

**PENGARUH EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle Linn*)
TERHADAP PENURUNAN ANGKA KUMAN ISOLAT PARU PADA
MENCIT YANG DIINFEKSI *Klebsiella pneumoniae***

Syahidatul arifa¹, Lilis Suryani²

ABSTRACT

Betel leaf extract (*Piper betle Linn*) have antimicrobial activity against broad spectrum of microorganisms, including bacteria *Klebsiella pneumoniae* which can infect the lungs. Sterols in betel leaf extract is considered to be active molecules that interact with bacterial cell walls and membranes. This study aims to prove the effect of betel leaf extract in reducing the number of bacteria in mice *Klebsiella pneumoniae* infected lung.

Laboratory experimental with the post-test-only control group design was conducted at 30 Balb/c mice, divided into six groups (five each): negative control; positive control; betel extract at dose of 100mg / kg, 200mg / kg, 400mg / kg; and amoxicillin 1.3 kg / kg. Pneumonia condition induced by *Klebsiella pneumoniae* infection intranasally. The treatment was done for 7 days. The bacteria number of lung isolates were calculated by streak plate count method on MacConkey media. Kruskal Wallis test was used to compare differences between groups.

These results indicate that administration of betel leaf extract was not able to reduce the number of bacteria in *Klebsiella pneumoniae* infected lung ($P > 0.05$). Betel leaf extract at a dose of 100mg / kg, 200mg / kg and 400mg / kg did not have a significant difference in reducing the number of bacteria in the Balb/c mice lung which infected by *Klebsiella pneumoniae*.

Keyword : *Piperbetel Linn*, *Klebsiella pneumoniae*, bacteria number of lung, Balb/c mice

ABSTRAK

Ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) memiliki aktivitas antimikrobia terhadap mikroorganisme dalam spektrum yang luas, termasuk bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang dapat menginfeksi paru. Sterol dalam ekstrak daun sirih dianggap menjadi molekul aktif yang berinteraksi dengan dinding sel dan membran bakteri. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh pemberian ekstrak daun sirih dalam menurunkan angka kuman paru pada mencit yang diinfeksi *Klebsiella pneumoniae*.

Rancangan penelitian eksperimental laboratorik dengan *post test-only control group design* dilakukan pada 30 mencit Balb/c yang dibagi menjadi enam kelompok (masing-masing lima), yaitu: kontrol negatif; kontrol positif; ekstrak sirih dengan dosis 100mg/kgBB, 200mg/kgBB, 400mg/kgBB; dan amoxicillin 1,3kg/kgBB. Kondisi pneumonia diinduksi dengan infeksi *Klebsiella pneumoniae* secara intranasal. Perlakuan dilakukan selama 7 hari. Jumlah kuman Angka kuman isolat paru dihitung dengan metode *streak plate count* pada media MacConkey. Uji *Kruskal Wallis* digunakan untuk membandingkan perbedaan antar kelompok.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sirih tidak mampu menurunkan angka kuman isolat paru mencit yang diinfeksi *Klebsiella pneumoniae* ($P > 0,05$). Pemberian ekstrak daun sirih dengan dosis 100mg/kgBB, 200mg/kgBB, dan 400mg/kgBB tidak memiliki perbedaan yang bermakna dalam menurunkan angka kuman isolat paru mencit Balb/c yang diinfeksi *Klebsiella pneumoniae*.

Kata kunci : *Piper betel Linn*, *Klebsiella pneumoniae*, Angka kuman paru, mencit Balb/c

PENDAHULUAN

Pneumonia merupakan penyakit inflamasi parenkim paru yang dapat disebabkan berbagai hal. Salah satu penyebabnya yaitu oleh infeksi bakteri, termasuk *Klebsiella pneumoniae* (Peto *et al.*, 2014). Infeksi bakteri ke parenkim paru akan menyebabkan proliferasi mikroba patogen pada alveolus serta memunculkan respon host terhadap patogen tersebut (Mandell dan Wunderink, 2012).

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri gram negatif yang dapat menyebabkan pneumonia. Sering kali menyerang pada orang-orang dengan daya tahan tubuh lemah dan malnutrisi. Pada pemeriksaan sputum bakteri akan muncul dalam bentuk tebal, mukoid, kadang bercampur darah. Bakteri ini akan menghasilkan kapsul polisakarida yang kental sehingga menyulitkan pasien untuk mengeluarkannya dari paru-paru (Husain, 2015)

Ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) memiliki aktivitas antimikrobal terhadap mikroorganisme dalam spektrum yang luas, termasuk bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang dapat menginfeksi paru (Jesonbabu *et al.*, 2012). Menurut Chakraborty dan Shah (2011) ekstrak daun sirih menunjukkan kandungan sterol yang tinggi, fenol, dan flavonoid dalam kadar sedang, dan tannin dalam kadar rendah.

Sterol dianggap menjadi komponen aktif yang memiliki potensi antibakteri. Sterol merupakan struktur lipid yang muncul dalam membran sel eukariotik. Strukturnya memiliki empat cincin gabungan dan sebuah kelompok hidroksil (Nelson dan Cox, 2012). Sterol dalam ekstrak daun sirih akan berinteraksi dengan dinding sel dan membran bakteri, membuat terjadinya kerusakan dalam struktur primer dinding sel bakteri. Hal ini kemudian membuat terjadinya degradasi dari sel bakteri (Chakraborty dan Shah, 2011). Ekstrak sirih yang mengandung asam lemak seperti asam palmitat, asam stearat dan ester asam lemak hidroksi memiliki aktivitas antibakteri cukup poten melawan berbagai mikroorganisme patogen (Nalina dan Rahim, 2007).

Berdasarkan potensi yang dimiliki daun sirih, penting dilakukan penelitian efektivitas ekstrak daun sirih untuk menurunkan angka kuman isolat paru mencit yang diinfeksi *Klebsilla pneumoniae*. Dengan harapan ekstrak daun sirih bisa digunakan sebagai obat alternatif dalam usaha penyembuhan penyakit pneumonia.

METODE

Ekstrak sirih dibuat dengan cara mengeringkan daun sirih kemudian dibuat dalam bentuk serbuk. Serbuk ditimbang sesuai kebutuhan dosis dan dimaserasi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1: 5, selama tiga hari untuk tujuh bagian pertama. Kemudian ekstrak disaring dengan untuk mendapat filtrat pertama. Remaserasi dilakukan dengan menggunakan tiga bagian metanol yang tersisa selama dua hari. Penyaringan kembali dilakukan sehingga didapatkan filtrat kedua. Filtrat kemudian dicampur dan disaring menggunakan kertas saring. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan rotary n, evaporat sampai diperoleh ekstrak kental.

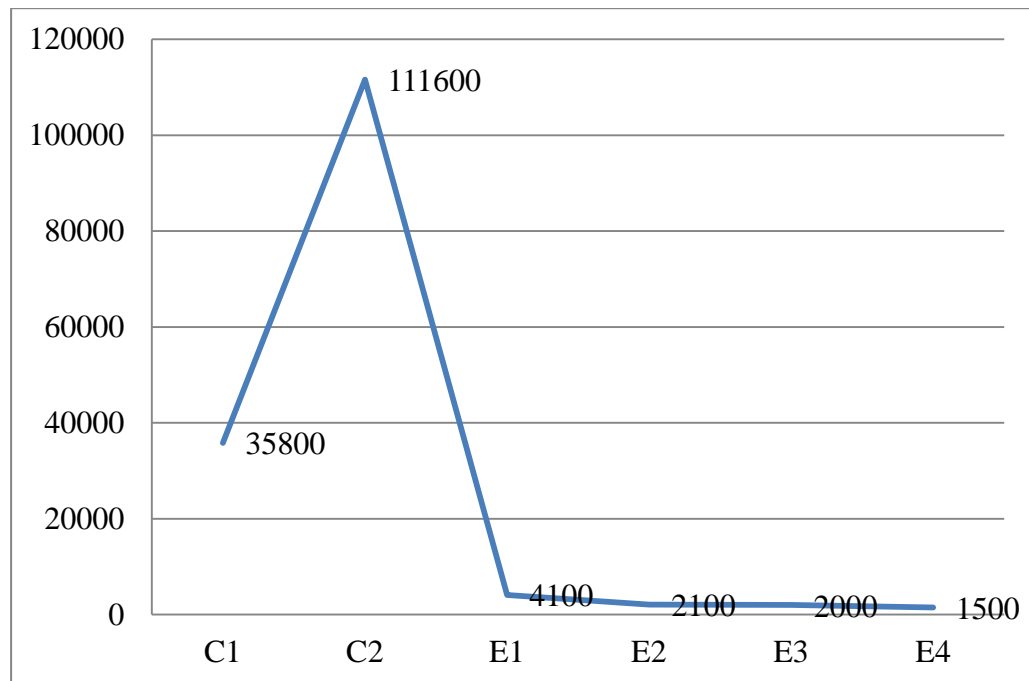
Rancangan penelitian eksperimental laboratorik dengan post test-only control group design dilakukan pada 30 mencit Balb/c. Mencit dibagi menjadi enam kelompok (masing-masing lima mencit) yaitu: kontrol negatif; kontrol positif; ekstrak sirih dengan dosis 100mg/kgBB, 200mg/kgBB, 400mg/kgBB; dan amoxicillin 1,3kg/kgBB. Pada kelompok kontrol positif dan empat kelompok perlakuan, mencit diinfeksi dengan bakteri *Klebsilla pneumoniae* secara intranasal sebanyak sebanyak 10^8 CFU dalam 50 μ l (Chibber *et al.*, 2008). Setelah 24 jam seluruh mencit diberikan perlakuan sesuai kelompoknya masing-masing selama 7 hari.

Pada hari ke-7 semua mencit dilakukan terminasi dan diambil kedua paru untuk pemeriksaan angka kuman isolat paru. Metode *streak plate count* pada media MacConkey dilakukan untuk menghitung jumlah kuman angka kuman isolat paru. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak sirih terhadap angka kultur kuman isolat paru pada mencit yang

diinfeksi oleh *Klebsiella pneumoniae*, uji statistik hasil pemeriksaan angka kuman menggunakan uji *Kruskal Wallis*.

HASIL PENELITIAN

Hasil pemeriksaan perhitungan angka kuman isolat paru mencit Balb/c yang diinfeksi *Klebsiella pneumoniae* diperoleh hasil seperti yang ditampilkan pada gambar 1.



Gambar 1 Rata-rata jumlah angka kuman isolat paru mencit Balb/c yang diinfeksi *Klebsiella pneumoniae* dengan berbagai perlakuan

Grafik tersebut menunjukkan rata-rata jumlah angka kuman isolat paru tertinggi pada kelompok C2 yaitu kelompok kontrol positif dengan jumlah sebesar 111.600,00CFU/gram. Jumlah angka kuman isolat paru terendah terdapat pada kelompok mencit yang diinfeksi *Klebsiella pneumoniae* dan diberi amoxicilin 1,3mg/kgBB dengan rata-rata 1500,00 CFU/gram.

Hasil statistika menggunakan *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai $p = 0,825$ ($p > 0,05$), artinya perbedaan derajat dosis pemberian ekstrak sirih (*Piper betel Linn*) tidak menunjukkan penurunan angka kuman isolat paru yang bermakna.

Setiap kelompok perlakuan dengan dosis bervariasi tersebut dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (mencit diinfeksi *Klebsiella pneumoniae* namun tidak diberi perlakuan) didapatkan hasil $p > 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan tidak menunjukkan penurunan angka kuman yang bermakna dibandingkan kelompok kontrol positif ($P \geq 0,05$). Pemberian ekstrak daun sirih dengan dosis 100mg/kgBB, 200mg/kgBB, dan 400mg/kgBB tidak mampu menurunkan angka kuman isolat paru mencit Balb/c yang diinfeksi *Klebsiella pneumoniae*.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) tidak dapat menurunkan angka kuman isolat paru pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Klebsiella pneumoniae* ($P = 0,825$). Selain itu seluruh kelompok perlakuan tidak menunjukkan kemampuan untuk menurunkan angka kuman isolat paru secara signifikan dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi ekstrak daun sirih ($P \geq 0,05$). Hal ini mungkin disebabkan oleh senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak daun sirih yang terlalu sedikit. Selain itu, rentang dosis yang terlalu kecil sehingga hasilnya tidak signifikan. Stuktur dinding sel yang tebal dari bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang mungkin menyebabkan senyawa anti bakteri sulit menembus dinding sel bakteri untuk menyebabkan kematian bakteri.

Menurut Chakraborty dan Shah (2011), ekstrak daun sirih menunjukkan kandungan sterol yang tinggi, fenol, dan flavonoid dalam kadar sedang, dan tannin dalam kadar rendah. Sterol dianggap menjadi komponen aktif yang memiliki potensi antibakteri. Aktivitas antibakteria dari fenol mirip dengan asam organik lain seperti asam benzoat dan asam hidroksibenzoat. Senyawa ini akan melakukan difusi dengan asam yang tidak terdisosiasi pada membran sel (Sanchez-Maldonado, *et al.*, 2011).

Flavonoid juga memiliki aktivitas antibakteri, meskipun dalam penelitian Dzoyem *et al.* (2013) menunjukkan hasil yang tidak spesifik mengenai mekanisme aksi dari flavonoid

sebagai antimikroba. Sedangkan, Tannin mampu menghambat bakteri dengan cara bereaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim-enzim dan destruksi fungsi material genetik (Pratiwi, 2008).

Klebsiella pneumoniae memiliki beberapa struktur yang berfungsi untuk melindungi bakteri ini yakni kapsul dan lipopolisakarida (LPS). *Klebsiella pneumoniae* menghasilkan kapsul polisakarida yang merupakan patogenitas utamanya. Kapsul ini terdiri atas akumulasi serta-serat halus polimer yang merupakan polimer kapsul polisakarida setebal 160nm untuk melindungi bakteri dari fagositosis oleh granulosit polimorfonuklear, selain itu kapsul ini juga mencegah kematian bakteri yang disebabkan oleh serum faktor bakterisidal (Amako, *et al.*, 1988).

Lipopolisakarida merupakan faktor patogenitas lain dari *Klebsiella pneumoniae*. zat ini mampu mengaktivasi komplemen yang menyebabkan deposisi c3b menuju molekul LPS pada lokasi yang jauh dari sel membran bakteri sehingga mencegah kerusakan membran dan kematian sel bakteri (Qureshi dan Bronze, 2015). Hal ini juga mungkin yang menyebabkan sulitnya ekstrak daun sirih untuk bekerja.

Pada penelitian ini, diperoleh data pada kelompok sehat, yaitu kontrol negatif yang tidak diinfeksi *Klebsiella pneumoniae*, menunjukkan adanya kuman pada paru, padahal seharusnya bernilai nol. Kemungkinan hal ini terjadi akibat adanya kontaminan *Klebsiella pneumoniae*, yang berasal dari lingkungan sekitar seperti kandang mencin Balb/c, pakan, air, minum, atau dari kelompok perlakuan lain. Standar deviasi yang sangat besar pada kelompok perlakuan juga kemungkinan disebabkan karena kontaminasi dari kelompok lain serta jumlah sampel yang minimal. Keterbatasan peneliti dalam mengamati angka kuman isolat paru pada media agar MacConkey juga dapat memengaruhi hasil penelitian ini.

SIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa Pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) tidak mampu menurunkan angka kuman isolat paru mencit yang diinfeksi *Klebsiella pneumoniae*. Selain itu, pemberian ekstrak daun sirih dengan dosis 100mg/kgBB, 200mg/kgBB, dan 400mg/kgBB tidak memiliki perbedaan yang bermakna dalam menurunkan angka kuman isolat paru mencit Balb/c yang diinfeksi *Klebsiella pneumoniae*.

DAFTAR RUJUKAN

- Amako, K., Meno, Y., & Takade, A. (1988). fine structure of the capsules of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli K1*. *Journal of Bacteriology*, 4960-4962.
- Chakraborty, D., & Shah, B. (2011). Antimicrobial, antioxidative and antihemolytic activity of *Piper betel* leaf extracts. *Int. J. Pharm. Pharm.Sci*, 192-199.
- Chibber, S., Kaur, S., & Kumar, S. (2008). Therapeutic potential of bacteriophage in treating *Klebsiella pneumoniae* B5055-mediated lobar pneumonia in mice. *Journal of Medical Microbiology* , 57, 1508–1513.
- Dzoyem, J. P., Hamamoto, H., Ngameni, B., Ngadjui, B. T., & Sekimizu, K. (2013). Antimicrobial action mechanism of flavonoids from *Dorstenia* species. *Drug Discoveries & Therapeutics* , 66-72.
- Husain, A. N. (2015). The Lung. Dalam V. Kumar, A. K.Abbas, & J. C.Aster., *Robbins and Contran Pathologic Basis of Disease* (9 ed.). Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Jesonbabu, J., Spandana, N., & Lakshmi, K. (2012). Invitro antimicrobial potentialities of chloroform extracts of Ethanomedicinal plant against clinically isolated human pathogens. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci* , 624-626.
- Mandell, L. A., & Wunderink, R. (2012). Pneumonia. Dalam D. L. Longo, D. L. Kasper, J. L. Jameson, A. S. Fauci, S. L. Hauser, & J. Loscalzo, *HARRISON's Principles of Internal Medicine* (hal. 2130-2141). New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Nalina, T., & Rahim, Z. (2007). The crude aqueous extract of *Piper betel L.* and it's antibacterial effect towards *Streptococcus mutans*. *American journal of Biotechnology and Biochemistry* , 3, 10-15.
- Nelson, D. L., & M. Cox, M. (2012). *Lehninger Principles of Biochemistry* (6 ed.). New York: W.H. Freeman and Company.
- Peto, L., Nadjm, B., Horby, P., Ngan, T. T., Doorn, R. v., Kinh, N. V., et al. (2014). The bacterial aetiology of adult community-acquired pneumonia in Asia: a systematic review. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* , 108, 326–337.
- Pratiwi, S. (2008). Aktivitas Antibakteri Tepung Daun Jarak (*Jtropa Cucas*) pada berbagai Bakteri Saluran Pencernaan Ayam Broiler secara in vitro. *Skripsi. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor* .
- Qureshi, S., & Bronze, M. S. (2015, oktober 6). *Klebsiella Infections*. Dipetik november 3, 2015, dari Medscape: <http://emedicine.medscape.com/article/219907-overview#a5>
- Sanchez-Maldonado, A., Schieber, A., & Ganzle, M. (2011). Structure–function relationships of the antibacterial activity of phenolic acids and their metabolism by lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology* , 1176-1184.

