

PENGARUH VARIASI KONSENTRASI EKSTRAK DAUN SIRIH TERHADAP KADAR FENOLIK DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI *PROPIONIBACTERIUM ACNE* DALAM HIDROGEL

Arum Kusuma Wardani, Noor Isnaini Azkiya, Salsabila Farahiyah Mufidah, Tabriza Yasmine Wiradarma

Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang, Jl. Soekarno Hatta No. 9, Malang 65141, Indonesia
arumkusumawd@gmail.com; [noorisna@polinema.ac.id]

ABSTRAK

Hidrogel merupakan jenis makromolekul polimer hidrofilik yang memiliki kemampuan untuk menyerap dan mengembang dalam air, serta memiliki fleksibilitas tinggi dan daya difusi air yang baik. Karakteristik ini menjadikan hidrogel banyak diaplikasikan di bidang kesehatan dan kosmetik, salah satunya sebagai bahan dasar gel anti *acne*. Salah satu sumber bahan alam yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri adalah daun sirih (*Piper betle*), yang mengandung senyawa aktif dari golongan fenolik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi daun sirih dan pelarut terhadap kadar total fenolik, serta mengkaji pengaruh jumlah ekstrak daun sirih terhadap aktivitas antibakteri. Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini meliputi konsentrasi daun sirih sebesar 15%, 20%, dan 25% (b/v), serta jumlah ekstrak yang digunakan sebanyak 0,5 gram; 1 gram; 1,5 gram; dan 2 gram. Analisis yang dilakukan mencakup penentuan kadar total fenolik dan uji aktivitas antibakteri. Hasil menunjukkan bahwa kadar total fenolik tertinggi diperoleh pada ekstrak dengan konsentrasi daun sirih 25%, yaitu sebesar 0,93 mg GAE/g. Zona hambat antibakteri paling besar ditunjukkan oleh formulasi hidrogel dengan konsentrasi daun sirih 25% dan jumlah ekstrak 1 gram, dengan diameter zona hambat sebesar 19 mm.

Kata kunci: antibakteri, daun sirih, fenolik, hidrogel, maserasi

ABSTRACT

Hydrogel is a type of hydrophilic polymer macromolecule that possesses the ability to absorb and swell in water, characterized by high flexibility and excellent water diffusion capacity. These properties make hydrogels widely utilized in the fields of healthcare and cosmetics, including as a base material for anti-acne gels. One natural ingredient known for its antibacterial activity is betel leaf (Piper betle), which contains active compounds from the phenolic group. This study aims to investigate the effect of varying betel leaf concentrations and solvent types on total phenolic content, as well as to examine the influence of extract quantity on antibacterial activity. The independent variables in this study include betel leaf concentrations of 15%, 20%, and 25% (w/v), along with extract amounts of 0.5 gram; 1 gram; 1.5 gram; and 2 gram. The analyses conducted consisted of determining total phenolic content and performing antibacterial activity assays. The results indicated that the highest total phenolic content was obtained from the extract with a 25% betel leaf concentration, reaching 0.93 mg GAE/g. The greatest antibacterial inhibition was observed in the hydrogel formulation containing 25% betel leaf and 1 g of extract, with an inhibition zone diameter of 19 mm.

Keywords: antibacterial, betel leaf, phenolic, hydrogel, maceration

1. PENDAHULUAN

Hidrogel merupakan makromolekul polimer hidrofilik yang terbentuk melalui proses ikatan silang secara kimiawi. Material ini memiliki kemampuan untuk mengalami pembengkakan (*swelling*) ketika dalam air, serta menunjukkan tingkat fleksibilitas dan permeabilitas air yang tinggi [1]. Dalam sintesis hidrogel, pemanfaatan polimer berbasis alam menjadi pilihan utama karena sejumlah keunggulan yang dimilikinya, antara lain sifatnya yang *biodegradable*, ketersediaannya yang melimpah di alam, biaya produksi yang relatif rendah, serta kontribusinya terhadap upaya pelestarian lingkungan [2]. Salah satu polimer turunan selulosa yang umum digunakan adalah karboksimetil selulosa (CMC), yang dikenal sebagai bahan *biodegradable* dan mudah diakses. Selain itu, CMC memiliki kapasitas penyerapan air yang tinggi, mencapai sekitar 60%, sehingga sangat potensial sebagai bahan dasar dalam formulasi hidrogel [3].

Berdasarkan karakteristik fungsionalnya, hidrogel telah menjadi salah satu material yang banyak dikembangkan untuk berbagai aplikasi, meliputi sektor pertanian, kesehatan, dan kosmetik. Dalam bidang tersebut, hidrogel dimanfaatkan sebagai agen *controlled release fertilizer* (CRF), sistem penghantaran obat (*drug delivery*), penukar ion, bahan superabsorben, serta sebagai komponen dalam pembalut luka. Khusus dalam aplikasi kesehatan dan kecantikan, hidrogel memiliki kemampuan untuk menjaga kelembapan permukaan kulit, menyerap cairan biologis atau eksudat, menjaga kebersihan kulit, serta memberikan perlindungan terhadap paparan lingkungan eksternal [4]. Berdasarkan sifat-sifat tersebut, hidrogel sangat sesuai digunakan sebagai matriks dalam formulasi gel *antiacne*.

Acne vulgaris atau yang lebih dikenal sebagai jerawat, merupakan gangguan kulit yang disebabkan oleh obstruksi atau peradangan pada kelenjar sebacea (pilosebacea) yang ditandai dengan munculnya lesi berupa komedo, papula, pustula, nodul, hingga kista pada permukaan kulit [5]. Meskipun bukan termasuk penyakit infeksius, jerawat dipicu oleh penyumbatan pori-pori kulit yang melibatkan aktivitas bakteri *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*). Bakteri ini merupakan flora normal kulit manusia yang bersifat gram positif dan berbentuk batang. *P. acnes* memproduksi asam lemak bebas melalui proses hidrolisis trigliserida dalam sebum oleh enzim lipase. Komponen trigliserida akan terurai menjadi asam lemak bebas, yang kemudian dapat memicu proliferasi *P. acnes* secara berlebihan dan menyebabkan reaksi inflamasi pada kulit, sehingga berkontribusi terhadap pembentukan jerawat [6]. Pertumbuhan *P. acnes* dapat dikurangi dengan penggunaan senyawa antibakteri, seperti eritromisin, klindamisin, dan tetrasiklin, yang berfungsi menghambat aktivitas bakteri dan menurunkan tingkat inflamasi [7].

Zat antibakteri dapat diperoleh dari sumber alam, salah satunya adalah daun sirih (*Piper betle*). Daun sirih mengandung sekitar 4,2% minyak atsiri yang didominasi oleh senyawa fenolik dan turunannya. Komponen utama dari minyak atsiri tersebut antara lain eugenol (26,8–42,5%), cineol (2,4–4,8%), metil eugenol (4,2–15,8%), kariofilen (3–9,8%), hidroksikavikol, kavikol (7,2–16,7%), kabivetol (2,7–6,2%), estragol, karvakrol (2,2–5,6%), serta senyawa bioaktif lainnya seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin, terpen, fenilpropan, terpinen, diastase (0,8–1,8%), dan tanin (1–1,3%). Senyawa fenolik dan turunannya diketahui memiliki aktivitas antibakteri yang bekerja melalui mekanisme denaturasi protein sel bakteri, sehingga menyebabkan disfungsi membran dan akhirnya

mengakibatkan kematian sel bakteri [8]. Oleh sebab itu tanaman daun sirih cocok digunakan sebagai agen antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri *P.acnes*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi daun sirih (*Piper bitle*) dan pelarut atas kandungan fenolik total serta jumlah ekstrak daun sirih terhadap sifat antibakteri. Pembuatan hidrogel menggunakan *carboxymethylcellulose* (CMC) dengan agen pengikat silang kalsium klorida (CaCl_2) dan bahan pengental tambahan berupa HPMC dan karbopol. Penelitian ini menggunakan metode kuantitatif, analisis yang digunakan penelitian ini berupa analisis kadar fenolik total dan analisis kualitas hidrogel berupa analisis antibakteri.

Penelitian ini dibatasi pada formulasi hidrogel berbasis kombinasi polimer CMC, HPMC, dan karbopol dengan CaCl_2 sebagai crosslinker serta penambahan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) hasil ekstraksi etanol 96%. Parameter uji difokuskan pada kadar fenolik total dan aktivitas antibakteri. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa hidrogel dengan tambahan ekstrak tumbuhan dapat meningkatkan sifat bioaktif, sementara daun sirih kaya senyawa fenolik yang berperan sebagai antibakteri dan antioksidan. Kebaruan penelitian ini adalah pemanfaatan kombinasi polimer CMC–HPMC–karbopol dengan CaCl_2 untuk menghasilkan hidrogel antibakteri berbasis ekstrak daun sirih, sekaligus mengeksplorasi hubungan antara kadar fenolik total dan aktivitas antibakterinya sebagai alternatif biomaterial alami berpotensi farmasi dan biomedis. Adapun tujuan penelitian ini adalah menjelaskan pengaruh konsentrasi daun sirih (*Piper betle*) dan pelarut terhadap kandungan fenolik total dan sifat antibakteri, serta menjelaskan pengaruh jumlah ekstrak terhadap sifat antibakteri pada hidrogel yang terbentuk.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Ekstraksi Metode Maserasi Daun Sirih

Daun sirih dibersihkan dan dikeringkan selama 3 hari dengan cara dijemur. Daun sirih kemudian dihaluskan menggunakan blender dan disaring menggunakan *screening* 60 mesh. Daun sirih ditimbang sesuai dengan konsentrasi 15% (b/v) dan dimasukkan ke botol maserasi. Etanol 96% ditambahkan sebanyak 1 liter dan direndam selama 72 jam. Hasil ekstrak disaring menggunakan kertas saring. Pelarut dan ekstrak dipisahkan menggunakan metode distilasi sederhana pada suhu 80°C hingga tidak ada ekstrak yang menetes. Ekstrak daun sirih hasil distilasi disimpan pada wadah steril. Langkah yang sama dilakukan untuk variabel konsentrasi ekstrak 20% dan 25% (b/v) [9].

2.2 Uji Kadar Fenolik

a. Pembuatan Larutan Asam Galat 1 mg/mL

Sebanyak 50 mg asam galat ditimbang kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 1 mL. Campuran asam galat kemudian dilarutkan dengan aquades hingga volumenya menjadi 50 mL [10].

b. Penentuan *Operating Time*

Sebanyak 0,5 mL larutan asam galat 1 mg/mL diambil dan dihomogenkan dengan 1 mL reagen Folin–Ciocalteu. Campuran didiamkan selama 8 menit pada suhu ruang. Larutan Na_2CO_3 ditambahkan sebanyak 3 mL dan dihomogenkan. Absorbansi larutan diukur setiap 5 menit selama 60 menit pada panjang gelombang maksimum 765 nm [10].

c. Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Variabel konsentrasi asam galat dibuat 0; 50; 100; dan 150 µg/mL dari larutan asam galat. Masing-masing larutan diambil sebanyak 0,2 mL. Kemudian ditambahkan dengan 15,8 mL akuades dan 1 mL reagen Folin–Ciocalteu. Campuran dihomogenkan dan didiamkan selama 8 menit. Setelah itu, larutan Na₂CO₃ 1 M sebanyak 3 mL didiamkan selama *operating time* (OT). Besar absorbansi diukur dengan panjang gelombang maksimum 765 nm [10].

d. Penentuan Kadar Fenolik Total

Hasil Ekstrak daun sirih ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan aquades hingga volume menjadi 100 mL. Larutan ekstrak daun sirih dipipet sebanyak 1 mL dan diencerkan hingga volume menjadi 10 mL. Larutan ekstrak diambil sebanyak 0,2 mL dan ditambahkan 15,8 mL aquades serta 1 mL reagen Folin-Ciocalteu. Kemudian larutan dicampurkan hingga homogen dan didiamkan selama 8 menit. Campuran ditambahkan Na₂CO₃ 1 M dan didiamkan selama *operating time* (OT). Diukur besar absorbansi dengan panjang gelombang maksimum asam galat 765 nm. Kadar fenolik total diukur dengan rumus [11]:

$$\text{TPC (mg GAE/g)} = \frac{C.V.f_P}{g} \quad (1)$$

Keterangan Perhitungan Total Fenolik (TPC):

TPC : *Total Phenolic Content* (mg GAE/g ekstrak)

C : Konsentrasi fenolik (nilai x)

V : Volume ekstrak yang digunakan (mL)

F_p : Faktor pengenceran

G : Berat sampel yang digunakan (gram)

2.3 Prosedur Pembuatan Hidrogel

CaCl₂ ditimbang sebanyak 10 gram dan dihomogenkan dalam 200 mL aquades. Sebanyak 10 gram CMC ditimbang dan dihomogenkan ke dalam larutan CaCl₂ sebagai campuran 1 (C1). Campuran (C1) ditambahkan 50 mL aquades dan diaduk selama 1,5 jam hingga homogen. Campuran 2 (C2) didapatkan dari pencampuran HPMC sebanyak 25 gram dalam 50 mL aquades panas dengan 0,625 gram karbopol yang diaduk hingga homogen. Setelah semua adonan homogen, C2 dicampurkan dengan C1 dan diaduk selama 30 menit hingga homogen. Pada tiap 50 gram adonan hidrogel ditambahkan ekstrak daun sirih sebanyak 0,5 gram; 1 gram; 1,5 gram; dan 2 gram untuk ekstrak konsentrasi daun sirih 15%. Hidrogel yang berbentuk pasta dipindahkan ke dalam cawan petri dengan tebal 0,2 cm. Hidrogel disimpan selama 24 jam pada suhu ruang. Dilakukan uji antibakteri hidrogel. Langkah yang sama dilakukan untuk variabel ekstrak dengan konsentrasi daun sirih 20% dan 25%(b/v) [12].

2.4 Uji Difusi Cakram

Sebanyak 5 gram serbuk *Nutrient Agar* ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, kemudian dilarutkan dalam 250 mL aquades. Larutan dipanaskan hingga homogen dan mencapai titik didih. Setelah itu, media disterilisasi menggunakan autoklaf

pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu didinginkan. Media cair tersebut kemudian dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 10 mL dan dibiarkan hingga memadat.

Sebanyak 0,1 mL suspensi bakteri *Propionibacterium acnes* dipipet menggunakan mikropipet dan diinokulasikan ke permukaan media padat. Suspensi bakteri diratakan menggunakan *L-glass rod* secara aseptik. Inokulum kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk memungkinkan pertumbuhan koloni bakteri. Setelah media diinokulasi, dilakukan uji antibakteri menggunakan metode difusi sumuran. Pada setiap cawan petri, dibuat empat buah sumur dengan diameter 6 mm menggunakan bor steril. Masing-masing sumur diisi dengan 0,1 gram sampel hidrogel yang akan diuji. Selanjutnya, cawan diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, zona hambat (zona bening) yang terbentuk di sekitar sumur diamati sebagai indikator aktivitas antibakteri dari sampel. Luas zona hambat diukur menggunakan penggaris atau jangka sorong, kemudian dihitung menggunakan rumus [13]:

$$\frac{(zh-hh)+(zv-hv)}{2} \quad (2)$$

Keterangan:

zh : Diameter zona bening horizontal

hh : Diameter hidrogel horizontal

zv : Diameter zona bening vertikal

hv : Diameter hidrogel vertikal

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan hidrogel dengan bahan dasar CMC (*Carboxymethylcellulose*), HPMC (*hydroxypropylmethyl cellulose*), karbopol, dan CaCl₂ (kalsium klorida) dengan bahan tambahan berupa ekstrak daun sirih sebagai sumber zat antibakteri. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi daun sirih (*Piper bitle*) dan pelarut terhadap kandungan fenolik total dan sifat antibakteri serta untuk mengetahui pengaruh jumlah ekstrak terhadap sifat antibakteri dalam hidrogel yang terbentuk.

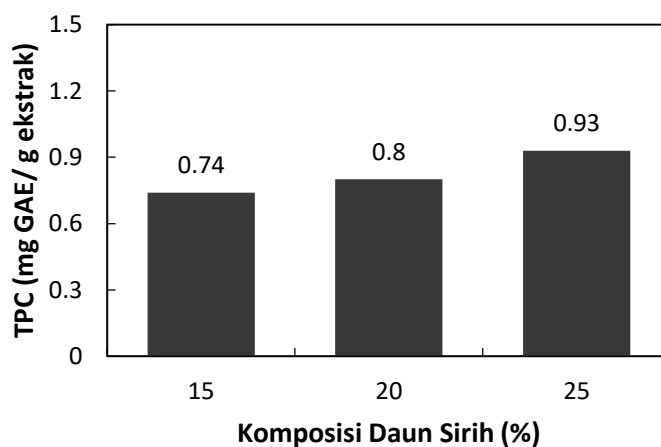
3.1. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Terhadap Kadar Fenolik

Pada penelitian ini, proses ekstraksi senyawa bioaktif dari daun sirih dilakukan menggunakan metode maserasi. Daun sirih terlebih dahulu dikeringkan kemudian dihaluskan dan disaring menggunakan ayakan berukuran 60 mesh untuk memperoleh ukuran partikel yang seragam. Penghalusan ini bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan kontak antara daun sirih dan pelarut, sehingga transfer massa senyawa aktif selama proses ekstraksi dapat optimum. Maserasi dilakukan dengan variasi konsentrasi daun sirih kering sebesar 15%, 20%, dan 25% (b/v) menggunakan etanol teknis 96% sebagai pelarut, dengan volume tetap sebesar 1 liter. Proses perendaman dilakukan selama 72 jam pada suhu ruang tanpa pengadukan, hingga diperoleh ekstrak cair yang mengandung senyawa fenolik. Ekstrak daun sirih selanjutnya disimpan pada wadah tertutup kemudian dilakukan uji kadar fenolik total untuk masing-masing variabel ekstrak daun sirih.

Penentuan kadar fenolik total bertujuan untuk mengukur jumlah senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak daun sirih. Asam galat digunakan sebagai standar pembandingan karena merupakan senyawa turunan dari golongan hidrobenzoat, yang dikenal sebagai *phenolic acid* dengan sifat yang murni dan stabil [14]. Oleh karena itu, hasil kuantifikasi kadar fenolik total diekspresikan dalam satuan ekuivalen asam galat (GAE).

Pada proses analisis, larutan asam galat yang ditambahkan reagen Folin Ciocalteu mengalami perubahan warna menjadi kuning, yang mengindikasikan keberadaan senyawa fenolik dalam sampel. Penambahan larutan natrium karbonat (Na_2CO_3) menciptakan kondisi basa, yang menyebabkan terjadinya reaksi redoks antara senyawa fenolik dan reagen Folin Ciocalteu. Dalam kondisi ini, gugus hidroksil fenolik mengalami disosiasi menjadi ion fenolat, yang selanjutnya mereduksi senyawa asam heteropoli (fosfomolibdat dan fosfotungstat) dalam reagen menjadi kompleks molybdenum tungsten berwarna biru. Intensitas warna biru yang terbentuk sebanding dengan konsentrasi senyawa fenolik yang terdapat dalam sampel sehingga dapat diukur secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Semakin pekat warna biru yang terbentuk, maka semakin tinggi kandungan fenolik total dalam sampel. Penentuan *operating time* (OT) dilakukan untuk mengetahui durasi optimum yang diperlukan agar reaksi antara analit dan reagen berlangsung sempurna sehingga nilai absorbansi maksimum yang stabil. Pada penelitian ini, waktu OT optimum diperoleh pada menit ke-10.

Pengukuran fenolik menginterpretasikan larutan asam galat sehingga konsentrasi yang didapat masih dalam bentuk konsentrasi asam galat yang terukur per mL kuvet, oleh sebab itu perlu dilakukan perhitungan nilai TPC untuk mengetahui kandungan fenolik totalnya. TPC (*Total Phenolic Content*) atau kandungan fenolik total adalah proses untuk mengetahui jumlah kandungan fenolik dalam sampel ekstrak yang dinyatakan dalam satuan mg GAE/ g ekstrak [15]. Berdasarkan hasil perhitungan nilai TPC, kandungan fenolik total dari ekstrak daun sirih pada berbagai variasi konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 1.



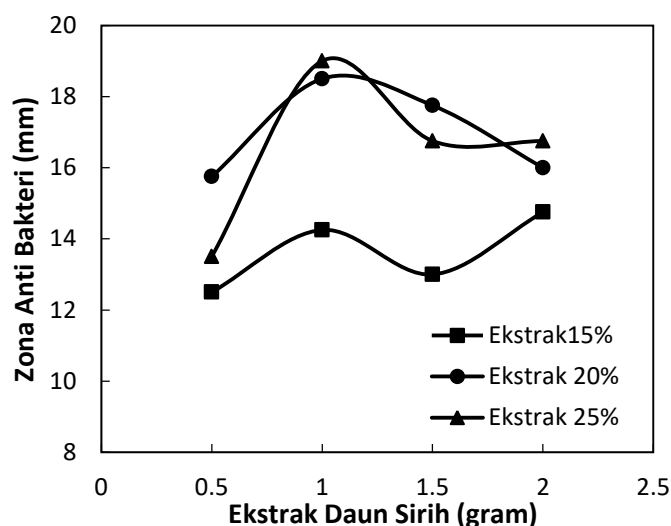
Gambar 1. Kandungan fenolik total pada tiap konsentrasi daun sirih

Pada Gambar 1, dapat diketahui bahwa semakin banyak konsentrasi daun sirih maka kadar fenolik yang didapatkan akan semakin besar. Pada proses maserasi setiap variabel

direndam dalam waktu yang sama dengan jumlah pelarut yang sama, sehingga rasio komposisi daun sirih yang lebih banyak akan mengakibatkan pelarut lebih banyak fenolik yang terekstrak, hal ini karena peningkatan massa bahan baku dalam proses ekstraksi berbanding lurus dengan jumlah senyawa fenolik yang tersedia untuk diekstraksi.

3.2. Pengaruh Jumlah Ekstrak Daun Sirih dalam Hidrogel Terhadap Aktivitas Antibakteri

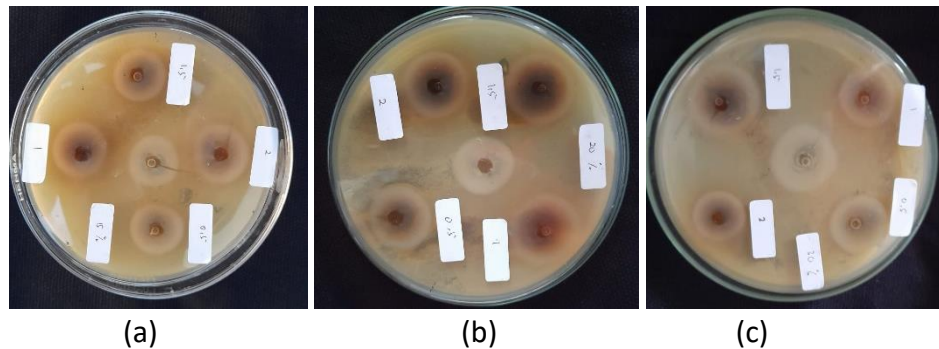
Pengujian antibakteri dilakukan menggunakan bakteri *Propionibacterium acnes*. Hidrogel yang terbentuk akan dimasukkan ke dalam cawan petri berisi biakan bakteri. Pengujian antibakteri bertujuan untuk mengetahui pengaruh jumlah ekstrak daun sirih (*Piper bitle*) terhadap sifat antibakteri serta pengaruhnya terhadap karakteristik hasil hidrogel. Setelah diinkubasi, pada permukaan media NA akan muncul lapisan putih baru yang menandakan koloni bakteri sudah tumbuh. Selanjutnya media NA akan dilubangi untuk nantinya digunakan sebagai tempat hidrogel diuji. Dari hasil pengujian didapatkan hasil pada Gambar 2.



Gambar 2. Hubungan Jumlah ekstrak daun sirih terhadap zona antibakteri (mm)

Pengujian ini didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antibakteri dalam hidrogel terhadap media yang telah diinokulasi dengan bakteri *Propionibacterium acnes*. Senyawa polifenol sebagai zat antibakteri dalam daun sirih akan merusak dinding sel dan merusak enzim – enzim pada bakteri [16]. Sebagian besar komponen penyusun dinding sel dan membran sitoplasma bakteri terdiri atas lemak dan protein, sehingga menjadikannya rentan terhadap paparan senyawa fenolik. Senyawa fenolik dapat berinteraksi dengan protein melalui pembentukan ikatan hidrogen, yang menyebabkan denaturasi dan inaktivasi protein seluler. Akibatnya, kestabilan membran sitoplasma terganggu, disertai peningkatan permeabilitas membran dan dinding sel. Gangguan ini memicu ketidakseimbangan distribusi makromolekul dan ion di dalam sel, yang pada akhirnya menyebabkan lisis sel bakteri [17]. Selain itu, berdasarkan penelitian Afifi dan Erlin (2018), ion H^+ yang berasal dari senyawa fenol dan turunannya dapat menyerang gugus polar, khususnya gugus fosfat pada struktur fosfolipid. Interaksi ini menyebabkan dekonstruksi fosfolipid, yang merupakan komponen utama membran sel bakteri, menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat. Akibatnya, integritas struktural membran sel

terganggu, yang mengakibatkan kebocoran membran dan pada akhirnya menyebabkan kematian sel bakteri [18].



Gambar 3. Uji antibakteri hidrogel konsentrasi daun sirih (a) 15% (b/v) (b) 20% (b/v) (c) 25% (b/v)

Berdasarkan kriteria yang dikemukakan oleh Susanto pada tahun 2012, zona bening dengan diameter antara 11–20 mm menunjukkan aktivitas antibakteri yang tergolong kuat terhadap *Propionibacterium acnes* [19]. Pada penelitian ini, seluruh formulasi hidrogel menunjukkan diameter zona hambat dalam rentang 12,5 hingga 19 mm, yang mengindikasikan bahwa semua sediaan memiliki aktivitas antibakteri yang kuat meskipun dengan intensitas yang bervariasi. Pada penelitian ini zona hambat terbesar diperoleh pada formulasi hidrogel yang mengandung ekstrak daun sirih sebanyak 1 gram dengan konsentrasi 25%, yang menghasilkan diameter zona bening sebesar 19 mm yang tampak pada Gambar 3.

Efektivitas suatu zat antibakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain durasi kontak antara agen antibakteri dan mikroorganisme, jenis serta jumlah populasi mikroba target, suhu, pH lingkungan, konsentrasi materi pada sel mikroba, serta konsentrasi agen antibakteri yang digunakan. Konsentrasi antibakteri memiliki peranan penting dalam penghambatan pertumbuhan bakteri; semakin tinggi konsentrasi senyawa antibakteri yang diaplikasikan, maka semakin besar pula tingkat kematian sel bakteri yang terjadi [18].

Pada penelitian ini, zona hambat cenderung meningkat pada penambahan 1 gram ekstrak, namun menurun pada penambahan ekstrak yang lebih banyak. Hal ini dapat dikarenakan beberapa kondisi seperti adanya robekan pada media agar yang berisi bakteri serta luberan dari hidrogel itu sendiri. Robekan selama pengujian menyebabkan luas area sentuhan antara hidrogel dengan media agar berisi bakteri semakin luas akibatnya zona bening yang terbentuk akan semakin besar. Begitu pula pada kondisi luberan, saat hidrogel meluber luas hidrogel akan semakin besar sehingga kontak antara hidrogel dengan bakteri akan semakin besar pula. Luberan pada hidrogel diakibatkan saat memasukkan hidrogel ke lubang kurang dalam sehingga saat diinkubasi ulang hidrogel akan mengalami pemanasan kemudian mencair dan luber keluar dari lubang sumuran. Selain itu, penambahan ekstrak dalam jumlah yang lebih banyak menyebabkan konsistensi hidrogel menjadi lebih pekat sehingga menghambat laju difusi ekstrak ke permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan *Propionibacterium acnes*[20]. Laju difusi yang

lebih lambat ini menyebabkan senyawa antibakteri memerlukan waktu yang lebih lama untuk mencapai serta menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga berdampak pada penurunan diameter zona hambat.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi daun sirih dalam proses ekstraksi berbanding lurus dengan peningkatan kandungan fenolik total yang diperoleh. Semakin besar kandungan fenolik total, maka semakin kuat pula sifat antibakteri yang dimiliki oleh ekstrak. Hal ini terlihat pada ekstrak dengan konsentrasi daun sirih sebesar 25% yang menghasilkan kadar fenol tertinggi, yaitu sebesar 0,93 mg GAE/g ekstrak. Sementara itu, hasil uji menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi dan jumlah ekstrak daun sirih cenderung meningkatkan aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*, dengan zona hambat optimum diperoleh pada ekstrak 25% sebanyak 1 gram.

Saran untuk penelitian selanjutnya antara lain mengeksplorasi variasi konsentrasi bahan dasar hidrogel guna memperoleh karakteristik fisik dan aktivitas antibakteri yang lebih optimal. Dalam proses maserasi, sebaiknya bahan tidak dihancurkan terlalu halus agar tidak menyerap seluruh pelarut dan tetap menghasilkan larutan ekstrak. Ukuran partikel berpengaruh langsung terhadap proses maserasi. Partikel yang lebih kecil memiliki luas permukaan lebih besar sehingga meningkatkan laju difusi senyawa ke dalam pelarut. Namun, apabila bahan digiling terlalu halus, serbuk dapat menyerap pelarut secara berlebihan, membentuk massa padat, dan menyulitkan proses filtrasi sehingga rendemen ekstrak nyata justru menurun. Selain itu, selama pembuatan hidrogel, suhu perlu dijaga tetap konstan agar struktur dan viskositas hidrogel terbentuk secara stabil.

REFERENSI

- [1] Erizal, "Pengaruh Pembalutan Hidrogel Kopolimer Polivinilpirrolidon (PVP)-k-Karaginan Hasil Iradiasi dan Waktu Penyembuhan pada Reduksi Diameter Luka Bakar Tikus Putih Wistar," *Indo.J.Chem*, hal. 271–278, 2008.
- [2] A. Suriadikusumah, "Pengaruh Aplikasi Hidrogel Terhadap Beberapa Karakteristik Tanah," *Jurnal Industri Teknologi Pertanian Universitas Padjajaran*, hal. 1–12, 2014.
- [3] S. H. Adi dan N. Heryani, "Sintesis, Pengujian, dan Karakterisasi Hidrogel Berbasis Sodium Carboxymethyl Cellulose dan Chitosan," *Widyariset*, hal. 1, 2020.
- [4] D. wuragil Rahayuningdyah, D. Lyrawati, dan F. Widodo, "Pengembangan Formula Hidrogel Balutan Luka Menggunakan Kombinasi Polimer Galaktomanan dan PVP," *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, hal. 117–122, 2020.
- [5] I. O. Borman, Y. Yusriadi, dan E. Sulastri, "Gel Anti Jerawat Ekstrak Daun Buta-Buta (*Excoecaria Agallocha* L.) dan Pengujian Antibakteri *Staphylococcus epidermidis*," *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, hal. 65–72, 2015.
- [6] S. F. Karim, Wahyuni, dan Mirnawati, "Formulasi dan Uji Aktivitas Sediaan Gel Anti Jerawat Ekstrak Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus Epidermidis* dan *Propionibacterium Acnes*," *Jambi Medical Journal : Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, hal. 257–271, 2022.

- [7] N. Sifatullah dan Zulkarnain, "Jerawat (Acne vulgaris): Review penyakit infeksi pada kulit," *J Biol (Denpasar)*, hal. 19–23, 2021.
- [8] S. Fuadi, "Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus pyogenes In Vitro," Jakarta, 2014.
- [9] F. Ulviani, Y. Yusriadi, dan K. Khaerati, "Pengaruh Gel Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar pada Kelinci (Oryctolagus cuniculus)," *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, hal. 103–110, 2016.
- [10] A. K. Sari dan N. Ayuhecaria, "Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Beras Hitam (Oryza sativa L) dari Kalimantan Selatan," *JIS (Jurnal Ilmiah Ibnu Sina): ilmu farmasi dan kesehatan.*, hal. 327–335, 2017.
- [11] L. A. R. Dewantara, A. D. Ananto, dan Y. Andayani, "Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Kacang Panjang (Vigna unguiculata) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible," *Lambung Farmasi : Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 2021.
- [12] Yenny Harliantika dan Noval, "Formulasi dan Evaluasi Hidrogel Ekstrak Etanol Daun Gaharu (Aquilaria malacensis Lamk.) dengan Kombinasi Basis Karbopol 940 dan HPMC K4M," *Journal of Pharmacy and Science*, hal. 37–46, 2021.
- [13] S. P. Pasaribu, J. Kaban, M. Ginting, dan K. R. Sinaga, "Evaluasi Aktivitas Antibakteri Hidrogel Hibrid Maleoil Kitosan – Dialdehid Alginat," *Talenta Conference Series: Science and Technology (ST)*, hal. 9–14, 2019.
- [14] M. P. Rahayu dan Inanda Lucia Vita, "Penetapan Kadar Fenol Total Ekstrak Etil Asetat dan Fraksi Dichloromethan-Etil Asetat Kulit Batang Mundu (Garcinia dulcis. Kurz)," *Jurnal Biomedica*, hal. 37–44, 2015.
- [15] N. Putri, "Penetapan Kadar Total Fenolik, Flavonoid, dan Karotenoid Ekstrak Batang Bajakah Tampala (Spatholobus littolaris Hassk)," Makassar, 2022.
- [16] M. Utami, "Efektivitas Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) Sebagai Anti Acne: Systematic Literature Review," Malang, 2021.
- [17] H. H. Sadiyah, A. I. Cahyadi, dan S. Windria, "Kajian Daun Sirih Hijau (Piper betle L) Sebagai Antibakteri," *Jurnal Sain Veteriner*, vol. 40, no. 2, hal. 128, Agu 2022, doi: 10.22146/jsv.58745.
- [18] R. Afifi dan E. Erlin, "Uji Anti Bakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium Guajava L) Terhadap Zona Hambat Bakteri Jerawat Propionibacterium acnes SECARA IN VITRO," *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*, hal. 321, 2018.
- [19] D. Susanto dan R. Ruga, "Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (Shorea leprosula Miq) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri," *Mulawarman Scientifie*, hal. 181–190, 2012.
- [20] N. Suryani, V. Anggia, dan N. Fachrunnisa, "Uji Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Etanol Daun Angsana (Pterocarpus indicus Willd.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus," *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 2020.