AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SOMA (*Ploiarium alternifolium* Melch) TERHADAP *Propionibacterium acnes*

Seli Marselia, M. Agus Wibowo, Savante Arreneuz
Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak
email: seli.sakti25@gmail.com

ABSTRAK

Soma (P. alternifolium Melch) merupakan tanaman yang berpotensi sebagai obat anti jerawat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi fraksi dari daun soma sebagai antibakteri terhadap bakteri Propionibacterium acnes. Pada penelitian ini dilakukan dalam tiga tahapan; (i) ekstraksi dan uji fitokimia ekstrak dan fraksi daun soma, (ii) penentuan aktivitas antbakteri ekstrak dan fraksi daun soma terhadap bakteri P. acnes, (iii) penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM) terhadap semua fraksi. Pada tahap pertama menunjukkan hasil bahwa ekstrak metanol daun soma mengandung senyawa steroid, terpenoid, alkaloid, polifenol, flavonoid dan saponin. Fraksi metanol mengandung senyawa terpenoid, alkaloid, polifenol, flavonoid dan saponin. Fraksi etil asetat mengandung senyawa steroid, alkaloid, polifenol, flavonoid dan saponin serta fraksi n-heksana mengandung senyawa steroid, polifenol dan flavonoid. Pada tahap kedua diperoleh hasil bahwa ekstrak dan fraksi daun soma memiliki kemampuan aktivitas antibakteri terhadap bakteri P. acnes. Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan dari keempat jenis ekstrak dengan konsentrasi 500 mg/mL secara berturut-turut adalah 9,42, 15,81, 8,65 dan 5,87 mm. Pada tahap ketiga memberikan hasil bahwa nilai KHM dari semua fraksi daun soma adalah 9,45, 10,38 dan 125 mg/mL. Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa fraksi yang memiliki kemampuan aktivitas antibakteri paling baik terhadap bakteri P. acnes adalah fraksi metanol.

Kata kunci: *Soma (P. alternifolium Melch), Propionibacterium acnes, uji fitokimia, aktivitas antibakteri, Kadar Hambat Minimum (KHM)*

PENDAHULUAN

Jerawat (*acne vulgaris*) adalah kelainan pada kulit yang biasa terjadi pada usia remaja. Pembentukan jerawat terjadi karena adanya penyumbatan folikel oleh sel-sel kulit mati yang dapat disebabkan oleh beberapa hal, antara lain adalah aktivitas hormon, faktor genetis (keturunan) dan infeksi oleh bakteri *Propionibacterium acnes* (West *et al*., 2005). *P. acnes* adalah mikrobiota kulit yang biasanya sering ditemukan pada kulit yang kaya akan kelenjar sebasea seperti di kulit kepala dan muka (Jawetz *et al*., 2005).

Pengobatan jerawat sampai saat ini masih terus dikembangkan. Salah satu solusi mengatasi jerawat adalah membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri penyebab jerawat dengan antibiotik, seperti eritromisin, klindamisin, tetrasiklin dan benzoil peroksida (Loveckova dan Havlikova, 2002). Menurut Utami (2012), penggunaan antibiotik yang berlebihan dapat menyebabkan bakteri yang semula sensitif menjadi resisten. Oleh karena itu, diperlukan pencarian senyawa antibakteri alami yang tidak menimbulkan dampak negatif terhadap manusia, yaitu dengan memanfaatkan zat aktif pembunuh bakteri yang terkandung dalam tanaman (Khunaifi, 2010). Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri penyebab jerawat adalah tanaman soma (*Ploiarium alternifolium* Melch).

Soma (*P. alternifolium* Melch) merupakan salah satu jenis tanaman yang sering dijumpai di daerah hutan yang kering dan rawa atau gambut. Secara empiris, daun pada tanaman ini digunakan sebagai *shampoo*, bumbu masakan, lalapan dan obat diare. Selain itu, menurut Marfu'ah (2008), batangnya dapat digunakan untuk bahan bangunan rumah, seperti dijadikan pagar atau penyangga rumah.

Beberapa penelitian mengenai tanaman soma adalah menurut Ng (2001), ekstrak kasar *n*-heksana dari kulit batang tanaman soma memiliki sitotoksik yang kuat terhadap larva *Aedes aegypti* dengan nilai LC_{50} sebesar 19,2 µg/mL, sedangkan ekstrak kasar etanol, etil asetat dan *n*-heksana kulit batang tanaman soma memiliki aktivitas antimikroba yang lemah dengan zona hambat kurang dari 10 mm terhadap empat jenis bakteri, yaitu *Bacillus subtilis* mutan, *Bacillus subtilis* jenis liar, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aerugmosa*. Sedangkan menurut Ng (2007), ekstrak kasar kloroform dan metanol kulit batang tanaman soma tidak menunjukkan aktivitas terhadap *Staphylococcus choleraesuis*.

Penelitian terbaru mengenai kandungan senyawa kimia dari tanaman soma, diantaranya penelitian yang dilakukan oleh Kuncari (2011) dan Faskalia dan Wibowo (2014). Kuncari (2011) telah mengisolasi kandungan senyawa kimia pada kulit batang dan melakukan skrining fitokimia pada daun soma. Hasil yang diperoleh adalah terdapat kandungan lemak, saponin, tanin dan gula pereduksi (monosakarida dan disakarida), sedangkan yang tidak terdeteksi pada tanaman ini, yaitu minyak atsiri, sterol, triterpenoid, alkaloid basa, garam alkaloid, glikosida steroid dan flavonoid. Menurut Faskalia dan Wibowo (2014), pada ekstrak daun tanaman soma mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid dan saponin. Ekstrak akar positif mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik dan saponin, sedangkan pada ekstrak kulit batang positif mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik dan steroid. Namun, sampai saat ini belum ada referensi atau hasil penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri dari daun soma, meskipun pemeriksaan kandungan senyawa aktif pada daun soma telah banyak dilakukan. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian dan pengujian skrining fitokimia serta uji aktivitas antibakteri ekstrak daun soma dari beberapa fraksi terhadap bakteri penyebab jerawat, yaitu *P. acnes*.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Sampel yang digunakan adalah soma (*P. alternifolium* Melch). Sampel diperoleh dari daerah Ngabang, Kabupaten Landak, Kalimantan Barat. Keakuratan spesies daun soma dideterminasi di laboratorium biologi FMIPA Universitas Tanjungpura.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian adalah anaerob jar sederhana (desikator), autoklaf, *blender*, inkubator, jangka sorong, *rotary evaporator*, seperangkat alat gelas, spektrofotometri UV-Vis dan vortex.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian adalah akuades, alkohol 70%, aluminium foil, asam klorida 2 N, biakkan murni bakteri *Propionibacterium acnes*, daun soma, *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) 10%, etil asetat, $FeCl_3$ 1%, kapas, kertas, kertas label, kertas saring, kertas *tissue*, korek api, logam Mg, media *Nutrient Agar* (NA), metanol, NaCl fisiologis 0,9%, NaOH, *n*-heksana, pereaksi Dragendroff, pereaksi Liebermann-Buchard, pereaksi Wagner, plastik *wrapping*, tetrasiklin dan *tween*.

Preparasi Sampel

Sampel daun soma berasal dari Ngabang, Kabupaten Landak, Kalimantan Barat. Daun soma dibersihkan, dicuci dan dikering-anginkan. Selanjutnya, sampel tersebut digunting kecil-kecil dan dihaluskan dengan menggunakan *blender* sampai halus sehingga membentuk serbuk (Harborne, 1987).

Ekstraksi dan Partisi

Ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode maserasi. Serbuk kering daun soma 413,9 g dimaserasi selama 3x24 jam pada suhu kamar dengan metanol yang telah didestilasi. Maserat kemudian disaring untuk memisahkan antara filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh maserat pekat (ekstrak metanol).

Ekstrak metanol yang diperoleh dilarutkan kembali dengan metanol dan dipartisi dengan *n*-heksana selanjutnya dengan menggunakan etil asetat. Selanjutnya masing-masing fraksi yang diperoleh dari partisi dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* (Harborne, 1987). Kemudian, dihitung rendemen untuk ekstrak metanol dan fraksi (metanol, etil asetat dan *n*-heksana) dengan rumus:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel kering}} \text{ x } 100\%$$

Analisis Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan terhadap ekstrak kasar metanol dan masing-masing fraksi untuk identifikasi golongan alkaloid, flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid, polifenol/tanin. Metode yang digunakan adalah sebagai berikut (Harborne, 1987):

Uji Steroid/Triterpenoid.
Semua ekstrak ditambahkan dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Adanya senyawa steroid ditandai timbulnya warna hijau atau biru dan triterpenoid ditandai timbulnya warna merah bata.

Uji Alkaloid. Identifikasi menggunakan uji Dragendorff dan uji Wagner. Pada kedua uji ini dilakukan dengan cara terlebih dahulu menambahkan H_2SO_4 2 N ke dalam ekstrak dan dipanaskan. Kemudian, dipisahkan filtratnya dan ditambahkan pereaksi Dragendorff dan Wagner. Adanya senyawa alkaloid ditandai timbulnya endapan merah pada uji Dragendorff dan endapan coklat muda sampai kuning pada uji Wagner.

Uji Polifenol/Tanin. Semua ekstrak ditambahkan pereaksi besi (III) klorida 1%. Senyawa polifenol atau tanin akan menghasilkan warna hitam kehijauan atau biru tua.

Uji Flavonoid. Identifikasi menggunakan 2 pereaksi, yaitu Mg-HCl dan NaOH. Pertama, ekstrak ditambahkan dengan sedikit serbuk Mg dan HCl 2 N. Kedua, ekstrak ditambah dengan NaOH 2 N. Senyawa flavonoid akan menimbulkan warna jingga sampai merah pada kedua pereaksi.

Uji Saponin. Semua ekstrak ditambahkan akuades, kemudian dikocok kuat-kuat. Senyawa saponin akan menghasilkan busa setinggi 1 - 10 cm yang stabil dan tidak kurang dari 10 menit.

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun soma menggunakan metode difusi agar dengan teknik sumur (*hole* atau *well*). Sebanyak 20 mL media NA yang telah disterilisasi dituang ke dalam *petridisk* secara aseptik dan dibiarkan memadat. Setelah media agar memadat dimasukkan suspensi bakteri yang telah distandarisasi dengan larutan McFarland 0,5 dengan kepadatan bakteri 1,5 x 10^8 CFU/mL sebanyak 100 µL dan suspensi disebar di permukaan media agar secara merata dengan menggunakan *cotton buds*.

Selanjutnya dibuat empat sumur dalam satu *petridisk* dengan diameter masing-masing sumur sebesar 6 mm. Tiap sumur diisi dengan 50 µL ekstrak metanol kasar, metanol, etil asetat dan *n*-heksana dengan konsentrasi 500 mg/mL, kontrol positif (tetrasiklin 2%) dan kontrol negatif (DMSO 10%) ke dalam sumur pada *petridisk* yang telah diinokulasikan bakteri *P. acnes.* Perlakuan uji aktivitas antibakteri ini dilakukan secara duplo. Kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37^{o}C dalam kondisi anaerob. Kemudian, diukur diameter zona hambat pada daerah bening sumur dengan menggunakan jangka sorong (Aziz, 2010). Selanjutnya, diameter zona hambat yang terbentuk dari tiap fraksi dilakukan pengujian statistik dengan menggunakan *One-way* ANOVA dengan α 0,05 tingkat kepercayaan 95%.

Analisis Kadar Hambat Minimum (KHM)

Metode yang digunakan dalam analisis KHM sama dengan penentuan uji aktivitas antibakteri, yaitu dengan metode difusi agar menggunakan sumur. Ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri paling baik selanjutnya ditentukan KHM dengan menggunakan variasi konsentrasi 250, 125, 62,5 dan 31,25 mg/mL. Penentuan nilai KHM dilakukan berdasarkan metode Bloomfield (1991), yaitu dengan memplotkan nilai log konsentrasi ekstrak pada sumbu x terhadap nilai kuadrat diameter zona hambat pada sumbu y. Perpotongan antara kurva linear dengan sumbu x merupakan nilai Mt (diperoleh dari anti log nilai x). Besarnya nilai KHM ditetapkan sebagai ¼ × Mt. Selanjutnya, diameter zona hambat yang terbentuk dari tiap fraksi dilakukan pengujian statistik dengan menggunakan *One-way* ANOVA dengan α 0,05 tingkat kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Sampel daun soma yang diperoleh terlebih dahulu dibersihkan dan dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel pada daun.

Selanjutnya, sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar tanpa paparan sinar matahari secara langsung hingga benar-benar kering. Pengeringan bertujuan agar senyawa aktif dalam sampel tidak mengalami kerusakan. Selain itu, juga untuk mengurangi kadar air, menghentikan reaksi enzimatis, dan mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama (pengawetan) (Octavia, 2009).

Sampel yang telah kering kemudian digunting kecil-kecil yang bertujuan untuk mempermudah dalam penghalusan sampel. Selanjutnya, sampel dihaluskan menggunakan *blender* hingga berbentuk serbuk yang bertujuan untuk merusak sel dan memperluas permukaan sampel sehingga pori-pori dari sampel akan semakin besar. Semakin kecil bentuknya, maka semakin besar luas permukaannya sehingga interaksi zat cair ekstraksi akan semakin besar dan proses ekstraksi akan semakin efektif (Octavia, 2009). Serbuk halus daun soma yang diperoleh sebanyak 413,9 g.

Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan komponen aktif menggunakan pelarut tertentu (Harborne, 1987). Serbuk daun soma sebanyak 413,9 g dilakukan perendaman dengan pelarut metanol 6 L selama 3×24 jam pada suhu ruang dan ditempatkan dalam wadah tertutup serta terlindung dari cahaya. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi yang menggunakan pelarut metanol. Maserasi adalah perendaman sampel dengan pelarut tertentu dengan atau tanpa pengadukan (Bassett *et al*., 1994).

Maserasi dengan pelarut metanol dilakukan sebanyak 3×24 jam. Hal ini bertujuan untuk memaksimalkan proses pengambilan senyawa-senyawa kimia yang terdapat pada sampel daun soma. Selama proses perendaman, sampel disimpan dalam wadah yang tertutup dan terlindung dari cahaya langsung yang bertujuan untuk mencegah reaksi katalisis cahaya ataupun perubahan warna. Selain itu, dilakukan juga penggantian pelarut setiap hari sehingga kandungan senyawa metabolit sekunder pada sel daun soma dapat terekstrak secara keseluruhan hingga warna maserat mulai memudar dan diperoleh maserat metanol yang maksimal.

Proses maserasi ini menghasilkan maserat yang berwarna cokelat kehijauan dan hasil maserat disaring dengan menggunakan saringan *vacuum* sehingga diperoleh filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 30^{o}C. Ekstrak kental metanol yang diperoleh sebanyak 43,629 g yang berwarna coklat kemerahan dengan rendemen sebesar 10,54%.

Partisi

Partisi adalah suatu proses pemisahan komponen-komponen dalam suatu senyawa berdasarkan perbedaan kelarutan dengan prinsip, yaitu distribusi zat terlarut dalam dua pelarut yang tidak saling campur. Proses distribusi ini berdasarkan prinsip *like dissolve like,* yaitu senyawa yang polar akan lebih mudah larut dalam pelarut yang polar dan sebaliknya (Bassett *et al*., 1994). Partisi dilakukan dengan menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat, sehingga didapatkan fraksi metanol, etil asetat dan *n*-heksana. Selanjutnya, semua fraksi tersebut dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak pekat fraksi metanol, etil asetat dan *n*-heksana. Adapun hasil partisi yang didapatkan dapat dilihat pada tabel 1.

Berdasarkan tabel 1, dapat dilihat bahwa pada saat partisi dengan tiga pelarut yang berbeda memberikan rendemen yang bervariasi untuk setiap pelarut yang digunakan. Ketiga fraksi yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak fraksi metanol merupakan ekstrak yang paling banyak diperoleh, yaitu sebanyak 18,776 g dengan rendemen sebesar 62,588%. Hal ini jelas menunjukkan bahwa kandungan senyawa organik polar yang terkandung di dalam daun soma relatif besar dan diikuti berturut-turut oleh ekstrak fraksi etil asetat (semi polar) dan *n*-heksana (non-polar).

Analisis Fitokimia

Analisis fitokimia yang dilakukan, yaitu uji terhadap kandungan senyawa steroid/triterpenoid, alkaloid, polifenol, flavonoid dan saponin. Hasil yang diperoleh dari analisis fitokimia pada ekstrak dan fraksi daun soma dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1. Berat dan Rendemen dari Fraksi Daun Soma

Fraksi	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Metanol	18,776	62,588
Etil Asetat	2,161	7,203
n-Heksana	3,112	10,374

Tabel 2. Analisis Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun Soma

Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil Pengamatan			
		Ekstrak Metanol	Fraksi Metanol	Fraksi Etil Asetat	Fraksi *n*-Heksana
Steroid	Lieberman-Burchard	+	-	+++	+++
Terpenoid	Lieberman-Burchard	++	++	-	-
Alkaloid	Dragendorff	++	+++	-	-
	Wagner	++	+++	+	-
Polifenol	$FeCl_3$ 1%	+++	+++	+++	++
Flavonoid	Logam Mg + HCl 2 N	++	+++	-	+
	NaOH 2 N	+++	+++	++	++
Saponin	Akuades	++	+++	++	-

Keterangan: (-) = tidak terdeteksi, (+) = intensitas lemah, (++) = intensitas kuat, (+++) = intensitas sangat kuat

Tabel 3. Hasil Rata-rata Diameter Zona Hambat yang Terbentuk pada Uji Aktivitas Antibakteri dengan Konsentrasi 500 mg/mL

Sampel	Rata-Rata ± SD	Kategori
Ekstrak Metanol	9,42 ± 1,68	Sedang
Fraksi Metanol	15,81 ± 0,84	Kuat
Fraksi Etil Asetat	8,65 ± 0,62	Sedang
Fraksi *n*-Heksana	5,87 ± 0,79	Sedang
Tetrasiklin 2%	31 ± 1,20	Sangat kuat
DMSO 10%	-	-

Keterangan: SD = Standar Deviasi; Pengulangan dilakukan 2×; Diameter sumur = 6 mm

Tabel 4. Hasil Analisis Kadar Hambat Minimum (KHM) dari berbagai Fraksi terhadap bakteri *P. acnes*

Ekstrak	Konsentrasi (mg/mL) / Rata-Rata Diameter Zona Hambat ± SD			
	250	125	62,5	31,25
Fraksi Metanol	12,06 ± 4,04	7,75 ± 0,24	3,16 ± 1,72	2,83 ± 1,71
Fraksi Etil Asetat	7,39 ± 0,48	2,92 ± 0,26	2,16 ± 0,54	1,35 ± 0,12
Fraksi *n*-Heksana	2,96	2,23	-	-

Keterangan: SD = Standar Deviasi; Pengulangan dilakukan 2×; Diameter sumur = 6 mm

Tabel 5. Nilai KHM pada Fraksi Daun Soma

Fraksi	Nilai KHM (mg/mL)
Metanol	9,45
Etil Asetat	10,38
n-Heksana	125

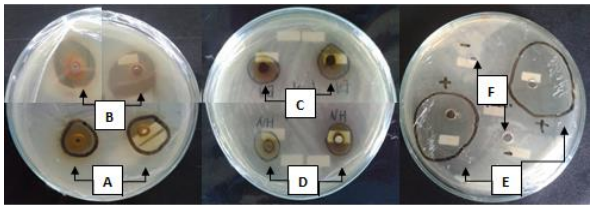
Hasil pada tabel 2, menunjukkan bahwa golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak metanol daun soma adalah steroid, terpenoid, alkaloid, polifenol, flavonoid dan saponin, fraksi metanol mengandung terpenoid, alkaloid, polifenol, flavonoid dan saponin, fraksi etil asetat mengandung senyawa steroid, alkaloid, polifenol, flavonoid dan saponin serta fraksi *n*-heksana mengandung senyawa steroid, polifenol dan flavonoid.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri bertujuan untuk menentukan kemampuan dari ekstrak daun soma untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang diujikan. Kemampuan penghambatan ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar sumur. Zona bening ini yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak yang diujikan.

Pengujian ini dilakukan dengan mengukur zona hambat dari ekstrak dan beberapa fraksi uji, yaitu ekstrak metanol, fraksi metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksana terlarut. Konsentrasi masing-masing ekstrak dan fraksi-fraksi daun soma dibuat dengan konsentrasi yang sama, yaitu 500 mg/mL. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri penyebab jerawat, yaitu *P. acnes*.

Metode yang digunakan adalah metode difusi agar menggunakan sumur. Metode ini dilakukan dengan cara menambahkan senyawa antimikroba ke dalam lubang (sumur) yang dibentuk pada *petridisk* berisi media agar yang telah diinokulasikan kultur bakteri uji. Dari uji aktivitas antibakteri yang telah dilakukan didapatkan kemampuan daya hambat antibakteri ekstrak daun soma pada konsentrasi 500 mg/mL yang dapat dilihat gambar 1.



Keterangan: A: Ekstrak Metanol; B: Fraksi Metanol; C: Fraksi Etil Asetat; D: Fraksi *n*-Heksana; E: Kontrol Positif; F: Kontrol Negatif

Gambar 1. Zona hambat antibakteri pada berbagai ekstrak terhadap bakteri *P. acnes*

Gambar 1 menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak daun soma terhadap *P.acnes*. Dari hasil tersebut diukur zona hambatnya dengan menggunakan jangka sorong, sehingga didapatkan rata-rata diameter zona hambat pada tabel 3.

Berdasarkan tabel 3 menunjukkan bahwa semua ekstrak yang diujikan memiliki aktivitas antibakteri menurut zona hambat yang dihasilkan. Hasil yang diperoleh adalah untuk ekstrak dan berbagai fraksi memiliki kategori kekuatan aktivitas antibakteri yang berbeda-beda. Penentuan kategori ini berdasarkan pernyataan yang disampaikan oleh Davis and Stout (1971) bahwa kekuatan aktivitas antibakteri oleh senyawa aktif dikelompokkan menjadi empat kategori, yaitu aktivitas lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (11-20 mm) dan sangat kuat (>20-30 mm).

Aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa antibakteri, daya difusi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat (Jawetz *et al*., 2005). Dari hasil uji fitokimia memperlihatkan bahwa ekstrak daun soma memiliki senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antibakteri, seperti polifenol, saponin, flavonoid dan alkaloid. Hal ini yang menyebabkan semua ekstrak daun soma yang diujikan menghasilkan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *P. acnes.*

Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh golongan senyawa fitokimia memiliki aktivitas yang berbeda-beda. Senyawa polifenol dapat menghambat pertumbuhan bakteri diduga disebabkan adanya interaksi senyawa polifenol dan turunannya dengan sel bakteri. Senyawa-senyawa ini berikatan dengan protein pada bakteri melalui ikatan non-spesifik membentuk kompleks protein-polifenol. Pada konsentrasi rendah, terbentuk kompleks protein-polifenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian, kemudian merusak membran sitoplasma dan menyebabkan kebocoran isi sel, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat. Sedangkan pada konsentrasi tinggi, zat tersebut berkoagulasi dengan protein seluler dan membran sitoplasma mengalami lisis (Wilson *et al.,* 1984). Menurut Dwidjoseputro (1994), senyawa polifenol masuk ke dalam sel bakteri melewati dinding sel bakteri dan membran

sitoplasma, di dalam sel bakteri senyawa polifenol menyebabkan penggumpalan (denaturasi) protein penyusun protoplasma, sehingga dalam keadaan demikian metabolisme menjadi inaktif dan pertumbuhan bakteri menjadi terhambat.

Senyawa tanin memiliki mekanisme mengkoagulasi dan mendenaturasi protein (Yulia, 2006). Tanin berikatan dengan protein membentuk ion H^+ dan mengakibatkan pH menjadi asam sehingga protein terdenaturasi. Kondisi asam menginaktif enzim pada bakteri dan menyebabkan metabolisme terganggu dan kerusakan sel bahkan kematian. Tanin dapat menghambat enzim *reverse transcriptase* dan DNA *topoisomerase*, sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Robinson, 1995). Mekanisme dari masing-masing senyawa metabolit sekunder tersebut saling bersinergis sehingga menambah efektivitas dan aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Beberapa jenis flavonoid berfungsi sebagai zat antibiotik, misalnya antivirus dan antijamur, peradangan pembuluh darah dan dapat digunakan sebagai racun ikan (Vickery dan Vickery, 1981). Selain itu, flavonoid juga berperan langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme, seperti bakteri atau virus (Subroto dan Saputro, 2006). Mekanisme penghambatan flavonoid terhadap pertumbuhan bakteri diduga karena kemampuan senyawa tersebut membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler, mengaktivasi enzim, dan merusak membran sel. Pada umumnya, senyawa flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif (Cowan, 1999). Flavonoid dapat berfungsi sebagai bahan antimikroba dengan membentuk ikatan kompleks dengan dinding sel dan merusak membran (Pepeljnjak *et al*., 2005). Flavonoid yang bersifat lipofilik akan merusak membran mikroba (Rahman, 2008).

Senyawa alkaloid bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel (Lamothe *et al*., 2009). Ketidakstabilan pada dinding sel menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, dan pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu menyebabkan sel bakteri menjadi kehilangan bentuk dan lisis (Pelczar dan Chan, 1988).

Senyawa metabolit sekunder lainnya yang terkandung pada daun soma adalah saponin. Menurut Mursito (2002), saponin bersifat sebagai antiseptik pada luka permukaan, bekerja sebagai bakteriostatik yang biasanya digunakan untuk infeksi pada kulit, mukosa dan melawan infeksi pada luka. Senyawa saponin yang bersifat detergen bekerja dengan membentuk suatu kompleks dengan sterol yang terdapat pada membran, sehingga menyebabkan kerusakan membran (Barile *et al.,* 2006). Senyawa saponin juga berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat impermeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun, morfologi membran sel berubah, dan akhirnya dapat menyebabkan membran sel rapuh dan lisis (Yani, 2004). Rusaknya membran sel bakteri mengakibatkan membran plasma pecah, sel kehilangan sitoplasma, transport zat terganggu dan metabolisme terhambat sehingga bakteri mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian sehingga menyebabkan sel bakteri lisis (Tortora *et al*., 2007).

Selanjutnya, dilakukan analisis statistik dengan menggunakan sidik ragam *One Way Analysis of Varians* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* berupa uji *Least Significance Difference* (LSD) dengan tingkat keyakinan 95% dan $P \leq 0,05$. Uji ANOVA bertujuan untuk menentukan fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri paling baik dengan membandingkan diameter zona hambat yang terbentuk pada tiap fraksi.

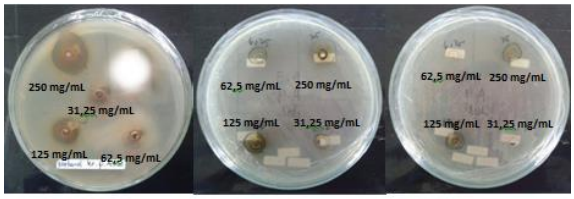
Hasil pengujian *One Way* ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak uji dan kontrol positif terhadap bakteri *P. acnes* dengan nilai signifikasinya 0,000 ($P \leq 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi dari daun soma dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes*.

Fraksi metanol memiliki diameter zona hambat yang paling luas dibandingkan dengan fraksi-fraksi lainnya. Hal ini dibuktikan dengan hasil uji lanjut LSD yang diperoleh bahwa diameter zona hambat dari fraksi metanol menunjukkan perbedaan yang signifikan dari diameter zona hambat yang terbentuk pada tiap-tiap fraksi dengan

nilai signifikasinya P ≤ 0,05. Oleh karena itu, dapat ditentukan bahwa fraksi yang memiliki kemampuan aktivitas antibakteri paling baik terhadap *P. acnes*, yaitu fraksi metanol dengan diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 15,81 mm. Hal ini dikarenakan pada fraksi metanol banyak mengandung senyawa antibakteri dengan intensitas yang relatif kuat, seperti alkaloid, polifenol, flavonoid dan saponin. Fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri kemudian dilanjutkan pada pengujian Kadar Hambat Minimum (KHM).

Analisis Kadar Hambat Minimum (KHM)

Penentuan Kadar hambat minimum (KHM) bertujuan untuk menentukan konsentrasi minimum pada ekstrak daun soma dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Fraksi yang menunjukkan adanya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri dilanjutkan pada pengujian ini dengan cara membuat variasi konsentrasi, yaitu 250, 125, 62,5 dan 31,25 mg/mL. Kemudian, dilakukan uji dengan metode difusi agar dengan cara yang sama pada penentuan uji aktivitas antibakteri. Hasil penentuan KHM dapat dilihat pada gambar 2.



(a) (b) (c)

Keterangan: (a) = Fraksi Metanol, (b) = Fraksi Etil Asetat, (c) = Fraksi *n*-Heksana

Gambar 2. Zona hambat yang terbentuk pada uji KHM dari berbagai fraksi terhadap bakteri *P. acnes*

Pemberian konsentrasi yang berbeda-beda menunjukkan pengaruh yang berbeda pula terhadap zona hambatan yang dihasilkan. Semakin luas daerah zona hambatan yang terbentuk di sekitar sumur, maka semakin besar pula daya antibakteri yang terdapat pada ekstrak daun soma. Hal ini sesuai dengan oleh Jawetz *et al*., (1999) yang menyatakan bahwa zona bening disekitar zat antimikroba merupakan kekuatan hambatan zat antimikroba terhadap penghambatan pertumbuhan mikroorganisme. Ini ditunjukkan dengan adanya zona hambatan atau daerah transparan di sekitar sumur pada pertumbuhan bakteri *P. acnes.* Namun, zona hambat yang dihasilkan hanya bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan tidak bersifat membunuh bakteri (bakteriosidal). Hal ini ditunjukkan dengan mengecilnya ukuran zona hambat setelah fasa logaritmik dari bakteri *P. acnes*. Selanjutnya, dilakukan pengukuran zona hambat yang ditunjukkan pada tabel 4.

Zona hambat yang dihasilkan sudah mulai terbentuk dari konsentrasi yang paling kecil, yaitu 31,25 mg/mL pada fraksi metanol dan etil asetat serta semakin meningkat seiring dengan penambahan konsentrasi hingga 250 mg/mL. Perlakuan fraksi metanol dengan konsentrasi 250 mg/mL untuk kedua bakteri uji dinyatakan memiliki aktivitas antibakteri yang kuat, yaitu masing-masing sebesar 12,06 mm dan 12,01 mm. Pada hasil yang diperoleh juga memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi, maka semakin besar pula zona hambat yang terbentuk di sekeliling sumur. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lingga dan Rustama (2005), semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya akan semakin kuat. Selain itu, juga didukung oleh pernyataan Prawata dan Dewi (2008), bahwa efektivitas suatu zat antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat tersebut. Ini berarti meningkatnya konsentrasi zat menyebabkan meningkatnya kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuannya dalam membunuh suatu bakteri juga semakin besar. Hasil perhitungan nilai KHM pada setiap fraksi dapat dilihat pada tabel 5.

Berdasarkan tabel 5, diperoleh nilai KHM pada fraksi metanol dan etil asetat secara kuantitatif, yaitu 9,45 mg/mL dan 10,38 mg/mL. Namun, pada fraksi *n*-heksana diperoleh nilai KHM secara kualitatif, yaitu 125 mg/mL. Hal ini dikarenakan zona hambat yang terbentuk dari fraksi *n*-heksana hanya pada dua konsentrasi, yaitu 250 mg/mL dan 125 mg/mL sehingga tidak memungkinkan untuk penentuan KHM secara kuantitatif.

Hal ini berarti bahwa pada konsentrasi 9,45 mg/mL, 10,38 mg/mL dan 125 mg/mL merupakan konsentrasi terkecil pada fraksi metanol, etil asetat dan *n*-heksana dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes*.

Data hasil rata-rata zona hambat pada uji KHM (tabel 3) dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji *One Way Analysis of Varians* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* berupa uji *Least Significance Difference* (LSD). Uji ANOVA ini bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun soma terhadap pertumbuhan bakteri *P. acnes*. Berdasarkan uji tersebut, diperoleh bahwa pemberian variasi konsentrasi pada fraksi metanol (250, 125, 62,5 dan 31,25 mg/mL) memberikan pengaruh terhadap besar diameter zona hambat terhadap bakteri *P. acnes*. Hal ini ditunjukkan dengan nilai signifikasinya, yaitu 0,000 ($P \leq 0,05$).

Selanjutnya, dilakukan uji lanjut LSD yang diperoleh hasil bahwa pada fraksi metanol terdapat beberapa kelompok konsentrasi yang menunjukkan perbedaan yang signifikan dan tidak signifikan. Pada konsentrasi 31,25 mg/mL terhadap 62,5 mg/mL dan 125 mg/mL tidak menunjukkan perbedaan signifikan dengan masing-masing nilai α, yaitu 0,890 dan 0,092 ($P \geq 0,05$) serta konsentrasi 62,5 mg/mL terhadap 125 mg/mL dengan nilai α 0,109. Selain itu, konsentrasi 125 mg/mL terhadap 250 mg/mL dengan nilai α 0,125.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa semua ekstrak dan fraksi daun soma memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. acnes*, dimana fraksi metanol merupakan fraksi yang memiliki aktivitas paling baik sebagai antibakteri dengan diameter zona hambat sebesar 9,42 mm. Nilai KHM yang diperoleh dari fraksi metanol dan etil asetat secara kuantitatif, yaitu 9,45 dan 10,38 mg/mL, sedangkan nilai KHM untuk fraksi *n*-heksana secara kualitatif, yaitu pada konsentrasi 125 mg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

Aziz, S., 2010, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Umbi Bakung Putih (Crinum aiaticum L.) terhadap bakteri penyebab jerawat, UIN, Jakarta.

Barile, E., G. Bonanomi, V. Antignani, B. Zolfaghari, S.E. Sajjadi, F. Scala, and V. Lanzotti, 2006, Saponins from *Allium minutiflorum* with Antifungal Activity, *Phytochemistry* 68: 596-603.

Bassett, J., R.C. Denny, G.H. Jeffrey, dan J. Mendham, 1994, *Buku Ajar Vogel Kimia Analitik Kuantitatif Anorganik*, Edisi Ke-4, Penerjemah: Pudjaatmaka, A.H. dan Setiono, L., EGC, Jakarta.

Bloomfield, S.F., 1991, *Assessing Antimicrobial Activity*, Di dalam: Denyer, S.P and Hugo, W.B., Editor: Mechanism of Action of Chemical Biocides, Oxford: Blackwell Scientific Publication, Hlm. 1-22.

Cowan, M.M., 1999, *Plant Product as Antimicrobial Agents*, J. Microbiology Reviews 12(4): 564-582.

Davis, W.W and T.R. Stout, 1971, Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay, *Applied Microbiology*, Vol. 22, No. 4, p. 659-665.

Dwidjoseputro, D., 1994, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Djambatan, Jakarta.

Faskalia dan M.A. Wibowo, 2014, Skrining Fitokimia, Uji Aktivitas, Antioksidan dan Uji Sitotoksik Ekstrak Metaol Pada Akar dan Kulit Batang Soma (*Ploiarium alternifolium*), *J. JKK* 3(3): 1-6.

Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tanaman*, Penerjemah: K. Padmawinata dan I. Soediro, Penerbit ITB, Bandung.

Jawetz, E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg, 1999, *Mikrobiologi Kedokteran*, Salemba, Surabaya.

Jawetz, E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg, 2005, *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*, Penerjemah:

Huriati dan Hartanto, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

Khunaifi, M., 2010, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosa, Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi, Malang, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, [Skripsi].

Kuncari, E.S., 2011, Perbandingan Kandungan Kimia Jengitri dan Riang-Riang dari Suku Theaces yang Tumbuh di Kalimantan Timur, Bidang Botani LIPI Hayati, Hal. 55-58.

Lamothe, R.G., G. Mitchell, M. Gattuso, M.S. Diarra, F. Malouin and K. Bouarab, 2009, Plant Antimicrobial Agents and Their Effects on Plant and Human Pathogens, *International Journal Science*, 10: 3400-3419.

Lingga, M.A dan M.M. Rustama, 2005, Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Air dan Etanol Bawang Putih (*Allium sativum* L.) terhadap Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif yang Diisolasi dari Udang Dogol (*Metapenaeus monoceros*), Udang Lobster (*Panulirus* sp.), dan Udang Rebon (*Mysis Acetes*), Jurusan Biologi FMPA Universitas Padjajaran, Bandung.

Loveckova, Y and I. Havlikova, 2002, A Microbiological Appoach to Acne Vulgaris, *Papers*, 146 (2): 29-32.

Marfu'ah, W., 2008, *Keragaman Potensi Berguna di Cagar Alam Mandor*, Kalimantan Barat.

Mursito, B., 2002, *Ramuan Tradisional untuk Penyakit Malaria*, Penebar Swadaya, Jakarta.

Ng, K.N., 2001, Bioactive Compounds From *Ploiarium alternifolium* (Theaceae) and *Calophyllum mucigerum* (Guttiferae), Universiti Putra Malaysia, Malaysia, [Thesis].

Ng, S. H., 2007, Chemical Constituents And Biological Activity Of Asam Aur Aur (*Garcinia parvifolia*) And Jinggau (*Ploiarium alternifolium*), Universiti Putra Malaysia, Malaysia, [Thesis].

Octavia, D.R., 2009, Uji Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol Daun Binahong (*Anredera Corfolia* (*Tenore*) Steen) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrasil.), Fakultas Farmasi Universitas Muhamadiyah, Surakarta, [Skripsi].

Pelczar, M.J dan E.C.S. Chan, 1988, *Dasar-Dasar Mukrobiologi*, Jilid 2, Universitas Indonesia Press, Jakarta.

Pepeljnjak, S., Z. Kalodera and M. Zovko, 2005, Antimicrobial activity of Flavonoid from *Pelargonium radula* (*cav*.) L'herit, *Acta Pharm*. 55: 431-435.

Prawata, L.M.O.A dan P.F.S. Dewi, 2008, Isolasi dan Uji Antibakteri Minyak Atsiri dari Rimpang Lengkuas *(Alpinia galanga* L*.)*, *Jurnal Kimia* 2(2): 4-10.

Rahman, M.F., 2008, Potensi Antibakteri Ekstrak Buah Pepaya Pada Ikan Gurami Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrohila*, Fakultas Kedokteran Hewan IPB, Bogor, [Skripsi].

Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tanaman Tinggi*, ITB Press, Bandung.

Subroto, M.A dan H. Saputro, 2006, Gempur Penyakit dengan Sarang Semut, Penebar Swadaya, Jakarta.

Tortora, G.J., B.R. Funke and C.L. Case, 2007, *Microbiology*, 9th Edition, Pearson Education, San Francisco.

Utami, R.E., 2012, Antibiotika, Resistensi dan Rasionalitas Terapi, Saintis Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang, Malang.

Vickery, M.L and B. Vickery, 1981, *Secondary Plant Metabilsm*, The Macmillan Press LTD, London and Baisngstoke.

West, J.A., G.C. Zuccarello, J. Scott, J.D. Pickett-Heaps and G.H. Kim, 2005, Observations on *Purpureofilum apyrenoidigerum* gen, et sp, nov, from Australia and *Bangiopsis subsimplex* from India (Stylonematales, Bangiophyceae,

Rhodophyta). *Phycological Research* 53: 57–74.

Wilson, S.G and H.M. Dick, 1984, Topley and Wilson Principle of Bacteriology, Virology and Immunity, 7th Edition, Edward Arnold Ltd 1984:84, London.

Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Kanisius, Yogyakarta.

Yani, A., 2004, Fraksinasi Komponen Aktif Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Tanaman Berenuk (*Crescentia cujete* L), [Thesis], Tidak dipublikasikan, Departemen Kimia Institut Pertanian Bogor.

Yulia, R., 2006, Kandungan Tanin dan Potensi Anti *Streptococcus mutans* Daun Teh *var. Assamica* pada berbagai Tahap Pengolahan, Tidak dipublikasikan, Program Studi Biokimia Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor, [Skripsi].