untuk melihat ada tidaknya pertumbuhan mikroba. MIC ditentukan sebagai konsentrasi terendah dari agen antimikroba yang mampu sepenuhnya menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang tampak di permukaan agar. Sebaliknya, pada metode dilusi *broth*, ada dua varian yang tergantung pada volume campuran reaksi makrodilusi dan mikrodilusi. Pada makrodilusi, digunakan tabung dengan volume lebih besar, sementara mikrodilusi dilakukan pada sumur dalam pelat mikrotiter dengan volume lebih kecil. Tabung atau sumur diisi dengan media cair yang mengandung konsentrasi berbeda dari agen antimikroba. Inokulum bakteri yang telah distandarisasi ditambahkan ke setiap tabung atau sumur, kemudian tabung atau pelat mikrotiter diinkubasi dalam kondisi terkendali. Pertumbuhan mikroba dinilai menggunakan spektrofotometer atau pembaca pelat mikro, dan MIC ditentukan sebagai konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme di dalam *broth* (Hossain, 2024).

Metode dilusi agar dan *broth* telah distandarisasi oleh organisasi internasional seperti CLSI dan EUCAST, dan diakui secara luas sebagai metode yang dapat diandalkan untuk menentukan kepekaan antimikroba. Metode dilusi agar dianggap sebagai standar emas karena akurasi dan konsistensinya, sering digunakan untuk

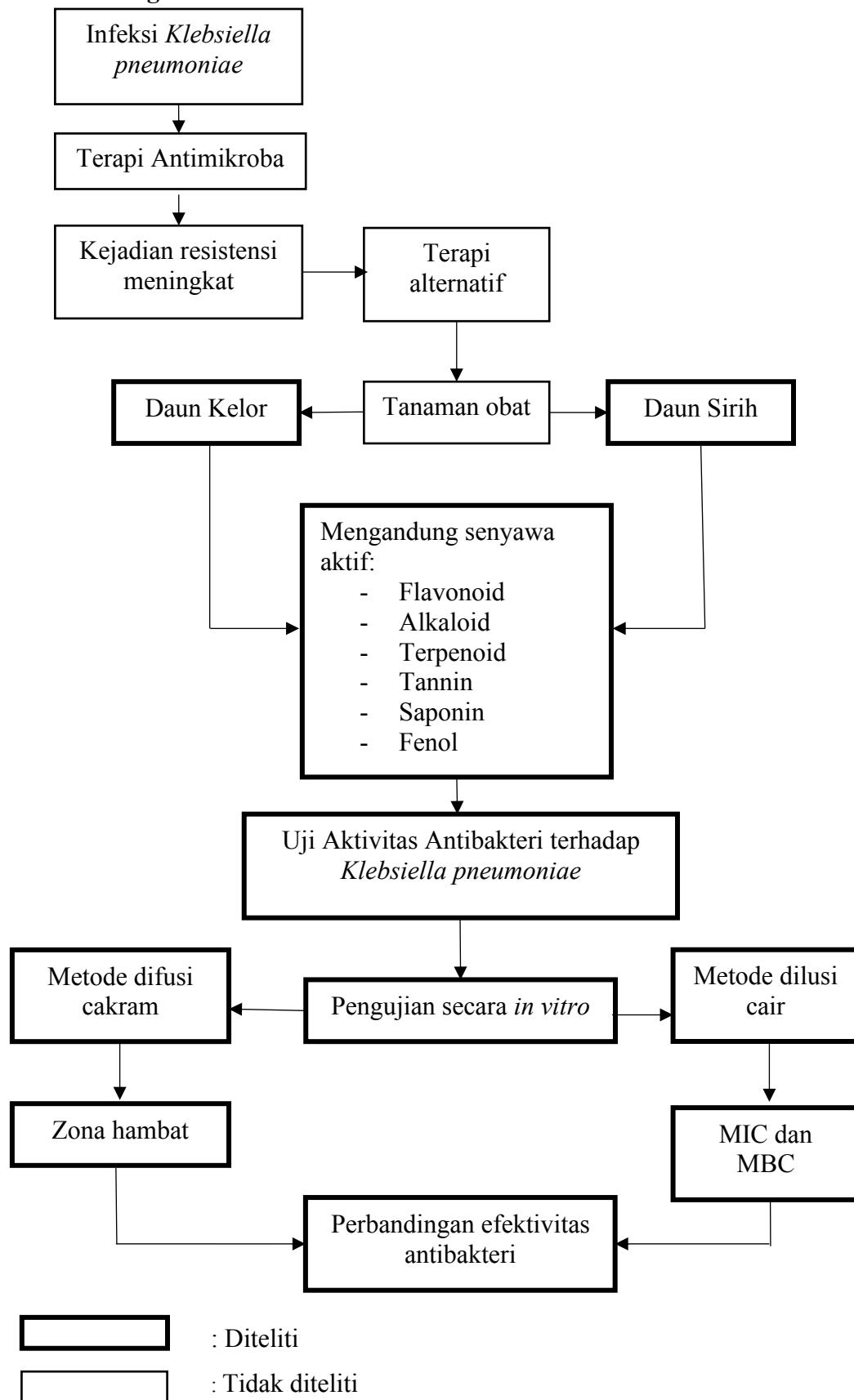
menguji efektivitas antibiotik baru terhadap panel bakteri yang besar. Salah satu keuntungan dari metode dilusi agar adalah kemampuannya untuk memeriksa pertumbuhan bakteri secara visual pada pelat agar, yang menyederhanakan deteksi tanpa bergantung pada perubahan kekeruhan atau warna. Hal ini memudahkan untuk mengidentifikasi pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan metode dilusi *broth*, di mana perubahan kekeruhan mungkin lebih sulit dinilai (Hossain, 2024).

Namun, kedua metode ini juga memiliki keterbatasan. Kedua metode ini memakan waktu karena memerlukan persiapan beberapa pelat agar atau tabung *broth*, masing-masing dengan konsentrasi antimikroba yang berbeda. Persiapan manual dari pengenceran serial juga bisa sangat memakan waktu, terutama jika tidak dilakukan secara otomatis. Selain itu, pelat agar memiliki umur simpan yang pendek dan harus digunakan dalam waktu seminggu setelah persiapan. Metode dilusi agar hanya dapat menguji satu agen antimikroba pada satu waktu, sementara metode dilusi *broth* terbatas untuk menguji satu organisme indikator per percobaan. Selain itu, metode ini mungkin tidak cocok untuk menguji bakteri yang sulit tumbuh atau lambat tumbuh, dan mungkin tidak cocok untuk semua jenis sampel (Hossain, 2024).

2.8 Uji *In Vitro*

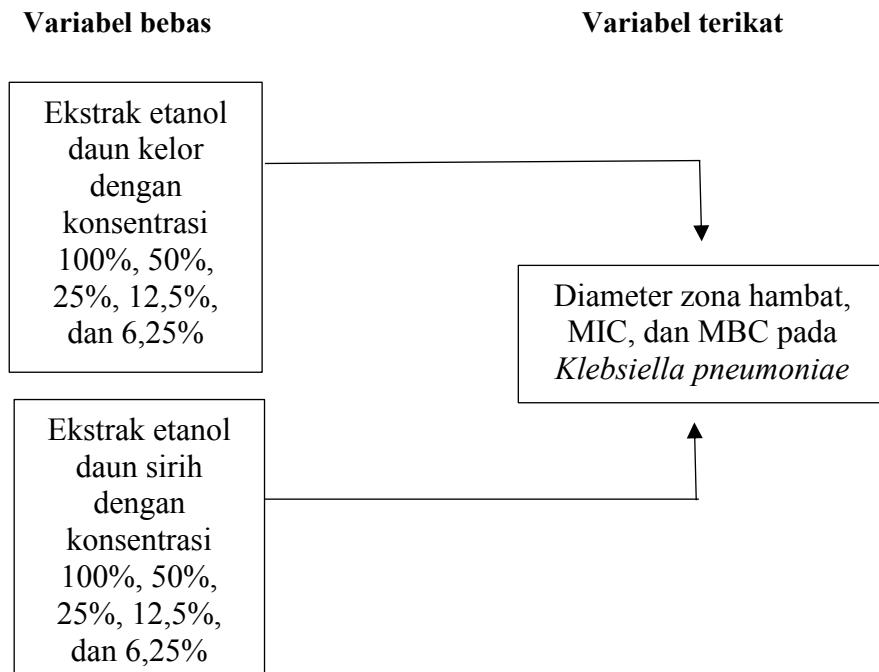
Uji *in vitro* adalah metode uji yang dilakukan di luar organisme hidup, biasanya menggunakan media buatan yang menyerupai kondisi optimal bagi pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme. Pengujian ini digunakan untuk mengevaluasi efektivitas antimikroba ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol daun sirih terhadap *Klebsiella pneumoniae* (Santoso *et al.*, 2022).

2.9 Kerangka Teori



Gambar 2.4 Kerangka Teori. (Hidayah & Sopiyandi, 2018; Inggraini *et al.*, 2024; Islamiyati *et al.*, 2023; Sadiah *et al.*, 2022; Suryanditha *et al.*, 2024).

2.10 Kerangka Konsep



Gambar 2. 5 Kerangka Konsep.

2.11 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini dirumuskan sebagai berikut:

Ho:

Tidak terdapat perbedaan aktivitas antibakteri antara ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle*) terhadap *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro*.

Ha:

Terdapat perbedaan aktivitas antibakteri antara ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle*) terhadap *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan kuantitatif dengan desain eksperimental laboratorium *in vitro* bersifat komparatif. Penelitian ini diawali dengan uji pendahuluan untuk memastikan bahwa konsentrasi ekstrak yang telah ditetapkan menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dengan metode difusi cakram. Kemudian uji utama dilakukan dengan metode difusi cakram dan dilusi cair untuk membandingkan efektivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Agustus - November tahun 2025. Penelitian ini akan dilakukan di:

1. Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung untuk uji determinasi, pembuatan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle*), dan uji fitokimia.
2. Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle*) terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Seluruh daun kelor dan daun sirih serta isolat murni bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

3.3.2 Sampel Penelitian

Daun kelor dan daun sirih, serta isolat *Klebsiella pneumoniae* yang dipilih dari populasi, yang akan diuji berdasarkan kriteria penelitian yang telah ditetapkan. Dalam penelitian ini, akan dilakukan pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol daun sirih, yaitu pada konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%, serta dilengkapi dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Untuk menentukan jumlah pengulangan yang dilakukan dalam penelitian ini, digunakan rumus *Federer*.

$$\begin{aligned} (n-1)(k-1) &\geq 15 \\ (n-1)(12-1) &\geq 15 \\ (n-1) 11 &\geq 15 \\ 11n - 11 &\geq 15 \\ 11n &\geq 26 \\ n &\geq 2,36 \end{aligned}$$

Keterangan

n = banyaknya sampel (pengulangan)

k = banyaknya perlakuan

Mengacu pada hasil perhitungan menggunakan rumus *Federer* di atas, jumlah sampel yang digunakan adalah lebih dari atau sama dengan 2,36. Jumlah ini akan dibulatkan menjadi 3 dan akan menjadi acuan untuk pengulangan perlakuan dalam penelitian ini. Sampel akan dibagi ke dalam 12 kelompok sehingga jumlah total sampel uji yang digunakan adalah 36 sampel.

Tabel 3.1 Kelompok Perlakuan

Kelompok	Perlakuan
K (+)	Kelompok <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang diberikan antibiotik ciprofloxacin 5 µg
K (-)	Kelompok <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang diberikan etanol 96%
P1	Kelompok <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang diberikan ekstrak etanol 96% daun kelor (<i>Moringa oleifera</i>) dengan konsentrasi 6,25%
P2	Kelompok <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang diberikan ekstrak etanol 96% daun kelor (<i>Moringa oleifera</i>) dengan konsentrasi 12,5%
P3	Kelompok <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang diberikan ekstrak etanol 96% daun kelor (<i>Moringa oleifera</i>) dengan konsentrasi 25%
P4	Kelompok <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang diberikan ekstrak etanol 96% daun kelor (<i>Moringa oleifera</i>) dengan konsentrasi 50%
P5	Kelompok <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang diberikan ekstrak etanol 96% daun kelor (<i>Moringa oleifera</i>) dengan konsentrasi 100%
Q1	Kelompok <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang diberikan ekstrak etanol 96% daun sirih (<i>Piper betle</i>) dengan konsentrasi 6,25%
Q2	Kelompok <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang diberikan ekstrak etanol 96% daun sirih (<i>Piper betle</i>) dengan konsentrasi 12,5%
Q3	Kelompok <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang diberikan ekstrak etanol 96% daun sirih (<i>Piper betle</i>) dengan konsentrasi 25%
Q4	Kelompok <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang diberikan ekstrak etanol 96% daun sirih (<i>Piper betle</i>) dengan konsentrasi 50%
Q5	Kelompok <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang diberikan ekstrak etanol 96% daun sirih (<i>Piper betle</i>) dengan konsentrasi 100%

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas (*independent variable*)

Variabel independen dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 96% dari daun kelor dan daun sirih dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% yang diuji terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

3.4.2 Variabel Terikat (*dependent variable*)

Variabel dependen dalam penelitian ini adalah diameter zona inhibisi pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*, serta *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bacterisidal Concentration* (MBC) yang dihasilkan oleh setiap ekstrak.

3.5 Kriteria Sampel

3.5.1 Kriteria Inklusi

1. Isolat *Klebsiella pneumoniae* yang telah teridentifikasi secara biokimia di laboratorium kesehatan.
2. Daun kelor (*Moringa oleifera*) dan daun sirih (*Piper betle*) segar, tidak busuk, dan layak dijadikan sampel.
3. Ekstrak etanol daun kelor dan sirih yang diperoleh melalui metode maserasi serta bebas dari kontaminasi.
4. Hasil uji antibakteri yang dapat diamati dengan jelas setelah proses inkubasi standar selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.5.2 Kriteria Eksklusi

1. Isolat *Klebsiella pneumoniae* yang mengalami kontaminasi selama proses kultur atau tidak menunjukkan pertumbuhan optimal.
2. Ekstrak etanol 96% daun kelor dan daun sirih yang mengalami perubahan warna, bau, atau kontaminasi selama penyimpanan.
3. Cakram uji antibakteri yang tidak menempel dengan baik atau bergeser pada saat inkubasi.
4. Sampel yang tidak menghasilkan hasil uji antibakteri yang dapat diukur secara valid, baik berupa zona hambat dari metode difusi cakram maupun nilai MIC/MBC dari metode dilusi cair, akibat kontaminasi atau kesalahan prosedur teknis.

3.6 Definisi Operasional

Tabel 3.2 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Ekstrak etanol daun kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	Ekstrak etanol daun kelor (<i>Moringa oleifera</i>) hasil ekstraksi metode maserasi dengan pelarut etanol 96%	Mikropipet dan tabung reaksi	Ekstrak etanol 96% daun kelor dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%	Rasio
Ekstrak etanol daun sirih (<i>Piper betle</i>)	Ekstrak etanol daun sirih (<i>Piper betle</i>) hasil ekstraksi metode maserasi dengan pelarut etanol 96%	Mikropipet dan tabung reaksi	Ekstrak etanol 96% daun sirih dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%	Rasio
Zona Hambat	Diameter daerah di sekitar cakram yang tidak terdapat pertumbuhan bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Jangka sorong dalam satuan mm	Kriteria Davis dan Stout, (1971) 1. Sangat kuat: ≥21 mm 2. Kuat: 11-20 mm 3. Sedang: 6-10 mm 4. Lemah: ≤5 mm	Rasio
Minimum Inhibitory Concentration (MIC)	Konsentrasi minimum dari ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Tabung reaksi, pipet	Kriteria Holetz <i>et al.</i> , (2002) 1. Sangat kuat: MIC ≤1 mg/mL 2. Kuat: MIC > 1 mg/mL sampai ≤ 10 mg/mL 3. Sedang: MIC > 10 mg/mL sampai ≤ 100 mg/mL 4. Lemah: MIC > 100 mg/mL	Rasio
Minimum Bacterisidal Concentration (MBC)	Konsentrasi minimum dari ekstrak yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>	MHA, colony counter	1. Bakterisidal jika rasio MBC/MIC ≤4 2. Bakteriostatik jika rasio MBC/MIC >4	Rasio

3.7 Instrumen, dan Bahan Penelitian

3.7.1 Instrumen Penelitian

- | | |
|------------------------------|------------------------------|
| 1. Jangka sorong | 11. Tabung erlenmeyer |
| 2. Autoklaf | 12. Batang pengaduk |
| 3. Inkubator | 13. Ose bulat |
| 4. Pipet dan
mikropipet | 14. Kertas saring |
| 5. Cawan petri | 15. Gelas ukur |
| 6. Cakram disk | 16. <i>Rotary evaporator</i> |
| 7. Kapas steril | 17. Blender |
| 8. Forsep atau pinset | 18. Sendok |
| 9. Spidol permanen | 19. Plastik wrap |
| 10. Rak dan tabung
reaksi | 20. Aluminium foil |
| | 21. Timbangan analitik |
| | 22. Bejana |

3.7.2 Bahan Penelitian

- | | |
|---|---|
| 1. Bakteri <i>Klebsiella</i>
<i>pneumoniae</i> | 10. NaCl 0,9% |
| 2. Daun kelor | 11. Alkohol 70% |
| 3. Daun sirih | 12. Asam sulfat (H ₂ SO ₄) |
| 4. Media agar Mueller
Hinton | 13. Asam klorida (HCl) |
| 5. Nutrient Agar | 14. Asam asetat
(CH ₃ COOH) |
| 6. Mueller Hinton
Broth | 15. Reagen FeCl ₃ |
| 7. Larutan standar
McFarland | 16. Reagen Mayer dan
Wagner |
| 8. Akuades steril | 17. Antibiotik standar
(Ciprofloxacin 5 mcg) |
| 9. Pelarut etanol 96% | 18. Lampu spiritus |

3.8 Prosedur dan Alur Penelitian

3.8.1 Prosedur Penelitian

3.8.1.1 Determinasi Tanaman

Sebelum dikumpulkan sebagai sampel penelitian, tanaman terlebih dahulu dilakukan proses determinasi. Tujuan dari proses ini adalah untuk memastikan identitas tanaman yang digunakan, sehingga dapat menghindari kesalahan dalam pengambilan bahan serta mencegah kemungkinan tercampurnya dengan jenis tanaman lain. Pada penelitian ini, determinasi tanaman Kelor (*Moringa oleifera*) dan tanaman Sirih (*Piper betle*) dilakukan di Laboratorium Botani FMIPA, Universitas Lampung (Klau & Hesturini, 2021).

3.8.1.2 Persiapan Sampel dan Bahan

Daun kelor (*Moringa oleifera*) dan daun sirih (*Piper betle*) yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari lokasi pengambilan sampel. Daun diambil secara acak kemudian diperiksa dan dipilih untuk memastikan tidak ada kerusakan fisik atau tanda-tanda penyakit. Setelah itu, daun dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan debu, kemudian dikeringkan dengan metode kering angin dan di bawah sinar matahari, lalu dilanjutkan menggunakan alat pengering dengan suhu tidak melebihi 40°C, agar senyawa aktif tidak rusak. Setelah kering, daun dihancurkan menjadi serbuk menggunakan blender atau alat penggiling.

Semua peralatan yang akan digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri harus disterilkan terlebih dahulu sebelum digunakan. Semua alat dan media dibungkus dengan kapas dan aluminium foil, kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilkan pada suhu 121°C selama 15-

20 menit. Untuk pinset dan ose dapat disterilkan dengan cara dibakar di atas api bunsen.

3.8.1.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelor dan Daun Sirih

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96% melalui metode maserasi. Serbuk daun kelor dan serbuk daun sirih ditimbang dan dimasukkan ke dalam bejana. Kemudian masing-masing diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Proses ekstraksi berlangsung selama 3 hari, dengan pengadukan dilakukan setiap 24 jam. Setelah itu, ekstrak disaring menggunakan kain kasa atau filter kertas, dan hasil saringan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C untuk memperoleh ekstrak yang kental. Ekstrak kental selanjutnya dilarutkan dalam pelarut yang digunakan hingga diperoleh larutan induk. Larutan induk tersebut kemudian digunakan untuk pembuatan seri pengenceran bertingkat, dengan tingkat konsentrasi yang ditetapkan berdasarkan hasil uji pendahuluan.

3.8.1.4 Uji Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak etanol daun kelor dan ekstrak etanol daun sirih untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak tersebut.

a) Uji Alkaloid

Siapkan tiga tabung reaksi. Kemudian, ekstrak dimasukkan pada masing-masing tabung reaksi sebanyak 0,5 cc, lalu masukkan HCl₂N sebanyak 3 ml pada setiap tabung. Panaskan selama 5 menit. Setelah dipanaskan, masing-masing reagen dimasukkan ke

tabung sebanyak 3-5 tetes. Larutan positif A. Mayer apabila berwarna kuning kejinggaan; A. Bouchardat apabila berwarna jingga kecoklatan; A. Dragendorf apabila berwarna jingga.

b) Uji Terpenoid/Steroid

Ekstrak dimasukan kedalam tabung reaksi sebanyak 0,5 cc, lalu diberi kloroform 3-5 tetes. Tambahkan asam sulfat (H_2SO_4) dan asam asetat glasial (CH_3COOH) kedalam tabung reaksi. Larutan positif mengandung terpenoid, jika terdapat perubahan warna larutan menjadi merah semu dan positif mengandung steroid jika berubah menjadi hijau.

c) Uji Flavonoid

Tabung diisi ekstrak sebanyak 0,5 cc dan dilarutkan dengan 5 mL akuades kemudian dipanaskan selama 5 menit. Setelah itu diberi asam klorida (HCl) pekat sebanyak 3-5 tetes dan serbuk magnesium (Mg) sebanyak 0,5 gram ditambahkan kedalam tabung reaksi. Larutan positif mengandung flavonoid apabila terjadi perubahan warna menjadi kuning kemerahan.

d) Uji Saponin

Tabung diisi ekstrak sebanyak 0,5 cc dan dilarutkan dengan 5 mL akuades kemudian dipanaskan selama 5 menit. Setelah itu tambahkan sedikit etanol untuk uji kestabilan larutan. Tambahkan akuades ± 3 ml dan dikocok secara vertikal selama 10 detik. Larutan positif saponin apabila terbentuk busa stabil.

e) Uji Tanin

Tabung diisi ekstrak sebanyak 0,5 cc dan dilarutkan dengan 5 mL akuades kemudian dipanaskan selama 5 menit. Setelah itu ditambahkan 3-5 tetes Besi (III)

Klorida (FeCl_3). Larutan positif tanin, jika terbentuk warna hijau kehitaman.

f) Uji Fenol

Tabung diisi ekstrak sebanyak 0,5 cc dan dilarutkan dengan 5 mL akuades. Setelah itu ditambahkan 3-5 tetes Besi (III) Klorida (FeCl_3).

3.8.1.5 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk menilai efektivitas konsentrasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dan daun sirih (*Piper betle*) yang telah ditetapkan terhadap *Klebsiella pneumoniae* sebelum uji utama. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dilarutkan dalam etanol 96% hingga diperoleh larutan stok 100%. Pengenceran ekstrak dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi uji sebesar 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% dari larutan stok dengan konsep *two-fold dilution* menggunakan rumus:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan

M_1 = konsentrasi awal (larutan stok)

V_1 = volume larutan stok yang diperlukan

M_2 = konsentrasi akhir yang diinginkan

V_2 = volume akhir larutan

Pengujian dilakukan menggunakan metode difusi cakram secara sederhana dengan tujuan memperoleh gambaran awal zona hambat maupun tingkat kekeruhan pada masing-masing konsentrasi.

Seluruh uji pada tahap ini juga dilakukan dengan tiga kali replikasi untuk menjamin konsistensi hasil. Uji pendahuluan dilakukan untuk memperoleh gambaran awal aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelor (*Moringa*

oleifera) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap *Klebsiella pneumoniae* pada variasi konsentrasi yang telah ditetapkan. Konsentrasi terendah yang masih menunjukkan aktivitas hambat digunakan sebagai acuan dalam pemilihan konsentrasi pada uji utama.

3.8.1.6 Pembuatan Suspensi Bakteri

1. Pembuatan Media Nutrient Agar

Proses pembuatan media Nutrient Agar dimulai dengan menimbang 2 gram serbuk Nutrient Agar, yang kemudian dilarutkan dalam 100 mL akuades di dalam labu erlenmeyer. Larutan tersebut diaduk hingga merata dan dipanaskan di atas *hot plate* sambil terus diaduk hingga mendidih perlahan, untuk memastikan semua komponen larut dengan sempurna. Setelah larutan homogen, labu ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi selesai, media didinginkan hingga mencapai suhu sekitar 45–50°C, kemudian dituangkan secara aseptik ke dalam cawan petri steril masing-masing sebanyak ±25 mL di dekat bunsen yang dinyalakan. Selanjutnya, media dibiarkan hingga mengeras dan disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C dalam posisi terbalik hingga siap digunakan.

2. Peremajaan Bakteri

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang diperoleh dari biakan murni diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan dengan cara digores pada medium Nutrient Agar (NA). Selanjutnya, inokulasi tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

3. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Inokulum bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang dibiakkan pada media nutrient agar dan dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, diambil sebanyak 1-2 ose dan disuspensikan dengan memakai larutan NaCl 0,9% pada tabung reaksi. Kemudian, tabung reaksi dimasukan kedalam densitometer Mc Farland hingga memperoleh kekeruhan sesuai standar 0,5 Mc Farland atau sebanding dengan jumlah bakteri sebesar 10^8 CFU/mL. Syarat jumlah bakteri telah memenuhi uji kepekaan yaitu: 10^5 - 10^8 CFU/mL.

3.8.1.7 Uji Aktivitas Antibakteri

1. Metode Difusi Cakram

Media Mueller-Hinton Agar (MHA) disiapkan dengan cara dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan hingga memadat. Setelah media mengeras, suspensi bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan standar McFarland 0,5 diinokulasikan secara merata ke permukaan media menggunakan metode swab secara aseptik. Kertas cakram steril kemudian disiapkan dan dicelupkan ke dalam larutan ekstrak etanol 96% daun kelor (*Moringa oleifera*) dan ekstrak etanol 96% daun sirih (*Piper betle*) pada konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% selama ±30 menit hingga seluruh permukaan cakram basah. Kertas cakram yang telah terisi ekstrak kemudian diletakkan di atas permukaan media MHA yang telah diinokulasi bakteri menggunakan pinset steril, lalu ditekan sedikit agar menempel dengan baik. Selain itu, kertas cakram yang mengandung larutan ciprofloxacin 5 µg digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan cakram yang hanya dicelupkan

ke dalam akuades digunakan sebagai kontrol negatif. Seluruh cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah proses inkubasi, diamati terbentuknya zona hambat di sekitar cakram, yang ditunjukkan dengan daerah bening (*clear zone*) sebagai indikator adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol 96% daun kelor dan daun sirih terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

Tabel 3.3 Kategori Diameter Zona Hambat

Diameter	Kekuatan Daya Hambat
≤ 5 mm	Lemah
6 - 10 mm	Sedang
11 - 20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat Kuat

Sumber: (Surjowardjo *et al.*, 2015)

2. Metode Dilusi Tabung

Metode dilusi tabung digunakan untuk menentukan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bacterisidal Concentration* (MBC) atau dari ekstrak etanol 96% daun kelor (*Moringa oleifera*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap *Klebsiella pneumoniae*. Tabung reaksi steril disiapkan, terdiri dari 10 tabung untuk uji perlakuan tiap masing-masing ekstrak, 1 tabung sebagai kontrol positif, dan 1 tabung sebagai kontrol negatif.

Pada tabung 1 hingga 5 dimasukkan ekstrak etanol 96% daun kelor dengan konsentrasi bertingkat, yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%. Setiap tabung diberi 1,0 mL MHB; larutan stok ekstrak ditambahkan ke tabung pertama sebanyak 1,0 mL sehingga volume total awal tiap tabung menjadi 2,0 mL. Untuk membuat serial *two-fold*, 1,0 mL dari tabung pertama dipindahkan ke tabung kedua yang telah berisi 1,0 mL MHB; campuran dihomogenkan,

lalu 1,0 mL dari tabung kedua dipindahkan ke tabung ketiga, dan seterusnya. Setelah serial selesai, setiap tabung diinokulasi dengan 10 μ L suspensi bakteri, sehingga densitas inokulum akhir di setiap tabung menjadi $\sim 5 \times 10^5$ CFU/mL. Kontrol positif berisi MHB, suspensi *K. pneumoniae*, dan antibiotik tanpa penambahan ekstrak. Sedangkan kontrol negatif berisi MHB dan akuades steril dengan penambahan suspensi bakteri. Hal yang sama dilakukan sampai pengulangan ketiga.

Pengaturan kontrol dalam prosedur ini disesuaikan dengan standar uji dilusi. Kontrol positif digunakan untuk memastikan sistem mampu mendeteksi hambatan pertumbuhan. Sementara itu, kontrol negatif untuk memastikan bahwa media dan pelarut tidak memberikan efek hambat mandiri (Alshareef, 2021; Limbong *et al.*, 2024).

Seluruh tabung kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam. Setelah inkubasi, dilakukan pengamatan terhadap kekeruhan larutan di setiap tabung. Tabung dengan konsentrasi ekstrak terendah yang tidak menunjukkan kekeruhan dianggap sebagai MIC. Pengamatan dilakukan pada setiap tabung dilakukan untuk menilai tingkat kekeruhan secara visual, dengan membandingkan hasil perlakuan terhadap kontrol negatif. Metode ini digunakan sebagai tahap awal untuk memantau perubahan pertumbuhan bakteri dari waktu ke waktu. Apabila suspensi dalam tabung mulai terlihat lebih jernih dibandingkan kontrol negatif, maka diduga telah terjadi hambatan pertumbuhan yang mengarah pada nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC).

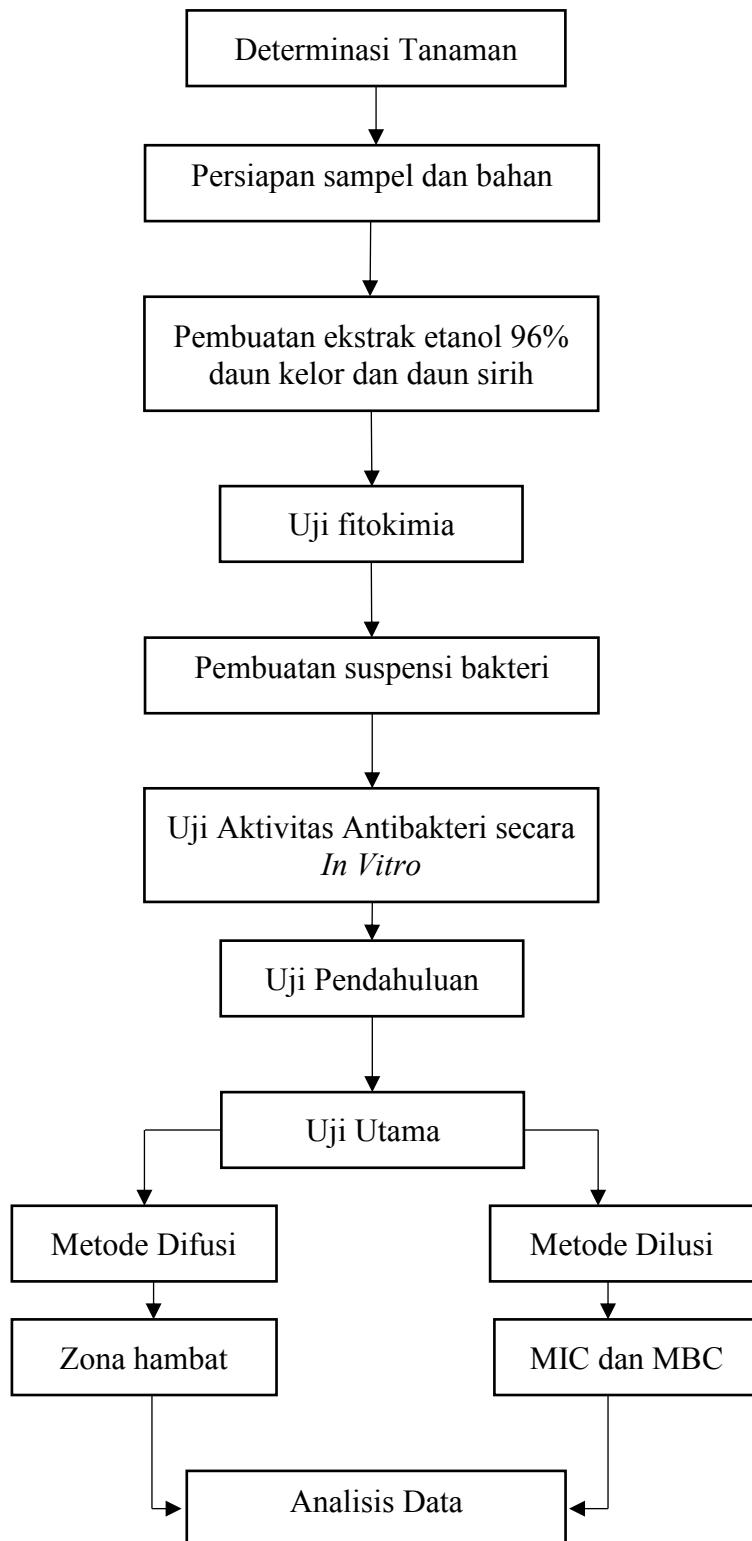
Untuk penentuan *Minimum Bacterisidal Concentration* (MBC), dilakukan subkultur dari masing-masing tabung yang tidak menunjukkan pertumbuhan (bening) ke media Mueller-Hinton Agar (MHA) yang telah dipadatkan dalam cawan petri. Subkultur dilakukan dari tabung sebelum jernih, jernih, dan setelah jernih untuk memastikan apakah penghambatan bakteri yang terlihat pada penentuan MIC benar-benar terjadi. Hal ini dilakukan karena terdapat keterbatasan alat sehingga evaluasi kejernihan hanya dapat dilakukan secara visual, maka keberadaan bakteri hidup perlu divalidasi melalui subkultur pada media padat. Penanaman dilakukan dengan metode *spread plate* menggunakan lidi swab steril. Seluruh cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam. Setelah inkubasi, dilihat apakah ada pertumbuhan bakteri. Selanjutnya, nilai MBC ditentukan berdasarkan konsentrasi ekstrak antibakteri (dalam mg/mL) terendah yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni pada media MHA, yang berarti seluruh bakteri telah terbunuh.

Data yang diperoleh berasal dari pengamatan visual terhadap kejernihan media (jernih atau keruh). Nilai konsentrasi ekstrak yang dilaporkan dalam satuan mg/mL bukan merupakan hasil pengukuran kuantitatif langsung, melainkan nilai representatif yang ditetapkan berdasarkan konsentrasi ekstrak pada tabung pertama yang menunjukkan kondisi jernih. Oleh karena itu, meskipun observasi awal bersifat kualitatif, data akhir disajikan dalam bentuk nilai numerik diskrit yang merepresentasikan konsentrasi hambat minimum.

3.8.1.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis secara bertahap. Analisis diawali dengan analisis univariat untuk mendeskripsikan karakteristik data, meliputi nilai rerata dan simpangan baku. Selanjutnya, data diuji normalitasnya menggunakan uji Shapiro–Wilk untuk menentukan apakah data berdistribusi normal. Apabila data berdistribusi normal, maka analisis perbandingan antara dua kelompok dilakukan menggunakan uji parametrik Independent T-Test. Sebaliknya, apabila data tidak berdistribusi normal, maka analisis dilanjutkan menggunakan uji non-parametrik Mann–Whitney U test. Seluruh pengujian statistik dilakukan dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

3.8.2 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian.

3.9 Manajemen Data

3.9.1 Sumber Data

3.9.1.1 Data Primer

Data didapat langsung dari hasil uji laboratorium, yaitu pengukuran diameter zona hambat dan nilai MIC dan MBC terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

3.9.1.2 Data Sekunder

Data didapat dari berbagai literatur ilmiah seperti jurnal nasional maupun internasional, buku teks mikrobiologi, farmakognosi, serta laporan penelitian sebelumnya yang relevan dan mendukung perumusan masalah serta pembahasan hasil penelitian.

3.9.2 Analisis Data

3.9.2.1 Analisis Univariat

Analisis data dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun kelor (*Moringa oleifera*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Data diperoleh melalui dua metode pengujian, yaitu metode difusi cakram serta metode dilusi yang meliputi penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC). Seluruh data dianalisis secara kuantitatif menggunakan pendekatan statistik deskriptif dan inferensial.

Data hasil pengukuran diameter zona hambat (mm) pada uji difusi cakram dianalisis secara deskriptif untuk memperoleh nilai rerata dan simpangan baku pada masing-

masing kelompok perlakuan. Analisis deskriptif yang sama juga diterapkan pada data MIC dan MBC, yang merepresentasikan konsentrasi minimum ekstrak dalam menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri.

Analisis inferensial diawali dengan uji normalitas menggunakan metode Shapiro–Wilk untuk menentukan distribusi data. Selanjutnya, uji homogenitas varians dilakukan menggunakan Levene's Test untuk menilai kesamaan varians antar kelompok. Pada uji normalitas, nilai $p < 0,05$ menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal, sedangkan nilai $p \geq 0,05$ menunjukkan data berdistribusi normal. Sementara itu, pada uji homogenitas, nilai $p < 0,05$ diinterpretasikan sebagai varians data tidak homogen, sedangkan nilai $p \geq 0,05$ menunjukkan varians yang homogen. Seluruh pengujian statistik dilakukan pada tingkat signifikansi 5% ($\alpha = 0,05$).

3.9.2.2 Analisis Bivariat

Analisis bivariat dalam penelitian ini digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan aktivitas antibakteri antara dua kelompok perlakuan, yaitu ekstrak etanol 96% daun kelor dan ekstrak etanol 96% daun sirih, terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Variabel terikat yang dianalisis meliputi diameter zona hambat serta nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC).

Sebelum dilakukan analisis inferensial, data terlebih dahulu diuji asumsi statistik. Uji normalitas dilakukan menggunakan metode Shapiro–Wilk untuk mengetahui pola distribusi data, sedangkan uji homogenitas varians dilakukan

menggunakan uji Levene untuk menilai kesamaan varians antar kelompok.

Apabila data berdistribusi normal dan memiliki varians yang homogen, maka perbandingan antara dua kelompok ekstrak dianalisis menggunakan uji Independent Samples t-test. Sebaliknya, apabila data tidak berdistribusi normal dan/atau varians tidak homogen, maka digunakan uji non-parametrik Mann–Whitney sebagai alternatif.

Seluruh pengujian statistik dilakukan dengan tingkat signifikansi 5% ($\alpha = 0,05$). Nilai $p < 0,05$ diinterpretasikan sebagai adanya perbedaan yang signifikan secara statistik antara ekstrak daun kelor dan ekstrak daun sirih, sedangkan nilai $p \geq 0,05$ menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan.

3.10 Etika Penelitian

Penelitian ini telah diajukan pelaksanaannya kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan telah lulus kaji etik berdasarkan surat persetujuan etik untuk dapat melaksanakan penelitian dengan nomor surat 5576/UN26.18/PP.05.02.00/2025

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro*, dapat disimpulkan bahwa:

1. Kedua ekstrak, yaitu ekstrak etanol daun kelor dan daun sirih, terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* yang ditunjukkan oleh terbentuknya zona hambat serta adanya nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Kedua ekstrak mampu menghambat pertumbuhan bakteri, meskipun kekuatan aktivitasnya berbeda.
2. Secara umum, ekstrak daun sirih memiliki efektivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak daun kelor berdasarkan seluruh parameter pengujian (zona hambat dan MIC), sehingga sirih merupakan ekstrak yang lebih potensial sebagai antibakteri terhadap *K. pneumoniae*.
3. Berdasarkan pengujian zona hambat, MIC, dan MBC, ekstrak daun sirih menunjukkan kemampuan menghambat yang lebih kuat dengan zona hambat lebih luas dan nilai MIC lebih rendah dibandingkan kelor. Namun, hasil MBC sirih tidak konsisten karena masih terdapat pertumbuhan pada sebagian besar replikasi kecuali pada replikasi ketiga, menunjukkan bahwa aktivitas bakterisidal sirih tidak stabil.
4. Perbandingan efektivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih unggul sebagai antibakteri penghambat (bakteriostatik), sedangkan ekstrak daun kelor menunjukkan daya hambat yang lebih lemah dan

tidak memiliki aktivitas bakterisidal karena seluruh uji MBC masih menunjukkan pertumbuhan bakteri.

Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirih lebih efektif sebagai agen antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dibandingkan ekstrak daun kelor pada kondisi ekstraksi dan konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini.

5.2 Saran

Berdasarkan keterbatasan yang ada, penelitian selanjutnya disarankan untuk:

1. Memperluas variasi pelarut dan metode ekstraksi, termasuk pelarut non-polar atau kombinasi pelarut, agar seluruh senyawa aktif, baik polar maupun non-polar, dapat terekstraksi optimal dan potensi antibakteri lebih representatif.
2. Melakukan uji lanjutan *in vivo* atau model biologis lain, untuk memastikan efektivitas antibakteri dalam kondisi biologis nyata, termasuk aspek bioavailabilitas dan potensi toksisitas.
3. Menggunakan lebih dari satu strain bakteri, termasuk strain klinis dengan profil resistensi berbeda, agar hasil dapat digeneralisasikan secara lebih luas.
4. Penelitian lanjutan disarankan melakukan analisis identifikasi dan kuantifikasi senyawa aktif menggunakan metode instrumen lanjutan seperti HPLC atau GC-MS untuk mengkaji hubungan antara kadar senyawa tertentu dengan aktivitas antibakteri secara lebih spesifik dan mendalam.
5. Melakukan pengulangan uji MBC dengan verifikasi mikroba hasil subkultur untuk memastikan aktivitas bakterisidal ekstrak secara lebih pasti dan memastikan bahwa pertumbuhan yang diamati berasal dari mikroorganisme target dan bukan kontaminan non-target.
6. Memperhatikan kualitas bahan baku dengan mengontrol umur daun, lokasi tumbuh, musim panen, dan kondisi penyimpanan, agar variasi senyawa aktif dapat diminimalkan dan hasil penelitian lebih konsisten.

7. Meningkatkan metode pengukuran MIC dan MBC dengan alat seperti spektrofotometer atau hitung koloni (CFU), sehingga hasil lebih objektif, kuantitatif, dan dapat membedakan antara penghambatan pertumbuhan dan kematian bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, R., Chakkour, M., El Dine, HZ., Obaseki, EF., Obeid, ST., Jezzini, A., *et al.* 2024. General Overview of *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology and the Role of Siderophores in Its Pathogenicity. *Biology*. 13(2): 1–19.
- Ademiluyi, AO., Aladeselu, OH., Oboh, G., Boligon, AA. 2018. Drying Alters The Phenolic Constituents, Antioxidant Properties, α - amylase, And A α -glucosidase Inhibitory Properties Of Moringa (*Moringa oleifera*) Leaf. *Food Science & Nutrition*. 6:2123–2133.
- Akbar, MZP., Wijaya, SM., Carolia, N., Sukohar, A. 2024. Pengaruh Ekstrak Buah Adas (*Foeniculum vulgare*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi* Secara *In Vitro*. *Medula*. 14(8):1635–1639.
- Alshareef, F. 2021. Protocol to Evaluate Antibacterial Activity MIC, FIC and Time Kill Method. 4(5):2–6.
- Anggista, G., Pangestu, IT., Handayani, D., Yulianto, ME., Astuti, SK. 2019. Penentuan Faktor Berpengaruh Pada Ekstraksi Rimpang Jahe Menggunakan Extraktor Berpengaduk. *Gema Teknologi*. 20(3):80.
- Anggita, D., Nurisyah, S., Wiriansya, EP. 2022. Mekanisme Kerja Antibiotik: Review Article. *UMI Medical Journal*. 7(1):46–58.
- Anh, ND., Linh, CN., Hiep, LTM., & Kien, DV. 2025. Application of Piper betle Leaf Extract as a Bioactive Additive in Eco-Friendly Antifouling Coatings. *Surface*. 8:1-14.
- Arfianti, E. 2020. Uji Daya Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*.
- Asworo, RY., Widwiastuti, H. 2023. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*. 3(2):256–263.
- Balouiri, M., Sadiki, M., Ibnsouda, SK. 2016. Methods for *In Vitro* Evaluating Antimicrobial Activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2):71–79.

- Bancesci, A., Pinto, MMF., Duarte, E., Catarino, L., Nazareth, T. 2020. The Antimicrobial Properties of *Moringa oleifera* Lam. For Water Treatment: A Systematic Review. SN Applied Sciences. 2(3):1–9.
- Bereanu, AS., Bereanu, R., Mohor, C., Vintilă, BI., Codru, IR., Olteanu, C., *et al.* 2024. Prevalence of Infections and Antimicrobial Resistance of ESKAPE Group Bacteria Isolated from Patients Admitted to the Intensive Care Unit of a County Emergency Hospital in Romania. Antibiotics. 13(5):1–20.
- Berg, JVD, Kuipers, S. 2022. South African Journal of Botany The antibacterial action of *Moringa oleifera* : A systematic review. South African Journal of Botany. 151:224–233.
- Bhargav, HS., Shastri, SD., Poornav, SP., Darshan, KM., Nayak, MM. 2016. Measurement of the Zone of Inhibition of an Antibiotic. Proceedings - 6th International Advanced Computing Conference, IACC 2016. 409–414.
- Biswas, P., Anand, U., Chatterjee, S., Nishi, S., Mishra, T., Masih, H., *et al.* 2022. Betelvine (*Piper betle* L.): A Comprehensive Insight Into Its Ethnopharmacology, Phytochemistry, And Pharmacological, Biomedical And Therapeutic Attributes. 26:3083–3119.
- Chang, D., Sharma, L., Cruz, CSD., Zhang, D. 2021. Clinical Epidemiology, Risk Factors, and Control Strategies of *Klebsiella pneumoniae* Infection. 12:1–9.
- Choi, M., Hegerle, N., Nkeze, J., Sen, S., Jamindar, S., Nasrin, S., *et al.* 2020. The Diversity of Lipopolysaccharide (O) and Capsular Polysaccharide (K) Antigens of Invasive *Klebsiella pneumoniae* in a Multi-Country Collection. Frontiers in Microbiology. 1:11–12.
- CLSI. 2020. M100 Performance Standards for Antimicrobial (30 ed.).
- Dani, BYD., Wahidah, BF., Syaifudin, A. 2019. Etnobotani Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) di Desa Kedungbulus Gembong Pati. Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology. 2(2):44–52.
- Deepali, D., Gulia, V., Dhull, SS., Beniwal, D., Rani, J., Abdi, G. 2025. Unveiling *Moringa oleifera*: Potent Source Of Antioxidant And Antibacterial Properties. Discover Applied Sciences. 7:1–20.
- El-sherbiny, GM., Alluqmani, AJ., Elsehemy, IA., Kalaba, MH. 2024. Antibacterial, Antioxidant, Cytotoxicity, And Phytochemical Screening Of *Moringa oleifera* Leaves. 14:1–17.

- Ely, IP., Pelu, AD., Bassy, LL. 2020. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Labu Kuning (*Cucurbita Moschata*) terhadap Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus*. Jurnal Fisioterapi dan Ilmu Kesehatan SISTHANA. 2(2):56-64.
- Fachriyah, E., Fadillah, H., Sarjono, PR. 2023. Isolation, Identification, and Antibacterial Testing of Essential Oil from Green Betel Leaf (*Piper Betle L.*) Using Well Diffusion Method. Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi. 26(6):224–229.
- Febriyanti, T., Sukohar, A., Pardilawati, CY., Adjeng, ANT. 2024. Uji Efek Anti Aging Dari Berbagai Ekstrak Tumbuhan Secara *In Vivo* Dan *In Vitro*. Medula. 14(3):593–601.
- Fejér, J., Grul, D., Kron, I. 2025. Testing the Antioxidant Activity of Different Leaf Extracts and the Phenolic Content of Young *Moringa oleifera* Lam. Plants Grown in a Temperate Climate Zone. 16:1–8.
- Gajic, I., Kabic, J., Kekic, D., Jovicevic, M., Milenkovic, M., Culafic, DM., et al. 2022. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods. *Antibiotics*. 11(4):1-26.
- Hasriyani, H., Zulfa, A., Anggun, L., Murhayati, R. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Jurnal Farmasi*. 5(2):14–18.
- Hidayat, H., Izzuddin, A., Santibudi, S., Novpriani, S. 2021. Perbandingan Pola Sensitivitas Bakteri terhadap Antibiotik di Ruang ICU dan Ruang Rawat Inap Non ICU di Rumah Sakit Umum Daerah Dr. H. Abdul Moeloek Bandar Lampung. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*. 8(1):56–66.
- Himawan, DSA., Rini, CS. 2023. Uji Daya Hambat Ekstrak Segar Buah Pare (*Momordica charantia* Linn.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Streptococcus pneumoniae*. 6(1):69–76.
- Hossain, TJ. 2024. Methods for Screening And Evaluation Of Antimicrobial Activity: A review of Protocols, Advantages, And Limitations. *European Journal of Microbiology and Immunology*. 14(2):97–115.
- Hujjatusnaini, N., Indah, B., Afitri, E., Widayastuti, R., Ardiansyah. 2021. Buku Referensi Ekstraksi. Sustainability (Switzerland).
- Inggraini, M., Ilsan, NA., Nurfajriah, S. 2024. Uji Kepakaan Antibiotik *Klebsiella pneumoniae* dari Sampel Sputum, Darah, dan Pus. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis*

- (Bioscience-Tropic). 9(2):67–74.
- Irwan, Z. 2020. Kandungan Zat Gizi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Berdasarkan Metode Pengeringan. Jurnal Kesehatan Manarang. 6(1):66–77.
- Islamiyati, D., Husen, F., Ratnaningtyas, NI. 2023. Potensi Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Moringa oleifera* (Lamk.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* secara *in Silico* dan *in Vitro*. Jurnal Kesehatan Dan Science. 19(2):80-90.
- Ismawati, L., Ismawati, Destryana, RA. 2021. Identifikasi Senyawa Saponin Pada Ekstrak Rumput Mutiara (*Hedyotis corimbosa* L. (Lamk)) Dengan Pelarut Yang Berbeda. Prosiding SNAPP. 1(1):150–154.
- Isnain, W., M, N. 2017. Ragam Manfaat Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) bagi Masyarakat. Info Teknis EBONI. 14(1):63–75.
- Jonathan, Hairani, R., Ruga, R. 2024. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Diklorometana Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia rotunda*). Jurnal Atomik. 9(2):62–68.
- Karampatakis, T., Tsergouli, K., Behzadi, P. 2023. Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: Virulence Factors, Molecular Epidemiology and Latest Updates in Treatment Options. *Antibiotics*. 12(2):1–23.
- Klau, MHC., Hesturini, RJ. 2021. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm F) Lindau) Terhadap Daya Analgetik Dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit. Jurnal Farmasi & Sains Indonesia. 4(1):6–12.
- Krisnadi, A. D. 2015. Kelor, Super Nutrisi.
- Lao, RCC., Yabes, AM., Tobias-altura, M., Panganiban, LCR., Makalinao, IR. 2023. In Vitro Antibacterial and Antibiofilm Activities of *Piper betle* L . Ethanolic Leaf Extract on *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. ACTA Medica Philipina. 57(12):53–60.
- Lenchenko, E., Blumenkrants, D., Sachivkina, N., Shadrova, N., Ibragimova, A. 2020. Morphological and adhesive properties of *Klebsiella pneumoniae* biofilms. Veterinary World. 13(1):197–200.
- Limbong, MF., Setyati, WA., Sedjati, S., Sibero, MT. 2024. Potensi Metabolit Kapang Endofit Mangrove *Rhizophora apiculata* sebagai Anti-*Staphylococcus epidermidis*. Jurnal Kelautan Tropis. 27(1):170–178.

- Mardhia, M., Liana, DF., Mahyarudin, M., Ih, H. 2025. The First Report of Antibiotic Resistance and Virulence Factor Profiles in Multidrug-Resistant Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* from Pontianak, Indonesia. *Osong Public Health and Research Perspectives*. 16(2):160-168.
- Marhaeni, L. S. 2021. Daun Kelor (*Moringa oleifera*) sebagai Sumber Pangan Fungsional dan Antioksidan. *Jurnal Agrisia*. 13(2):40–53.
- Mavrianingtyas, NH., Prasetyo, EN. 2023. The Impacts of Drying Methods on the Total Flavonoids and Antioxidant Capacity of *Moringa Oleifera* Leaves. *International Journal of Research in Engineering Science and Management*. 6(7):26–29.
- Mutiara, SA., Damayanti, E., Wardhana, MF., Sukohar, A. 2024. Potensi Beberapa Tumbuhan sebagai Anti Inflamasi di Indonesia. *Medula*. 14(5):923.
- Naenggolan, LUA., Soleha, TU., Oktoba, Z. 2023. Aktivitas Farmakologi Tumbuhan Waru (*Hibiscus tiliaceus*). *Medula*. 13(4):615–620.
- Nanda, AYD. 2024. The Potential of *Moringa oleifera* Leaf (*Moringa oleifera* Lam.) as an Antibacterial : Systematic Literature Review. *Indonesian Journal Of Health Sciences Research and Development*. 6(1):222–229.
- Nasrun, MF., Wiriansya, EP., Musa, IM. 2023. Efikasi Herba Timi (*Thymus vulgaris* L.) Sebagai Antibiotik Terhadap *Klebsiella Pneumoniae*. 3(6):10657–10671.
- Nayaka, NMDMW., Sasadara, MMV., Sanjaya, DA., Yuda, PESK., Dewi, NLKAA., Cahyaningsih, E., et al. 2021. *Piper betle* (L): Recent Review of Antibacterial and Antifungal Properties, Safety Profiles, and Commercial Applications. *Molecules*. 26:1–21.
- Nazar, A. 2023. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Seledri (*Apium graveolens* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Dengan Metode Difusi. *Jurnal Kesehatan*. 10(1):1–11.
- Nidhinadas, A., Meiyalagan, V. 2021. *In vitro* Antibacterial Activity of Three Different Extracts of Betle Leaf (*Piper Betle* L.). *International Journal of Zoology and Animal Biology*. 4(4):1–6.
- Nisyak, K., Hisbiyah, A., Haqqa, A. 2022. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Minyak Atsiri Sirih Hijau terhadap Methicillin Resistant *Staphylococcus*

- aureus*. Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika (J-PhAM). 5(1):1–14.
- Novitasari, AE., Nazilah, IR. 2020. Pemanfaatan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) untuk Meningkatkan Mutu Minyak Goreng Bekas. Jurnal Sains. 11(2):13–21.
- Numan, M., Mathew, J., Hamad, W., Abuhmaira, M., Werah, H., Khamkham, A. 2024. Metastatic Community Acquired *Klebsiella pneumonia* Infection, Secondary To Skin And Soft Tissue Infection: A Case Report. IDCases. 38:1–5.
- Nurul, A., Setiawan, I., Yusa, D., Trisna, D., Halisa, N., Putri, O., et al. 2023. Tinjauan Artikel : Uji Mikrobiologi. Farmasi. Vol. 12(2):31–36.
- Oldoni, TLC., Santos, SD, Mitterer-daltoe, ML., Pizone, LHI., Lima, VAD. 2022. *Moringa oleifera* Leaves From Brazil : Influence Of Seasonality, Regrowth Age, and Region In Biochemical Markers And Antioxidant Potential. Arabian Journal of Chemistry. 15:1–11.
- Olofinsan, K., Abrahamse, H., George, BP. 2023. Therapeutic Role of Alkaloids and Alkaloid Derivatives in Cancer Management. Molecules. 28(14):1–19.
- Pallawagau, M., Yanti, NA., Jahiding, M., Kadidae, LO., Asis, WA., Hamid, FH. 2019. Penentuan Kandungan Fenolik Total Liquid Volatile Matter dari Pirolisis Kulit Buah Kakao dan Uji Aktivitas Antifungi terhadap *Fusarium oxysporum*. Jurnal Penelitian Kimia. 15(1):165–176.
- Pareek, A., Pant, M., Gupta, MM., Kashania, P., Ratan, Y., Jain, V., et al. 2023. *Moringa oleifera*: An Updated Comprehensive Review of Its Pharmacological Activities, Ethnomedicinal, Phytopharmaceutical Formulation, Clinical, Phytochemical, and Toxicological Aspects. International Journal of Molecular Sciences. 24(3):1–36.
- Parekh, SS., Parmar, GR., Kanojiya, D., Baile, SB., Trivedi, R. 2024. Unlocking the Therapeutic Potential of Terpenoids : A Roadmap for Future Medicine. 16(4):698–705.
- Pop, OL., Kerezsi, AD., Ciont, C. 2022. A Comprehensive Review of *Moringa oleifera* Bioactive Compounds — Cytotoxicity Evaluation and Their Encapsulation. Foods. 11:1–18.
- Pratiwi, E. 2021. Penentuan Parameter Optimum Proses Ekstraksi Metabolit Sekunder pada Rimpang *Circuma zedoaria* yang dilakukan secara Sokhletasi.

Universitas Hasanuddin.

- Putri, AT., Soleha, TU., Nareswari, S., Ramadhian, MR. 2024. *Enterobactericeae* sebagai Bakteri Patogen Infeksi Nosokomial di Rumah Sakit. Medula. 14(1):117–121.
- Putri, NKW., Muthmainah, N., Biworo, A. 2023. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Sungkai dan Kulit Batang Tanjung terhadap *Staphylococcus aureus* *in vitro*. Homeostasis. 5(3):670.
- Rahmawati, N., Mujahid, R., Widiyastuti, Y. 2020. Budidaya dan Manfaat Sirih untuk Kesehatan. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Raudah, S., Wahid, RSA., Huzaimah. 2022. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terhadap Bakteri pada Luka Diabetes Mellitus Secara *in vitro*. Proceeding 2 nd SETIABUDI-CIHAMS 2022. 59–69.
- Rivai, ATO. 2020. Identifikasi Senyawa yang Terkandung pada Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*). Indonesian Journal of Fundamental Sciences. 6(2):63–70.
- Rohit, Rishi, N., Manju, KMS., Goel, G. 2025. TOPSIS based comprehensive evaluation of the effect of drying methods on polyphenolic contents and associated antioxidant activities of *Moringa oleifera* leaves. Discover Food. 5:1-13.
- Sadiah, HH., Cahyadi, AI., Windria, S. 2022. Kajian Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) Sebagai Antibakteri. Jurnal Sain Veteriner. 40(2):128.
- Santoso, E., Rollando, R., Afthoni, MH., Ekawati, Y. 2022. Uji Aktivitas Antibakteri Gondorukem *Resina colophonium* Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sainsbertek Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi. 3(1):280–291.
- Saputra, A., Arfi, F., Yulian, M. 2020. Literature Review: Analisis Fitokimia dan Manfaat Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*). Amina. 2(3):114–119.
- Sarjani, TM., Mawardi, M., Pandia, ES., Wulandari, D. 2017. Identifikasi Morfologi dan Anatomi Tipe Stomata Famili *Piperaceae* di Kota Langsa. Jurnal IPA & Pembelajaran IPA. 1(2):182–191.

- Satriyani, DPP. 2021. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.). *Jurnal Farmasi Malahayati*. 4(1):31–43.
- Silalahi, M. 2020. Essential Oil pada *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf Dan Bioaktivitasnya. *Titian Ilmu: Jurnal Ilmiah Multi Sciences*. 12(1):7–13.
- Siregar, ARS., Fadhliah, N., Hasairin, A. 2021. Botani Ekonomi dan Pemanfaatan Sirih (*Piper betle* L.) di Pasar Tradisional Sukaramai, Kota Medan. Prosiding Sixth Postgraduate Bio Expo 2021. 203–212.
- Soliha, I., Widiyantoro, A., Destiarti, L. 2017. Karakterisasi Terpenoid Dari Fraksi Diklorometana Bunga Nusa Indah (*Mussaenda erythrophylla*) dan Aktivitas Sitotoksiknya Terhadap Sel Kanker Payudara T47d. *JKK*. 6(4):10–14.
- Su, X., Lu, G., Ye, L., Shi, R., Zhu, M., Yu, X., et al. 2023. RSC Advances *Moringa oleifera* Lam : A Comprehensive Review On Active Components, Health Benefits And Application. *RSC Advances*. 13:24353–24384.
- Sunani, S., Hendriani, R. 2023. Classification and Pharmacological Activities of Bioactive Tannins. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*. 3(2):130–136.
- Surjowardjo, P., Susilorini, TE., Sirait, GRB. 2015. Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas sp*. Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah Puguh. *Jurnal Ternak Tropika*. 16(2):40–48.
- Suryanditha, PA., Widhidewi, NW., Paramasatiari, AAAL., Wedari, NLPH. 2024. Karakteristik Bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan Kepekaannya terhadap Antibiotik di Badan Rumah Sakit Umum Tabanan tahun 2018 – 2020. *Intisari Sains Medis*. 15(1):314–318.
- Ullah, A., Munir, S., Badshah, SL., Khan, N., Ghani, L., Poulson, BG., et al. 2020. Therapeutic Agent. 1–39.
- Umarudin, Adnyana, IGA., Rohayati, SNS., Sembiring, F., Rakanita, Y., et al. 2023. Bakteriologi 2. Sustainability (Switzerland).
- Uzairue, LI., Rabaan, AA., Adewumi, FA., Okolie, OJ., Folorunso, JB., Bakhrebah, MA., et al. 2022. Global Prevalence of Colistin Resistance in *Klebsiella pneumoniae* from Bloodstream Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Pathogens*. 11:1-12.
- Vifta, RL., P, MAW., Hati, AK. 2017. Perbandingan Total Rendemen dan Skrining

- Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) secara Mikrodilusi. Journal of Science and Application Technology. 1(2):87–93.
- Wahyuni, S., Rahayu, TP., Kiromah, NZW. 2024. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Bakteri *Klebsiella pneumonia* Penyebab Ulkus Diabetik. Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian. 5(2):126.
- Wang, G., Zhao, G., Chao, X., Xie, L., Wang, H. 2020. The Characteristic of Virulence, Biofilm And Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. International Journal of Environmental Research and Public Health. 17(17):1–17.
- Wang, Z., Tian, Y., Yang, M., Yang, J., Wang, Y., Tao, L., et al. 2024. Extraction Of Phenolic Compounds From *Moringa oleifera* Lam. Leaves With Ultrasonic-Assisted Deep Eutectic Solvents. Frontiers in Nutrition. 1–16.
- Wardani, L., Ompusunggu, GB., Wirawati, KT., Yanti, KRD. 2024. Recent Advances And Applications In The Antibacterial Activity Of *Piper betle* Leaf Extract. Pharmacy Reports. 4(1):1–8.
- Watban, HM., Al-Maaly, NMH. 2023. Bacteriological Identification and Molecular Detection of *Klebsiella pneumoniae* from Pneumonic Camels in Al-Muthanna Province. Archives of Anesthesiology and Critical Care. 11(11):1881–1886.