

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN KLT BIOAUTOGRAFI EKSTRAK ETANOL DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* D.) TERHADAP *Propionibacterium acnes*

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST AND BIOAUTOGRAPHY TLC OF AFRICAN LEAF (*Vernonia amygdalina* D.) ETHANOL EXTRACT ON *Propionibacterium acnes*

Hamdayani Lance Abidin¹, Ismail Ismail^{1*}, Juniarvi¹

¹ Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar

*Korespondensi : ismail.farm27@gmail.com

ABSTRAK

Propionibacterium acnes umumnya ditemukan pada kulit dengan menghasilkan lipase yang memecahkan asam lemak bebas dari lipid kulit sehingga menimbulkan jerawat. Daun afrika (*Vernonia amygdalina* D.) memiliki banyak manfaat dalam dunia pengobatan tradisional maupun modern. Berbagai penelitian telah dilakukan menggunakan daun afrika yang terbukti memiliki efek maupun aktivitas seperti antibakteri dan antioksidan. Penelitian sebelumnya menunjukkan aktivitas ekstrak daun arfika dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun afrika terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan analisis KLT bioautografinya.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% sebagai penyari. Ekstrak etanol daun afrika yang dihasilkan diuji aktivitas antibakteri secara *in-vitro* dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram. Hasil pengujian aktivitas antibakteri pada masing-masing konsentrasi menunjukkan adanya diameter hambat rata-rata pada konsentrasi 1,25% (7,39 mm ± 0,04), konsentrasi 2,5% (7,53 mm ± 0,02) dan konsentrasi 5% (8,53 mm ± 0,02).

Hasil analisis KLT bioautografi menggunakan fase gerak *non-polar* menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun afrika yang mengandung senyawa flavonoid dapat menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun afrika termasuk dalam kategori sedang.

Kata kunci: Daun Afrika, Antibakteri, *Propionibacterium acnes*, KLT Bioautografi

ABSTRACT

Propionibacterium acnes is commonly found on the skin by producing lipase which breaks down the free fatty acids of the skin's lipids giving rise to acne. African leaves (*Vernonia amygdalina* D.) have many benefits in the world of traditional and modern medicine. Various studies have been conducted using African leaves which are proven to have effects and activities such as antibacterial and antioxidant. Previous research showed the activity of arfika leaf extract in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. This study aims to determine the activity of African leaf ethanol extract against *Propionibacterium acnes* bacteria and bioautographic KLT analysis.

Extraction is carried out by maceration method using 70% ethanol as filter. The resulting African leaf ethanol extract was tested for antibacterial activity *in vitro* by agar diffusion method using disc paper. The results of antibacterial activity testing at each concentration showed an average inhibitory diameter at a concentration of 1.25% (7.39 mm ± 0.04), a concentration of 2.5% (7.53 mm ± 0.02) and a concentration of 5% (8.53 mm ± 0.02).

The results of bioautographic KLT analysis using *non-polar* mobile phase showed that African leaf ethanol extract containing flavonoid compounds can inhibit the growth of *Propionibacterium acnes*. The antibacterial activity of African leaf ethanol extract belongs to the medium category.

Keywords: African leaves, Antibacteri, *Propionibacterium acnes*, KLT Bioautography

PENDAHULUAN

Kulit merupakan salah satu organ tubuh yang menutupi seluruh permukaan tubuh dan dapat mencerminkan kesehatan dan kecantikan seseorang. Kulit berhubungan secara langsung dengan lingkungan

luar, sehingga sering kali mudah terkena berbagai masalah dan gangguan kesehatan. Salah satu permukaan kulit yang mudah terkena masalah atau kelainan yaitu bagian kulit wajah (Saragih *et al*, 2016).

Kelainan pada kulit wajah yang sangat mengganggu penampilan yaitu jerawat. Jerawat merupakan suatu penyakit peradangan kronik yang ditandai dengan adanya komedo, papula, pustula dan nodul (Saragih *et al*, 2016). Beberapa hal menjadi sumber penyebab timbulnya jerawat diantaranya kelenjar minyak yang diproduksi berlebih, aktivitas bakteri dalam pori-pori kulit dan penggunaan kosmetik (Manasirip and Kepel, 2015).

Propionibacterium acnes umumnya ditemukan pada kulit dengan menghasilkan lipase yang memecahkan asam lemak bebas dari lipid kulit sehingga menimbulkan jerawat (Fauzi *et al*, 2016). Salah satu alternatif yang sering digunakan untuk mengobati kulit berjerawat yaitu menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik dalam rentang waktu lama dapat menyebabkan resistensi (Sholih *et al*, 2015). Oleh karena itu, diperlukan alternatif lain dari ekstrak tumbuhan yang berpotensi sebagai antibakteri.

Daun afrika memiliki banyak manfaat dalam dunia pengobatan tradisional maupun modern. Berbagai penelitian telah dilakukan menggunakan daun afrika yang terbukti memiliki efek maupun aktivitas seperti antibakteri dan antioksidan. Penelitian sebelumnya pada konsentrasi 5%, 10% dan 15 % menunjukkan aktivitas ekstrak daun arfika dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina* D.) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*.

METODE PENELITIAN

Alat

Autoklaf (GEA®), batang pengaduk, cawan petri (Pyrex®), chamber KLT, Erlenmayer (Pyrex®), inkubator (Mettler®), jarum ose, lampu UV 254 dan 365 nm, maserator, microwave (Samsung®), oven, pipet mikro (Nesco®), Rotary vacuum evaporator (Buchi®), tabung reaksi (Pyrex®), timbangan analitik (Henschel®).

Bahan

Akuades, biakan bakteri *Propionibacterium acnes*, cotton swab steril, daun afrika, DMSO (dimetilsulfoksida), etanol 70%, etil asetat, media MHA (Mueller Hinton Agar), n-heksan, NaCl fisiologis 0,9%, paper disk, paper disk tetrasiklin®, kertas pH universal.

Pengolahan Sampel Penelitian

Daun afrika diolah dengan tahapan awal yaitu sortasi basah, pencucian. Setelah bahan uji bersih, dilakukan pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan menggunakan oven simplisia pada suhu 40°C selama 12 jam. Setelah proses pengeringan, dilakukan sortasi kering. Simplisia kering selanjutnya digiling dengan menggunakan blender sehingga diperoleh simplisia dalam bentuk serbuk (Kusumawardani *et al*, 2023).

Proses Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. 150 gram simplisia dimasukkan ke dalam maserator dan dimasukkan 1500 mL etanol 70%. Proses maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam pada suhu kamar, kemudian hasil yang diperoleh disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh ekstrak cair. Ekstrak cair yang diperoleh diuapkan dengan rotary vacuum evaporator (Suwendar *et al*, 2014).

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang tahan terhadap pemanasan disterilkan pada oven dengan suhu 180°C selama 2 jam. Sedangkan alat yang tidak tahan terhadap pemanasan disterilkan pada autoklaf dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Tille, 2017).

Penyiapan Media Mueller Hinton Agar (MHA)

Sebanyak 9,5 gram media MHA dimasukkan ke dalam Erlenmeyer kemudian dilarutkan dengan akuades. Campuran dipanaskan hingga larut dan dicukupkan volumenya dengan akuades hingga 250 mL kemudian diukur pH 7. Media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Hudaya *et al*, 2014).

Peremajaan dan Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji *Propionibacterium acnes* yang digunakan diambil satu ose menggunakan jarum ose steril kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada media agar miring dan diinkubasikan selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Sebanyak 1 koloni hasil peremajaan biakan murni bakteri *Propionibacterium acnes* dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 mL NaCl fisiologis 0,9% kemudian dihomogenkan, dibandingkan dengan standar *Mc Farland* dengan kepadatan bakteri sebanyak 108 sel/mL.

Pengujian Aktivitas Antibakteri Metode Difusi

Larutan uji dengan konsentrasi 1,25%, 2,5%, 5% disiapkan dengan cara ditimbang 0,125 g, 0,25 g dan 0,5 g ekstrak etanol daun afrika afrika kemudian masing-masing dilarutkan dalam 10 ml DMSO 10%. Medium sebanyak 10 mL dimasukkan ke dalam cawan petri steril. Selanjutnya diambil 1 swab steril suspensi bakteri digoreskan dalam cawan petri. Paper disk yang telah ditetesi larutan uji 20 μ L, diletakkan di permukaan medium, tetrasiklin sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Selanjutnya cawan petri tersebut diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antibakteri diamati berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk di sekeliling paper disk dan selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap zona hambat tersebut (Kumala, 2014).

Analisis KLT Bioautografi

Hasil identifikasi KLT dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (8:3) dilanjutkan dengan uji KLT-bioautografi dengan cara ke dalam cawan petri dituang MHA sebanyak 10 mL dan ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 0,2 mL lalu dihomogenkan. Lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan di atas permukaan medium agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji kemudian dibiarkan selama 60 menit setelah itu lempeng diangkat dan dikeluarkan. selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C kemudian diamati zona hambatan yang tertentu (Papatungan *et al*, 2019).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan awal yaitu pengolahan sampel. Pada pengolahan sampel dilakukan dengan tahap sortasi basah yang dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan. Setelah itu dilakukan pencucian pada bahan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lain yang melekat pada bahan. Dilakukan pengeringan dengan menggunakan oven simplisia pada suhu 40°C selama 12 jam pemanasan. Setelah proses pengeringan, dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor-pengotor lain yang masih tertinggal pada simplisia kering.

Ekstraksi simplisia daun afrika sebanyak 150 g dilakukan dengan cara maserasi menggunakan etanol 70%. Metode maserasi dipilih untuk mencegah kerusakan senyawa yang tidak stabil terhadap pemanasan. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator*. Proses ekstraksi menghasilkan 32 g ekstrak kental dengan rendemen sebesar 11,33 %.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina* D.) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. Variasi konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 1,25%, 2,5%, dan 5%. Kontrol positif yang digunakan ialah *paper disk* tetrasiklin karena tetrasiklin mengandung antibakteri yang sangat kuat karena tetrasiklin mempunyai sifat antibakteri, bakteriostatik dan spektrum luas yaitu mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (Papatungan *et al*, 2019). Kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 10% karena merupakan salah satu pelarut organik yang tidak bersifat bakterisidal (Natheer *et al*, 2012). Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun afrika terhadap *Propionibacterium acnes* dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 1.

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Afrika Terhadap Bakteri *P.acnes*

Sampel Uji	Diameter Rata-Rata Zona Hambat (mm)			Nilai rata-rata SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
1,25 %	7,39±0,02	7,31±0,04	7,37±0,01	7,35±0,04
2,5 %	7,55±0,03	7,59±0,01	7,59±0,01	7,57±0,02
5 %	8,51±0,14	8,54±0,06	8,55±0,06	8,53±0,02
Kontrol -	28,84±0,54	28,81±0,01	28,84±0,04	28,83±0,02
Kontrol +	6,00±0,00	6,00±0,00	6,00±0,00	6,00±0,00

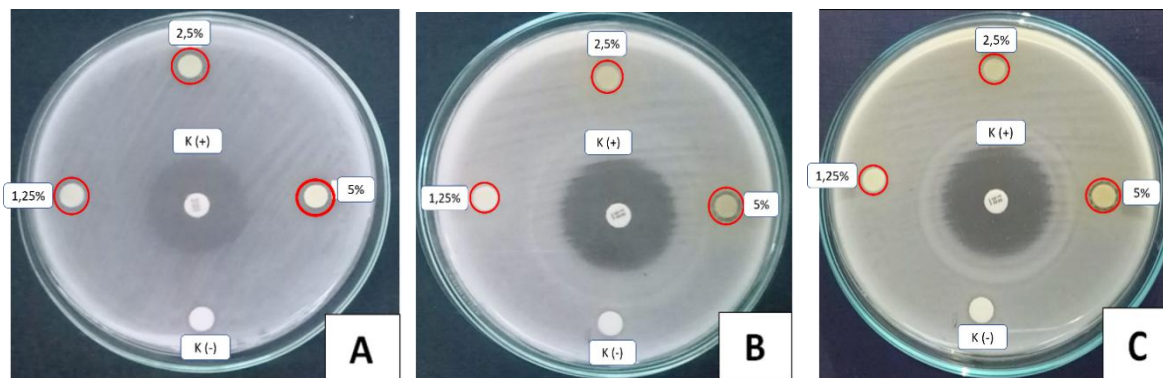
Keterangan :

Kontrol - : larutan DMSO

Kontrol + : tetrasiklin 1 μ g/ μ L

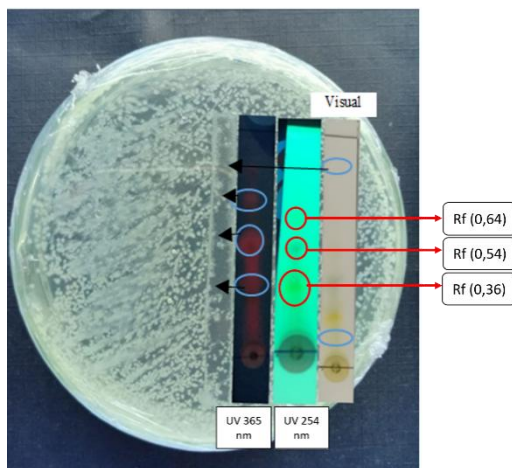
Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri pada tabel 1 dan gambar 1 menunjukkan ekstrak etanol 70% daun afrika dengan konsentrasi 1,25% 2,5% dan 5% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dengan diameter zona hambatan yang bervariasi sesuai konsentrasi ekstrak yang digunakan. Pada konsentrasi 1,25% dengan rata-rata 7,35±0,04 mm, konsentrasi 2,5% dengan rata-rata 7,57±0,02 mm, dan pada konsentrasi 5% dengan rata-rata 8,53±0,02 mm. Kontrol positif Tetrasiklin

mempunyai rata-rata $28,83 \pm 0,02$ mm sedangkan kontrol negatif mempunyai rata-rata $6,00 \pm 0,00$. Berdasarkan hasil tersebut yang membandingkan antara ekstrak dari tiga konsentrasi dengan kontrol positif dan negatif menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun afrika memiliki aktivitas antibakteri kategori sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*. Hal ini didasarkan dengan melihat kriteria kekuatan daya hambat antibakteri yaitu diameter zona hambat < 5 mm dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan > 20 mm dikategorikan sangat kuat (Panjaitan *et al*, 2017).



Gambar 1. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun afrika terhadap bakteri *P.acnes* dengan metode difusi, A (replikasi 1), B (replikasi 2), C (replikasi 3)

KLT Bioautografi dilakukan dengan meletakkan plat KLT pada permukaan media MHA yang telah ditumbuhi mikroorganisme (Pratiwi, 2008). Pada pengujian ini fase gerak yang digunakan adalah n-heksan:etil asetat (8:3). Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan, ekstrak etanol 70% daun afrika dinyatakan memiliki aktivitas sebagai antibakteri, yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat atau zona bening pada media. Noda yang terelusi diamati secara visual dan dibawah lampu UV 254 nm dan 365 nm, dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Hasil KLT bioautografi ekstrak etanol daun afrika terhadap bakteri *P.acnes*

Pada gambar 2 menunjukkan hasil analisis KLT bioautografi ekstrak etanol daun afrika terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. Pada hasil tersebut diperoleh zona hambatan pada 3 spot noda yang terselusi pada plat KLT yang telah dielusi menggunakan fase gerak n-heksan:etil asetat (8:3). Hasil KLT menunjukkan adanya tiga spot noda yang muncul pada pengamatan menggunakan UV 254 dan 265 nm. Ketiga spot noda tersebut memiliki nilai Rf berurutan yaitu (0,36), (0,54) dan (0,64). Spot noda dengan nilai Rf 0,36 menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid dengan pengujian menggunakan pereaksi semprot $AlCl_3$ yang ditunjukkan dengan perubahan warna pada spot noda menjadi kuning pada pengamatan UV 254 nm. Dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol 70% daun afrika berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*. Hal ini dibuktikan dengan hasil penelitian yang dilakukan Meilani D., 2019 yang mengatakan bahwa simplisia daun afrika mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid.

KESIMPULAN

Hasil pengujian ekstrak etanol 70% daun afrika memiliki aktivitas antibakteri kategori sedang dalam menghambat bakteri *Propionibacterium acnes*. Analisis KLT bioautografi menggunakan fase gerak non polar menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun afrika dapat menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada ketua yayasan almarisah madani dan pimpinan Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi yang telah memfasilitasi kami selama menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Fauzi, N.P., Sulistiyansih, S., dan Runadi, D. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Jawer Kotok (*Coleus atropurpureus* (L.) Benth.) Terhadap *Propionibacterium acnes* ATTC Dan *Staphylococcus epidermidis* ATTC. *One Search*. Available At: [Http://Repository.Unpad.Ac.Id/Frontdoor/Index/Index/Docid/38173](http://Repository.Unpad.Ac.Id/Frontdoor/Index/Index/Docid/38173).
- Hudaya, A., Radiastuti, N., Sukandar D., dan Djajanegara, I. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Bunga Kecombrang Terhadap Bakteri *E. coli* Dan *S. aureus* Sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Al-Kaunyah Jurnal Biologi*. 7(1): 9–15.
- Kumala, S. 2014. Mikroba Endofit, Pemanfaatan Mikroba Endofit Dalam Bidang Farmasi. Jakarta: PT.ISFI. Available At: <http://Kin.Perpusnas.Go.Id/Displaydata.aspx?Pid=125410&Pregioncode=Untar&Pclientid=650>.
- Kusumawardani, D.I.K., Purwidyaningrum, I., dan Kurniasari, F. 2023. Uji Aktivitas Antihiperghlikemik Ekstrak Etanol Daun Mangsi (*Phyllanthus reticulatus*) Pada Mencit Putih Jantan Yang Diinduksi Aloksan. *Akfarindo*. 8(1): 1–10.
- Manasirip, C.K., and Kepel, B. 2015. Hubungan Stres Dengan Kejadian *Acne vulgaris* Pada Mahasiswa Semester V (Lima) Program Studi Ilmu Keperawatan Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado. *Jurnal Keperawatan*; 3(1): 1–6.
- Meilani, D., dan Kusumastuti, M.Y. 2019. Formulasi Gel Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas aeruginosa*. In *Prosiding Sainstekes Semnas Mipa Umri*.
- Natheer, S.R., Sekar, C., Amutharaj, P., Rahman, M.S.A., and Khan, K. 2012. Evaluation Of Antibacterial Activity Of *Morinda citrifolia*, *Vitex trifolia* And *Chromolaena odorata*. *African Journal Of Pharmacy And Pharmacology*. 6(11): 783–788.
- Panjaitan, R.S., dan Madayanti, F. 2017. Uji Antibakteri Ekstrak Kasar Lipid Ulva Fasciata Terhadap *Bacillus cereus*. *Jurnal Kimia Dan Pendidikan*. 2(1).
- Paputungan, W.A., Lolo, W.A., dan Siampa, J.P. 2019. Aktivitas Antibakteri Dan Analisis KLT-Bioautografi Dari Fraksi Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre Ex A. Froehner). *Pharmacan*; 8(3); 516–524.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga Medical Series: Jakarta.
- Saragih, D.F., Hendri, O., dan Cicilia, P. 2016. Hubungan Tingkat Kepercayaan Diri Dan Jerawat (*Acne vulgaris*) Pada Siswa-Siswi Kelas XII Di SMA Negeri 1 Manado. *Jurnal E-Biomedik*; 4(1).
- Sholih, M.G., Ahmad, M., Dan Siti, S. 2015. Rasionalitas Penggunaan Antibiotik Di Salah Satu Rumah Sakit Umum Di Bandung Tahun 2010. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*; 4(1); 63–70.
- Suwendar, S., Hazar, S., dan Subarnas, A. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Air [*Eugenia aqueum* (Burm. F) Alston] Secara In Vitro Dengan Metode Carotene Bleaching. In *Prosiding Seminar Nasional Penelitian Dan Pengabdian Pada Masyarakat: Sains, Teknologi Dan Kesehatan*.; 31–36.
- Tille, P. 2017. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology "In Basic Medical Microbiology"*. Elsevier.