



**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN  
TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis* L.) TERHADAP  
BAKTERI *Propionibacterium acnes*  
SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh

**Rizki Wardatul Muslihah Sani  
NIM 122010101005**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN  
TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis L.*) TERHADAP  
BAKTERI *Propionibacterium acnes*  
SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Pendidikan Dokter (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

**Rizki Wardatul Muslihah Sani  
NIM 122010101005**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

## **PERSEMBAHAN**

Skripsi ini penulis persembahkan untuk:

1. Orang tua tercinta, papa Imam Qozin dan mama Tantri Fatimah;
2. saudari tersayang Rizki Wannur dan Rizki Nisfia;
3. guru-guru formal dan non formal sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

## **MOTTO**

Maka sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.\*)  
(terjemahan Surat Asy-Syarh ayat 5)\*)

---

\*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. *Al Qur'an dan Terjemahannya*.  
Bandung: PT Sygma.

## **PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rizki Wardatul Muslihah Sani

NIM : 122010101005

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* secara *In Vitro*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 7 Januari 2016

Yang menyatakan,

Rizki Wardatul M. S

122010101005

**SKRIPSI**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN  
TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis L.*) TERHADAP  
BAKTERI *Propionibacterium acnes*  
SECARA *IN VITRO***

Oleh

Rizki Wardatul Muslihah Sani  
NIM 122010101005

Pembimbing

Dosen Pembimbing I	: dr. M. Ali Shodikin, M. Kes., Sp. A
Dosen Pembimbing II	: dr. Ulfa Elfiah, M. Kes., Sp. BP-RE

## **PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* secara *In Vitro*” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Kamis, 7 Januari 2016

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

dr. Dini Agustina, M. Biomed  
NIP 19830801 200812 2 003

Penguji II,

dr. Cicih Komariah, Sp. M  
NIP 19740928 200501 2 001

Penguji III,

dr. M. Ali Shodikin, M. Kes., Sp. A  
NIP 19770625 200501 1 002

Penguji IV,

dr. Ulfa Elfiah, M. Kes., Sp. BP-RE  
NIP 19760719 200112 2 001

Mengesahkan  
Dekan,

dr. Enny Suswati, M.Kes  
NIP 19700214 199903 2 001

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* secara *In Vitro*” Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. M. Ali Shodikin, M. Kes., Sp. A dan dr. Ulfa Elfiah, M.Kes., Sp.BP-RE selaku dosen pembimbing utama dan anggota yang telah meluangkan waktu, serta memberikan ilmu, tenaga dan dukungan untuk membimbing dan memotivasi penulis dalam melakukan penelitian dan menyusun skripsi ini sebaik-baiknya;
3. dr. Dini Agustina, M. Biomed dan dr. Cicih Komariah, Sp. M sebagai dosen penguji yang berkenan memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. orang tua tercinta, papa Imam Qozin dan mama Tantri Fatimah, Kakak Rizki Wannur, Adik Rizki Nisfia yang selalu mendoakan, mendukung dan memberikan semangat hingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan tinggi ini;
5. sahabat sekaligus rekan kerja terbaik penulis, Dina Aprilianti dan Rinda Yanuarisa atas segala kerja sama, bantuan, semangat, dorongan dan motivasi yang selalu diberikan dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini;
6. sahabat-sahabat terbaik penulis, Niki Rahmawati, Fawziah Putri Maulida, yang selalu memberikan semangat, dukungan dan bantuan yang luar biasa dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini;



7. analis Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, Mbak Lilis, yang telah banyak membantu dalam penelitian ini dan selalu memberikan semangat dalam menyusun skripsi ini;
8. keluarga angkatan 2012 (PANACEA) yang selalu memberikan dukungan dan doa selama ini;
9. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 7 Januari 2016

Penulis

## RINGKASAN

**Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Shoncus arvensis L.*) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* secara *In Vitro***; Rizki Wardatul Muslihah Sani; 122010101005; 2015: 51 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Akne vulgaris adalah suatu proses peradangan kronik kelenjar sebacea yang merupakan penyakit kulit paling umum di dunia. Kejadian ini tidak hanya menjadi masalah psikologis terkait dengan kepercayaan diri namun juga menjadi masalah sosioekonomi karena biaya penyembuhan akne vulgaris mencapai USD 3 milyar/tahun. Salah satu penyebab akne vulgaris yaitu adanya *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*).

Pengobatan utama akne vulgaris saat ini menggunakan antibiotik yakni klindamisin 1% dan eritromisin 2% topikal, namun karena akne vulgaris yang timbul berulang sehingga penggunaan antibiotik sebagai pengobatan akne vulgaris juga berulang. Hal ini menyebabkan resistensi bahkan memperburuk hasil pengobatan, ketergantungan dengan penggunaan antibiotik serta menyebabkan kulit iritasi, kemerahan, rasa terbakar hingga hiperpigmentasi. Untuk mengatasi masalah resistensi antibiotik ini, tanaman obat perlu dipelajari secara ekstensif sebagai pengobatan alternatif akne vulgaris. Salah satunya adalah tanaman tempuyung (*Shoncus arvensis L.*) yang memiliki senyawa aktif berupa triterpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri dengan merusak porin (protein transmembran) bakteri dan flavonoid yang juga memiliki aktivitas antibakteri karena merusak sitoplasma bakteri. Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui aktivitas antibakteri dan Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak etanol daun tempuyung (*Shoncuas arvensis L.*) terhadap bakteri *P. acnes* secara *in vitro*.

Jenis penelitian yang digunakan yaitu *quasi experimental* yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Subjek pada penelitian ini adalah bakteri *P. acnes* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Sampel *P. acnes* pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) dibagi menjadi delapan kelompok. Kelompok kontrol positif diberi kontak dengan klindamisin 0,02 ug/ml. Kelompok kontrol negatif diberi kontak dengan DMSO 10%. Kelompok perlakuan (P1, P2, P3, P4, P5 dan P6) diberikan ekstrak etanol daun tempuyung dengan konsentrasi berturut-turut 0,125 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,5 mg/ml; 1 mg/ml; 2 mg/ml dan 4 mg/ml. Data penelitian yang diperoleh berupa diameter zona hambat kemudian diuji statistik menggunakan korelasi *Spearman* dan untuk mengetahui KHM dilakukan uji regresi logaritmik.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan bahwa ekstrak etanol daun tempuyung (*Shoncus arvensis L.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. acnes* secara *in vitro*. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar sumuran. Pada K- dan P1 tidak terbentuk zona hambat. Zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 0,25 mg/ml (P2). Hal ini menunjukkan bahwa KHM pada penelitian ini adalah 0,25 mg/ml. Pada uji regresi logaritmik didapatkan KHM kuantitatif sebesar 0,128 mg/ml. Peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung dari P2 hingga P6 menunjukkan diameter zona hambat yang meningkat. Semakin besar konsentrasi, semakin banyak senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak etanol daun tempuyung sehingga semakin kuat pula aktivitas antibakteri yang dihasilkan.

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL.....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTO.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN BIMBINGAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA.....</b>	<b>viii</b>
<b>RINGKASAN.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xviii</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian .....</b>	<b>4</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian .....</b>	<b>4</b>
1. 4. 1 Manfaat Aplikatif .....	4
1. 4. 2 Manfaat Teoritis .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Tempuyung (<i>Sonchus arvensis L.</i>).....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Taksonomi Tanaman Tempuyung .....	5
2.1.2 Morfologi dan Habitat Tanaman Tempuyung .....	6
2.1.3 Kandungan Kimia Tanaman Tempuyung.....	6

<b>2.2 <i>Propionibacterium acnes</i></b>	8
2.2.1 Sistem Klasifikasi	8
2.2.2 Morfologi dan Identifikasi Bakteri	8
<b>2.3 Akne Vulgaris</b>	8
2. 3. 1 Definisi	8
2. 3. 2 Epidemiologi	9
2. 3. 3 Etiologi	9
2. 3. 4 Patofisiologi Akne Vulgaris	10
2. 3. 5 Manifestasi Klinis Akne Vulgaris	12
2. 3. 6 Diagnosis Akne Vulgaris	13
2. 3. 7 Diagnosis Banding	13
2. 3. 8 Pengobatan akne Vulgaris	14
2. 3. 9 Prognosis	19
<b>2.4 Klindamisin</b>	19
2. 4. 1 Farmakokinetik Klindamisin	19
2. 4. 2 Mekanisme Kerja Klindamisin	20
2. 4. 3 Indikasi	20
2. 4. 4 Kontraindikasi	20
2. 4. 5 Efek Samping	21
2. 4. 6 Resistensi Klindamisin	21
<b>2.5 Uji Aktivitas Antibakteri</b>	21
2. 5. 1 Difusi	21
2. 5. 2 Dilusi	22
<b>2.6 Ekstraksi</b>	23
<b>2.7 Kerangka Konsep Penelitian</b>	25
<b>2.8 Hipotesis Penelitian</b>	26
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b>	27
<b>3.1 Jenis Penelitian</b>	27
<b>3.2 Rancangan Penelitian</b>	27

<b>3.3 Sampel Penelitian</b>	28
<b>3.4 Tempat dan Waktu Penelitian</b>	28
3.4.1 Tempat Penelitian	28
3.4.2 Waktu Penelitian	28
<b>3.5 Variabel Penelitian</b>	29
3.5.1 Variabel Bebas	29
3.5.2 Variabel Terikat	29
3.5.3 Variabel Terkendali	29
<b>3.6 Definisi Operasional</b>	29
<b>3.7 Alat dan Bahan</b>	30
<b>3.8 Prosedur Penelitian</b>	30
3.8.1 Uji Determinasi	30
3.8.2 Persiapan Alat dan Bahan	30
3.8.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung	31
3.8.4 Pembuatan Larutan <i>Mc Farland</i>	30
3.8.5 Pembuatan Media <i>Mueller Hinton Agar</i>	31
3.8.6 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol	31
3.8.7 Pembuatan Suspensi Bakteri	32
3.8.8 Pembuatan Kontrol Positif (K+)	32
3.8.9 Pembuatan Kontrol Negatif (K-)	32
3.8.10 Uji Aktivitas Antibakteri	33
<b>3.9 Analisis Data</b>	33
<b>3.10 Alur Penelitian</b>	34
3.10.1 Alur Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung	34
3.10.2 Alur Pengenceran Ekstrak Etanol Daun Tempuyung	35
3.10.3 Alur Uji Aktivitas Antibakteri	36
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	37
4.1 Hasil Penelitian	37
4.2 Analisis Data	39

4.3 Pembahasan .....	42
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....	47
5.1 Kesimpulan .....	47
5.2 Saran .....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	48
<b>LAMPIRAN</b> .....	52

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat .....	38
Tabel 4.2 Hasil Uji <i>Shapiro-Wilk</i> .....	39
Tabel 4.3 Hasil Uji Korelasi <i>Spearman</i> .....	40



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman Tempuyung .....	5
Gambar 2.2 Lesi Akne Vulgaris.....	12
Gambar 2.3 Kerangka Konsep Penelitian .....	25
Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian .....	27
Gambar 3.2 Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung .....	34
Gambar 3.3 Skema Pengenceran Ekstrak Daun Tempuyung .....	35
Gambar 3.4 Skema Uji Aktivitas Antibakteri .....	36
Gambar 4.1 Diameter Zona Hambat .....	37
Gambar 4.2 Grafik Uji Regresi Logaritmik .....	41

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Surat Ijin Etik Penelitian .....	52
B. Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> .....	53
C. Transformasi Data .....	54
D. Uji Korelasi <i>Spearman</i> .....	55
E. Uji Regresi Logaritmik .....	56
F. Grafik Uji Regresi Logaritmik .....	57

## **BAB 1. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar belakang**

Akne vulgaris adalah suatu proses peradangan kronik kelenjar-kelenjar sebacea. Penyakit ini dapat bersifat ringan dengan hanya komedo atau peradangan dengan pustula multipel atau kista (Price dan Wilson, 2012). Akne vulgaris sering menjadi tanda pertama pubertas karena pada waktu pubertas terdapat kenaikan dari hormon androgen yang beredar dalam darah yang dapat menyebabkan hiperplasia dan hipertrofi dari glandula sebacea (Robbins dan Cotran, 2005). Onset akne vulgaris pada perempuan lebih awal daripada laki-laki karena masa pubertas perempuan umumnya lebih dulu daripada laki-laki (Movita, 2013). Onset akne vulgaris pada perempuan rata-rata 11 tahun dan 12 tahun pada laki-laki (Dreno dan Poli, 2003).

Akne vulgaris atau jerawat merupakan penyakit kulit yang paling umum di dunia, terjadi pada 85% remaja dan lebih dari 10% orang dewasa. Di Amerika Serikat kejadian ini tidak hanya menjadi masalah psikologis terkait dengan kepercayaan diri namun juga menjadi masalah sosioekonomi karena biaya penyembuhan akne vulgaris mencapai USD 3 milyar per tahun pada 5 juta kunjungan ke dokter dalam satu tahun dengan pengobatan akne vulgaris secara topikal, oral hingga pengobatan fisik (ekstraksi komedo dan radiasi ultra violet) (Taylor *et al.*, 2014). Menurut catatan Kelompok Studi Dermatologi Kosmetik Indonesia (KSDKI) terdapat 80% kejadian akne vulgaris dari seluruh kasus dermatologi pada tahun 2007.

Beberapa mekanisme penyebab akne vulgaris yaitu perubahan keratinisasi pada folikel infundibulum, peningkatan ukuran kelenjar sebacea atau peningkatan aktivitas kelenjar sebacea karena pengaruh hormonal, adanya *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) yang mengubah lipid dalam sebum menjadi asam lemak yang proinflamasi serta adanya induksi inflamasi pada folikel rambut (Robbins dan Cotran,

2005). Sebanyak 65% kasus akne vulgaris disebabkan oleh infeksi *P. acnes* (Goldsmith *et al.*, 2012). *P. acnes* adalah bakteri yang tidak membentuk spora, Gram positif, berbentuk batang pleomorfik, dan bersifat anaerobik. Secara *in vitro* bakteri ini mampu bertahan selama 8 bulan dalam kondisi anaerobik. Bakteri ini dapat bertahan hidup pada jaringan manusia yang kadar oksigennya rendah (Perry dan Lambret, 2005).

*P. acnes* merupakan flora normal pada kulit (Brooks *et al.*, 2007) namun dianggap sebagai bakteri oportunistik (keadaan dimana *host* mengalami penurunan kekebalan tubuh/ imunokompromais (Smith *et al.*, 2006)) karena menyebabkan infeksi pada kulit hingga menyebabkan peradangan (Perry dan Lambret, 2005). Hal ini terjadi karena adanya penyumbatan pada folikel infundibulum akibat hiperkeratinisasi, sehingga bakteri ini dapat berproliferasi menimbulkan respon inflamasi dengan menginduksi pelepasan sitokin proinflamasi seperti IL-1 $\alpha$ , IL-8, IL-12 dan *Tumor Necrotizing Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) (Goldberg dan Berlin, 2012).

Pengobatan utama akne vulgaris saat ini menggunakan antibiotik yakni klindamisin dan eritromisin topikal untuk akne vulgaris ringan hingga sedang, antibiotik sistemik seperti doksisisiklin, minosiklin, tetrasiklin diindikasikan untuk akne vulgaris sedang hingga parah. Pada umumnya akne vulgaris timbul berulang sehingga penggunaan antibiotik sebagai pengobatan akne vulgaris juga berulang. Hal ini menyebabkan resistensi bahkan memperburuk hasil pengobatan, ketergantungan dengan penggunaan antibiotik serta menyebabkan kulit iritasi, kemerahan, rasa terbakar hingga hiperpigmentasi (Dawson dan Dellavalle, 2013). Sebanyak 65% dari kasus akne vulgaris dilaporkan resisten terhadap eritromisin, tetrasiklin, doksisisiklin dan minosiklin (Goldsmith *et al.*, 2012) Untuk mengatasi masalah resistensi antibiotik ini, tanaman obat perlu dipelajari secara ekstensif sebagai pengobatan alternatif akne vulgaris.

Indonesia merupakan salah satu laboratorium tanaman obat terbesar di dunia. Sekitar 80% herbal dunia tumbuh di Indonesia. Indonesia memiliki sekitar 35 ribu jenis tumbuhan tingkat tinggi, 3500 di antaranya dilaporkan sebagai tumbuhan obat,

salah satunya adalah tempuyung. Tempuyung merupakan Obat Asli Indonesia (OAI) dari famili Asteraceae. Tempuyung merupakan tanaman herbal menahun yang tumbuh liar serta mudah ditemukan di sekitar kita terutama di tempat yang terlindungi dari sinar matahari dan dekat aliran air (Lumbanraja, 2009).

Di Indonesia, tempuyung dijadikan obat anti memar dengan menempelkannya di bagian yang bengkak (Lumbanraja, 2009). Penggunaannya secara tradisional sebagai obat disentri dan diare diasumsikan pada daun tempuyung mengandung senyawa antibakteri (Sukadana *et al.*, 2011).

Pada penelitian yang dilakukan Rumondang *et al.*, (2013), didapatkan senyawa triterpenoid dan flavonoid dari ekstrak n-heksana daun tempuyung yang memiliki sifat antibakteri terhadap *Escherchia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian Sukadana *et al.*, (2011), tempuyung sedikitnya mengandung tujuh komponen senyawa dalam ekstrak kental n-heksana, dua komponen diantaranya teridentifikasi sebagai senyawa bis (2-etil heksil) ester dan golongan triterpenoid dengan rumus molekul  $C_{32}H_{66}O_6$  yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherchia coli*. Dengan adanya sifat sebagai antibakteri dari daun tempuyung pada penelitian sebelumnya diharapkan dapat memiliki aktivitas yang sama terhadap bakteri *P. acnes*. Hingga saat ini, belum ada penelitian yang menguji antibakteri ekstrak etanol daun tempuyung pada bakteri *P. acnes*. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap *Propionibacterium acnes* secara *in vitro*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu sebagai berikut :

- 1) Apakah ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. acnes* secara *in vitro*?

- 2) Berapakah konsentrasi hambat minimal (KHM) ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* secara *in vitro*?

### 1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk :

- 1) Mengetahui hubungan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap bakteri *P. acnes* secara *in vitro*.
- 2) Menentukan kadar hambat minimal ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* secara *in vitro* secara kualitatif dan kuantitatif.

### 1.4 Manfaat

#### 1.4.1. Manfaat Aplikatif

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi bagi masyarakat bahwa daun tempuyung mempunyai kandungan senyawa kimia yang berpotensi sebagai antibakteri.

#### 1.4.2 Manfaat Teoritis

- 1) Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) sebagai antibakteri terhadap *P. acnes* secara *in vitro* sehingga dapat digunakan sebagai dasar penelitian selanjutnya.
- 2) Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk menentukan Kadar hambat minimal ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) yang mampu menghambat bakteri *P. acnes* secara *in vitro* sehingga dapat digunakan sebagai dasar penelitian selanjutnya.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.)

Tempuyung merupakan tanaman tahunan yang bergetah, tumbuh liar ditempat terbuka yang terlindungi atau sedikit terkena sinar matahari dan perkembangbiakannya menyebar (Lumbanraja, 2009).

#### 2.1.1 Taksonomi Tanaman Tempuyung



Gambar 2.1 Tanaman Tempuyung (Utami, 2008)

Tanaman tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub kelas	: Asteridae
Ordo	: Asterales

Famili : Asteraceae  
 Genus : *Sonchus*  
 Spesies : *Sonchus arvensis* L. (Utami, 2008).

### 2.1.2. Morfologi dan Habitat Tanaman Tempuyung

Batang tanaman tempuyung berlubang, bergetah putih, percabangan monopodial, hijau keputih-putihan. Tampak pada Gambar 2.1 daunnya tunggal, bagian bawah membentuk roset akar, bentuk lonjong atau lanset, tepi rata, ujung runcing, panjang 5-50 cm, lebar 5-10 cm dan berwarna hijau. Bunga tempuyung bertipe majemuk, kelopaknya berbentuk lonceng dan berbulu, panjang tangkai  $\pm 8$  cm, berwarna hijau keputih-putihan dan mahkotanya berbentuk jarum berwarna putih atau kuning keputih-putihan. Buah tempuyung berbentuk kotak, berusuk lima, panjang  $\pm 4,5$  mm. Biji tempuyung berukuran kecil, bobotnya ringan, berbentuk jarum atau serbuk, dan berwarna hitam. Akar tempuyung tunggang dan berwarna putih kotor. Tinggi tanaman tempuyung 65-150 cm (Winarto, 2004).

Tanaman yang tergolong mudah tumbuh ini dapat tumbuh liar di antara puing-puing bangunan, di tembok atau di pinggir jalan. Tempuyung termasuk tanaman tahunan dari suku Asteraceae yang tumbuh baik di tempat berketinggian 50-1600 m dpl. Selain itu, tempuyung juga hidup di tempat terbuka atau terlindung sinar matahari. Daerah dengan curah hujan merata sepanjang tahun atau daerah dengan musim kemarau pendek juga cocok sebagai tempat hidup tempuyung. Selain tumbuh liar, tempuyung juga bisa ditanam sebagai tanaman pekarangan (Winarto, 2004).

### 2.1.3 Kandungan Kimia Tanaman Tempuyung

Daun tempuyung mengandung triterpenoid, flavonoid (kaemferol, luteolin-7-glukosida dan apigenin-7-O-glukosida), inositol, manitol, kalium, asam kuinat dan seskuiterpen. Triterpenoid dalam tempuyung diantaranya adalah  $\alpha$ -amyrin,  $\beta$ -amyrin dan lupeol. Kandungan total triterpenoid dalam daun tempuyung sebesar 64,79%



sedangkan kandungan flavonoid total dalam daun tempuyung sebesar 14,04% dengan jenis yang terbesar adalah apigenin-7-O-glikosida (Rumondang *et al.*, 2013).

Senyawa triterpenoid dengan rumus molekul  $C_{32}H_{66}O_6$  dan turunannya mempunyai aktivitas sebagai antibakteri karena bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Sukadana *et al.*, 2011). Triterpenoid juga mempunyai aktivitas antiinflamasi (Muley *et al.*, 2009).

Senyawa organik flavonoid apigenin-7-O-glukosida diketahui memiliki potensi yang cukup baik untuk menghambat kerja enzim xantin oksidase dan superoksidase sebagai senyawa antioksidan (Sukadana *et al.*, 2011). Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang dapat merusak sitoplasma bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino dengan mereaksikannya dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Proses ini akan menyebabkan dinding sel bakteri rusak sehingga senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid tersebut akan menyebabkan rusaknya struktur lipid dari DNA bakteri sehingga bakteri akan mengalami lisis dan mati (Rahmah, 2012).

Triterpenoid dan flavonoid dalam daun tempuyung sebagai antibakteri keduanya dapat merusak dinding sel bakteri. Rusaknya dinding sel bakteri oleh senyawa triterpenoid akan memudahkan gugus alkohol dari senyawa flavonoid untuk dapat menembus inti sel bakteri yang selanjutnya dapat merusak DNA bakteri (Muley *et al.*, 2009).

## 2.2 *Propionibacterium acnes*

*P. acnes* merupakan bakteri yang tidak berspora, bersifat anaerobik fakultatif dan memproduksi asam propionic. Bakteri ini merupakan flora normal pada kulit, usus besar, konjungtiva dan kanalis aurikula (Brooks *et al.*, 2007).

### 2.2.1 Sistem Klasifikasi

Klasifikasi ilmiah dari *P. acnes* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Actinobacteria
Class	: Actinobacteridae
Ordo	: Actinomycetales
Family	: Propionibacteriaceae
Genus	: <i>Propionibacterium</i>
Species	: <i>Propionibacterium acnes</i> (Sugita <i>et al.</i> , 2010).

### 2.2.2 Morfologi dan Identifikasi Bakteri

Bakteri ini merupakan Gram positif, fakultatif anaerob (memiliki kemampuan tumbuh dengan atau tanpa oksigen) dan merupakan flora normal pada kulit. Bentuk selnya batang dan non motil. Bakteri ini memiliki ukuran yang kecil dengan panjang 5 µm dan lebar 1,5 µm (Abate, 2013). Pada pewarnaan Gram, *P. acnes* sangat pleomorfik, ujung melengkung berbentuk runcing namun kadang tampak kokoid dan sferis (Brooks *et al.*, 2007).

## 2.3 Akne Vulgaris

### 2.3.1 Definisi

Akne vulgaris adalah suatu proses peradangan kronik kelenjar-kelenjar sebacea. Penyakit ini dapat bersifat ringan dengan adanya komedo atau peradangan dengan pustula multiple atau kista (Price dan Wilson, 2012). Akne vulgaris paling

banyak terjadi di wajah, tetapi dapat terjadi pada punggung, dada dan bahu (Goldsmith *et al.*, 2012).

### 2.3.2 Epidemiologi

Akne vulgaris merupakan penyakit kulit yang paling umum terjadi di dunia. Menyerang 85% remaja dan lebih dari 10% orang dewasa (Taylor *et al.*, 2014). Akne vulgaris biasanya muncul saat pubertas karena pada waktu pubertas terdapat kenaikan dari hormon androgen yang beredar dalam darah yang dapat menyebabkan hiperplasia dan hipertrofi dari glandula sebacea (Robbins dan Cotran, 2005). Umumnya insiden akne vulgaris terjadi sekitar umur 14-17 tahun pada wanita dan 16-19 tahun pada pria (Wasitaatmadja, 2010). Menurut Kelompok Studi Dermatologi Kosmetik Indonesia, kasus akne vulgaris mencapai 85% dari seluruh kasus dermatologi pada tahun 2007.

### 2.3.3 Etiologi

Akne vulgaris dapat disebabkan oleh berbagai faktor yaitu infeksi *P. acnes*, faktor hormonal, hiperaktivitas kelenjar sebacea, faktor psikis dan penggunaan kosmetik (Indriani *et al.*, 2015). Sebanyak 65% kasus akne vulgaris disebabkan oleh infeksi *P. acnes* (Goldsmith *et al.*, 2012). Bakteri ini merupakan flora normal pada kulit. Pada keadaan patologik, bakteri ini akan membentuk koloni pada ductus pilosebacea yang memecah trigliserida menjadi asam lemak bebas dan menginduksi terjadinya peradangan (Hunter *et al.*, 2002).

Selain infeksi oleh *P. acnes* etiologi lain yang paling sering dijumpai yakni faktor hormonal. Hormon androgen juga berpengaruh terhadap produksi sebum dengan aktivitasnya terhadap proliferasi dan diferensiasi sel-sel sebum (*sebocyte*). Hormon androgen akan menempel pada *sebocyte* dan mempengaruhi aktivitasnya. *Corticotropin-releasing hormone* (CRH) juga dapat berperan pada patogenesis akne vulgaris. CRH dihasilkan di hipotalamus dan kadarnya meningkat jika terjadi stress. Reseptor CRH terdapat pada berbagai sel, termasuk keratinosit dan sebosit. Pada

orang-orang yang terkena akne vulgaris ditemukan peningkatan sensitivitas reseptor CRH (Robbins dan Cotran, 2005).

Etiologi lain penyebab akne vulgaris adalah penggunaan kosmetik secara terus-menerus dalam waktu lama dapat menyebabkan suatu bentuk akne ringan yang terutama terdiri dari komedo tertutup dengan beberapa lesi papulopustular pada pipi dan dagu. Bahan yang sering menyebabkan akne ini terdapat pada berbagai krim muka seperti bedak dasar (foundation), pelembab (moisturizer), krim penahan sinar matahari (sunscreen) dan krim malam yang mengandung bahan-bahan, seperti lanolin, petrolatum, minyak tumbuh-tumbuhan dan bahan-bahan kimia murni (butil stearat, lauril alkohol, dan *oleic acid*) (Bauman dan Weisberg, 2002).

#### 2.3.4 Patofisiologi Akne Vulgaris

Patofisiologi terjadinya akne vulgaris sangatlah kompleks. Terjadinya akne vulgaris bermula dari terbentuknya antibodi antipropionibacterium karena adanya induksi oleh infeksi *P. acnes*. Dinding sel *P. acnes* mengandung antigen karbohidrat yang merangsang terbentuknya antibodi. Antibodi ini terbentuk dengan adanya peningkatan respon peradangan melalui produksi lipase, protease, hialuronidase dan faktor-faktor kemotaktik. Hal ini terjadi karena (Goldsmith *et al.*, 2012).

Bakteri *P. acnes* juga merangsang sitokin dengan cara berikatan pada *toll-like receptor 2* (TLR 2) pada monosit dan sel-sel polimorfonuklear di sekitar folikel sebacea. Setelah berikatan dengan TLR-2 terjadi pelepasan sitokin proinflamasi seperti IL-1alpha, IL-8, IL-12 dan TNF-alpha (Goldberg dan Berlin, 2012). *Toll-like receptor* (TLR) termasuk kelompok glikoprotein yang berfungsi sebagai reseptor permukaan transmembran dan terlibat dalam respons imun alami terhadap mikroorganisme patogen. TLR merupakan komponen kunci pada respons imun alami yang dapat mengenali komponen mikroorganisme. Selanjutnya TLR memulai jalur yang memberi sinyal untuk mengaktifkan sitokin, kemokin dan peptida antimikroba (Yuanita dan Anum, 2011).

Peptida antimikroba seperti *histone* H4 dan *cathelicidin* juga disekresi secara lokal sebagai respon terhadap *P. acnes*. *Histone* H4 menunjukkan fungsi membunuh mikroba secara langsung, sedangkan *cathelicidin* berinteraksi dengan komponen-komponen dari sistem kekebalan alami tubuh seperti  $\beta$ -defensins dan psoriasin untuk melawan *P. acnes* (Goldsmith *et al.*, 2012).

Adanya infeksi oleh *P. acnes* menyebabkan peradangan di sekitar folikel infundibulum. Adanya peradangan disekitar folikel ini dan produksi sebum yang terus berlangsung mengakibatkan penyumbatan dan terjadi *bottleneck effect* pada ostium folikel. Kejadian ini menyebabkan folikel akan membenuk lamelar yang secara klinis akan tampak sebagai mikrokomedo (Goldberg dan Berlin, 2012).

Penyumbatan pada folikel infundibulum yang terus berlanjut akan menyebabkan produksi sebum semakin menumpuk pada ostium folikel. Trigliserida yang merupakan komponen sebum akan dipecah menjadi asam lemak bebas oleh *P. acnes*. Asam lemak bebas ini selanjutnya akan menimbulkan penumpukan bakteri *P. acnes* yang menyebabkan keradangan membentuk suatu lamelar yang secara klinis tampak sebagai komedo. Komponen lain dari sebum adalah lipoperoksida yang juga menghasilkan sitokin proinflamasi (Goldsmith *et al.*, 2012).

Proses infeksi yang menyebabkan penyumbatan folikel infundibulum secara terus menerus akan menyebabkan terjadinya penumpukan komedo. Selanjutnya dinding komedo ini dapat ruptur karena penyumbatan yang terus menerus dan akan membentuk nodul bahkan scar (Goldberg dan Berlin, 2012). Terjadinya ruptur dinding komedo ini dalam waktu singkat akan memicu reaksi inflamasi yang diperantarai oleh limfosit CD4<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup>. Selanjutnya akibat pelepasan dari mediator-mediator inflamasi oleh limfosit CD4<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup> akan terjadi penumpukan neutrofil di sekitar komedo yang mengalami sumbatan. Satu sampai dua hari setelah ruptur akan terjadi pergerakan neutrofil menuju ke tempat inflamasi dan pada akhirnya semakin memperberat inflamasi yang telah terjadi (Wasitaatmadja, 2010).

### 2.3.5 Manifestasi Klinis Akne Vulgaris

Akne vulgaris paling banyak terjadi di wajah, tetapi dapat terjadi pada punggung, dada dan bahu. Akne vulgaris yang terjadi di badan cenderung terkonsentrasi dekat garis tengah tubuh. Penyakit ini ditandai oleh lesi yang bervariasi, meskipun satu jenis lesi biasanya lebih mendominasi. Lesi akne vulgaris dapat berupa lesi inflamasi ataupun lesi non inflamasi (Goldsmith *et al.*, 2012).

Lesi non inflamasi dapat berupa komedo terbuka (*blackhead comedones*) dan komedo tertutup (*whitehead comedones*). Komedo terbuka adalah suatu lesi kulit yang datar atau sedikit menonjol dengan impaksi keratin dan lipid folikel yang berwarna gelap di bagian tengahnya. Komedo tertutup tampak sebagai papul-papul kecil yang pucat, sedikit menonjol dan tidak memiliki orifisium yang tampak secara klinis. Komedo tertutup cukup sulit untuk divisualisasikan. Mengencangkan bagian kulit adalah salah satu cara untuk mendeteksi lesi tersebut. Lesi tipe inflamasi cukup beragam mulai dari papul berukuran kecil dengan batas berwarna merah hingga pustul dan nodul besar, nyeri dan fluktuatif (Movita, 2013).



(a) Komedo tertutup; (b) Komedo Terbuka; (c) Papul; (d) Nodul  
Gambar 2. 2 Lesi akne vulgaris (Goldsmith *et al.*, 2012)

### 2.3.6 Diagnosis Akne Vulgaris

Diagnosis akne vulgaris ditegakkan atas dasar pemeriksaan klinis berdasarkan hasil inspeksi. Diagnosis akne vulgaris didasarkan pada tipe lesi dan derajat keparahan. Derajat yang menunjukkan keparahan akne vulgaris diperlukan untuk pengobatan. Ada beberapa pola pembagian derajat akne vulgaris. Djuanda (2003) membagi derajat keparahan akne vulgaris sebagai berikut:

- a. Ringan, bila beberapa lesi non inflamasi pada satu predileksi, sedikit lesi non inflamasi pada beberapa tempat predileksi atau sedikit lesi inflamasi pada satu predileksi.
- b. Sedang, bila banyak lesi non inflamasi pada satu predileksi, beberapa lesi non inflamasi lebih dari satu predileksi, beberapa lesi inflamasi pada satu predileksi atau sedikit lesi inflamasi pada lebih dari satu predileksi.
- c. Berat, bila banyak lesi non inflamasi pada lebih dari satu predileksi, banyak lesi inflamasi pada satu atau lebih predileksi.

Pemeriksaan mikrobiologis dapat dilakukan untuk menunjang penegakkan diagnosis akne vulgaris namun, umumnya tidak dilakukan sebagai dasar penegakkan diagnosis. Pemeriksaan mikrobiologis ini dapat dilakukan di laboratorium mikrobiologi dengan pengecatan Gram akan tampak bentukan runcing dengan ujung melengkung, berwarna ungu (Brooks *et al.*, 2007) dengan ukuran panjang 5  $\mu\text{m}$  dan lebar 1,5  $\mu\text{m}$  (Abate, 2013).

Tes fungsi endokrin rutin tidak diindikasikan pada sebagian besar pasien dengan akne. Pada pasien dengan akne dan terdapat bukti hiperandrogenisme, evaluasi hormonal untuk testeteron bebas, dehidroepiandrostenedion sulfat (DHEA-S), lutenizing hormone (LH), FSH dapat dilakukan (Goldsmith *et al.*, 2012).

### 2.3.7 Diagnosis Banding

Meskipun terdapat satu jenis lesi yang dominan, akne vulgaris didiagnosis dengan adanya beberapa variasi dari lesi akne (komedo, pustul, papul, dan nodul) yang terdapat pada wajah, punggung dan dada. Diagnosis banding akne vulgaris

antara lain erupsi akneiformis, rosasea dan dermatitis perioral (Batra dan Sonia, 2007):

a. Erupsi akneiformis

Erupsi akneiformis merupakan akne yang disebabkan oleh induksi obat, seperti kortikosteroid, Isoniazid, barbiturat, bromida, iodida, difenilhidantoin, dan ACTH. Klinis erupsi berupa papul di berbagai tempat tanpa komedo, timbul mendadak tanpa disertai demam (Batra dan Sonia, 2007).

b. Rosasea

Rosasea adalah penyakit kronik yang etiologinya belum diketahui secara pasti, dengan karakteristik adanya eritema pada sentral wajah dan leher ((Goldberg dan Berlin, 2012). Penyakit ini terdiri atas dua komponen klinik, yakni perubahan vaskuler yang terdiri atas eritema intermiten dan persisten serta erupsi akneiform yang terdiri atas papul, pustul, kista, dan hiperplasia sebacea. Pada rosasea tidak terdapat hubungan antara eksresi sebum dengan beratnya gejala rosasea (Batra dan Sonia, 2007).

c. Dermatitis perioral

Perioral dermatitis adalah penyakit kulit dengan karakteristik papul dan pustul kecil yang terdistribusi pada daerah perioral, dengan predominan di sekitar mulut. Dermatitis perioral biasanya pada wanita muda, sering ditemukan di sekitar mulut, namun dapat pula di sekitar hidung dan mata. Etiologinya belum diketahui secara pasti, namun diduga penyebabnya oleh karena *candida*, iritasi pasta gigi berflouride dan kontrasepsi oral (Batra dan Sonia, 2007). Dermatitis perioral erupsi simetris yang terbatas pada area hidung, mulut, dan dagu, yang terdiri atas mikropapul, mikrovesikel, atau papulopustulosa dengan diameter kurang dari 2 mm (Goldsmith *et al.*, 2012).

### 2.3.8 Pengobatan Akne Vulgaris

Pengobatan akne vulgaris terdiri atas terapi topikal, sistemik, fisik, operasi dan diet (Goldsmith *et al.*, 2012).



#### a. Topikal

Penggunaan obat sebagai terapi topikal merupakan satu cara yang banyak dipilih dalam mengatasi penyakit akne vulgaris. Tujuan diberikan terapi ini adalah untuk mengurangi jumlah akne yang telah ada, mencegah terbentuknya spot yang baru dan mencegah terbentuknya scar (bekas jerawat). Terapi topikal diberikan untuk beberapa bulan atau tahun, tergantung dari tingkat keparahan akne. Obat-obatan topikal tidak hanya dioleskan pada daerah yang terkena jerawat, tetapi juga pada daerah disekitarnya (Hunter *et al.*, 2002).

Ada berbagai macam obat-obatan yang dipakai secara topikal, yaitu:

##### 1. Antibiotik Topikal

Antibiotik topikal banyak digunakan sebagai terapi akne vulgaris. Mekanisme kerja antibiotik topikal yang utama adalah sebagai antimikroba. Hal ini telah terbukti pada efek klindamisin 1% dalam mengurangi jumlah *P. acnes* baik dipermukaan atau dalam saluran kelenjar sebacea. Eritromisin 2% dengan kombinasi benzoil peroksida 5% tersedia dalam bentuk gel (Goldsmith *et al.*, 2012). Keefektifan antibiotik topikal pada akne vulgaris terbatas karena mekanisme kerja dalam eliminasi bakteri membutuhkan jangka waktu yang panjang. Bakteri tidak secara langsung menyebabkan akne vulgaris. Pada keadaan di mana kelenjar sebacea memproduksi sebum berlebihan, pori-pori kulit juga akan lebih mudah terbuka sehingga banyak bakteri yang akan masuk dan berkembang. Adanya sel kulit mati juga bisa memperburuk keadaan. Bila kelenjar sebacea tidak memproduksi sebum berlebihan, maka bakteri tidak mudah masuk ke dalam kulit. Dengan kata lain, jumlah produksi sebum menjadi masalah utama dalam akne vulgaris. Antibiotik topikal kerjanya terbatas, karena tidak mengatasi masalah dalam jumlah produksi sebum (Zouboulis dan Christos, 2003).

##### 2. Retinoid topikal.

Mekanisme kerja dari retinoid topikal yaitu, mengeluarkan komedo yang telah matur, menghambat pembentukan dan jumlah dari mikrokomedo,

menghambat reaksi inflamasi dan menekan perkembangan mikrokomedo baru yang penting untuk maintenance terapi (Zouboulis dan Christos, 2003).

### 3. Tretinoin

Tretinoin merupakan retinoid yang mengurangi komedo secara signifikan dan juga lesi peradangan akne. Hal ini ditunjukkan pada percobaan untuk 12 minggu menurunkan 32-81% untuk non-inflammatory lesi dan 17-71% untuk inflammatory lesi. Tretinoin tersedia dalam bentuk cream 0.025%, 0.1%, gel 0.01%, 0.025%) dan dalam solution (0.05%). Formula topikal gel ini mengandung polyoprepolymer-2 dan tretinoin prenatration (Zouboulis dan Christos, 2003).

### 4. Isotretinoin

Isotretinoin tersedia dalam sediaan gel, mempunyai efikasi yang sama dengan tretinoin, mereduksi komedo antara 48-78% dan lesi inflamatori antara 24-55% setelah 12 minggu pengobatan (Zouboulis dan Christos, 2003).

### 5. Adapalene

Adapalene adalah generasi ketiga dari retinoid tersedia dalam gel, cream atau solution dalam konsentrasi 0.1% (Goldsmith *et al.*, 2012).

### 6. Tazarotene

Selain untuk psoriasis, tazarotene juga digunakan sebagai terapi untuk akne dalam bentuk 0,5 dan 0,1% gel atau cream (Goldsmith *et al.*, 2012).

### 7. Asam Salisilat

Asam salisilat efek utamanya adalah keratolitik, meningkatkan konsentrasi dari substansi lain, selain itu juga mempunyai efek bakteriostatik dan bakteriosidal (Goldsmith *et al.*, 2012).

## b. Terapi sistemik

### 1. Antibiotik oral

Antibiotik oral diindikasikan untuk pasien dengan akne yang meradang secara masif. Antibiotik yang diberikan adalah tetrasiklin, doksisisiklin, minosiklin, eritromisin, kotrimoksazole dan klindamisin.

Antibiotik ini mengurangi peradangan akne dengan menghambat pertumbuhan dari *P. acnes* (Goldsmith *et al.*, 2012).

Tetrasiklin generasi pertama (tetrasiklin, oksitetrasiklin, tetrasiklin klorida) merupakan obat yang sering digunakan untuk akne vulgaris. Obat ini digunakan karena manfaat dan harganya yang murah, walaupun angka kejadian resistensinya cukup tinggi. Dalam 6 minggu pengobatan menurunkan reaksi peradangan 50% dan biasa diberikan dalam dosis 1 gram/hari (500 mg diberikan dalam 2 kali), setelah beberapa bulan dapat diturunkan 500 mg/hari. Karena absorpsinya dihambat oleh makanan, maka obat ini diberikan 1 jam sebelum makan dengan air untuk absorpsi yang optimal (Zouboulis dan Christos, 2003).

Alternatif lain, tetrasiklin generasi kedua (doksisisiklin) diberikan 100 mg – 200 mg/hari dan 50 mg/hari sebagai *maintainance dose*, minosiklin biasanya diberikan 100 mg/hari. Golongan obat ini lebih mahal akan tetapi larut lemak dan diabsorpsi lebih baik di saluran pencernaan. Eritromisin 1 g/hari dapat diberikan sebagai regimen alternatif. Obat ini sama efektifnya dengan tetrasiklin, tapi menimbulkan resistensi yang tinggi terhadap *P.acnes* dan sering dikaitkan dengan kegagalan terapi. (Hunter *et al.*, 2002).

Klindamisin merupakan jenis obat yang sangat efektif, akan tetapi tidak baik digunakan untuk jangka panjang karena dapat menimbulkan kolitis perimembranous. Kotrimoksasole (sulfametoksazol/trimetoprim, 160/800 mg, 2x/hari) direkomendasikan untuk pasien dengan *inadequate respon* dengan antibiotik yang lain (Brunton *et al.*, 2008).

## 2. Isotretinoin oral

Isotretinoin oral merupakan obat yang mengurangi komedogenesis, mengecilkan ukuran glandula sebacea hingga 90% dengan menurunkan proliferasi dari basal sebosit, menekan produksi sebum dan menghambat diferensiasi sebosit. Walaupun tidak berefek langsung terhadap *P. acnes*, obat ini menghambat efek dari produksi sebum dan menurunkan jumlah *P. acnes*

yang mengakibatkan inflamasi. Masih terjadi perdebatan untuk dosis pemberian (1 gram/kgBB/hari atau 50 mg/kgBB/hari), walaupun hasil yang ditunjukkan kedua dosis untuk pengobatan jangka panjang adalah sama, tapi angka kejadian kambuh dan memerlukan pengobatan ulang sering didapatkan pada dosis rendah untuk akne vulgaris yang berat (Brunton *et al.*, 2008).

### 3. Hormonal

Terapi hormonal diindikasikan pada wanita yang tidak mempunyai respon terhadap terapi konvensional. Mekanisme kerja obat-obat hormonal ini secara sistemik mengurangi kadar testosteron dan dehidroepiandrosterone, yang pada akhirnya dapat mengurangi produksi sebum dan mengurangi terbentuknya komedo. Ada tiga jenis terapi hormonal yang tersedia yaitu, estrogen dengan prednisolon, estrogen dengan *cyproterone acetate* (*Diane*, *Dianette*) dan spironolakton. Terapi hormonal harus diberikan selama 6-12 bulan dan penderita harus melanjutkan terapi topikal. Respon obat-obat hormonal lambat, dalam bulan pertama terapi tidak didapatkan perubahan dan perubahan kadang-kadang baru dapat terlihat pada bulan ke enam pemakaian. Perubahan yang dihasilkan pada penggunaan *diane* hampir mirip dengan tetrasiklin 1 g/hari (Goldsmith *et al.*, 2012).

*Diane* merupakan kombinasi antara 50 µg *ethinylestradiol* dan 2 mg *cyproterone acetate*. Pada wanita usia tua (> 30 tahun) dengan kontraindikasi relatif terhadap pil kontrasepsi yang mengandung estrogen, salah satu terapi pilihan adalah dengan penggunaan spironolakton. Dosis efektif yang diberikan antara 100-200 mg (Brunton *et al.*, 2008).

#### c. Terapi Fisik

Selain terapi topikal dan terapi oral, terdapat beberapa terapi tambahan dengan menggunakan alat ataupun agen fisik, diantaranya adalah:

##### 1. Ekstraksi komedo

Pengangkatan komedo dengan menekan daerah sekitar lesi dengan menggunakan alat ekstraktor dapat berguna dalam mengatasi akne. Secara

teori, pengangkatan *closed comedos* dapat mencegah pembentukan lesi inflamasi. Dibutuhkan keterampilan dan kesabaran untuk mendapatkan hasil yang lebih baik (Goldsmith *et al.*, 2012).

## 2. Radiasi Ultraviolet

Radiasi UV mempunyai efek untuk menghambat inflamasi dengan menghambat aksi dari sitokin. Radiasi UVA dan UVB sebaiknya diberikan secara bersama-sama untuk meningkatkan hasil yang ingin dicapai. Fototerapi dapat diberikan 2x/minggu (Goldsmith *et al.*, 2012).

### 2.3.9 Prognosis

Pada umumnya prognosis dari akne vulgaris cukup baik. Pengobatan sebaiknya dimulai pada awal onset munculnya akne vulgaris dan cukup agresif untuk menghindari sekuele yang bersifat permanen. Pada kebanyakan kasus, akne vulgaris biasanya sembuh secara spontan ketika melewati usia remaja dan memasuki usia 20 tahun (Goldberg dan Berlin, 2012).

## 2.4 Klindamisin

Klindamisin adalah turunan dari lincomycin semisintetik dan diklasifikasikan sebagai antibiotik lincosamide. Klindamisin beraktivitas dengan mengikat ribosom 50S yang menghambat sintesis protein mikroba pada inisiasi rantai peptida (Brunton *et al.*, 2008).

### 2.4.1 Farmakokinetik Klindamisin

Klindamisin diserap baik secara oral dengan 90% bioavailabilitas. Adanya makanan dalam lambung tidak banyak mempengaruhi absorpsi obat ini. Setelah pemberian dosis oral 150 mg tercapai kadar puncak plasma 2-3 µg/ml dalam waktu 1 jam. Waktu paruh obat ini adalah 2,7 jam. Klindamisin didistribusikan secara baik ke berbagai cairan tubuh, jaringan dan tulang, kecuali ke CSS. Hanya 10% klindamisin diekskresi dalam bentuk asal melalui urin. Sejumlah

kecil klindamisin ditemukan dalam feses. Sebagian besar obat dimetabolisme menjadi N-dimetilklindamisin dan klindamisin sulfoksid untuk selanjutnya diekskresi melalui urin dan empedu. Masa paruh klindamisin dapat sedikit memanjang pada pasien gagal ginjal sehingga perlu penyesuaian dosis dan pengukuran kadar obat dalam plasma. Hal ini dapat pula terjadi pada pasien gangguan fungsi hati berat (Brunton *et al.*, 2008).

#### 2.4.2 Mekanisme Kerja Klindamisin

Banyak kokus Gram positif dihambat oleh lincomysin 0,5-5 µg/ml. Bakteri anaerob peka terhadap klindamisin. Klindamisin menghambat sintesis protein dengan mempengaruhi pembentukan kompleks awal dengan reaksi translokasi aminoasil. Reseptor untuk klindamisin pada subunit ribosom 50S bakteri ialah 23SrRNA, sama dengan reseptor eritromisin (Hunter *et al.*, 2002).

#### 2.4.3 Indikasi

Klindamisin digunakan untuk terapi beberapa infeksi oleh:

- a. Bakteri anaerob.
- b. *Streptococcus sp.*
- c. *Staphylococcus sp.*
- d. *Pneumoniae sp.*

Klindamisin digunakan untuk infeksi fraktur tulang, infeksi kondisi anaerob (infeksi saluran genital, infeksi pelvis, penetrasi jaringan ikat pada perut pasca operasi). Klindamisin dapat dikombinasikan untuk pengobatan pneumocystis carinii dan toxoplasmosis (Brunton *et al.*, 2008).

#### 2.4.4 Kontraindikasi

Klindamisin kontraindikasi pada pasien yang alergi terhadap klindamisin, wanita hamil (klindamisin dapat menembus *barrier* plasenta) dan bayi (Kemenkes, 2011). Klindamisin tidak baik jika pemberiannya bersamaan dengan eritromisin dan kloramfenikol. Hal ini dikarenakan ketiga antibiotik ini

memiliki reseptor yang hampir sama sehingga pemberian secara bersamaan akan menurunkan kinerja salah satu antibiotik tersebut (Goldsmith *et al.*, 2012).

#### 2.4.5 Efek Samping

Efek samping akibat klindamisin adalah mual, muntah, stomatitis, diare, urtikaria, pusing dan yang paling berbahaya adalah kolitis pseudomembranosa (Kemenkes, 2011).

#### 2.4.6 Resistensi Klindamisin

Saat ini terjadi peningkatan resistensi *P. acnes* terhadap terapi antibiotik terutama klindamisin dan eritromisin. Peningkatan resistensi ini terjadi karena penggunaan klindamisin dan eritromisin sebagai monoterapi pada kasus-kasus akne vulgaris dalam jangka waktu panjang. Pemberian monoterapi dengan antibiotik tersebut perlahan-lahan menimbulkan isolat-isolat *P. acnes* baru yang memiliki resistensi terhadap kedua antibiotik tersebut. Selain itu penggunaan klindamisin dan eritromisin yang tidak tepat dosis serta tingkat kepatuhan pasien yang buruk semakin mempercepat terjadinya resistensi *P. acnes* (Goldsmith *et al.*, 2012).

### 2.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Ada dua macam metode untuk uji aktivitas antibakteri, yaitu metode difusi dan metode dilusi. Uji sensitivitas terhadap antibiotik dikembangkan untuk menemukan kemampuan menghambat bakteri dengan satu jenis antibiotik (Brooks *et al.*, 2007).

#### 2.5.1 Difusi

Umumnya menggunakan kertas disk yang berisi antibiotik dan telah diketahui konsentrasinya. Pada metode difusi, media yang dipakai adalah *Mueller Hinton Agar* (MHA). Ada beberapa cara pada metode difusi, yaitu:

a. Cara Kirby Bauer

Cara Kirby-Bauer merupakan suatu metode uji aktivitas antibakteri yang dilakukan dengan membuat suspensi bakteri pada media Brain Heart Infusion (BHI) cair dari koloni pertumbuhan kuman selama 24 jam. Selanjutnya disuspensikan dalam 0,5 ml BHI cair (diinkubasi 4-8 jam pada suhu 37°C). Hasil inkubasi bakteri diencerkan sampai sesuai standar konsentrasi kuman  $10^8$  CFU/ml. Suspensi bakteri diuji dengan meratakan suspensi tersebut pada permukaan media. Cakram antibiotik diletakan di atas media tersebut, diinkubasi pada suhu 37°C selama 19-24 jam dan hasilnya diukur sebagai diameter zona hambat (Brooks *et al.*, 2007).

#### b. Cara sumuran

Suspensi bakteri  $10^8$  CFU/ml diratakan pada media agar, kemudian agar tersebut dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan. Larutan antibiotik yang digunakan diteteskan sebanyak 100 µl ke dalam sumuran. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian dibaca hasilnya dengan mengukur diameter zona hambat (Brooks *et al.*, 2007).

#### c. Cara Pour Plate

Membuat suspensi bakteri dengan larutan BHI sampai konsentrasi standar  $10^8$  CFU/ml, kemudian diambil satu mata ose dan dimasukkan ke dalam 4 ml agar base 1,5 % dengan temperatur 50°C. Suspensi kuman tersebut dibuat homogen dan dituang pada media MHA. Setelah beku, dipasang cakram antibiotik (diinkubasi 15-20 jam pada suhu 37°C) dibaca dengan mengukur diameter zona hambat (Brooks *et al.*, 2007).

### 2.5.2 Dilusi

Pada metode dilusi, substansi antimikroba dicampur ke dalam medium bakteriologis solid atau cair. Biasanya digunakan substansi antimikroba dengan pengenceran dua kali lipat dari pengenceran antimikroba yang digunakan. Medium kemudian diinokulasi dengan bakteri penguji dan diinkubasi. Pertumbuhan bakteri ditandai oleh adanya kekeruhan setelah diinkubasi. Konsentrasi terendah yang



menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan dan disebut dengan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) (Brooks *et al.*, 2007).

## 2.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu cara untuk mendapatkan suatu zat atau beberapa zat dari bahan asal dengan menggunakan pelarut. Tujuan utama ekstraksi adalah untuk mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan (Syamsuni, 2006). Metode ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu:

### a. Maserasi

Maserasi adalah ekstraksi dengan cara merendam bahan yang akan di ekstrak dengan pelarut. Metode ekstraksi ini adalah cara ekstraksi yang paling sederhana (Syamsuni, 2006). Mula-mula bahan dihaluskan (bentuk serbuk) kemudian direndam dalam pelarut. Proses merendam ini harus dilakukan di tempat yang terlindung dari cahaya langsung. Hal ini berfungsi untuk mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya. Waktu maserasi berbeda-beda, antara 4-10 hari. Keadaan diam selama maserasi menyebabkan penumpukan bahan aktif di dasar wadah sehingga perlu dilakukan beberapa kali pengadukan selama proses maserasi (Depkes, 2000).

### b. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan alat soklet. Pelarut akan terdestilasi dari tabung menuju pendingin, kemudian menetes dan merendam sampel yang mengisi bagian tengah alat soklet, setelah pelarut mencapai tinggi tertentu maka akan turun ke tabung destilasi, demikian proses ini terjadi berulang (Depkes, 2000).

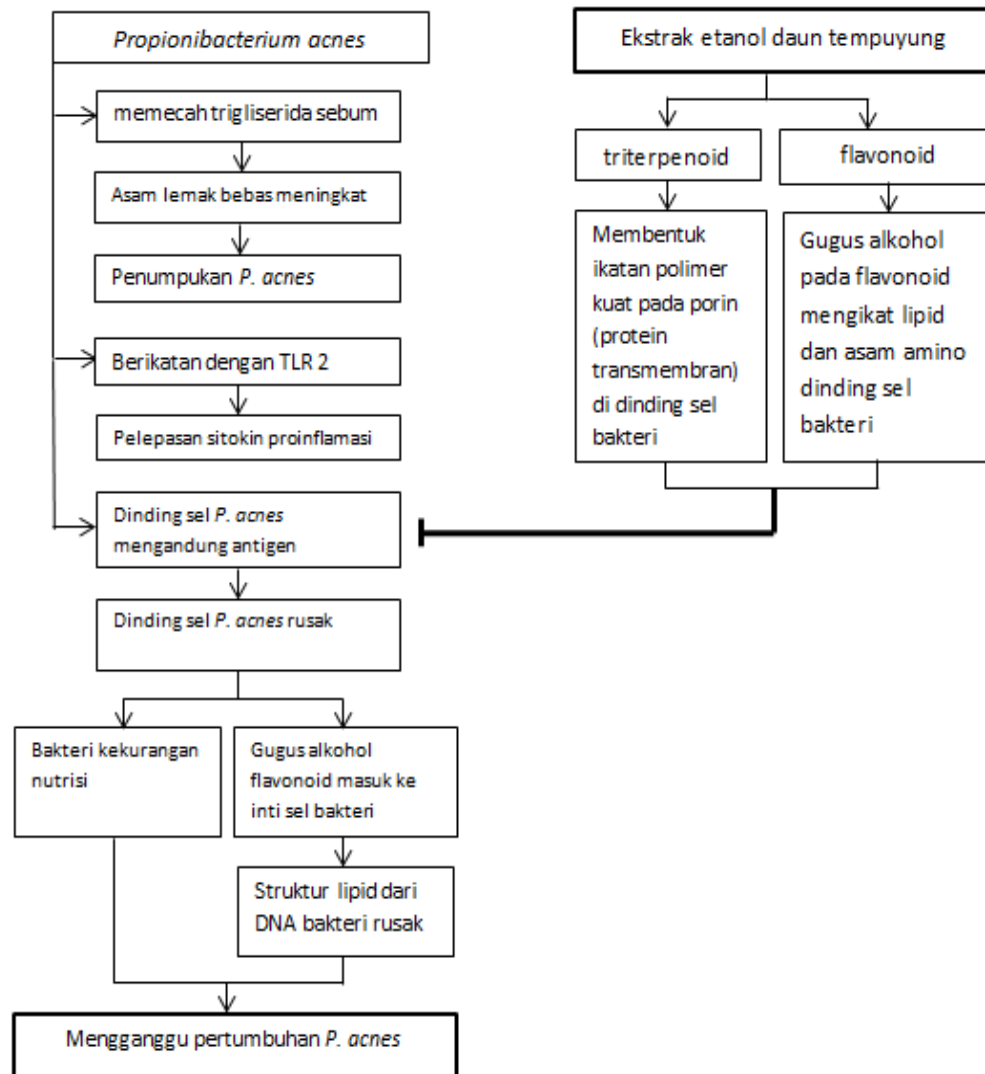
### c. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan pelarut akan terdestilasi menuju pendingin dan akan kembali ke tabung (Depkes, 2000).

### d. Infus

Infus adalah metode ekstraksi dengan sediaan cair yang dibuat dengan menyampurkan bahan ekstraksi dengan air pada suhu 90° C selama 15 menit (Depkes, 2000).

## 2.7 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan :

- : diteliti
- : tidak diteliti
- : memicu
- | : menghambat

Gambar 2.3 Kerangka Konsep

*Propionibacterium acnes* sebagai penyebab akne vulgaris akan memecah trigliserida yang merupakan komponen sebum menjadi asam lemak bebas, selain itu

bakteri ini akan berikatan dengan *Toll Like Reseptor* (TLR 2) untuk menginduksi pelepasan sitokin-sitokin proinflamasi dan dinding sel *P. acnes* mengandung suatu antigen karbohidrat yang akan menginduksi terbentuknya antibodi antipropionibacterium. Ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) memiliki kandungan senyawa kimia yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri diantaranya adalah flavonoid dan triterpenoid karena dapat merusak dinding sel bakteri (Rumondang *et al.*, 2013).

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang dapat merusak sitoplasma bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino dengan mereaksikannya dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Proses ini akan menyebabkan dinding sel bakteri rusak sehingga senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid tersebut akan menyebabkan rusaknya struktur lipid dari DNA bakteri sehingga bakteri akan mengalami lisis dan mati (Rahmah, 2012). Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Sukadana *et al.*, 2011).

Oleh karena itu, dilakukan uji antibakteri ekstrak etanol daun tempuyung yang diharapkan dapat menekan pertumbuhan *P. acnes* dengan mengukur zona hambat pertumbuhan koloni bakteri *P. acnes* menggunakan metode sumuran.

## 2.8 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

Ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) memiliki aktivitas untuk menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* secara *in vitro*.

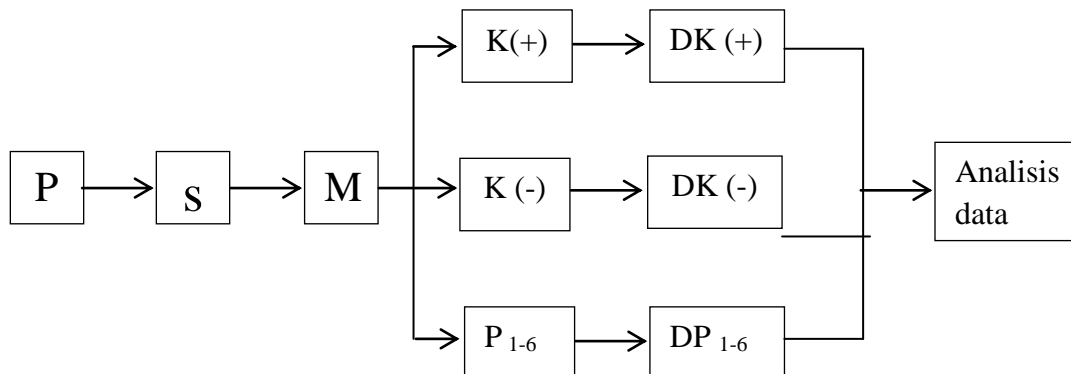
## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental semu (*Quasi Experimental Design*). Pada perlakuan ini tidak dilakukan randomisasi karena semua sampel telah homogen (Pratiknya, 2008).

### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan eksperimental sederhana (*post test only control group design*) yaitu tahap pengujian sumuran setelah diberi perlakuan untuk menentukan KHM (Pratiknya, 2008). Rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar skema berikut:



Keterangan :

P : populasi biakan *P. acnes*

S : sampel biakan *P. acnes*

M : media MHA

K(+) : kelompok kontrol positif

K(-) : kelompok kontrol negatif

P<sub>1-6</sub> : kelompok perlakuan 1-6 (P1, P2, P3, P4, P5, P6).

DK(+) : data perlakuan K(+) dengan klindamisin 0,02 mg/ml

DK(-) : data perlakuan K(-) dengan Dimetil Sulfoxide (DMSO) 10 %

DP<sub>1-6</sub> : data perlakuan ekstrak etanol daun tempuyung dengan konsentrasi 0,125 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,5 mg/ml; 1 mg/ml; 2 mg/ml; 4 mg/ml.

Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

### 3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah koloni bakteri *P. acnes* dari *stock culture* milik Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang disesuaikan dengan standar 0,5 Mc Farland ( $10^8$  CFU/ml) (Mulu *et al.*, 2004).

Pengulangan yang dilakukan dihitung berdasarkan rumus Federer (1977):

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(8-1)(n-1) \geq 15$$

$$7(n-1) \geq 15$$

$$7n-7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$N \geq 3,14$$

t adalah jumlah kelompok perlakuan

n adalah jumlah pengulangan

Setelah dilakukan perhitungan didapatkan jumlah pengulangan yang dilakukan sebanyak 4 kali.

### 3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.4.1 Tempat Penelitian

Pembuatan ekstrak etanol daun tempuyung dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Tempat uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tempuyung dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

#### 3.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2015.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) yakni konsentrasi 0,125 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,5 mg/ml; 1 mg/ml; 2 mg/ml; 4 mg/ml.

#### 3.5.2 Variabel Terikat

Diameter zona hambat ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *P. acnes*.

#### 3.5.3 Variabel Terkendali

- a. Pembuatan biakan bakteri, pembuatan ekstrak etanol daun tempuyung, media MHA, autoklaf, inkubator, suspensi obat, DMSO dan aquades steril.
- b. Suhu inkubasi bakteri 37<sup>0</sup>C dan lama inkubasi 24 jam.
- c. Metode pengamatan uji KHM.

### 3.6 Definisi Operasional

- a. Ekstrak etanol daun tempuyung adalah daun tempuyung jenis *Sonchus arvensis L.* seberat 250 gram daun tempuyung yang telah dikeringkan (dari 1 kg daun tempuyung basah) dan diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan menggunakan etanol 96% kemudian dievaporasi (Rumondang *et al.*, 2013).
- b. Bakteri *Propionibacterium acnes* adalah bakteri berbentuk batang pleomorfik yang terlihat pada pewarnaan Gram positif dan bersifat anaerobik fakultatif (Brooks *et al.*, 2007).
- c. Konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung adalah ekstrak etanol daun tempuyung dengan konsentrasi 0,125 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,5 mg/ml; 1 mg/ml; 2 mg/ml; 4 mg/ml yang didapatkan dengan cara meneteskan 100 µL pada sumuran dari 8 mg ekstrak etanol daun tempuyung ditambah 2 ml DMSO 10%, kemudian dihomogenkan selama 60 detik. Kemudian, dilakukan pengenceran bertingkat

dengan kelipatan setengahnya hingga didapatkan larutan 0,125 mg/ml (Rumondang *et al.*, 2013).

- d. Diameter zona hambat adalah zona bening yang mengindikasikan penghambatan pertumbuhan terhadap bakteri uji yang terbentuk di sekitar sumuran. Diameter zona hambat diukur dengan menjumlahkan diameter sumuran dengan zona bening penghambatan dan diukur dengan menggunakan jangka sorong (WHO, 2003).
- e. Uji aktivitas antibakteri adalah uji sensitivitas suatu antibakteri dalam melawan bakteri patogen dengan metode difusi sumuran (Brooks *et al.*, 2007).

### 3.7 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sterilisator, kertas saring, *beker glass*, *centrifuge*, vial, tabung reaksi, rak tabung reaksi, vortex, autoklaf, cawan petri, timbangan, ose bulat, lampu bunsen, inkubator, *rotary evaporator*, *anaerobic jar*, corong *Buchner*, besi pelubang media, mikropipet, tabung erlenmeyer, jangka sorong (Ramadhan *et al.*, 2015).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah MHA, aquades steril, DMSO, suspensi *P. acnes*, ekstrak etanol daun tempuyung, spirtus.

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Uji Determinasi

Tanaman tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) yang diperoleh dari lingkungan di LIPI UPT. Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya “Purwodadi” Pasuruan Jawa Timur.

#### 3.8.2 Persiapan Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan dipakai dalam penelitian ini disterilkan dalam sterilisator panas kering selama 15 menit pada suhu 115°C terlebih dahulu. Kemudian bahan media disterilkan dalam autoklaf selama 20 menit dengan suhu 121°C (Suswati dan Mufida, 2009).



Daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) dibersihkan kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan dibelender menjadi serbuk (Rumondang *et al.*, 2013). Bakteri *P. acnes* diremajakan pada inkubator dengan suhu 37°C.

### 3.8.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung

Sebanyak 250 gram serbuk daun tempuyung yang sudah dicuci serta dihaluskan menggunakan blender diekstraksi dengan pelarut etanol 96% (rasio 1:7,5) kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak etanol daun tempuyung (Rumondang *et al.*, 2013).

### 3.8.4 Pembuatan Larutan *Mc Farland*

Standar *Mc Farland* dibuat dengan cara mencampur 9,95 ml asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) 1% dengan 0,05 ml barium klorida ( $BaCl_2$ ) 1%. Kemudian tabung disegel dan digunakan untuk perbandingan suspensi bakteri dengan standar. Larutan baku *Mc Farland* (Suswati dan Mufida, 2011)..

### 3.8.5 Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar*

Serbuk MHA ditimbang sebanyak 3,4 g kemudian dimasukkan dalam tabung erlenmeyer. Lalu ditambahkan 1000 ml aquades kedalam tabung, dicampur dan diaduk merata kemudian dipanaskan sampai mendidih dan larut. Larutan dimasukan kedalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 20 menit. Setelah proses autoklaf, 20 ml larutan dalam tabung erlenmeyer dituangkan kedalam cawan petri steril dengan cara aseptik lalu dimasukan kedalam inkubator dengan suhu 37°C (Suswati dan Mufida, 2009).

### 3.8.6 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Tempuyung

Pembuatan konsentrasi ini didasarkan atas penelitian sebelumnya dan terutama uji pendahuluan. Dari uji pendahuluan, didapatkan adanya aktivitas antibakteri pada konsentrasi 4 mg/ml. Sedangkan pada konsentrasi 0,5 mg/ml sudah tidak terlihat hambatan pada pertumbuhan bakteri (Upadhyay *et al.*, 2013). Hal ini

dijadikan dasar peneliti melakukan pengenceran bertingkat dengan kelipatan setengahnya menjadi 0,125 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,5 mg/ml; 1 mg/ml; 2 mg/ml; 4 mg/ml. Konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung 4 mg/ml didapatkan dengan cara mencampur 8 mg ekstrak etanol daun tempuyung ditambah 2 ml DMSO 10%, kemudian dihomogenkan selama 60 detik kemudian dilakukan pengenceran bertingkat dengan kelipatan setengahnya hingga 0,125 mg/ml.

### 3.8.7 Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dimulai dengan cara mengisi aquades sebanyak 4 ml pada gelas sampel. Kemudian mengambil koloni bakteri *P. acnes* menggunakan ose dari *stock kultur* bakteri *P. acnes*. Selanjutnya dihomogenkan dan dibandingkan dengan *Mc Farland* hingga mendapatkan kekeruhan yang sama agar jumlah koloni bakteri secara kualitatif mencapai  $10^8$  CFU/ml (Suswati dan Mufida, 2009).

### 3.8.8 Pembuatan Kontrol Positif (K+)

Klindamisin 150 mg ditambah dengan 5 ml aquadest steril lalu dihomogenkan didapatkan konsentrasi 30 mg/ml. Kemudian pengenceran dilakukan dengan cara mengambil 1ml larutan klindamisin konsentrasi 30 mg/ml ditambah 4 ml aquadest lalu dihomogenkan hingga larutan homogen (60 detik) sehingga didapatkan 6 mg/ml, diencerkan lagi dengan cara mengambil 1 ml dari konsentrasi 6mg/ml dan ditambah aquades steril sebanyak 2 ml, didapatkan konsentasi 2 mg/ml di encerkan lagi hingga diperoleh konsentrasi 0,02 mg/ml (WHO, 2003).

### 3.8.9 Pembuatan Kontrol Negatif (K-)

Dalam penelitian ini kontrol negatif menggunakan DMSO 10% yang dibuat dengan cara mencampur 1 ml DMSO murni dan 9 ml aquades kemudian dihomogenkan. Sebanyak 100 µl DMSO 10% diteteskan pada sumuran dengan menggunakan mikropipet 100 µl (Assidqi *et al.*, 2012).

#### 3.8.10 Uji Aktivitas Antibakteri

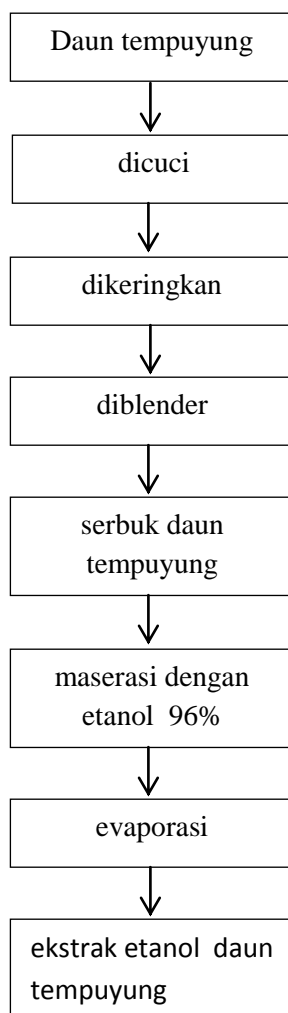
Peneliti menggunakan cara sumuran dalam melakukan uji kepekaan bakteri. Suspensi bakteri *P. acnes*  $10^8$  CFU/ml diratakan pada MHA, kemudian dibuat sumuran dengan tabung logam pencetak sumuran dengan garis tengah 7,6 mm. Ekstrak etanol daun tempuyung ditetaskan ke dalam sumuran dengan konsentrasi 0,125 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,5 mg/ml; 1 mg/ml; 2 mg/ml; 4 mg/ml kemudian mengisi sumuran dengan perlakuan K+ dan K-. Selanjutnya diletakkan pada *anaerobic jar* lalu diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Kemudian mengukur zona hambat di sekitar sumuran dengan menggunakan jangka sorong (Brooks *et al.*, 2007).

#### 3.9 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan secara komputerisasi dengan menggunakan *software* SPSS 23 (*Statistical Package for the Social Sciences* 23). Data hasil penelitian diolah secara statistik dengan uji Normalitas *Shapiro Wilk* (jumlah sampel  $<50$ ). Setelah didapat data terdistribusi normal ( $p>0,05$ ) untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol daun tempuyung dengan konsentrasi bertingkat terhadap bakteri *P. acnes* digunakan uji korelasi *Pearson*. Analisis data dilanjutkan menggunakan uji Regresi Logaritmik untuk mengetahui konsentrasi terkecil yang mampu mempengaruhi bakteri *P. acnes* (Dahlan, 2009).

### 3.10 Alur Penelitian

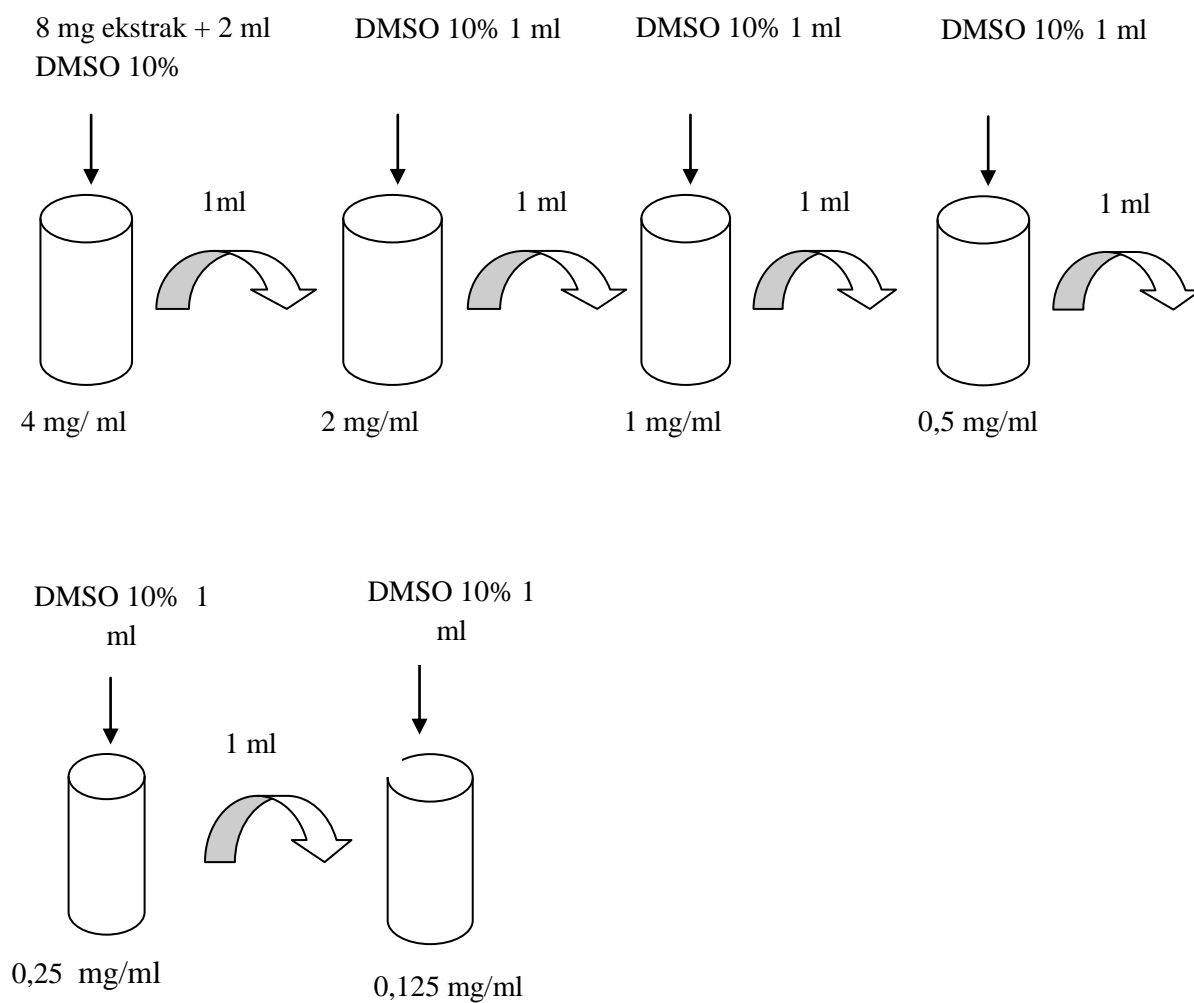
#### 3.10.1 Alur Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung



Gambar 3.2 Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tempuyug

### 3.10.2 Alur Pengenceran Ekstrak Etanol Daun Tempuyung

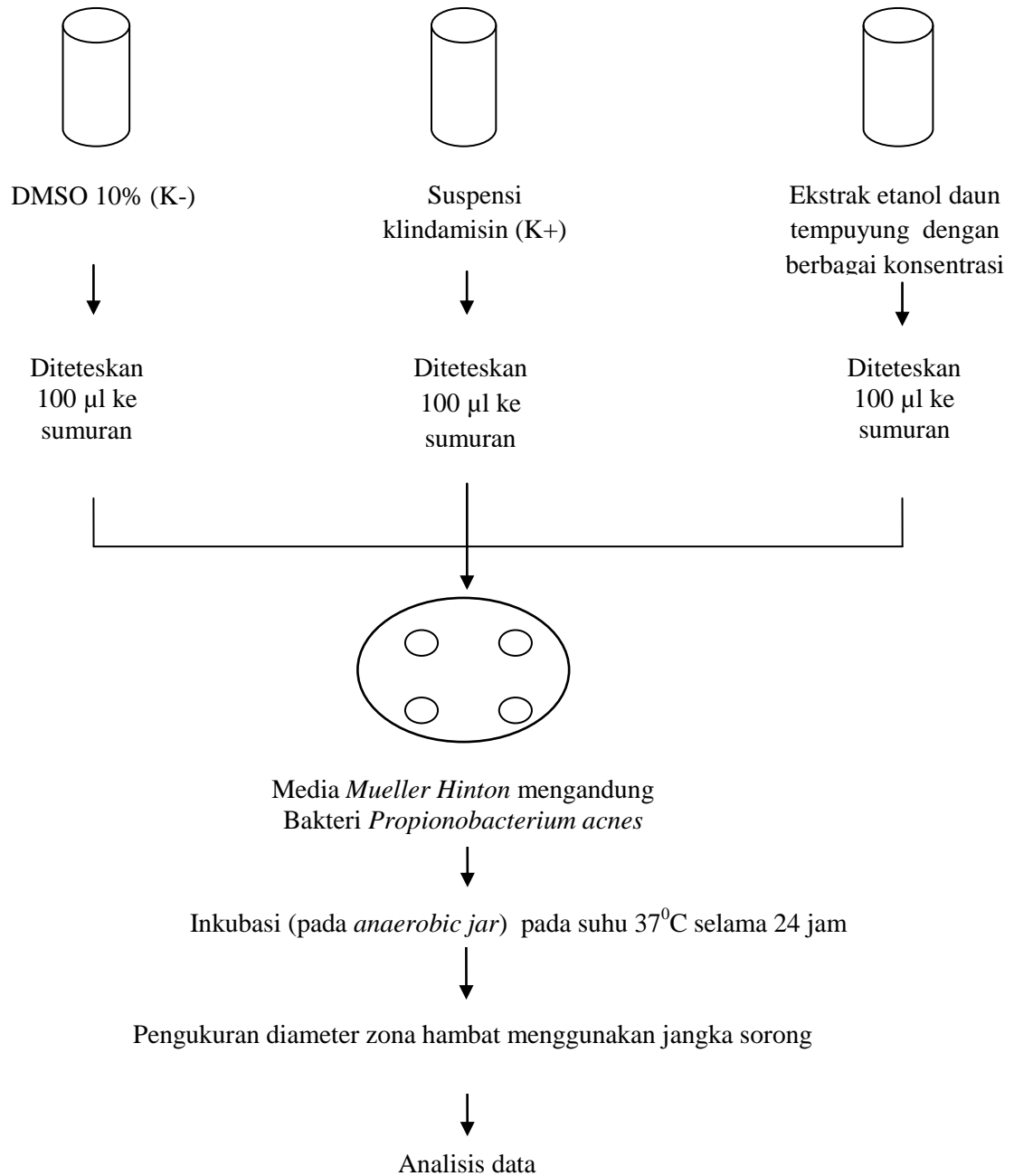
Alur pengenceran ekstrak dilakukan secara bertingkat yang digambarkan dalam skema berikut:



Gambar 3.3 Skema Pengenceran Ekstrak Daun Tempuyung

### 3.10.3 Alur Uji Aktivitas Antibakteri

Alur pengujian aktivitas antibakteri ekstrak yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 3.4 Skema Uji Aktivitas Antibakter