

## **Efektivitas Krim Anti Jerawat Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Terhadap *Propionibacterium acnes* pada Kulit Kelinci**

### **(Effectiveness of Anti-Acne Cream of Sappan Wood (*Caesalpinia sappan*) Against *Propionibacterium acnes* on Rabbit Skin)**

SITI SA'DIAH<sup>1,3\*</sup>, LATIFAH KOSIM DARUSMAN<sup>2,3</sup>, WULAN TRIWAHYUNI<sup>2,3</sup>,  
IRMANIDA BATUBARA<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Departemen Anatomi Fisiologi & Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan IPB.

<sup>2</sup>Departemen Kimia, Fakultas Matematika & Ilmu Pengetahuan Alam IPB.

<sup>3</sup>Pusat Studi Biofarmaka LPPM-IPB.

Diterima 21 Februari 2013, Disetujui 16 April 2013

**Abstrak:** Ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan*) berpotensi sebagai anti jerawat karena memiliki kemampuan sebagai antioksidan, inhibitor lipase dan anti *Propionibacterium acnes*. Untuk meningkatkan aplikasinya, dibuat formulasi sediaan semisolid dalam bentuk krim menggunakan ekstrak kayu secang yang terstandar. Krim antijerawat dibuat dengan komposisi basis yang sama tapi konsentrasi ekstrak kayu secang yang berbeda yaitu pada rentang 1- 10%. Uji potensi dilakukan secara *in vivo* pada kulit kelinci yang diinduksi bakteri *P. acnes* secara intradermal. Kayu secang yang digunakan berasal dari Semarang dan ekstrak yang dihasilkan telah memenuhi syarat Materia Medika Indonesia dengan kadar brazilin pada ekstrak sebesar 224,675 mg/g. Uji *in vivo* menunjukkan bahwa seluruh formula krim ekstrak secang berpotensi sebagai anti jerawat dengan persentase kesembuhan selama 15 hari perlakuan yang berbeda signifikan dengan formula basis. Keseluruhan formula tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif Mediklin<sup>®</sup>. Formula dengan konsentrasi ekstrak secang paling rendah adalah yang paling efektif dan efisien dengan persentase kesembuhan selama 15 hari perlakuan lebih dari 96%.

**Kata kunci:** secang, anti jerawat, *Propionibacterium acnes*, krim.

**Abstract:** Sappan Wood extract (*Caesalpinia sappan*) is potential as an anti-acne due to its ability as an antioxidant, lipase inhibitor and anti *Propionibacterium acnes*. The potency is influenced by the quality of simplicia and extracts. To elevate the application, semisolid dosage formulations were made in cream forms using a standardized extract of Sappan Wood. Creams were formulated with the same base composition but different extract concentrations (range of 1-10%). *In vivo* assay were carried out on rabbit skin induced by intradermal injection of *P. acnes*. Sappan Wood was collected from Semarang and the resulting extract has met the Materia Medika Indonesia requirement with brazilin level in extract of 224.675 mg / g. *In vivo* tests showed that all Sappan Wood extract formulations have potency as anti-acne as indicated by curative percentage for 15 days were significantly different from the formula base. Curative effect of all formula were not significantly different with the Mediklin<sup>®</sup> positive control. Formula with the lowest concentration of the extract was the most effective and efficient with the curative percentage of more than 96% in 15 days.

**Keywords:** sappan wood, anti-acne, *Propionibacterium acnes*, cream.

---

\* Penulis korespondensi, Hp. 082113636062  
e-mail: diah.ss@gmail.com

## PENDAHULUAN

JERAWAT merupakan penyakit inflamasi kronis dengan penyebab yang multifaktor yang sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor genetik, ras, musim, psikis, hormonal, infeksi bakteri, dan keaktifan dari kelenjar minyak<sup>(1)</sup>. Hal yang paling umum menyebabkan jerawat adalah produksi berlebih pada kelenjar minyak, hiperkeratinisasi pada folikel rambut, stres oksidatif, dan pelepasan mediator inflamasi<sup>(2,3)</sup>. Bakteri yang umum sebagai penyebab jerawat yaitu *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) yang secara normal terdapat pada kulit dan penyebab fase inflamasi jerawat<sup>(4)</sup>.

Kayu secang (*Caesalpinia sappan*) secara tradisional telah digunakan oleh masyarakat di Pulau Sumbawa untuk perawatan kulit<sup>(5)</sup>. Hasil penelitian lain juga menyebutkan bahwa ekstrak etanol 50% kayu secang baik sebagai antijerawat berdasarkan aktivitas antibakteri *P. acnes*, inhibitor lipase dan anti oksidan<sup>(6)</sup> dengan senyawa aktifnya adalah brazilin<sup>(7)</sup>.

Hasil skrining ekstrak kayu secang dari berbagai daerah menunjukkan bahwa kayu secang asal Semarang merupakan kayu secang yang terbaik berdasarkan aktivitas anti oksidan, rendemen dan juga kadar brazilinnya<sup>(8)</sup>. Tempat tumbuh tanaman menjadi penting untuk diperhatikan karena sangat berpengaruh terhadap kandungan metabolit sekunder yang dihasilkannya, dan metabolit sekunder pada umumnya merupakan bahan aktif yang berperan dalam memberikan efek/khasiat yang diinginkan. Dengan bahan baku yang terkontrol kandungan aktifnya, diharapkan stabilitas khasiatnya juga dapat dipertahankan.

Untuk memanfaatkan ekstrak kayu secang sebagai obat bahan alam dalam mengatasi jerawat, dilakukan formulasi ekstrak kayu secang menjadi bentuk sediaan yang mudah digunakan. Krim merupakan sediaan semisolid dengan basis yang mudah dicuci sehingga besar harapan dapat disukai masyarakat. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi ekstrak kayu secang dalam bentuk sediaan krim yang paling efektif sebagai anti jerawat melalui pengujian secara *in vivo* pada kulit kelinci yang diinduksi bakteri *P. acnes* secara intradermal. Hasil ini diharapkan dapat menunjukkan potensi dan keamanannya sebelum diaplikasikan pada manusia sehingga dapat meningkatkan kualitas sediaan obat bahan alam menjadi obat herbal terstandar.

## BAHAN DAN METODE

**BAHAN.** Hewan kelinci (*New Zealand White*), pakan kelinci standar, kayu Secang (asal Semarang), etanol

50%, bahan formulasi: setil alkohol, polietilen glikol 6000, gliserin, natrium lauril sulfat, metil paraben, butil hidroksi toluen (BHT), parfum, bahan kimia uji fitokimia, bahan uji cemaran mikroba, isolat *P. acnes* (koleksi Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB), media BHI (*brain heart infusion*), NaCl 0,9%, kristal violet, lugol, zat warna safranin, barium klorida.

### **METODE. Penyiapan dan ekstraksi simplisia.**

Kayu secang diserut kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari hingga kering. Serutan kayu kering kemudian digrinder hingga menjadi serbuk dan diayak dengan ayakan mesh 40. Selanjutnya simplisia kayu secang ditentukan mutunya dengan parameter yang diuji meliputi: uji pemerian (bentuk, warna, bau, dan rasa), kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan kadar senyawa brazilin. Kecuali penentuan kadar brazilin seluruh prosedur penetapan kadar mengacu ke Materia Medika Indonesia. Penetapan kadar brazilin mengacu pada Batubara<sup>(8)</sup>. Simplisia serbuk kayu secang selanjutnya diekstraksi menggunakan pelarut etanol 50% dengan cara maserasi. Ekstraksi dilakukan dengan perbandingan 1 g sampel: 10 mL pelarut selama 12 jam dengan 3 kali ulangan. Maserat yang diperoleh disaring kemudian dipekatkan pada suhu 50°C menggunakan *vaccum evaporator* hingga diperoleh ekstrak kering. Ekstrak kemudian diuji mutunya dengan parameter dan pengujian yang sama dengan simplisia.

**Penentuan kadar Brazilin.** Alat yang digunakan adalah HPLC (Shimadzu Jepang, seri LC-20A), dengan kolom Shim-pack VP-ODS C18 (150 mm x 4.6 mm id, ukuran partikel 4,6 µm) (Shimadzu, Jepang), fase gerak elusi gradien selama 45 menit dari metanol 5% sampai metanol 50% dengan 0,05% asam trifluoroasetat, laju alir 1 mL / menit, dan dideteksi dengan UV pada 280 nm, volume injeksi sebesar 20 µL dan waktu retensi brazilin pada menit ke 15<sup>(8)</sup>.

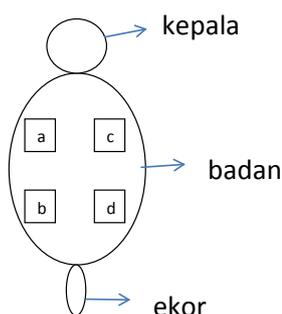
**Pembuatan sediaan krim.** Formula dibuat 4 jenis (F1, F2, F3, dan F4) dengan komposisi basis yang sama, namun berbeda dalam konsentrasi ekstrak secang dengan rentang 1-10% (nomor pendaftaran paten P00201200137). Prosedur pembuatan krim dilakukan dengan mencampurkan polietilenglikol 6000, gliserin dan setil alkohol dalam satu wadah (fase 1), dan pada wadah yang lain dicampurkan aquades dan natrium lauril sulfat (fase 2). Masing-masing fase tersebut kemudian dipanaskan dalam *waterbath* suhu 70°C hingga mencair, kemudian fase 1 dan fase 2 dicampurkan dan diaduk hingga membentuk sediaan semisolid yang homogen. Ekstrak ditambah BHT, metil paraben dan parfum kemudian dicampurkan dalam basis semisolid dan diaduk hingga warna ekstrak terdispersi homogen.

**Penyiapan suspensi bakteri.** Suspensi bakteri *P. acnes* dibuat pada konsentrasi  $10^4$ ,  $10^6$ ,  $10^8$ ,  $10^{10}$  dengan metode kekeruhan *Mc. Farland* dan *total plate count*. Isolat *P. acnes* ditumbuhkan pada medium BHI (*Brain Heart Infusion*) dan diinkubasi selama 24 jam dengan menggunakan tabung jar (khusus untuk anaerob). Bakteri yang tumbuh dalam medium BHI kemudian disentrifuga dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit. Endapan yang diperoleh ditambahkan 10 mL NaCl 0,9% dan dihomogenkan, kemudian disentrifuga kembali dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit. Endapan dilarutkan kembali dengan 10 mL NaCl 0,9%, prosedur yang sama diulang kembali hingga 3 kali. Selanjutnya endapan bakteri dibuat suspensi dalam larutan NaCl fisiologis dengan kekeruhan sesuai dengan standar kekeruhan *Mc. Farland* (suspensi yang digunakan untuk induksi dibuat dalam keadaan segar).

**Identifikasi bakteri.** Identifikasi bakteri dilakukan dengan pewarnaan gram menggunakan kristal violet dan lugol kemudian dicuci dengan aquades lalu direndam dengan aseton selama 15 menit dan dibilas kembali dengan aquades. Selanjutnya ditetesi zat warna safranin selama 15 detik dan bilas kembali dengan aquades, kemudian dikeringkan dan selanjutnya diamati di bawah mikroskop.

**Pre-in vivo.** Lima ekor kelinci jenis *New Zealand White* dengan bobot 3000-3300 g diaklimatisasi selama 2 minggu, kemudian dicukur bulu pada bagian punduknya masing-masing pada 4 lokasi yang berbeda. Kemudian diinduksi dengan suspensi bakteri *P. acnes* secara intradermal sebanyak 0,2 mL. Masing-masing konsentrasi dilakukan 3 kali ulangan pada lokasi yang berbeda. Konsentrasi suspensi yang diinduksikan  $10^4$ ,  $10^6$ ,  $10^8$ , dan  $10^{10}$ . Terbentuknya jerawat dan lama timbulnya jerawat kemudian diamati dan selanjutnya konsentrasi bakteri yang mampu mempertahankan kondisi terbentuknya jerawat dalam waktu yang paling lama dipilih untuk pengujian selanjutnya.

**Uji in vivo.** Enam ekor kelinci diaklimatisasi 2 minggu, kemudian masing-masing dicukur bulu pada



**Gambar 1.** Lokasi bagian kulit kelinci diberi perlakuan (a, b, c, d).

bagian punduknya di 4 lokasi (a,b,c,d) yang berbeda dengan luas area yang dicukur di masing-masing lokasi  $\pm 3$  cm<sup>2</sup> seperti tampak pada Gambar 1. Kulit kelinci pada tiap lokasi diinduksi 0,2 mL suspensi bakteri *P. acnes* secara intradermal dengan konsentrasi yang terpilih dari uji pre-*in vivo* dan diamati terjadinya jerawat. Selanjutnya setelah jerawat terbentuk, pada Kelinci I dioleskan secara beturut-turut pada lokasi a,b,c,d adalah F1, F2, F3, kontrol negatif. Kelinci II dioleskan F2, F3, kontrol negatif, F4. Kelinci III dioleskan F3, kontrol negatif, F4, kontrol positif. Kelinci IV kontrol negatif, F4, kontrol positif, F1. Kelinci V dioleskan F4, kontrol positif, F1, F2. Kelinci VI dioleskan kontrol positif, F1, F2, F3 (Tabel 1). Kontrol negatif adalah tanpa pengolesan apapun, sedangkan kontrol positif digunakan Mediklin<sup>®</sup>. Bobot pengolesan setiap formula krim dan juga kontrol positif adalah 100 mg sekali oles, dan dioleskan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 15 hari. Pengamatan dilakukan setiap pagi sebelum pengolesan. Parameter yang diamati adalah area inflamasi dan kemerahan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Khasiat krim secang yang stabil sebagai anti jerawat sangat dipengaruhi oleh kualitas bahan aktifnya. Oleh karena itu mutu bahan baku ekstrak yang digunakan dalam pengujian harus terstandar. Standarisasi simplisia dan ekstrak kayu secang dilakukan mengacu pada parameter mutu *Materia Medica Indonesia* (MMI)<sup>(9)</sup> dan *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia* (METOI)<sup>(10)</sup> yaitu kadar air, kadar abu, kandungan logam berat, keberadaan mikroba, dan kadar senyawa penanda brazilin. Secara keseluruhan mutu simplisia dan ekstrak yang digunakan telah memenuhi syarat MMI dan METOI (Tabel 2).

Kadar senyawa brazilin dalam ekstrak kayu secang asal Semarang sebesar 224,675 mg/g meningkat 5 kali lebih tinggi dibandingkan kadar dalam simplisianya 40,137 mg/g (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa metode ekstraksi yang digunakan cukup efektif

**Tabel 1.** Lokasi perlakuan pada punggung kelinci setelah terbentuknya jerawat.

Kelinci	a	b	c	d
I	F1	F2	F3	KN
II	F2	F3	KN	F4
III	F3	KN	F4	KP
IV	KN	F4	KP	F1
V	F4	KP	F1	F2
VI	KP	F1	F2	F3

Keterangan: Lokasi a, b, c, d seperti pada Gambar 1; KN= kontrol negatif (tanpa pengolesan), KP= Medi-Klin<sup>®</sup>, F1= krim dengan konsentrasi x%; F2 = krim dengan konsentrasi 2x%; F3 = krim dengan konsentrasi 3x%; F4 = krim dengan konsentrasi 4x% (konsentrasi F1-F4 dalam rentang 1-10%).

Tabel 2. Parameter Mutu Simplisia &amp; Ekstrak Kayu Secang asal Semarang.

Parameter Uji		Simplisia	MMI <sup>(9)</sup>	Ekstrak	METOI <sup>(10)</sup>	Unit
Kadar Air		7,41	<10	2,45	<8,8	%
Kadar abu		1,15	<2	1,30	<1,4	%
Kadar abu tidak larut asam		0,02	< 0,5	0,04	< 0,6	%
Rendemen				14,310	>4,6	
Cemaran logam berat	As	0,025	< 10	Ttd	Tidak lebih dari 10	Ppb
	Pb	Ttd	< 10	Ttd	Tidak lebih dari 10	Ppm
Cemaran mikroba	Cd	Ttd	< 0,3	Ttd	Tidak lebih dari 0.3	Ppm
	Lempeng total	$2,4 \times 10^3$	$< 10^6$	$3,6 \times 10^3$	Tidak lebih dari $10^6$	Kol/g
	Kapang/ Khamir	$2,9 \times 10^2$	$< 10^3$	$4,0 \times 10^2$	Tidak lebih dari $10^3$	Kol/g
Organoleptik	Bakteri patogen	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Kol/g
	Bentuk	Serbuk		Padatan	Kental	
	Bau	Khas	Tidak berbau	khas	Khas	
	Rasa	Agak pahit		Agak pahit		
	Warna	Merah Jingga	Merah, merah jingga, Kuning	Merah jingga	Merah,merah jingga,kuning	
Brazilin		40,137		224,675		mg/g

untuk mengekstraksi senyawa brazilin. Efektivitas metode ekstraksi dengan penggunaan etanol 50% juga terlihat dari hasil uji fitokimianya yang menunjukkan kandungan metabolit sekunder yang diperoleh dalam ekstrak sama dengan kandungan metabolit sekunder dalam simplisianya. Etanol 50% dengan kata lain dapat menarik flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan hidrokuinon dari simplisia kayu secang (Tabel 3).

Pada penelitian yang dilakukan Batubara<sup>(8)</sup>, lokasi tempat tumbuh kayu secang berkorelasi dengan kandungan brazilin dan juga potensinya sebagai antioksidan, inhibitor lipase dan anti *P. acnes*. Kayu secang dari 5 lokasi yang berbeda yaitu Karang anyar, Semarang, Yogyakarta, Cianjur dan Bogor, diketahui bahwa kayu secang dari daerah Semarang menghasilkan rendemen tertinggi dan kandungan brazilin tertinggi. Rendemen dan kadar brazilin yang tinggi ini menjadi penting untuk diperhatikan sebagai upaya efisiensi dalam pembuatan formula.

Tabel 3. Fitokimia kayu secang asal Semarang.

Parameter	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid:		
Wagner	-	-
Meyer	-	-
Dragendorf	-	-
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Tanin	+	+
Steroid	-	-
Triterpenoid	+	+
Hidrokuinon	+	+

Oleh karena itu dalam penelitian ini digunakan kayu secang asal Semarang.

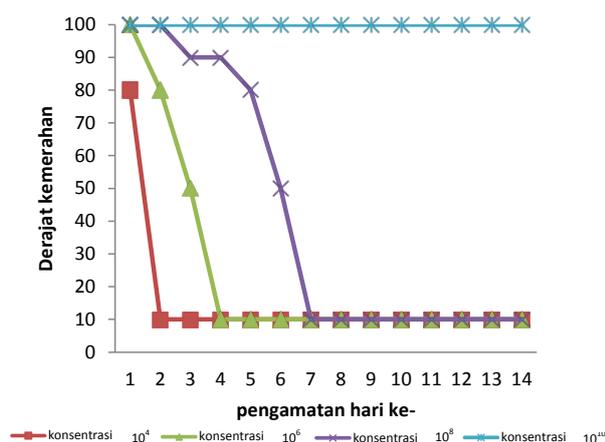
Suspensi bakteri *P. acnes* yang digunakan untuk induksi harus dibuat segar, atau segera sebelum dilakukan induksi, karena bakteri *P. acnes* harus dilarutkan dalam NaCl fisiologis. Pelarut ini digunakan karena sediaan akan diinduksi secara intradermal sehingga harus menyesuaikan dengan pH tubuh. *P. acnes* sendiri merupakan bakteri anaerob dan hanya dapat tumbuh dalam medium agar darah atau BHI<sup>(11)</sup>. Jika pembuatan tidak segar atau segera sebelum digunakan, dikhawatirkan *P. acnes* sudah mati sebelum diinduksikan. Proses kultur *P. acnes* perlu dilakukan dengan tabung jar untuk mencegah adanya oksigen yang dapat menghambat pertumbuhannya. Pada penelitian ini *P. acnes* dapat tumbuh setelah inkubasi selama 24 jam.

*P. acnes* adalah organisme yang pada umumnya memberi kontribusi terhadap terjadinya jerawat dengan bentuk filamen bercabang atau campuran antara bentuk batang/filamen<sup>(12)</sup>. *P. acnes* termasuk bakteri yang tumbuh relatif lambat. Bakteri ini tipikal bakteri anaerob Gram positif yang toleran terhadap udara. Genom dari bakteri ini telah dirangkai dan sebuah penelitian menunjukkan beberapa gen yang dapat menghasilkan enzim untuk meluruhkan kulit dan protein, yang mungkin *immunogenic* (mengaktifkan sistem kekebalan tubuh)<sup>(13)</sup>.

Hasil pewarnaan Gram menunjukkan *P. acnes* merupakan bakteri Gram positif. Bakteri ini juga mempunyai kemampuan untuk menghasilkan

katalase beserta indol, nitrat, atau kedua-duanya indol dan nitrat<sup>(11)</sup>. *Propionibacterium* menyerupai *Corynebacterium* secara morfologi dan susunannya, tetapi tidak bersifat toksigenik<sup>(4,13)</sup>. Ciri-ciri penting dari bakteri *P. acnes* adalah berbentuk batang tak teratur yang terlihat pada pewarnaan Gram positif. Bakteri ini dapat tumbuh di udara dan tidak menghasilkan endospora<sup>(11)</sup>.

Tahap pre-*in vivo* dilakukan untuk menentukan konsentrasi suspensi *P. acnes* yang paling optimal dalam menimbulkan jerawat pada kulit kelinci. Parameter yang diamati adalah lamanya timbul kebengkakan dan kemerahan setelah induksi. Pengukuran intensitas derajat kemerahan dilakukan secara manual dan dibandingkan dengan kondisi normal tanpa induksi. Gejala yang dapat diamati segera setelah induksi adalah timbulnya udem pada permukaan kulit. Warna kemerahan timbul pada hari +1 setelah induksi. Gambar 2 menunjukkan bahwa konsentrasi *P. acnes* berbanding lurus dengan lamanya derajat kemerahan dan juga udem pada kulit.

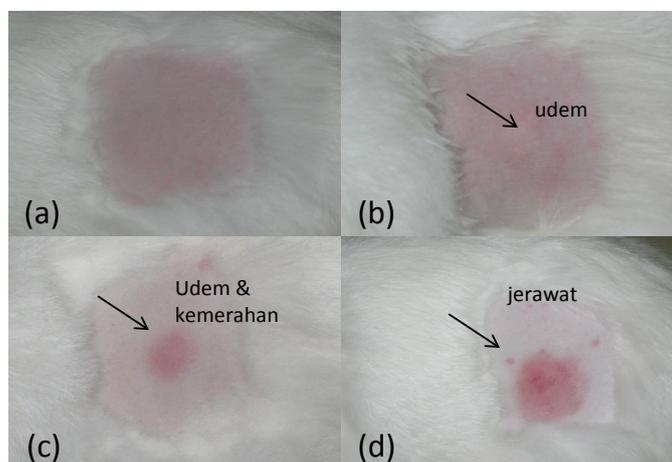


Gambar 2. Lama timbulnya jerawat berdasarkan (intensitas derajat kemerahan) pasca induksi *P.acne*.

Pada konsentrasi 10<sup>2</sup> dan 10<sup>4</sup>, warna kemerahan sudah hilang pada hari +2, sementara pada konsentrasi 10<sup>6</sup> warna kemerahan hilang pada hari +6 dan pada konsentrasi 10<sup>8</sup> warna kemerahan hilang pada hari +8. Namun pada konsentrasi 10<sup>10</sup> warna kemerahan masih tampak dengan intensitas yang sama hingga hari ke-14 setelah induksi. Gambaran timbulnya udem dan kemerahan pasca induksi *P. acnes* dengan konsentrasi 10<sup>10</sup> seperti tampak pada Gambar 3.

Inflamasi yang timbul setelah induksi terjadi karena suspensi *P. acnes* menghasilkan enzim lipase yang menjadi mediator untuk merubah trigliserida menjadi asam lemak bebas. Asam lemak bebas ini menjadi media yang dapat menyuburkan bakteri sehingga jumlah bakteri akan bertambah. Akibat dari peningkatan jumlah bakteri tersebut akan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang sangat mudah teroksidasi hingga menimbulkan inflamasi<sup>(4)</sup>. Di sisi lain, secara alami tubuh mempunyai sistem pertahanan untuk melawan senyawa asing yang diperankan oleh sel darah putih atau leukosit. Jumlah leukosit yang cukup untuk melawan bakteri yang masuk akan menyebabkan bakteri tidak akan dapat segera berkembang biak sehingga tanpa diberikan pengobatan dari luar pun akan sembuh dengan sendirinya. Oleh karena itu dalam menciptakan terbentuknya jerawat yang tidak hilang selama masa pengujian perlu dilakukan optimasi konsentrasi *P. acnes* yang diinduksikan. Proses ini menjadi penting agar potensi dan efektivitas sediaan dalam menyembuhkan jerawat dapat diamati dengan baik. Kemerahan yang timbul adalah sebagai mekanisme homeostasis tubuh karena adanya senyawa asing yang masuk tersebut.

Mengacu pada standar kekeruhan *Mc. Farland*, maka kekeruhan yang dihasilkan pada konsentrasi 10<sup>8</sup> setara dengan standar 1 (jumlah bakteri diperkirakan

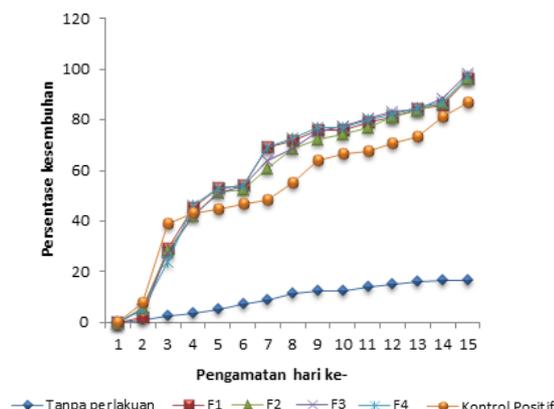


Gambar 3. Permukaan Kulit Kelinci. Normal (tanpa diinduksi), (b) Udem, Sesaat setelah induksi suspensi *P.acne* (0,2 mL), (c) Udem dan kemerahan pada hari +1 setelah induksi, (d) Jerawat, pada hari +3 setelah induksi.

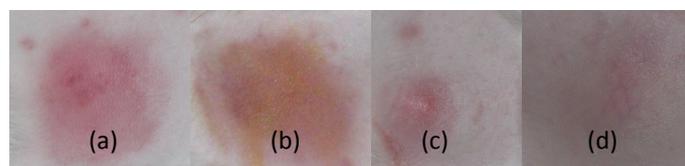
$3 \times 10^8$ ), sehingga konsentrasi  $10^6$  dan  $10^4$  merupakan pengenceran dengan jumlah bakteri diperkirakan  $3 \times 10^6$  dan  $3 \times 10^4$ <sup>(14)</sup>, sedangkan untuk konsentrasi  $10^{10}$  dilakukan dengan *total plate count* dengan jumlah bakteri diperkirakan  $3 \times 10^{10}$ . Pada penelitian ini induksi diberikan dengan volume 0,2 mL, maka jumlah bakteri yang dapat menginduksi jerawat dan mampu tumbuh dengan intensitas kemerahan yang sama selama 14 hari adalah sebanyak  $6 \times 10^9$ .

Pengujian *in vivo* dilakukan dengan hewan kelinci yang berbulu putih dengan pertimbangan memiliki permukaan yang cukup luas dan warna kulitnya memudahkan untuk mengamati terbentuknya jerawat. Jumlah dan jenis hewan kelinci yang digunakan telah mempertimbangkan etika hewan yang harus memenuhi prinsip 3R yaitu *Replacement, Reduction dan Refinement*.

Hasil pemberian perlakuan dari F1 hingga F4 selama 15 hari dimulai dari hari ketiga setelah induksi menunjukkan bahwa F1 dengan konsentrasi ekstrak terendah hingga F4 dengan konsentrasi ekstrak tertinggi dengan  $n=3$  (tiga kali ulangan), rata-rata persentase kesembuhan lebih dari 96% (Gambar 4). Keseluruhan formula tidak menunjukkan perbedaan yang berarti dalam memberikan dampak kesembuhan dan juga tidak berbeda nyata dengan kontrol positif Mediklin<sup>®</sup> yang mengandung komponen aktif klindamisin fosfat 1,2% dalam bentuk gel. Jika



**Gambar 4** Peningkatan persentase kesembuhan kulit kelinci yang diinduksi suspensi *P.acne*. Keterangan: F1 = krim dengan konsentrasi x%; F2 = krim dengan konsentrasi 2x%; F3 = krim dengan konsentrasi 3x%; F4 = krim dengan konsentrasi 4x% (rentang konsentrasi F1-F4 = 1-10%).



**Gambar 5.** Permukaan kulit kelinci setelah pemberian krim. (a) sebelum dioleskan krim, (b) sesaat setelah dioleskan krim F2.1 (100 mg), (c) kondisi kulit pada hari ke-5, (d) kondisi kulit pada hari ke-15.

dibandingkan dengan kontrol negatif tampak berbeda signifikan (Gambar 4), yang menunjukkan bahwa ekstrak secang yang telah diformulasi dalam bentuk krim secara *in vivo* tetap berkhasiat sebagai anti jerawat. Persentasi kesembuhan dihitung berdasarkan pengurangan luas udem dan kemerahan. Kesembuhan 100% ditunjukkan dengan hilangnya udem dan kemerahan, dan kulit kembali seperti sebelum perlakuan. Proses kesembuhan formula dengan konsentrasi ekstrak terkecil (F1) seperti tampak pada Gambar 5.

Khasiat antijerawat ekstrak secang dengan mekanisme inhibisi lipase, anti *P. acnes* dan anti oksidan, juga telah dilaporkan bahwa senyawa aktif ekstrak secang yaitu brazilin, protosappan A dan sappanone B memiliki kemampuan dalam menurunkan *Tumor Necrosis Factor (TNF)-α*<sup>(15)</sup>. Udem/inflamasi yang terbentuk karena adanya infeksi *P. acnes* dapat ditandai dengan meningkatnya TNF- $\alpha$ .

Efektivitas ekstrak secang yang telah diformulasi menjadi bentuk krim menunjukkan bahwa basis krim yang digunakan mampu membawa ekstrak untuk menembus membran epidermis kulit sehingga dapat mencapai tempat tumbuhnya bakteri yaitu di kelenjar sebaceous. Komposisi basis yang digunakan bahan utamanya mengandung polietilen glikol 6000 dan etil alkohol sebagai fase lemak, dan akuades pada fase air, sedangkan emulgator di gunakan natrium lauril sulfat. Jika mengacu pada efektivitas dan efisiensi, maka formula dengan konsentrasi ekstrak paling kecil adalah yang paling layak untuk dikembangkan sebagai antijerawat. Selain itu formula dengan konsentrasi ekstrak terkecil (F1) juga menghasilkan warna krim yang paling muda. Semakin meningkat konsentrasi ekstrak, warna krim semakin kuat dengan degradasi warna krim kuning orange hingga merah bata. Warna krim ini menjadi penting diperhatikan mengingat jerawat selain tumbuh di kulit punggung, umumnya tumbuh di kulit wajah sehingga perlu memperhatikan aspek kenyamanan selain tentu saja khasiatnya.

## SIMPULAN

Ekstrak secang asal Semarang dengan kadar brazilin diatas 200 mg/g setelah diformulasi menjadi krim, efektif sebagai anti jerawat yang disebabkan oleh *Propionibacterium acnes*. Krim dengan konsentrasi ekstrak 1-10% menghasilkan persentase kesembuhan lebih dari 96% dalam 15 hari.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada: 1. Ditjen DIKTI Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah mendanai penelitian ini (Program Strategis Nasional, tahun anggaran 2011, Nomor 430/SP2H/PL/Dit.Litabmas/IV/2011); 2. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Institut Pertanian Bogor dan Pusat Studi Biofarmaka sebagai payung penelitian ini; 3. Laboratorium Mikrobiologi dan Unit Kandang Hewan Fakultas Kedokteran Hewan IPB yang telah membantu memfasilitasi penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Brown SK and Shalita AR. *Acne vulgaris*. The Lancet Journal. 1998. 351(9119):1871-6.
2. Nourin K and Ballard CJ. Laser therapy for acne. Clinical Dermatology Journal. Elsevier. 2006. 24(1):26-32.
3. Katzman M and Logan AC. *Acne vulgaris*: Nutritional factors may be influencing psychological sequelae. Med Hypotheses. 2007. 69(5):1080-4.
4. Strauss JS, Krowchuk DP, Leyden JJ, Lucky AW, Shalita AR, Siegfried AC, et al. Guidelines of care for *Acne vulgaris* management. Journal of American Academy of Dermatology. 2007. 56:651-63.
5. Sangat HM, Zuhud EAM, Damayanti EK. Dictionary of disease and Indonesian medicinal plants (Etnofitomedika I). Jakarta: Yayasan Obor; 2000. 41-50.
6. Batubara I, Mitsunaga T, Ohashi H. Screening antiacne potency of Indonesian medicinal plants: Antibacterial, lipase inhibition and antioxidant activities. J Wood Sci. 2009. 55(3):230-5.
7. Batubara I, Mitsunaga T, Ohashi H. Brazilin from *Caesalpinia sappan* wood as an anti-acne agent. J Wood Sci. 2010. 56:77-81.
8. Batubara I, Rafi M, Sadiyah S, Zaim MA, Indriani S, Mitsunaga T. Brazilin content, antioxidative and lipase inhibition effect of Sappan wood (*Caesalpinia Sappan*) from Indonesia. Journal of Chemistry and Chemical Engineering. 2010. 4(10):50-5.
9. Anonim. Materia medika Indonesia. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1977. 29-33.
10. Anonim. Monografi ekstrak tumbuhan obat Indonesia. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2004. 90-2.
11. Cowan ST and Steel KJ. Cowan & Steel's manual for the identification of medical bacteria. 2<sup>nd</sup> Ed. London: Cambridge University Press; 1974. 127-68.
12. Jawetz E, Melnick GE, Adelberg CA. Mikrobiologi kedokteran. Edisi I. Diterjemahkan oleh Penerjemah Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya: Salemba Medika; 2001. 24-47.
13. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Manual of clinical microbiology. 9<sup>th</sup> Ed. Washington DC: ASM Press; 2007. 96-156.
14. Peter HA and Sneath. Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 2. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1986. 206-59.
15. Batubara I, Mitsunaga T, Kotsuka S, Rafi M, Sadiyah S. Kemampuan secang dalam menurunkan produksi TNF- $\alpha$ : potensinya sebagai antijerawat. Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia. 2009. 2(2):67-71.