

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Delima (*Punica Granatum L.*) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat (*Propionibacterium Acnes*)

Antibacterial activity test of extract and pomegranate leaf (*Punica granatum L.*) fraction to acne bacteria (*Propionibacterium acnes*)

¹Bella Nadika Putrima, ²Anggi Arumsari, ³Nety Kurniaty

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung,
Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email: Email: ¹bellanadikaputrima@yahoo.com, ²anggi.arumasari@unisba.ac.id,
³netykurniaty@yahoo.com

Abstract. Acne is a disease which often occurs on the skin surface of the face, neck, chest, and also back. Acne appears when the skin's oil glands are too active, so the skin pores will be blocked by excessive fat deposits. This study looked at the antibacterial activity of pomegranate leaf extracts and fractions on *P.acnes* bacteria and compared the inhibition zones caused by the activity of ethanol extract and the fraction of n-hexane, ethyl acetate, and methanol in pomegranate leaves which have antibacterial activity. Extraction was carried out by maceration using 96% ethanol. Antibacterial activity testing uses agar diffusion method. The measured parameter is the amount of inhibitory diameter formed around the agar well. The results showed that extract concentrations of 400, 600, 800 and 1000 ppm showed antibacterial activity. and on fraction testing which showed antibacterial activity was ethyl acetate fraction at concentrations of 400, 600, 800 and 1000 ppm. The concentration of extracts and effective fractions that can inhibit *P.acnes* bacteria at a concentration of 400 ppm because the diameter produced is the smallest.

Keywords: Acne, Pomegranate Leaf, *Propionibacterium acnes*

Abstrak. Jerawat merupakan penyakit yang sering terjadi pada permukaan kulit wajah, leher, dada dan punggung. Jerawat muncul pada saat kelenjar minyak kulit terlalu aktif, sehingga pori-pori kulit akan tersumbat oleh timbunan lemak yang berlebihan. Penelitian ini untuk melihat aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi daun delima terhadap bakteri *P.acnes* dan membandingkan zona hambat yang ditimbulkan oleh aktivitas dari ekstrak etanol dan fraksi n-heksan, etilasetat dan metanolnya daun delima yang memiliki aktivitas antibakteri. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar. Parameter yang diukur adalah besarnya diameter daya hambat yang terbentuk di sekitar sumuran agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 400, 600, 800 dan 1000 ppm menunjukkan aktivitas antibakteri. dan pada pengujian fraksi yang menunjukkan aktivitas antibakteri adalah fraksi etilasetat pada konsentrasi 400, 600, 800, dan 1000 ppm. Konsentrasi ekstrak dan fraksi efektif yang dapat menghambat bakteri *P.acnes* pada konsentrasi 400 ppm karena diameter yang dihasilkan paling terkecil.

Kata Kunci : Jerawat, Daun delima, *Propionibacterium acnes*

A. Pendahuluan

Tumbuhan delima (*Punica granatum*) merupakan tanaman semak atau perdu meranggas yang dapat tumbuh dengan tinggi mencapai 5-8 meter. Tanaman buah delima tersebar mulai dari daerah subtropik hingga tropik, dari dataran rendah hingga ketinggian di bawah 1000 mdpl. Tanaman ini sangat cocok untuk ditanam di tanah yang gembur dan tidak terendam oleh air, serta air tanahnya tidak dalam (Madhawati, 2012).

Daun delima mengandung alkaloid, tanin, kalsium oksalat, lemak,

sulfur peroksidase (Savitri, 2008). Sifat bakteri yang dimiliki buah delima merah merupakan *true antibiotics* dikarenakan tanpa adanya efek samping, manfaat yang terpenting adalah adanya sifat bakterisid dan bakteriostatik pada bakteri patogen yang telah resisten terhadap antibiotik sintesis (Shukla, 2008).

Berdasarkan permasalahan tersebut dapat dirumuskan permasalahan, apakah daun delima mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P.acnes*.

Dalam penelitian ini, akan dilakukan identifikasi senyawa aktif antibakteri tersebut dengan menggunakan metode difusi sumuran agar.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi daun delima terhadap bakteri *P.acnes*, dan membandingkan zona hambat yang ditimbulkan oleh aktivitas dari ekstrak dan fraksi daun delima yang memiliki aktivitas antibakteri.

Manfaat dari penelitian ini dapat mengetahui bahwa daun delima dapat digunakan sebagai antibakteri atau sebagai obat acne.

B. Landasan Teori

Daun delima mengandung alkaloid, tanin, kalsium oksalat, lemak, sulfur peroksidase (Savitri, 2008). Sifat bakteri yang dimiliki buah delima merah merupakan *true antibiotics* dikarenakan tanpa adanya efek samping, manfaat yang terpenting adalah adanya sifat bakterisid dan bakteriostatik pada bakteri patogen yang telah resisten terhadap antibiotik sintesis (Shukla, 2008).

Propionibacterium acnes merupakan bakteri Gram positif yang tumbuh lambat dan bukan pembentuk spora serta bersifat anaerobic. Mereka dapat bertangkai atau bercabang, berbentuk tunggal atau kelompok. Pada umumnya memproduksi asam laktat, asam propionate, dan asam asetat dari glukosa (Jawetz, *et. al.*, 2001:197-202).

C. Metode Penelitian

Penelitian mengenai pengujian aktivitas antibakteri Daun delima (*Punica granatum L.*) dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu penyiapan bahan, penetapan parameter standar simplisia, pembuatan ekstrak simplisia, penapisan fitokimia, fraksinasi dan pengujian aktivitas antibakteri. Penyiapan bahan meliputi pengumpulan bahan, determinasi

tanaman dan pengolahan bahan menjadi simplisia. Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun delima (*Punica granatum L.*) yang diperoleh dari Manoko Lembang Jawa Barat.

Kemudian dilakukan ekstraksi daun delima dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol. Ekstrak cair yang didapat kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak etanol pekat. Selanjutnya terhadap ekstrak etanol pekat dilakukan karakterisasi ekstrak berupa penapisan fitokimia. Setelah itu dilakukan fraksinasi dengan ekstraksi cair-cair terhadap ekstrak etanol pekat menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol. Kemudian terhadap fraksi-fraksi tersebut dilakukan pemekatan. Setelah itu dilakukan kembali penapisan fitokimia, lalu fraksi tersebut dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap ketiga fraksi, untuk menentukan fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri.

D. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Determinasi Tumbuhan

Pada penelitian ini digunakan daun delima yang diperoleh dari Manoko Lembang Jawa Barat. Determinasi bertujuan untuk memastikan bahwa tanaman daun delima tersebut benar tanaman delima. Menurut hasil identifikasi, tanaman yang diberikan dinyatakan benar merupakan *Punica granatum L.*

Penapisan Fitokimia

Tabel V.1 Hasil penapisan fitokimia ekstrak

Golongan Senyawa	Daun delima Ekstrak
Alkaloid	+
Tanin	+
Flavonoid	+
Kuinon	+
Saponin	+
Polifenol	+

Tabel V.2 Hasil penapisan fitokimia fraksi

Golongan Senyawa	Fraksi		
	n-heksan	Fraksi Etilasetat	Fraksi Metanol
Alkaloid	+	+	-
Tanin	+	+	+
Flavonoid	-	-	-
Kuinon	-	-	-
Saponin	+	+	+
Polifenol	-	-	-

Keterangan:

(+) = Terdeteksi

(-) = Tidak terdeteksi

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa ekstrak daun delima memiliki kandungan semua golongan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, polifenol, flavonoid, kuinon, saponin dan tanin. Pada penapisan fitokimia ekstrak semua metabolit sekunder terkandung pada daun delima. Sedangkan pada fraksi n-heksan, dan fraksi etilasetat tidak mengandung kuinon, flavonoid dan polifenol itu dikarenakan pada fraksi n-heksan dan etilasetat hanya memiliki sedikit kandungan metabolit sekunder.

Pembuatan Ekstrak

Proses ekstraksi dilakukan untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu (Ditjen POM, 2000). Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi. Pemilihan metode maserasi dimaksudkan untuk mencegah terurainya senyawa-senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan (Voigt, 1994). Metode maserasi yang dilakukan pada penelitian dengan cara merendam daun delima sebanyak 500 gram menggunakan pelarut etanol 96 % sebanyak 9 liter. Pelarut etanol 96 % digunakan karena sebagai cairan penyari karena etanol memiliki kemampuan menyari senyawa pada rentang polaritas yang lebar mulai dari senyawa polar hingga non polar, tidak toksik dibanding dengan pelarut organik lain, tidak mudah ditumbuhi mikroba dan relatif murah (Widjaya, 2012). Maserasi dilakukan selama 3x24 jam, dimana setiap 24 jam ekstrak etanol daun delima disaring dan residu dimaserasi kembali dengan pelarut etanol yang baru untuk menghindari penjenuhan pelarut. Ekstrak cair yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40 °C – 45 °C. Tujuan dari evaporasi yaitu untuk menguapkan pelarut etanol sehingga yang tersisa hanya senyawa aktif atau ekstrak kental etanol. Penggunaan suhu tersebut dimaksudkan untuk melindungi komponen yang tidak stabil terhadap suhu tinggi. Proses evaporasi dilakukan hingga diperoleh ekstrak kental. Setelah proses evaporasi dilakukan penguapan kembali pada *waterbath*. Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 450,9326 gram, sehingga diperoleh rendemen ekstrak 90,18%.

Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan senyawa-senyawa

berdasarkan tingkat kepolaran (Harborne, 1987). Proses fraksinasi yang dilakukan adalah ekstraksi cair-cair (ECC) dengan menggunakan dua pelarut dimana prosesnya dimulai dengan n-heksana sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semipolar dan metanol sebagai pelarut polar. Fraksinasi dilakukan dari pelarut dengan tingkat kepolaran terendah terlebih dahulu agar proses pengikatan senyawa bertahap dan agar seluruh senyawa tidak tertarik oleh pelarut polar yang bersifat menarik seluruh senyawa (Edawati 2012). Oleh karena itu fraksinasi dengan pelarut polar dilakukan paling akhir. Setelah itu fraksi n-heksan, etil asetat dan metanol diuapkan dengan menggunakan *rotary vaccum evaporator*.

Ekstrak kental sebanyak 12 gram dilarutkan terlebih dahulu menggunakan air sebanyak 100 ml. Kemudian dilakukan fraksinasi dengan metode Ekstraksi Cair-Cair menggunakan corong pisah dengan pelarut n-heksana 100ml, lalu dilakukan pengocokan dan terbentuk dua lapisan yaitu lapisan atas merupakan lapisan n-heksana dan lapisan bawah merupakan lapisan air. Hal ini terjadi karena bobot jenis n-heksana (0,4 g/ml) lebih kecil dibandingkan dengan bobot jenis air (1 g/ml). Setelah dilakukan ECC dengan pelarut n-heksana, bagian air selanjutnya di ECC dengan etil asetat. Kemudian terbentuk dua lapisan dimana bagian atas merupakan pelarut etil asetat karena memiliki bobot jenis (0,66 g/ml) lebih kecil dibandingkan dengan bobot jenis air (1 g/ml). Hasil ECC kemudian dievaporasi. Hasil akhir didapat fraksi n-heksana sebanyak 0,5 gram, fraksi etil asetat sebanyak 2,2 gram, dan fraksi metanol sebanyak 4,23 gram.

Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Delima

Pengujian golongan kandungan fitokimia yang ada didalam ekstrak etanol daun delima dilakukan untuk mengetahui golongan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak dan fraksi daun delima. Hasil dari penapisan fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak daun delima diidentifikasi adanya alkaloid, tanin, flavonoid, saponin. Dan dilakukan terhadap fraksi n-heksan, etilasetat dan metanol.

Sebelum dilakukan uji antibakteri media dan alat-alat yang digunakan dilakukan sterilisasi dengan menggunakan autoklaf (panas lembab). Proses sterilisasi dengan autoklaf ini dapat membunuh mikroorganisme dengan cara mendenaturasi atau mengkoagulasi protein pada enzim dan membran sel mikroorganisme (Pratiwi, 2008:138).

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran agar. Pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak dan fraksi daun delima adalah aquadest steril. Dari hasil pengujian dibuktikan bahwa aquadest steril tidak memiliki aktivitas sebagai antibakteri (sebagai kontrol negatif).

Pembanding yang digunakan adalah klindamisin dengan konsentrasi 0,1 %, karena pada konsentrasi klindamisin 0,1 % telah menimbulkan aktivitas. Menurut literatur (Aziz, 2010) klindamisin merupakan antibiotik yang selektif terhadap bakteri *P.acne* sehingga klindamisin digunakan sebagai pembanding untuk melihat aktivitas antibakteri pada ekstrak dan fraksi daun delima.

Pada pengujian aktivitas antibakteri digunakan pada fraksi n-heksan, etil asetat dan air digunakan konsentrasi 1000 ppm, 800 ppm, 600 ppm, 400 ppm dan 200 ppm. Dilihat

pada hasil yang didapatkan bahwa aktivitas antibakteri terhadap *P.acnes* menunjukkan fraksi n-heksan pada semua konsentrasi tidak dapat menghambat aktivitas antibakteri, begitupula fraksi air pada semua konsentrasi tidak dapat menghambat aktivitas antibakteri. Hal ini terjadi diduga karena rendahnya aktivitas antibakteri senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada kedua fraksitersebut sehingga tidak memberikan daya penghambatan terhadap *P.acnes* pada konsentrasi tersebut. Dibandingkan dengan kontrol positif clindamycin dengan konsentrasi 0,1 % dapat memberikan daya penghambatan terhadap bakteri *P.acnes* sebesar 10,3 mm. Hasil pada penelitian ini didapatkan bahwa pada fraksi etil asetat yang dapat menghambat aktivitas antibakteri pada konsentrasi 400 ppm, karena pada konsentrasi ini yang diameternya paling kecil. Karena nilai KHM itu diameter terkecil yang ada pada pengujian.

Tabel V.3 Hasil pengujian aktivitas antibakteri

8	Konsentrasi (ppm)	Diameter zona hambat (mm)
Ekstrak	200	-
	400	10,6
	600	13,8
	800	14,4
	1000	14,9
Fraksi n-heksan	200	-
	400	-
	600	-
	800	-
	1000	-
Fraksi Etilasetat	200	-
	400	9,5
	600	13,3
	800	13,6
	1000	15,8
Fraksi Metanol	200	-
	400	-
	600	-
	800	-
	1000	-
Klindamisin	1000	10,3

E. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan ekstrak dan fraksi etil asetat dapat menghambat aktivitas antibakteri terhadap *P.acnes*. Ekstrak daun delima (*Punica granatum L.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* pada semua konsentrasi tetapi diambil pada konsentrasi 400 ppm yang memiliki diameter terkecil dibandingkan dengan konsentrasi lain. Dan pada fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu fraksi etil asetat, pada fraksi ini seluruh konsentrasi memiliki aktivitas antibakteri tetapi diambil pada konsentrasi 400 ppm yang memiliki diameter terkecil dibandingkan dengan konsentrasi lain.

F. Saran

Pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan menggunakan metode lain seperti difusi agar menggunakan cakram agar mendapatkan hasil yang lebih baik.

Daftar Pustaka

- Ditjen POM. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 3-5, 10-11.
- Edawati, Z, 2012, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol *Ascidia Didemnum sp.* Dari Kepulauan Seribu dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Identifikasi Golongan Senyawa dari Fraksi Teraktif, Skripsi, FMIPA UI, Depok.
- Harborne, J.B. (2006). *Metode Fitokimia*. Penerbit ITB. Bandung. Hal:110.
- Jawetz, E., Melnic, J.C., Adelberg, E.A., (2001). *Medical Microbiology, 22nd Ed.*, 192; 197-202; 266, Appleton & Lange.

- Madhawati, R. (2012). *Si Cantik Delima (Punica granatum) Dengan Sejuta Manfaat Antioksidan sebagai bahan Alternatif Alami Tampil Sehat dan Awet Muda*, Universitas Negeri Malang.
- Pratiwi, S.T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*, Jakarta: Erlangga, : 95, 191.
- Savitri, E.S. (2008). *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. UIN Press, Malang.
- Shukla, M., Gupta, K., Rasheed, Z., Khan, K., Haqqi, T. (2008). *Bioavailable constituents / metabolites of pomegranate (Punica granatum L) preferentially inhibit C OX2 activity ex vivo and IL-1beta-induced PGE2 production in human chondrocytes in vitro*. *Journal of Inflammation*:19.