

UJI ANTI BAKTERI EKSTRAK DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L) TERHADAP ZONA HAMBAT BAKTERI JERAWAT *Propionibacterium acnes* SECARA IN VITRO

Ruhana Afifi¹⁾, Euis Erlin²⁾, Jetti Rachmawati³⁾
^{1,2,3}Dosen Pendidikan Biologi FKIP Universitas Galuh-Ciamis
E-mail: ruhanaafifi@yahoo.com

APA Citation: Afifi, R. Erlin, E., & Rachmawati, J. (2018). Uji Anti Bakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) Terhadap Zona Hambat Bakteri Jerawat *Propionibacterium cnes* Secara In Vitro. Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi, 10(1), 10-17. doi: 10.25134/quagga.v10i1.803.

Abstrak: Jerawat (*acne vulgaris*) merupakan penyakit kulit yang terjadi karena adanya penyumbatan folikel oleh sel-sel mati, sebum, dan peradangan yang disebabkan oleh bakteri *Propionibacterium acnes* pada folikel sebacea. Antibiotik dapat mengobati jerawat namun dapat menimbulkan resistensi dari suatu bakteri, sehingga diperlukan cara yang lebih aman dan lebih murah. Salah satunya dengan penggunaan daun Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) karena mengandung zat aktif Flavonoid dan Tanin yang berfungsi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh terhadap zona hambat bakteri *P. acnes* secara in-vitro dan mengetahui konsentrasi minimal ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes*. Penelitian ini bertempat di Laboratorium Biologi FKIP Universitas Galuh, dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen dan didesain menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Teknik pengujian menggunakan metode sumur dengan tujuh perlakuan dan empat kali ulangan. Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yang digunakan berdasarkan hasil penelitian pendahuluan adalah 75 mgml⁻¹, 100 mgml⁻¹, 125 mgml⁻¹, 150 mgml⁻¹, 175 mgml⁻¹, 200 mgml⁻¹, dan 225 mgml⁻¹. Parameter yang digunakan adalah dengan mengukur diameter zona hambat pada daerah bening sekitar sumur yaitu daerah yang tidak ditumbuhi bakteri dalam satuan milimeter. Data yang diperoleh dianalisis dengan Analisis Varian Satu Faktor (ANOVA), dan berdasarkan hasil analisis diperoleh F_{hitung} 285,28 lebih besar dari F_{tabel} (0,01) dengan taraf nyata (α) 1% sebesar 3,81 yang berarti bahwa perbedaan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh berpengaruh sangat nyata terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* yang terbentuk secara in-vitro. Berdasarkan hasil Uji Jarak Berganda Duncan diperoleh bahwa konsentrasi minimal ekstrak daun Belimbing wuluh yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri bakteri *P. acnes* secara in-vitro adalah 100 mgml⁻¹.

Kata kunci: Anti bakteri, Ekstrak daun belimbing wuluh, *Propionibacterium acnes*, In vitro

Abstract: Acne (*acne vulgaris*) is a skin disease that occurs due to follicle blockage by dead cells, sebum, and inflammation caused by the bacteria *Propionibacterium acnes* in sebaceous follicles. Antibiotics can treat acne but can cause resistance from a bacterium, so a safer and cheaper method is needed. One of them is the use of leaves of starfruit (*Averrhoa bilimbi* L) because it contains the active ingredient Flavonoids and Tanin which function as antibacterial. This study aims to determine the effect of differences in concentrations of starfruit leaf extract to the inhibition zone of *P. acnes* bacteria in-vitro and determine the minimum concentration of extracts that can inhibit the growth of *P. acnes* bacteria. This study took place at the Biology Laboratory FKIP Galuh University, conducted using an experimental method and was designed using a Completely Randomized Design (CRD). The testing technique uses the well method with seven treatments and four replications. The concentration of the starfruit leaf extract used based on the results of the preliminary study was 75 mgml⁻¹, 100 mgml⁻¹, 125 mgml⁻¹, 150 mgml⁻¹, 175 mgml⁻¹, 200 mgml⁻¹, and 225 mgml⁻¹. The parameters used are by measuring the diameter of the inhibitory zone in the clear area around the well, which is an area that is not overgrown with bacteria in millimeters. The data obtained were analyzed by One Factor Variant Analysis (ANOVA), and based on the results of the analysis obtained F_{count} 285.28 was greater than F_{table} (0.01) with a significance level (α) of 1% of 3.81 which means that the difference in leaf extract concentration Wuluh starfruit has a very significant effect on the diameter of the inhibition zone of the growth of *P. acnes* bacteria formed in vitro. Based on the results of Duncan's Multiple Distance Test, it

was found that the minimum concentration of starfruit leaf extract which could inhibit the growth of *in-vitro* *P. acnes* bacterial bacteria was 100 mgml-1.

Keywords: Anti-bacterial, Wuluh starfruit leaf extract, *Propionibacterium acnes*, *In vitro*

1. PENDAHULUAN

Obat asli Indonesia sudah dikenal sejak dulu, jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dengan obat-obat modern yang digunakan sekarang oleh masyarakat secara luas. Salah satu obat asli Indonesia yang sudah digunakan oleh masyarakat sejak dulu adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L).

Masyarakat menggunakan daun belimbing wuluh ini antara lain untuk mengurangi rasa sakit atau nyeri, menurunkan kadar gula darah, bunganya juga dapat digunakan sebagai obat batuk dan perasan air buah sangat baik untuk asupan vitamin C dan di samping itu perasan buah juga dapat dipakai untuk keramas sebagai penghilang ketombe, atau digosokkan sebagai penghilang panu (Arland, 2006). Berkenaan dengan penggunaan daun belimbing wuluh tersebut, maka daun belimbing wuluh dapat berperan sebagai antibiotik alami.

Alasan penggunaan daun belimbing wuluh sebagai antibiotik alami ini karena daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L) mengandung zat-zat aktif yang berperan sebagai zat anti bakteri. Senyawa-senyawa kimia tersebut diantaranya adalah Tanin, Flavonoid, Glukosida, Asam Formiat, Asam Sitrat, dan beberapa mineral (terutama Kalsium dan Kalium). Salah satu fungsi dari Flavonoid dan Tanin adalah kerjanya sebagai antibakteri. Zat-zat tersebut merupakan senyawa aktif dalam tanaman yang berkhasiat sebagai obat yang dapat menyembuhkan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Kamilah, 2010; Robinson, 1995; Fahrani, 2009).

Mengingat keberadaan kandungan zat antibakteri pada daun belimbing wuluh tersebut, maka daun belimbing wuluh dianggap tepat untuk mencegah atau mengobati infeksi kulit.

Salah satu infeksi kulit yang hampir setiap orang pernah mengalaminya adalah penyakit jerawat (*acne vulgaris*). Penyakit ini menyerang *pilosebacea* kulit yaitu bagian kelenjar sebacea dan folikel rambut. Menurut Brown (2009) bahwa pembentukan jerawat

terjadi karena adanya penyumbatan folikel oleh sel-sel mati, sebum, dan peradangan yang disebabkan oleh bakteri *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) pada folikel sebacea. Bentuk jerawat seperti bisul berisi dan kadang-kadang menjadi keras. Pada kulit terutama wajah terdapat benjolan-benjolan kecil, berkepala kuning, berisi nanah, terasa gatal dan sedikit nyeri.

P. acnes berperan pada patogenesis jerawat dengan menghasilkan lipase yang memecah asam lemak bebas dari lipid kulit. Asam lemak ini dapat mengakibatkan inflamasi jaringan ketika berhubungan dengan sistem imun dan mendukung terjadinya jerawat. *P. acnes* termasuk bakteri yang tumbuh relatif lambat. Genome dari bakteri ini telah dirangkai dan sebuah penelitian menunjukkan beberapa gen yang dapat menghasilkan enzim untuk meluruhkan kulit dan protein, yang immunogenic (Azrifitria, 2010).

Mekanisme terjadinya jerawat adalah bakteri *P. acnes* merusak *stratum korneum* dan *stratum germinativum* dengan cara menyekresikan bahan kimia yang menghancurkan dinding pori. Kondisi ini dapat menyebabkan inflamasi. Asam lemak dan minyak kulit tersumbat dan mengeras. Jika jerawat disentuh maka inflamasi akan meluas sehingga padatan asam lemak dan minyak kulit yang mengeras akan membesar (Alhidayati, 2007).

Pengobatan jerawat dilakukan dengan cara memperbaiki abnormalitas folikel, menurunkan produksi sebum, menurunkan jumlah koloni *P. acnes*, dan menurunkan inflamasi pada kulit. Populasi bakteri *P. acnes* dapat diturunkan dengan memberikan antibiotik seperti eritromisin, klindamisin, dan benzoil peroksida. Menurut Azrifitria (2010), meskipun penggunaan antibiotik cukup efektif mengatasi jerawat, namun penggunaan antibiotik sebagai pilihan utama penyembuhan jerawat harus ditinjau kembali untuk membatasi perkembangan resistensi bakteri terhadap antibiotik.

Hal tersebut mendorong penemuan sumber obat-obatan antibakteri lain dari

bahan alam, yang dapat berperan sebagai antibakteri yang lebih aman dan relatif lebih murah. Untuk memperoleh bukti ilmiah penggunaan daun belimbing wuluh sebagai antibiotik alami pada pengobatan jerawat, maka perlu dilakukan pengujian berbagai konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *P. acnes*. Pertumbuhan bakteri bisa diamati dengan menentukan ukuran zona hambat bakteri.

Flavonoid dalam ekstrak belimbing wuluh pada konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting yang menginaktivasi sistem enzim bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi mampu merusak membran sitoplasma dan mengendapkan protein sel (Robinson, 1995)

Menurut Gilman (Kamilah, 2010) ada perusakan membran sel, ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel, akibatnya membran akan bocor dan bakteri mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian.

Fenol dan polifenol bersifat toksik terhadap mikroorganisme, hidrosilasi yang meningkat menyebabkan toksisitas yang meningkat pula. Mekanisme yang dianggap bertanggung jawab terhadap toksisitas fenolik pada mikroorganisme adalah bahwa fenol berperan sebagai inhibitor enzim, merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting, mengadakan interaksi non-spesifik dengan protein dan secara total dapat mengendapkan protein sel (Volk and Wheeler, 1988; Sarastani dkk, 2002).

Menurut Fahrani (2009) pelarut etanol : air (7:3) adalah pelarut yang terbaik untuk memperoleh ekstrak senyawa tanin. Senyawa tanin mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan kemampuannya menginaktivasi adhesin mikroba, enzim dan protein *transpor cell envelope*. Tanin ini juga digunakan sebagai astringent baik untuk saluran pencernaan maupun kulit dan juga dapat digunakan sebagai obat diare.

Banyak faktor yang dapat mempengaruhi efektifitas zat anti mikroba, diantaranya adalah waktu kontak, populasi jenis mikroba yang akan dibinasakan, temperatur, pH, jenis material yang ada pada jasad renik dan konsentrasi zat antimikroba itu sendiri (Jawetz, Melnick & Adelberg, 1996; dan Cappucino, 1982).

Konsentrasi zat anti mikroba mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme, artinya jika konsentrasi zat antimikroba pada ekstrak daun belimbing wuluh berbeda maka pertumbuhan mikroba pun akan berbeda, dimana konsentrasi yang lebih besar akan menyebabkan jumlah kematian yang lebih besar pula terhadap mikroba. Pada akhirnya konsentrasi berbeda akan memperlihatkan zona hambat berbeda pada masing-masing pertumbuhan mikroba.

Berdasarkan aturan dalam penentuan dosis obat kedokteran, sebelum dilakukan uji in-vivo terlebih dahulu diperlukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) atau *Minimal Inhibitor Concentration (MIC)* dari zat antimikroba melalui pengujian in-vitro. Hal ini dianggap lebih efektif digunakan karena penggunaan zat antimikroba dalam konsentrasi yang tinggi dikhawatirkan akan menimbulkan efek samping atau efek fisiologis bagi tubuh (Jawetz, Melnick & Adelberg, 1996).

Hasil penelitian Zakaria *et.al.* (Kamilah, 2010) daun belimbing wuluh mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif seperti *S. aureus*, *S. epidermidis*, *C. diptheriae*, *B. cereus*, dan *K. rhizophilla* dengan konsentrasi sebesar 100 mg ml⁻¹. Sedangkan menurut Kamilah (2010) hasil uji aktifitas antibakteri daun belimbing wuluh dengan pelarut aseton : air (7:3) terhadap bakteri *S. aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan bahwa pada konsentrasi 50 mg ml⁻¹ sampai 400 mg ml⁻¹ senyawa tanin memiliki aktivitas antibakteri untuk kedua bakteri uji berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$). Sehingga dapat diduga ekstrak daun belimbing juga akan bersifat antibakteri terhadap *P. acnes* yang merupakan bakteri gram positif penyebab utama jerawat.

Untuk menguji kebenaran adanya kandungan zat antibakteri pada daun belimbing wuluh, peneliti sudah melakukan penelitian pendahuluan pada konsentrasi 75

mgml⁻¹ tidak terdapat zona hambat, sehingga dapat diduga KHM pertumbuhan *Propionibacterium acne* ada pada konsentrasi 100 mgml⁻¹.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk 1)mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (*A. bilimbi L*) terhadap zona hambat bakteri *P. acnes* secara in-vitro; 2)mengetahui konsentrasi minimal ekstrak daun belimbing wuluh (*A. bilimbi L*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* secara in-vitro.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Biologi FKIP Universitas Galuh. Penelitian menggunakan metode eksperimen dan didesain menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Teknik pengujian menggunakan metode sumur dengan tujuh perlakuan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh dan empat kali pengulangan berdasarkan hasil penelitian pendahuluan.

Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan satu variabel bebas yaitu konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (*A. bilimbi L*) dan satu variabel terikat yaitu zona hambat bakteri *P. acnes*.

Parameter

Parameter untuk mengukur pertumbuhan bakteri pada penelitian ini adalah ukuran diameter zona hambat yang ditunjukkan dengan daerah bening, yaitu daerah yang tidak ditumbuhi bakteri dalam satuan milimeter (mm).

Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun belimbing wuluh, Muller Hinton agar, etanol, akuades, isolat bakteri *P. acnes*, NaCl fisiologis 0,9 %, dan kapas.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer 500 ml, kertas saring, *vacuum pump*, corong, timbangan analitik oven, inkubator, *aluminium foil*, mikropipet dan tip 1000 µl dan 100 µl, *beaker glass* 50 dan 250 ml, gelas ukur 10 ml, tabung reaksi, alat pelubang berdiameter 7 mm, jangka sorong, cawan petri, dan pipet tetes.

Cara Kerja

Tahap persiapan

Tahap persiapan dilakukan dengan menyiapkan dan sterilisasi seluruh alat dan bahan dengan memasukan seluruh alat dan bahan ke dalam autoklaf sampai suhu 121°C dan tekanan 15 lb/sq.

Tahap pelaksanaan

- 1) Membuat peremajaan bakteri di atas Muller Hinton agar yang telah padat. Bakteri diinkubasikan selama 24 jam dalam suhu 37°C.
- 2) Daun belimbing wuluh dipotong kecil-kecil menggunakan alat pemotong dengan ukuran ± 1 cm, kemudian dioven dengan suhu 70°C selama 1x24 jam sampai kering patah, diblender, dan kemudian ditimbang. Selanjutnya dimaserasi selama 1x24 jam dengan menggunakan etanol. Untuk membuat konsentrasi 250mg/ml sebanyak 100 ml maka serbuk daun yang ditimbang adalah sebanyak 25 gram kemudian ditambahkan larutan etanol : air (7:3) sebanyak 100 ml.
- 3) Ekstrak induk dengan konsentrasi 250 mgml⁻¹ diencerkan dengan aquadest menjadi berbagai konsentrasi yang ditentukan. Ekstrak hasil pengenceran diuapkan pada suhu ±40°C, sampai tidak tercium lagi bau etanol. Kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 lb/sq.
- 4) Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yang digunakan adalah 75 mgml⁻¹, 100 mgml⁻¹, 125 mgml⁻¹, 150 mgml⁻¹, 175 mgml⁻¹, 200 mgml⁻¹, dan 225 mgml⁻¹. Konsentrasi dari setiap ekstrak daun belimbing wuluh diujikan kepada bakteri uji. Uji antibakteri yang digunakan yaitu dengan menggunakan metode *cup plat* dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisma dan pada sumur tersebut diberi ekstrak yang akan di uji. Bahan uji diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator. Setelah diinkubasi selama 24 jam zona hambat diamati dengan cara mengukur daerah bening (diameter zona hambat) disekitar lubang sumur dengan menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter.

Metode Analisis Data

Data uji daya antibakteri yang diperoleh, dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 99%. Setelah terdapat perbedaan yang nyata, dilanjutkan dengan uji jarak ganda Duncan (*Duncan's New Multiple Range Test*) pada tingkat kepercayaan yang sama (Gomez, 1995).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran zona hambat pada diameter daerah bening dilakukan setelah inkubasi terhadap bakteri selama 24 jam. Data Hasil pengukuran zona hambat setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Perlakuan yang menghasilkan jumlah diameter zona hambat terbesar adalah perlakuan konsentrasi 225 mg ml⁻¹ dengan rata-rata diameter 12,52 mm, sedangkan perlakuan yang menunjukkan jumlah diameter zona hambat terkecil adalah perlakuan

konsentrasi 100 mg ml⁻¹ dengan rata-rata diameter 7,56 mm. Diameter yang dihasilkan oleh perlakuan konsentrasi 75 mg ml⁻¹ adalah rata-rata diameter 7,00 mm, tetapi diameter tersebut sama sekali tidak menunjukkan zona hambat karena sumur yang diisi ekstrak daun belimbing wuluh dibuat dengan menggunakan alat pelubang yang berdiameter 7 mm.

Terdapat kecenderungan bahwa konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yang berbeda memberi pengaruh terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* yang terbentuk, semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh semakin besar pula diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *P. acnes* yang terbentuk. Untuk membuktikan pengaruh perbedaan dari setiap konsentrasi tersebut maka selanjutnya dilakukan uji statistik dengan menggunakan Uji Analisis Varians Satu Faktor.

Tabel 1. Rata-rata Diameter Zona Hambat

Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)				Jumlah Perlakuan (T)	Rataan perlakuan
	Ulangan					
	1	2	3	4		
Konsentrasi 10 mg ml ⁻¹	7,00	7,00	7,00	7,00	28,00	7,00
Konsentrasi 25 mg ml ⁻¹	7,75	7,72	7,50	7,26	30,23	7,56
Konsentrasi 50 mg ml ⁻¹	8,68	8,06	8,37	8,82	33,93	8,48
Konsentrasi 75 mg ml ⁻¹	9,76	9,84	10,01	9,90	39,51	9,88
Konsentrasi 100 mg ml ⁻¹	10,52	11,08	10,57	11,03	43,20	10,80
Konsentrasi 125 mg ml ⁻¹	11,58	11,82	11,62	12,03	47,05	11,79
Konsentrasi 150 mg ml ⁻¹	12,18	12,90	12,75	12,24	50,07	12,52
Jumlah Umum (G)					271,99	
Rataan Umum						9,71

Adapun ringkasan hasil analisis sidik ragam dapat disajikan pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Ringkasan Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F _{hitung}	F _{tabel}	
					5%	1%
Perlakuan	6	107,18	17,86	285,28 **	2,57	3,81
Galat Percobaan	21	1,31	0,06			
Umum	27	108,49				

Dari hasil analisis di atas terlihat bahwa nilai F_{hitung} 285,28 lebih besar dari nilai F_{tabel} ($\alpha = 1\%$) 3,81 maka perlakuan berbeda sangat signifikan (**). Berdasarkan hasil tersebut konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yang berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap diameter zona hambat pertumbuhan

bakteri *P. acnes* yang terbentuk secara in-vitro.

Selanjutnya untuk mencari perbedaan antar perlakuan dilakukan analisis beda rata-rata dengan menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan. Hasil ringkasan perbandingan antar perlakuan disajikan dalam tabel 3.

Tabel 3. Hasil Perbandingan Uji Duncan Pengukuran Zona Hambat Bakteri *P. acnes* dari Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Belimbing wuluh

Perlakuan	Rataan Diameter Zona Hambat (mm)
Konsentrasi 75 mg ml ⁻¹	7,00 a*
Konsentrasi 100 mg ml ⁻¹	7,56 b
Konsentrasi 125 mg ml ⁻¹	8,48 c
Konsentrasi 150 mg ml ⁻¹	9,88 d
Konsentrasi 175 mg ml ⁻¹	10,80 e
Konsentrasi 200 mg ml ⁻¹	11,76 f
Konsentrasi 225 mg ml ⁻¹	12,52 g

Berdasarkan tabel angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata dengan Uji Duncan pada taraf kepercayaan (α) 1%. Angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan berbeda sangat nyata dengan Uji Duncan pada taraf kepercayaan (α) 1%.

Dari hasil penelitian konsentrasi minimal atau kadar hambat minimum (KHM) ekstrak daun belimbing wuluh yang dapat membentuk zona hambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* adalah 100 mgml⁻¹. Konsentrasi tersebut dianggap sebagai konsentrasi yang paling efektif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* dan terlihat berbeda sangat nyata dengan perlakuan lainnya.

Berdasarkan hasil penelitian Uji Ekstrak Daun Belimbing wuluh Terhadap Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *P. acnes* secara In-Vitro, dapat terbentuk zona hambat atau daerah bening pada media agar yang tidak ditumbuhi oleh bakteri karena adanya zat antimikroba dari ekstrak daun belimbing wuluh yang diberikan sehingga secara difusi menyebar pada media agar.

Berdasarkan Analisis Sidik Ragam (Analisis Varians), diketahui bahwa konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yang berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* yang terbentuk secara in-vitro.

Analisis Uji Duncan memberikan hasil bahwa konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan *P. acnes* adalah 100 mgml⁻¹. Sedangkan perlakuan dengan

konsentrasi 75 mgml⁻¹ sama sekali tidak menunjukkan zona hambat, hal ini dikarenakan zat antimikroba yang terdapat dalam ekstrak tidak mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan hal tersebut dapat dinyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh diberikan maka semakin besar pula diameter zona hambat yang ditunjukkan terhadap pertumbuhan bakteri *P. acnes*. Hal tersebut sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Dwidjoseputro (2005), bahwa konsentrasi antimikroba mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme, semakin tinggi konsentrasi antimikroba maka semakin besar pula jumlah mikroba yang dihambat pertumbuhannya.

Pengaruh perbedaan konsentrasi antimikroba terhadap pertumbuhan mikroorganisme dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan yaitu Uji Efektivitas Ekstrak Daun Belimbing wuluh terhadap Zona Hambat Pertumbuhan bakteri *P. acnes* secara In-vitro yang dilakukan dengan metode difusi sumur, ekstrak daun belimbing wuluh dengan berbagai konsentrasi dimasukan ke dalam lubang sumur pada cawan petri dan kemudian ekstrak tersebut akan berdifusi ke dalam biakan bakteri *P. acnes* pada media agar.

Ekstrak daun belimbing wuluh dengan berbagai konsentrasi yang berbeda tersebut mengandung zat antimikroba yang berbeda pula dan dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan *P. acnes* sehingga menimbulkan zona hambat yang berupa daerah bening disekitar sumur. Diameter zona bening yang terbentuk menunjukkan bahwa media agar tidak lagi ditumbuhi oleh bakteri *P. acnes*.

Perbedaan konsentrasi ekstrak yang digunakan menyebabkan zona bening yang menunjukkan daya hambatnya yang ditunjukkan juga berbeda-beda. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh berarti semakin pekat larutan tersebut dan semakin banyak pula jumlah zat-zat antimikroba yang terkandung di dalamnya. Bila jumlah zat antimikroba semakin besar maka semakin besar pula bakteri *P. acnes* yang dirusak baik itu struktur tubuh maupun sistem metabolismenya, sehingga bakteri yang terkena oleh zat antimikroba tersebut akan mati atau dihambat pertumbuhannya.

Hal ini sesuai dengan pendapat Kamilah (2010) bahwa kandungan yang terdapat dalam daun belimbing wuluh yang bekerja sebagai antibakteri adalah Tanin dan Flavonoid. Senyawa Flavonoid merupakan salah satu antibakteri yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma. Flavonoid mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut dengan dinding sel. Zat antimikroba yang menghalangi fungsi penting membran dapat mengakibatkan kematian sel atau ketidakmampuan untuk tumbuh dan berkembang.

Membran bakteri bersifat semipermeabel yang mengatur substansi keluar masuk sel. Kerusakan membran memungkinkan ion organik penting, nukleotida, koenzim, dan asam amino merembes keluar sel. Kerusakan membran plasma ini menghambat atau merusak kemampuannya bertindak sebagai penghalang osmosis dan mencegah berlangsungnya biosintesis, sedangkan senyawa Tanin mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan kemampuannya menginaktivasi adhesin mikroba, enzim dan protein *transpor cell envelope*.

Flavonoid dan Tanin merupakan senyawa aktif dalam tanaman yang berkhasiat sebagai obat yang dapat menyembuhkan penyakit infeksi. Dalam penentuan dosis obat kedokteran perlu dilakukan uji secara *in-vitro* sebelum diterapkan secara *in-vivo* dan diperlukan Konsentrasi Hambat minimum (KHM) atau *Minimal Inhibitor Concentration* (MIC) dari antimikroba. Hal ini sesuai dengan pendapat yang dikemukakan oleh Jawetz *et.al.* (2001). KHM dianggap efektif digunakan karena penggunaan zat antimikroba dalam konsentrasi yang tinggi dikhawatirkan akan menimbulkan efek samping atau fisiologis bagi tubuh manusia.

Berdasarkan hasil uji pendahuluan yang dilakukan konsentrasi yang terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan *P.acnes* adalah konsentrasi ekstrak 100 mgml⁻¹ hal ini ditunjukkan dengan adanya zona bening yang terbentuk. Hasil uji pendahuluan kemudian menjadi dasar uji lanjutan dan dari hasil yang pengamatan terbukti bahwa konsentrasi ekstrak minimal yang efektif digunakan adalah 100 mgml⁻¹. Namun demikian masih

perlu dilakukan uji lanjut secara *in-vivo* pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh sebelum diaplikasikan sebagai obat jerawat atau pun sebagai masker alami untuk mengetahui efek fisiologis secara langsung bagi tubuh manusia.

4. SIMPULAN

Perbedaan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (*A. bilimbi L*) berpengaruh sangat nyata terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *P.acnes* secara *in-vitro* pada taraf nyata (α) 1%. Kadar hambat minimum dari ekstrak daun belimbing wuluh (*A. bilimbi L*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P.acnes* secara *in-vitro* adalah 100 mgml⁻¹.

5. REFERENSI

- Arland. 2007. *Propionibacterium acnes*. Tersedia: http://www.ebi.ac.uk/2can/genomes/bacteria/Propionibacterium_acnes. Akses online 3 November 2016.
- Azifitria, *et.al*. 2010. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Dan Umbi Crinum asiaticum L, Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat*. Cibinong: Puslit Biologi LIPI.
- Brown, R.G. 2009. *Lectures Notes Dermatologi*, Jakarta: Erlangga
- Cappuccino, J & Natalie Sherman. 1982. *Microbiology : A Laboratory Manual*. Suffern, New York
- Faharani, B.G.R. 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Daun Belimbing wuluh terhadap Bakteri aureus dan E. Coli secara Bioautografi*, Yogyakarta
- Gomes, KA. 1995. *Statistika Untuk Penelitian Pertanian*. Alih Bahasa Endang Sjamsudin, dkk. Edisi 2, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Jawetz, *et.al.* 2001. *Mikrobiologi kedokteran*, Jakarta: Salemba Medika
- Kamilah, E. 2010. *Dibalik Mukzizat Tanaman Belimbing wuluh Sebagai Pengawet Alami*. Tersedia : <http://elokkamilah.wordpress.com> diakses tanggal 15 Oktober 2016.
- Pelczart, M.J dan Chan E.C.S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 1 dan 2. Terjemahan Hadioetomo, R.S.dkk, Jakarta: Universitas Indonesia Press

- Rismunandar. 1981. *Tanaman Belimbing wuluh yang Serba Guna*, Bandung: PT Sinar Baru.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung : ITB
- Sarastani, D. Dedi Fardiaz, Anton Apriyantono, dkk. 2002. *Senyawa Antimikroba dari Tanaman*.http://indobic.biotrop.org/berita_detail.php?id_berita=124.
- Volk and Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar, Edisi kelima, Jilid 1 dan 2*, Jakarta: Erlangga.