

Aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun dan umbi *Crinum asiaticum* L. terhadap bakteri penyebab jerawat

Antibacterial activity of ethanolic extract of leaves and bulbs of *Crinum asiaticum* L. against acne-inducing bacteria

Azrifitria¹, Syaikhul Aziz^{1*}) dan Chairul^{1,2}

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta

² Laboratorium Bahan Alam, Bidang Botani, Puslit Biologi LIPI, Cibinong

Abstrak

Telah diuji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanolik daun dan umbi *Crinum asiaticum* L. terhadap *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, bakteri patogen yang menyebabkan jerawat. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan metode dilusi. KHM dan KBM ekstrak etanol daun untuk *P. acnes* (1,25 dan 2,5 mg/mL), *S. aureus* (5 dan 10 mg/mL) dan *S. epidermidis* (2,5 dan 5 mg/mL). Sedangkan KHM dan KBM ekstrak etanol umbi untuk *P. acnes* (7,5 dan 15 mg/mL), *S. aureus* (7,5 dan 15 mg/mL) dan *S. epidermidis* (3,75 dan 7,5 mg/mL). Studi lebih lanjut dilakukan pada ekstrak etanol daun terhadap *P. acnes* untuk menganalisa kebocoran sel (asam nukleat dan protein) dengan spektrofotometri ultraviolet, ion logam (K^+ dan Ca^{2+}) dengan spektrometri serapan atom, dan mengamati perubahan dinding sel dengan pemindai mikroskop elektron (SEM). Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bakung putih dapat merusak dinding sel dan mempengaruhi permeabilitas membran sel yang ditandai dengan keluarnya asam nukleat (absorbansi 0,3307-0,4299), protein (absorbansi 0,0616-0,101), ion K^+ (8,167-15,757 mg/L), ion Ca^{2+} (5,47-13,74 mg/L) dari sel dan mengubah morfologi dinding sel *P. acnes*.

Kata kunci : Antibakteri, *Crinum asiaticum* L., *Propionibacterium acnes*.

Abstract

The antibacterial activity of ethanolic extract of leaves and bulbs of *Crinum asiaticum* L. was tested against *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, pathogenic bacteria that cause acne. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were determined by dilution methods. MIC and MBC of ethanol leaves extract were found for *P. acnes* (1.25 and 2.5 mg/mL), *S. aureus* (5 and 10 mg/mL) and *S. epidermidis* (2.5 and 5 mg/mL). While MIC and MBC of ethanol bulbs extract were found for *P. acnes* (7.5 and 15 mg/mL), *S. aureus* (7.5 and 15 mg/mL) and *S. epidermidis* (3.75 and 7.5 mg/mL). Further study conducted on the ethanol leaves extract against *P. acnes* to analyze cell leakage (nucleic acid and protein) by ultraviolet spectrophotometry, metal ion (K^+ and Ca^{2+}) by atomic absorption spectrometry, and observed alteration of the cell wall by scanning electron microscopy (SEM). The result showed that ethanol leaves extract could damage the cell wall and affect the permeability of cell membrane which marked by release of nucleic acid (absorbance 0.3307-0.4299), protein (absorbance 0.0616-0.101), ion K^+ (8.167-15.757 mg/mL), ion Ca^{2+} (5.47-13.74 mg/L) from the cell and alter morphology of cell wall of *P. acnes*.

Key words : Antibacterial, *Crinum asiaticum* L., *Propionibacterium acnes*

Pendahuluan

Jerawat adalah penyakit kulit yang biasa terjadi pada usia remaja. Penyakit ini terbatas pada folikel pilosebacea kepala dan badan bagian atas karena kelenjar sebacea di wilayah ini sangat aktif (Webster, 2002). Apabila folikel pilosebacea tersumbat, maka sebum tidak dapat keluar dan terkumpul di dalam folikel sehingga folikel membengkak, dan terjadilah komedo yang merupakan bentuk permulaan dari jerawat (Tranggono, 1996). Menurut Athikomkulchai, *et al.* (2008) faktor utama yang terlibat dalam pembentukan jerawat adalah peningkatan produksi sebum, peluruhan keratinosit, pertumbuhan bakteri dan inflamasi.

Sampai saat ini belum ada cara penyembuhan yang tuntas terhadap jerawat, meskipun ada beberapa cara yang sangat menolong. Salah satunya penggunaan antibiotik sebagai solusi untuk jerawat yang beberapa dekade ini masih banyak diresepkan (Yang, *et al.*, 2009). Akan tetapi penggunaan antibiotik sebagai pilihan pertama penyembuhan jerawat harus ditinjau kembali untuk membatasi perkembangan resistensi antibiotik (Swanson, 2003).

Berdasarkan uraian diatas, untuk mempertimbangkan kemungkinan aplikasi bakung putih (*Crinum asiaticum* L.) sebagai antibakteri alami pada pengobatan jerawat, maka diperlukan kajian mengenai aktivitas antibakterinya. Dalam hal ini, bakteri uji yang digunakan adalah *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Pemakaian ketiga bakteri tersebut didasarkan keterlibatannya dalam perkembangan jerawat (Bukhart, *et al.*, 1999; Chomnawang, *et al.*, 2005; Sukatta, *et al.*, 2008; Han, *et al.*, 2010). Penelitian ini akan mempelajari aktivitas antibakteri dan pengaruh pemberian ekstrak etanol bakung putih terhadap bakteri penyebab jerawat.

Metodologi

Pembuatan ekstrak etanol daun dan umbi bakung putih

Daun dan umbi tanaman bakung putih (diperoleh dari LIPI Kebun Raya Bogor) dirajang dan dikeringkan kemudian dijadikan serbuk. Serbuk daun dan umbi dimaserasi dalam tujuh bagian etanol 70% selama 5 hari. Maserat yang diperoleh

Disaring dan dipekatkan dengan *vaccum rotary evaporator* pada suhu 50 °C sampai diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), dan *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Klinis, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. *P. acnes* dibiakkan selama 48 jam pada suhu 37 °C dalam kondisi anaerob pada *Brucella Agar* yang ditambah 5 % darah domba, sedangkan untuk *S. aureus* dan *S. epidermidis* dibiakkan selama 24 jam pada suhu 37 °C dalam kondisi aerob pada *Mueller Hinton Agar*. Bakteri disuspensikan dalam larutan NaCl 0,9 %. Suspensi bakteri disetarakan menggunakan nephelometer (BD Phoenix) dengan standar 0,5 Mc Farland (diperkirakan 1,5x10⁸ sel bakteri/mL).

Penentuan KHM dan KBM

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan dengan menggunakan metode dilusi cair. Konsentrasi larutan uji dibuat sebuah seri pengenceran dalam medium cair dengan volume total 1 mL (*Brain Heart Infusion* untuk *P. acnes* sedangkan *Nutrient Broth* untuk *S. aureus* dan *S. epidermidis*). Konsentrasi larutan uji 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625 dan 0,3125 mg/mL untuk ekstrak etanol daun bakung putih, dan konsentrasi larutan uji 30; 15; 7,5; 3,75; 1,875; dan 0,9375 mg/mL untuk ekstrak etanol umbi bakung putih, ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 10 µL. Larutan uji diinkubasi pada inkubator goyang (200 rpm) suhu 37 °C selama 48 jam dalam kondisi anaerob untuk *P. acnes* sedangkan untuk *S. Aureus* dan *S. epidermidis* pada suhu 37 °C selama 24 jam dalam kondisi aerob.

Nilai KHM dan KBM ditentukan setelah larutan uji tersebut ditumbuhkan kembali pada medium agar (*Brucella Agar* yang ditambah 5 % darah domba untuk *P. acnes*, sedangkan Agar Darah untuk *S. aureus* dan *S. epidermidis*) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam dalam kondisi anaerob untuk *P. acnes* sedangkan untuk *S. aureus* dan *S. epidermidis* pada suhu 37 °C selama 24 jam dalam kondisi aerob. Nilai KHM dinyatakan sebagai konsentrasi terendah ekstrak etanol daun dan umbi bakung putih yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji, sedangkan nilai KBM dinyatakan sebagai konsentrasi terendah ekstrak etanol daun dan umbi bakung putih yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri pada agar. Pengujian dilakukan 3 kali pengulangan.

Analisis kebocoran asam nukleat dan protein

Suspensi bakteri yang berumur 48 jam untuk *P. acnes*, ditambahkan ekstrak etanol daun bakung putih dengan konsentrasi 0 (kontrol), 1 dan 2 x KHM. Larutan uji diinkubasi pada inkubator goyang (200 rpm) suhu 37 °C selama 48 jam dalam kondisi anaerob, kemudian disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 20 menit, dan dipisahkan supernatan dari endapan sel. Supernatan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV/VIS (Perkin Elmer lamda 25) pada panjang gelombang 260 dan 280 nm.

Analisis kebocoran ion logam

Analisis kebocoran ion yang diukur adalah dalam bentuk ion K^+ dan Ca^{2+} yang keluar dari sel bakteri akibat perlakuan dengan ekstrak etanol daun bakung putih. Sampel untuk analisis kebocoran ion logam berupa supernatan yang berasal dari perlakuan analisis kebocoran asam nukleat dan protein. Supernatan dianalisis dengan menggunakan *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS) Perkin Elmer.

Pengamatan morfologi sel

Pellet atau endapan sel yang berasal dari perlakuan analisis kebocoran asam nukleat dan protein (kontrol dan 2 x KHM), direndam dengan glutaraldehid 2% selama semalam, lalu ditambah *chocodylate buffer*, dan direndam selama 20 menit. Larutan uji disentrifus dan supernatan dipisahkan. Pelet ditambah osmium tetraoksida 1% dan direndam selama 1 jam, selanjutnya dikeringkan berturut-turut dengan alkohol 70%, 80%, 95% dan alkohol absolut masing-masing selama 20 menit. Pelet disuspensikan dengan penambahan butanol, kemudian suspensi diletakkan diatas *cover slip* yang telah direkatkan pada stub aluminium. Suspensi yang telah mengering di *cover slip* kemudian dilapisi dengan emas melalui proses vakum selama 20 menit dan diamati dengan *Scanning Electron Microscopy* (JSM-5000).

Hasil dan Pembahasan

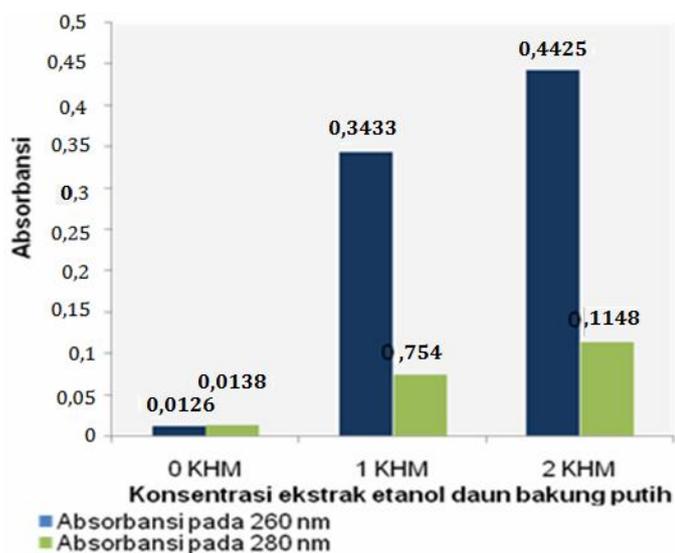
Penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat dinyatakan dengan KHM dan KBM. Nilai KHM dan KBM senyawa antibakteri dari setiap ekstrak berbeda-beda bergantung dari jenis bakteri dan senyawa antibakteri yang terkandung didalamnya. Nilai KHM dan KBM untuk ekstrak etanol daun bakung putih berkisar antara 1,25 – 10 mg/mL, sedangkan untuk ekstrak etanol umbi bakung

putih berkisar antara 3,75 – 15 mg/mL tergantung jenis bakteri uji (Tabel I).

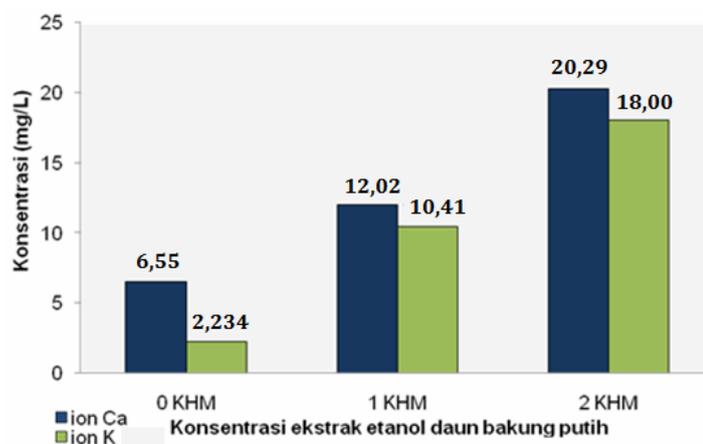
Penelitian lebih lanjut dilakukan pada ekstrak etanol daun terhadap *P. acnes* dikarenakan mempunyai nilai KHM dan KBM terendah jika dibandingkan dengan yang lain.

Pemberian ekstrak etanol daun terhadap *P. acnes* diduga dapat menyebabkan kebocoran sel yang berakibat pada kematian bakteri. Kebocoran sel akibat rusaknya sel dapat dideteksi dengan spektrofotometri ultraviolet. Panjang gelombang 260 nm dapat mendeteksi purin, pirimidin dan ribonukleotida, sedangkan pada panjang gelombang 280 nm dapat mendeteksi tirosin dan triptofan (Naufalin, 2005). Menurut Miksusanti, *et al.*, (2008), senyawa-senyawa yang memberikan serapan pada panjang gelombang 260 nm adalah RNA dan DNA, sedangkan pada panjang gelombang 280 nm diidentifikasi sebagai protein. Terdeteksinya asam nukleat dan protein diluar sel bakteri (Gambar 1.) menandakan sel telah mengalami kebocoran akibat rusaknya dinding sel dan atau perubahan pada permeabilitas membran sel sehingga menyebabkan bakteri mati.

Pemberian ekstrak etanol daun bakung putih pada konsentrasi KHM mengakibatkan terjadinya keluarnya ion logam dari sel bakteri, khususnya ion kalium (K^+) dan kalsium (Ca^{2+}). Ion K^+ pada bakteri berperan penting untuk fungsi dan kesatuan ribosom, sedangkan ion Ca^{2+} dibutuhkan sebagai komponen dinding sel bakteri gram positif (Brooks, *et al.*, 2005). Keluarnya ion logam dari sel *P. acnes* (Gambar 2.), disebabkan ekstrak etanol daun telah mempengaruhi permeabilitas membran dan atau dinding sel bakteri. Indikasi adanya kerusakan membran sitoplasma adalah terjadinya kebocoran kandungan sitoplasma seperti ion K^+ , dan peningkatan K^+ diluar sel merupakan tanda kerusakan permeabilitas membran (Cox, *et al.*, 2001). Menurut Suliantari (2009) ion Ca^{2+} berfungsi untuk menjaga kestabilan dinding bakteri dan dengan adanya keluarnya ion tersebut dari sel maka kestabilan dinding sel akan terganggu yang selanjutnya dapat mengakibatkan kematian bakteri.



Gambar 1. Kebocoran asam nukleat (260 nm) dan protein (280 nm) dari bakteri *P. acnes*.



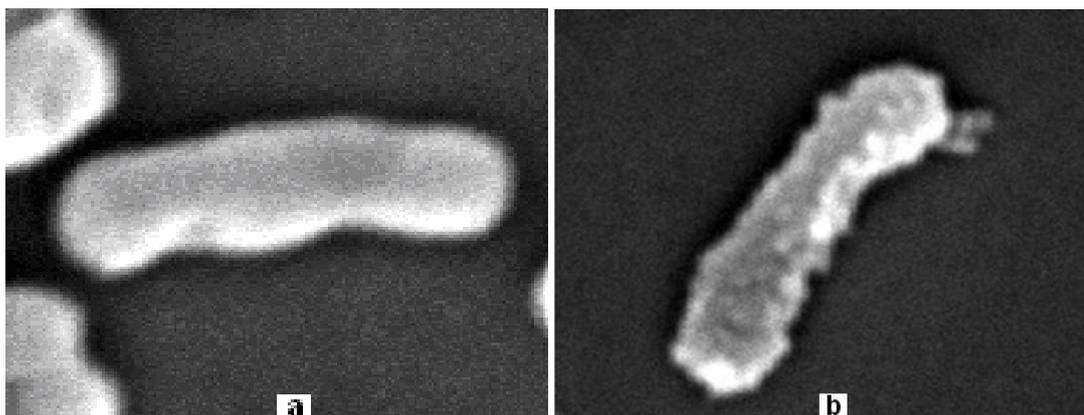
Gambar 2. Kebocoran ion K⁺ dan Ca²⁺ dari bakteri *P. acnes*.

Tabel I. Nilai KHM dan KBM ekstrak etanol bakung putih

| Konsentrasi (mg/mL) | <i>Propionibacterium acnes</i> | | <i>Staphylococcus aureus</i> | | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | |
|---------------------|--------------------------------|-----|------------------------------|-----|-----------------------------------|-----|
| | KHM | KBM | KHM | KBM | KHM | KBM |
| Daun | 1,25 | 2,5 | 5 | 10 | 2,5 | 5 |
| Umbi | 7,5 | 15 | 7,5 | 15 | 3,75 | 7,5 |

Hasil penelitian menunjukkan morfologi sel *P. acnes* mengalami perubahan setelah pemberian ekstrak etanol daun jika dibandingkan sel normal. *P. acnes* dalam keadaan normal berbentuk batang dengan

permukaan yang halus dan licin seperti terlihat pada gambar 3 (a), sedangkan dengan adanya pemberian ekstrak etanol daun konsentrasi 2 x KHM menjadikan permukaan sel yang kasar (terdapat tonjolan-tonjolan akibat tidak rataanya



Gambar 3. (a) Morfologi sel *P. acnes* kontrol (15.000 x),
 (b) Morfologi sel *P. acnes* setelah perlakuan dengan 2 x KHM ekstrak etanol daun bakung putih (15.000 x)

dinding sel) dan sel menjadi mengkerut seperti terlihat pada gambar 3 (b). Menurut Miksusanti, (2008) terbentuknya tonjolan-tonjolan kecil pada sel bakteri disebabkan ketidakmampuan peptidoglikan sel yang rusak oleh senyawa antibakteri menahan tekanan intraselular yang tinggi, sehingga sitoplasma keluar dan tonjolan ini biasanya muncul pada daerah yang dilemahkan oleh senyawa antibakteri. Pada konsentrasi ini (2 x KHM) bakteri telah mengalami kerusakan pada dinding dan membran sel. Hal ini didukung dengan adanya asam nukleat dan protein yang terabsorpsi pada panjang gelombang 260 dan 280 nm serta ion K^+ dan Ca^{2+} diluar sel bakteri.

Secara keseluruhan diduga ekstrak etanol daun dapat merusak dinding sel dan mempengaruhi permeabilitas membran sel dikarenakan adanya senyawa aktif antibakteri dalam ekstrak etanol daun bakung putih. Dalam hal ini senyawa crinamine yang terdapat pada bakung putih (Kim, *et al.*, 2006) diduga

berperan dalam aktivitas antibakterinya, sebagaimana senyawa crinamine pada *Crinum jagus* (Adesanya, *et al.*, 1992).

Kesimpulan

Ekstrak etanol daun dan umbi bakung putih (*Crinum asiaticum* L.) Mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab jerawat. Ekstrak etanol daun bakung putih dapat merusak dinding sel dan mempengaruhi permeabilitas membran sel *P. acnes* yang ditandai dengan keluarnya asam nukleat, protein, ion logam (K^+ dan Ca^{2+}) dari sel dan mengubah dinding sel *P. acnes*.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis sampaikan kepada ibu Dra. Conny R Tjampakasari, M. Biomed yang telah membantu selama penelitian di laboratorium mikrobiologi klinis, FKUI, Jakarta.

Daftar Pustaka

- Adesanya, S. A., Olugbade, T. T., Odebiyi, O. O. and Aladesanmi, J. A., 1992, Antibacterial Alkaloids in *Crinum jagus*, *Pharmaceutical Biology*, 30(4), 303-307,
 Athikomkulchai, S., Watthanachaiyingcharoen, R., Tunvichien, S., Vayumhasuwan, P., Karnsomkiet, P., and Sae-Jong, P., 2008, The Development of Anti-Acne Products from *Eucalyptus globulus* and *Psidium guajava* Oil, *J. Health Res*, 22(3),109-113

- Brooks, G. F., Butel, J. S. and Morse, S. A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, Terjemahan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Salemba Medika, Jakarta
- Burkhart, C. G., Burkhart, C. N. and Lehmann, P. F., 1999. Acne: A Review of Immunologic and Microbiologic Factors, *Postgrad Med. J.*, 75: 328–331
- Chomnawang, M. T., Surassmo, S., Nukoolkarn, V. S. and Gritsanapan, W., 2005, Antimicrobial effects of Thai Medicinal Plants against acne-inducing bacteria, *J. Ethnopharmacol*, 10: 303-330
- Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Gustafson, J. E., Warmington, J. R. and Wyllie, S. G., 2001, Determining the Antimicrobial Actions of Tea Tree Oil. *Molecules*, 6: 87-91
- Han, S. M., Lee, K. G., Yeo, J. H., Baek, H. J. and Park, K., 2010, Antibacterial and Anti-Inflammatory Effects of Honeybee (*Apis Mellifera*) Venom Against Acne-Inducing Bacteria, *J. of Medicinal Plants Research*, 4(6): 459-464
- Kim, Y. H., Park, E. J., Park, M. H., Badarch, U., Woldemichael, G. M. and Beutler, J. A., 2006, Crinamine from *Crinum Asiaticum* var. *japonicum* Inhibits Hypoxia Inducible Factor-1 Activity But Not Activity of Hypoxia Inducible Factor-2, *Biol Pharm Bul*, 29(10), 2140-2142
- Miksusanti., Jennie, B. S. L., Panco, B. dan Trimulyadi, G., 2008, Kerusakan Dinding Sel *Escherichia coli* K1.1 oleh Minyak Atsiri Temu Kunci (*Kaempferia pandurata*), *Berita Biologi* 9(1):1-8
- Naufalin, R., 2005, *Kajian Sifat Antimikroba Ekstrak Bunga Kecombrang (Nicotiana glauca Horan) Terhadap Berbagai Mikroba Patogen dan Perusak Pangan*, Tesis, Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, IPB, Bogor
- Sukatta, U., Rugthaworn, P., Pitpiangchan, P. and Dilokkunanant, U., 2008, Development of Mangosteen Anti-Acne Gel, *Kasetsart J. (Nat. Sci)* 42: 163-168
- Suliantari, 2009, *Aktivitas Antibakteri dan Mekanisme Penghambatan Ekstrak Sirih Hijau (Piper betle Linn) Terhadap Bakteri Patogen Pangan*, Disertasi, Jurusan Ilmu Pangan, Sekolah Pascasarjana, IPB, Bogor
- Swanson, J. K., 2003, Antibiotic Resistance of *Propionibacterium acnes* in Acne Vulgaris, *Dermatology Nursing* 15(4): 359-362
- Tranggono, R.I.S., 1996, *Kiat Apik Menjadi Sehat dan Cantik*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Webster, G. F., 2002, Acne Vulgaris, *BMJ*, 325(7362):475–479
- Yang, D., Pornpattananangkul, D., Nakatsuji, T., Chan, M., Carson, D., Huang, C.M., and Zhang, L., 2009, The Antimicrobial Activity of Liposomal Lauric Acids Against *Propionibacterium acnes*, *Biomaterials* 30: 6035-6040

*)Korespondensi: Syaikhul Aziz

Alamat :Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan,
UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta
E-mail: syaikhul_aziz@yahoo.com