

Testing the Inhibitory Effect of Neem Leaf Extract (*Azadirachta indica* Juss.) on Acne-Causing Bacteria *Propionibacterium acnes*

[Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* Juss.) terhadap Bakteri Penyebab Jerawat *Propionibacterium acnes*]

Dhimas Pramayoga Sinatra¹⁾, Chylen Setiyo Rini^{2)*}

¹⁾ Program Studi Teknologi Laboratorium Medik, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

²⁾ Program Studi Teknologi Laboratorium Medik, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

*Email Penulis Korespondensi: chylensetiyorini@umsida.ac.id

Abstract. Acne is an infection that occurs on the surface of the skin in the form of inflammation of the oil glands in the epidermis layer of the skin. When infected with *Propionibacterium acnes* bacteria, blackheads will develop into inflammation and cause acne. Prolonged treatment of acne using antibiotics will cause *Propionibacterium acnes* to become resistant. As an alternative treatment for acne, natural antibacterials are used, one of which is neem (*Azadirachta indica* Juss.). Neem leaves contain bioactive compounds of flavonoids, alkaloids, saponins, tannins and terpenoids which function as antibacterials. Neem leaf samples were obtained from the Sumenep district area. The research was carried out in March-May 2024 at the PIPOT-UBAYA Laboratory for plant determination, the Pharmacy Laboratory at PGRI Adi Buana University Surabaya for making extracts, and the Stikes Ngudia Husada Madura Microbiology Laboratory for antibacterial testing. This study aims to identify the inhibitory power of neem leaf extract against *Propionibacterium acnes* bacteria. The research design used was experimental, testing the inhibitory power of neem leaves (*Azadirachta indica* Juss.) was carried out using the in vitro diffusion method by observing the occurrence of an inhibition zone around the disc. This research used four concentrations, namely 25, 50, 75 and 100%. The positive and negative controls used in this study were sterile distilled water and clindamycin. The results of the antibacterial test research resulted in the inhibition zone of neem leaf extract against *Propionibacterium acnes* bacteria at concentrations of 25% and 50% of 6.3 mm and 9.3 mm, concentrations of 75% and 100% of 12.3 mm & 16 mm. Concentration 100% is the most effective concentration in inhibiting the growth of *Propionibacterium acnes* bacteria with a result of 16 mm which is included in the strong category.

Keywords - Antibacteria, Nemm (*Azadirachta indica* Juss) Leaves Extract, *Propionibacterium acnes* Bacteria

Abstrak. Jerawat adalah infeksi yang terjadi pada permukaan kulit berupa peradangan pada kelenjar minyak di lapisan epidermis kulit. Saat terinfeksi bakteri *Propionibacterium acnes* komedo akan berkembang menjadi inflamasi atau peradangan dan menyebabkan terjadinya jerawat. Pengobatan jerawat menggunakan antibiotik yang berkepanjangan akan menyebabkan *Propionibacterium acnes* menjadi resisten, sebagai alternatif pengobatan jerawat maka digunakan antibakteri alami salah satunya adalah Mimba (*Azadirachta indica* Juss.). Daun mimba memiliki kandungan senyawa bioaktif flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, dan terpenoid yang berfungsi sebagai antibakteri. Sampel daun mimba diperoleh dari daerah kabupaten Sumenep. Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2024 di Laboratorium PIPOT-UBAYA untuk determinasi tanaman, laboratorium Farmasi Universitas PGRI Adi Buana Surabaya untuk pembuatan ekstrak, dan laboratorium Mikrobiologi Stikes Ngudia Husada Madura untuk uji antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi adanya daya hambat ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental, pengujian daya hambat daun mimba (*Azadirachta indica* Juss.) dilakukan menggunakan metode difusi secara In vitro dengan mengamati terjadinya zona hambat disekitar cakram. Penelitian ini menggunakan empat konsentrasi yaitu 25, 50, 75 dan 100%. Kontrol positif dan negatif yang digunakan pada penelitian ini yaitu akuades steril dan Clindamycin. Hasil penelitian uji antibakteri menghasilkan zona hambat ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 25% dan 50% sebesar 6,3 mm dan 9,3 mm, konsentrasi 75% dan 100 % sebesar 12,3 mm & 16 mm. Konsentrasi 100% merupakan konsentrasi yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dengan hasil 16 mm yang termasuk dalam kategori kuat.

Kata Kunci – Antibakteri, Daun Mimba (*Azadirachta indica* Juss), Bakteri *Propionibacterium acnes*.

I. PENDAHULUAN

Propionibacterium acnes merupakan bakteri gram positif dan mikrobiota yang sering dijumpai pada kulit wajah, kulit kepala yang memiliki banyak kelenjar sebacea. *P. acnes* termasuk bakteri yang tumbuh relatif lambat dan mempunyai sifat yang toleran terhadap udara. Bakteri ini menghasilkan enzim untuk melemahkan kulit dan protein, yang bisa mengaktifkan sistem kekebalan tubuh [1]. Kolonisasi dari bakteri *P. acnes* merupakan salah satu faktor penyebab timbulnya jerawat. *P. acnes* berperan pada proses timbulnya jerawat dengan memproduksi lipase yang dapat memecah asam lemak bebas [2]. Jerawat diawali dengan sebum menggumpal pada lapisan epidermis kulit dan menyebabkan komedo menonjol di permukaan kulit, apabila komedo terinfeksi bakteri *P. acnes* komedo akan berkembang menjadi peradangan [3].

Acne vulgaris merupakan penyakit kulit yang menyerang sekitar 9,4% populasi dunia. Studi penelitian yang dilakukan di rumah sakit Abdul Moelok pada tahun 2019 terhadap 66 pasien menemukan bahwa sebanyak 30,3% pria terkena jerawat dan pada wanita sebanyak 69,7%. Tingkat kejadian penderita jerawat di Indonesia berkisar 80-85 % pada remaja dengan puncak usia 15-18 tahun, 12% pada wanita usia > 25 tahun dan 3% pada usia 35-44 tahun. Penderita *Acne vulgaris* mengalami peningkatan jumlah mulai dari 40% sampai 80% setiap tahunnya [4].

Pengobatan pada *Acne vulgaris* dapat dilakukan dengan pengobatan topikal yang langsung digunakan pada daerah yang berjerawat atau pengobatan oral dengan cara diminum. Terapi topikal yang secara langsung digunakan pada daerah yang berjerawat memiliki kandungan seperti sulfur, sodium, sulfasetamid, resorsinol, *Alpha Hydroxy Acids* dan *Beta Hydroxy Acids*. Pengobatan *Acne vulgaris* secara oral biasanya dilakukan dengan penggunaan antibiotik seperti trimethoprim, sulfametoksazol, eritromisin, klindamisin dan tetrasiklin [5]. Penggunaan antibiotik yang berkepanjangan akan menyebabkan *P. acnes* menjadi resisten terhadap antibiotik [6].

Penggunaan antibiotik harus digunakan secara rasional, pemahaman tentang berbagai jenis penyakit infeksi yang mempertimbangkan farmakokinetik dan farmakodinamis dari antibiotik yang akan digunakan, serta faktor seperti ketahanan individu, virulensi, dan mikroorganisme. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional menyebabkan perkembangan kuman yang resisten terhadap antibiotik dan menjadikan antibiotik menjadi tidak efektif. Oleh karena itu diperlukan pengobatan lain salah satunya dengan memanfaatkan tumbuhan [7]. Indonesia memiliki keanekaragaman hayati nomor 2 di dunia dengan 30.000 jenis tanaman obat. Salah satu jenis tumbuhan yang dapat dijadikan alternatif sumber obat yang memiliki potensi sebagai antibakteri adalah Mimba (*Azadirachta indica* Juss.) [8]. Secara umum mimba memiliki 135 bahan kimia aktif berbeda. Daun mimba memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti terpenoid, flavonoid, alkaloid, saponin, tanin yang berfungsi sebagai antibakteri. Secara empiris, masyarakat telah menggunakan daun mimba untuk mengobati gatal-gatal dengan menumbuk 5-7 lembar daun dan ditempelkan pada area yang gatal. Cara lain adalah dengan cara direbus, lalu air hasil dari rebusan kemudian diminum untuk mengobati gatal-gatal [9]. Penelitian uji daya hambat ekstrak daun mimba yang dilakukan pada bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat aktivitas antibakteri pada konsentrasi 50% sampai 90% dengan rata-rata zona hambat 9,8 mm yang berarti zona hambat yang terbentuk termasuk dalam kategori daya hambat sedang. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi adanya daya hambat ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* menggunakan metode difusi cakram secara *In vitro* dengan mengamati terjadinya zona hambat.

Adanya indikasi senyawa aktif antibakteri berdasarkan uraian di atas, maka diperlukan penelitian tentang uji daya hambat ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* Juss.) terhadap pertumbuhan bakteri *P.acnes*.

II. METODE

Jenis penelitian pada penelitian ini adalah kuantitatif dan desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental. Penelitian ini dilakukan pengujian daya hambat daun mimba (*Azadirachta indica* Juss) secara *In vitro* dengan mengamati terjadinya zona hambat. Populasi yang digunakan adalah daun mimba (*Azadirachta indica* Juss) yang berasal dari kabupaten Sumenep. Sampel yang digunakan adalah ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* Juss) segar berwarna hijau dengan variasi konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, bakteri *Propionibacterium acnes*, kontrol positif Clindamycin 20 mg dan kontrol negatif aquadest steril, kemudian pengulangan sampel dihitung dengan menggunakan rumus Federer dan didapatkan hasil sejumlah 4 pengulangan.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2024 di Laboratorium PIPOT-Universitas Surabaya untuk determinasi tanaman dan didapatkan hasil yang menyatakan bahwa tanaman yang digunakan merupakan tanaman mimba (*Azadirachta indica* Juss) dibuktikan dengan no sertifikat No.1567/D.T/I/2024. Laboratorium Farmasi Universitas PGRI Adi Buana Surabaya untuk pembuatan ekstrak, dan laboratorium Mikrobiologi Stikes Ngudia Husada Madura untuk uji antibakteri. Penelitian ini telah lulus uji layak etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Stikes Ngudia Husada Madura No: 2127/KEPK/STIKES-NHM/EC/V/2024.

Pembuatan Ekstrak diawali dengan mengambil daun mimba segar sebanyak 1kg, daun yang sudah diambil dibersihkan dari kotoran dengan cara dicuci pada air mengalir. Daun ditiriskan untuk menghilangkan sisa air dan

dipotong menjadi bagian lebih kecil, kemudian daun dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang. Sesudah daun kering daun menjadi simplisia kemudian dihancurkan dengan blender sehingga menjadi serbuk. Serbuk simplisia kemudian disaring menggunakan saringan dimasukkan dalam beaker glass dan ditimbang menggunakan neraca analitik dan didapatkan serbuk simplisia sebanyak 327,5g. Serbuk tersebut kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Ditutup rapat dengan aluminium foil dan dibiarkan selama 24 jam. Sesudah 24 jam, hasil maserasi disaring, filtrat ditampung ke dalam wadah beaker glass lain. Residu dari penyaringan dimaserasi kembali dengan menambahkan etanol 96% sampai terendam, ditutup rapat dengan aluminium foil dan dibiarkan selama 24 jam. Proses re-maserasi dilakukan sebanyak 3 kali. Ekstrak diuapkan dalam rotary evaporator merk Rotary Evaporator DLAB RE100-Pro hingga seluruh pelarut menguap dan diperoleh ekstrak kental. Kemudian ekstrak kental ditimbang dengan neraca analitik untuk mengetahui massa total dari ekstrak yang diperoleh, dan didapatkan ekstrak sebanyak 37 g [10]

Ekstrak daun mimba kemudian di uji fitokimia, skrining fitokimia secara kualitatif dapat dilakukan melalui reaksi warna dengan menggunakan suatu pereaksi tertentu. Uji yang dilakukan terdiri dari uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Uji alkaloid dilakukan menggunakan reagen dragendorff, uji Flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi berupa HCl pekat dan serbuk Mg, uji saponin dilakukan dengan menggunakan aquadest panas hingga terbentuk buih yang stabil, uji tannin dilakukan dengan menggunakan pereaksi $FeCl_3$ 1%, uji terpenoid menggunakan pereaksi kloroform, asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat [11].

Konsentrasi ekstrak daun yang digunakan adalah 25%, 50%, 75%, dan 100%. Masing-masing konsentrasi tersebut dibuat dengan cara penimbangan dan pengenceran ekstrak daun mimba pekat (konsentrasi 100%) dengan DMSO 10%. Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak dilakukan dalam tabung sample cup dengan volume total 1ml. Larutan sampel dibuat dengan cara menimbang ekstrak kental, 0,25 gr ekstrak + larutan DMSO 10% 1ml (25%), 0,50 gr ekstrak + larutan DMSO 10% 1ml (50%), 0,75 gr ekstrak + larutan DMSO 10% 1ml (75%).

Kultur murni bakteri *Propionibacterium acnes* didapatkan di Laboratorium Mikrobiologi STIKes Ngudia Husada Madura dengan no strain bakteri ATCC-6919. Biakan bakteri *Propionibacterium acnes* diinokulasikan ke dalam media agar MHA yang telah padat. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37° C selama 24 jam. Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan pengambilan koloni bakteri menggunakan ose dan disuspensikan didalam tabung yang berisi 5ml larutan NaCl 0,9% steril sampai memperoleh konsentrasi $0,5 \times 10^8$ *Mc Farland*. Kekeruhan suspensi bakteri dibaca dengan menggunakan pembanding *Mc Farland* $0,5 \times 10^8$, *Mc Farland* setara dengan $1,5 \times 10^8$ (*Colony Forming Unit*) CFU/ml. Apabila suspensi lebih keruh dari *Mc Farland* di tambahkan NaCl 0,9%, apabila kurang keruh ditambah suspensi bakteri lagi [4].

Uji Aktivitas Antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi, dengan menggunakan cakram berdiameter 6 mm. Media MHA yang telah dipanaskan dan steril dimasukkan kedalam cawan petri sebanyak 15 ml kemudian di diamkan hingga memadat. Bakteri *Propionibacterium acnes* di usap menggunakan metode streak kemudian di letakkan cakram yang telah di beri konsentrasi larutan pada MHA yang telah di inokulasi bakteri, diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengamatan dan pengukuran zona bening yang terbentuk di sekitar lubang dengan menggunakan jangka sorong dan dimasukkan kedalam rumus diameter hambat bakteri [13].

$$\frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$$

Dengan Dv adalah Diameter vertikal, Dh adalah Diameter horizontal, dan Dc adalah Diameter cakram.

Data hasil uji daya hambat bakteri yang diperoleh dianalisis secara paramterik menggunakan uji statistik one way Anova dengan software IBM SPSS Statistics 25.0.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

A. Ekstrak Daun Mimba

Berikut adalah hasil ekstraksi daun mimba yang dilakukan menggunakan proses maserasi dan menggunakan pelarut etanol 96% .

Tabel 1. Hasil Eksraksi Daun Mimba

Sampel	Simplisia	Volume Pelarut	Lama Perendaman	Ekstrak Pekat	Rendemen
Daun Mimba	327,5 g	3275 ml	3x24 Jam 3x penggantian pelarut setelah 24 jam	37 g	11,29%

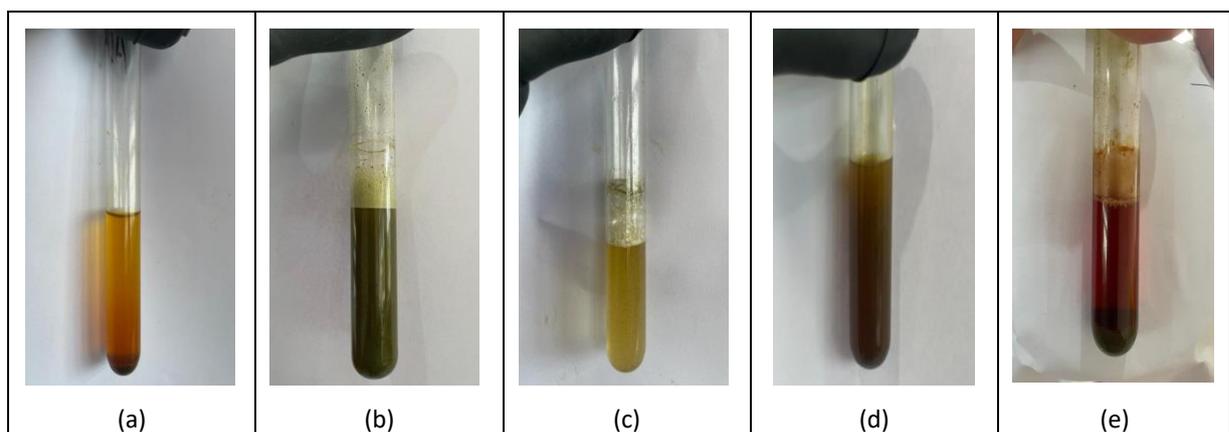
B. Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan bertujuan untuk memastikan bahwa adanya kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak daun mimba. Berikut adalah Hasil Uji Fitokimia ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* Juss) yang dilakukan secara kualitatif menggunakan reaksi warna.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia

Uji	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Dragendorff	+	Endapan warna jingga
Saponin	Aquadest hangat	+	Terdapat buih setinggi 1 cm dan stabil selama 10 menit
Flavonoid	Mg + Asam klorida	+	Hijau kekuningan
Tannin	FeCl ₃ 1%	+	Hijau kecoklatan
Terpenoid	Kloroform + Asam aasetat anhidrat + Asam sulfat pekat	+	Coklat kemerahan

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba mengandung senyawa antibakteri yaitu Alkaloid, Saponin, Flavonoid, Tannin, dan Terpenoid yang berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri.



Gambar 1. Hasil Uji Fitokimia ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* Juss) : (a) Alkaloid (b) saponin (c) Flavonoid (d) Tanin (e) Terpenoid.

C. Uji Antibakteri

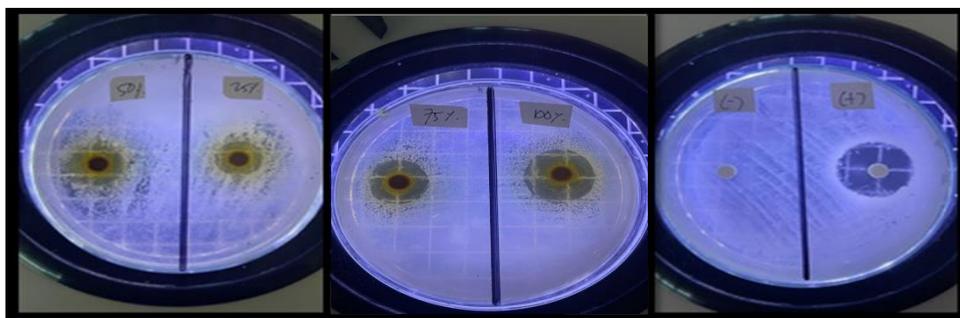
Uji daya hambat pada penelitian ini yaitu menggunakan metode difusi cakram. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu 25% , 50%, 75%, dan 100%. Kontrol positif menggunakan clyndamicin dan kontrol negatif menggunakan aquadest steril.

Tabel 3. Hasil Pengukuran diameter zona hambat.

Konsentrasi	Rata-rata (mm) ± SD	Nilai Rujukan (David-Stout)	Keterangan
25%	6,3 ± 0,79	5-10 mm	Sedang
50%	9,3 ± 0,17	5-10 mm	Sedang
75%	12,3 ± 0,34	10-20 mm	Kuat
100%	16 ± 0,35	10-20 mm	Kuat
Kontrol (+)	17,2 ± 0,58	10-20 mm	Kuat
Kontrol (-)	0	0 mm	Tidak ada

p-value 0,000

Hasil uji daya hambat ekstrak daun mimba konsentrasi ekstrak daun mimba 100% zona pada setiap pengulangan yaitu rata-rata 16 mm dengan kategori kuat, pada perlakuan konsentrasi 75% zona hambat rata-rata 12,3 mm dengan kategori kuat, pada perlakuan konsentrasi 50% zona hambat rata-rata 9,3 mm dengan kategori sedang, pada perlakuan konsentrasi 25% zona hambat rata-rata 6,3 mm dengan kategori sedang, kontrol positif clindamycin didapatkan nilai rata-rata 17,2 mm dengan kategori kuat, pada kontrol negatif didapatkan hasil 0 mm atau tidak terbentuk zona hambat.



(a)

(b)

(c)

Gambar 2. Hasil Zona Hambat pada : (a) ekstrak konsentrasi 50% dan 25% (b) ekstrak konsentrasi 75% dan 100% (c) kontrol positif dan negatif.

PEMBAHASAN

Proses ekstraksi daun mimba dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Proses ekstraksi dengan teknik maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruang. Keuntungan cara ini mudah dan tidak perlu pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai. Pengerjaan metode maserasi yang lama dan keadaan diam selama maserasi memungkinkan banyak senyawa yang akan terekstraksi [14]. Etanol 96% digunakan dalam penelitian ini sebagai pelarut sampel. Alasan penggunaan etanol, salah satunya adalah bahwa etanol relatif tidak toksik dibandingkan dengan aseton dan metanol, biaya murah, dapat digunakan dalam berbagai metode ekstraksi, dan aman untuk digunakan dalam pembuatan obat dan makanan. Alasan lain adalah bahwa etanol adalah pelarut yang mudah didapat, efektif, aman untuk lingkungan, dan memiliki tingkat ekstraksi yang tinggi [15]. Pada hasil penelitian didapatkan ekstrak pekat 37 g dan nilai ekstrak rendemen sebesar 11,29%. Rendemen adalah perbandingan berat kering produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku, nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya, nilai rendemen juga berkaitan dengan banyaknya kandungan bioaktif yang terkandung pada tumbuhan. Semakin tinggi rendemen ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik ada pada suatu bahan baku [16].

Skrining fitokimia dilakukan sebagai tahap awal untuk memberikan gambaran mengenai kandungan senyawa yang terdapat pada bahan yang akan diteliti dan biasanya dilakukan secara kualitatif menggunakan reaksi warna. Uji yang dilakukan terdiri dari uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid.

Uji alkaloid dilakukan menggunakan reagen dragendorff dan didapatkan hasil positif dengan endapan warna jingga, Hal tersebut dapat terjadi karena nitrogen yang terdapat pada alkaloid yang digunakan untuk membentuk ikatan kovalen dengan K^+ yang merupakan ion logam [17]. Alkaloid memiliki peran sebagai antibakteri dengan mekanisme mengganggu komponen penyusun peptidolikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada sel tersebut [18].

Uji Flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi berupa HCl pekat dan serbuk Mg. Hasil yang ditunjukkan dari metode ini yaitu positif karena terjadi perubahan warna menjadi hijau kekuningan. Secara teoritis warna yang timbul pada uji ini adalah warna kuning jingga sampai merah dapat dinyatakan positif flavonoid [18]. Warna hijau kekuningan yang didapatkan karena flavonoid termasuk senyawa fenol yang bersifat polar sehingga dapat terekstrak pada pelarut polar. Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan mekanisme membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri, sehingga dapat merusak membran sitoplasma bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler [18].

Uji saponin dilakukan dengan menggunakan aquadest panas hingga terbentuk buih yang stabil. Hasil yang diperoleh dari uji saponin pada ekstrak daun mimba yaitu terbentuk buih setinggi 1cm dan stabil selama kurun waktu 10 menit. Buih yang terbentuk dikarenakan saponin memiliki sifat dapat menurunkan tegangan permukaan dan mengandung gugus hidrofilik dan lipofilik. Saponin memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel yang mengakibatkan kematian sel [19].

Uji tanin dilakukan dengan menggunakan pereaksi FeCl_3 1%. Hasil uji tanin menunjukkan uji positif yaitu warna larutan menjadi cokelat kehijauan. Hal tersebut disebabkan karena tannin dapat larut dalam air, alkohol dan aseton. Perubahan warna tersebut terjadi karena adanya reaksi reduksi. Tanin merupakan golongan senyawa polifenol, polifenol mampu mereduksi besi (III) menjadi besi (II). Hal ini juga merupakan cara klasik untuk mendeteksi senyawa fenol, yaitu dengan menambahkan larutan besi (III) klorida 1% dalam air atau etanol pada larutan cuplikan menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam. Tanin diketahui memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk [20].

Uji terpenoid menggunakan pereaksi kloroform, asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat, hasil uji terpenoid didapatkan hasil positif dengan terdapat warna coklat kemerahan. Hal tersebut terjadi karena reaksi oksidasi senyawa terpenoid yang menghasilkan gugus kromofor (karbon tak jenuh terkonjugasi). Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri yaitu bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri kemudian membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin maka akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan kematian bakteri [21].

Uji daya hambat yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode difusi cakram. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100%. Kontrol positif menggunakan clindamycin dan kontrol negatif menggunakan aquadest steril. Hasil penelitian adanya zona hambat yang terbentuk pada ekstrak daun mimba dengan pelarut etanol 96% yaitu dengan terbentuknya zona bening pada media pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*. Hasil uji daya hambat ekstrak daun mimba konsentrasi ekstrak daun mimba 100% zona pada setiap pengulangan yaitu rata-rata $16 \pm 0,35$ dengan kategori kuat, pada perlakuan konsentrasi 75% zona hambat rata-rata $12,3 \pm 0,3$ dengan kategori kuat, pada perlakuan konsentrasi 50% zona hambat rata-rata $9,3 \pm 0,17$ dengan kategori sedang, pada perlakuan konsentrasi 25% zona hambat rata-rata $6,3 \pm 0,79$ dengan kategori sedang, kontrol positif clindamycin didapatkan nilai rata-rata $17,2 \pm 0,58$ dengan kategori kuat, pada kontrol negatif didapatkan hasil 0 mm atau tidak terbentuk zona hambat.

Clindamycin digunakan sebagai kontrol karena clindamycin merupakan antibiotik spektrum luas yang digunakan dalam pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram positif dan juga bakteri anaerob. Clindamycin bersifat bakteriostatik, yaitu antibiotik yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba tetapi tidak membunuh mikroba tersebut. Mekanisme kerja clindamycin adalah dengan menghambat sintesis protein mikroorganisme dengan mempengaruhi subunit ribosom 50s, sehingga mengganggu proses pembentukan rantai peptidoglikan bakteri [22]. Aquadest steril digunakan sebagai kontrol negatif, penggunaan aquades sebagai kontrol negatif yaitu karena senyawa dari aquades bersifat netral yang tidak memberikan efek terhadap pertumbuhan bakteri atau tidak memiliki aktivitas antibakteri [22].

Uji statistik yang pertama kali dilakukan yaitu uji normalitas dan homogenitas menggunakan metode Shapiro wilk dan Levene test. Hasil uji normalitas menggunakan Shapiro Wilk nilai yang diperoleh yaitu p-value $> 0,05$. Nilai tersebut berarti bahwa data yang diperoleh terdistribusi normal. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas menggunakan Levene Test dan hasil yang diperoleh memiliki nilai p-value $> 0,05$. Nilai tersebut berarti bahwa data rata-rata diameter zona hambat terdistribusi secara homogen.

Setelah data rata-rata diameter zona hambat terdistribusi secara normal dan homogen maka akan dilanjutkan analisis menggunakan uji one way anova untuk melihat perbedaan variasi, dan didapatkan hasil bahwa p-value sebesar 0,000 yang berarti mempunyai pengaruh terhadap penghambatan bakteri *Propionibacterium acnes* yang berarti H_1 diterima dan menolak H_0 . Hasil uji Post hoc menunjukkan bahwa hampir ada perbedaan pada seluruh kelompok dengan p-value sebesar 0,000, kecuali pada kelompok 100% dengan kontrol positif dengan p-value sebesar 0,24.

Berdasarkan jumlah rata-rata uji daya hambat menunjukkan bahwa zona hambat terbesar pada konsentrasi tertinggi yaitu 100%. Secara teoritis semakin meningkat konsentrasi suatu zat antimikroba maka semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi bahan antimikroba, maka semakin banyak zat aktif yang terkandung di dalamnya sehingga efektivitas dalam menghambat bakteri akan semakin meningkat dan menghasilkan zona hambat yang lebih luas. Pada konsentrasi suatu antimikroba yang semakin meningkat, maka semakin cepat terjadi difusi sehingga daya antibakteri semakin besar dan diameter zona hambat yang dihasilkan semakin luas [23].

Penelitian ekstrak daun mimba yang dilakukan pada bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat aktivitas antibakteri pada konsentrasi 50% sampai 90% dengan rata-rata zona hambat 9,8 mm yang berarti zona hambat yang terbentuk termasuk dalam kategori daya hambat sedang. Pada uji daya hambat yang dilakukan pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang dilakukan pada konsentrasi 15% sampai 50% terdapat aktivitas antibakteri dengan rata-rata zona hambat 11,18 mm sampai 16,30 mm yang termasuk kategori daya hambat kuat [24]. Sehingga diketahui ekstrak daun mimba memiliki kandungan senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri.

Bakteri *Propionibacterium acnes* dapat dihambat dengan menggunakan ekstrak dari daun mimba dikarenakan keefektifan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan terpenoid. Kandungan Senyawa fitokimia tersebut rata

rata memiliki peran sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidolikan pada sel bakteri, membentuk senyawa kompleks dengan merusak membran sitoplasma bakteri sehingga terjadi penghambatan serta kebocoran protein dan enzim di dalam sel dan mengakibatkan rusaknya porin maka akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan kematian bakteri [22].

IV. SIMPULAN

Ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* Juss) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*. Daya hambat yang tergolong sedang pada konsentrasi 25% dan 50% sebesar 6,3 mm dan 9,3 mm. Daya hambat yang tergolong kuat pada konsentrasi 75% dan 100 % sebesar 12,3 mm & 16 mm. Konsentrasi yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* ialah konsentrasi 100% dengan daya hambat 16 mm dengan (kategori kuat). Hasil uji one way anova didapatkan p-value sebesar 0,000, didapatkan hasil bahwa p-value sebesar 0,000 yang berarti mempunyai pengaruh terhadap penghambatan bakteri *Propionibacterium acnes* yang berarti H1 diterima dan menolak H0.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada petugas laboratorium Stikes Ngudia Husada Madura dan rekan kerja serta Sivitas akademik Prodi Teknologi Laboratorium Medis FIKES UMSIDA dan semua pihak yang telah memberikan dukungan dalam pelaksanaan penelitian ini.

REFERENSI

- [1] M. Syafitri, Identifikasi Bakteri Pada Jerawat (Acne) Pada Wajah.,*KTI*, Universitas Perintis Indonesia, Padang. 2020.
- [2] P. D. M. Jayanti, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etanol Dan N-Heksan Kulit Bawang Merah (*Allium Cepa* L.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes* Penyebab Jerawat. *Skripsi*. Stikes Bhakti Husada Mulia Madiun. 2021.
- [3] Y. N. Putri, Uji Aktivitas Dan Efektivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksinasi Herba Sirih Cina (*Peperomia Pellucida* L. Kunth) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun. 2022.
- [4] H. T. Sibero, D. I. A. I Wayan Ardana Putra, Tatalaksana Terkini *Acne Vulgaris*. Medical Faculty Of Lampung University, *Dermatovenerologist Division Of Abdoel Moeloek*, 3(2), 313–320. 2019. <https://doi.org/10.23960/jkunila32313-320>
- [5] A. Teresa, *Acne Vulgaris* Dewasa : Etiologi, Patogenesis Dan Tatalaksana Terkini. *Jurnal Kedokteran Universitas Palangka Raya*, 8(1), 952–964. 2020.
- [6] NM. Luk, M.Hui,HC. Lee, Antibiotic-resistant *Propionibacterium acnes* among acne patients in a regional skin centre in Hong Kong. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013;27(1):31-36. doi:10.1111/j.1468-3083.2011.04351.
- [7] Menteri Kesehatan Republik Indonesia, Permenkes RI No 8 Tahun 2015, Program Pengendalian Resistensi Antimikroba Di Rumah Sakit, *Menteri Kesehatan Republik Indonesia*, Jakarta. 2015,
- [8] W. A. Fahrurin., S. Hadi, R. E. Susetyarini, & , F. H.Permana. Kajian Jenis - Jenis Tumbuhan Berkhasiat Obat Yang Dimanfaatkan Untuk Pengobatan Oleh Masyarakat Kecamatan Sendang Kabupaten Tulungagung. *Jurnal Bioe Dukasi*, 6(1), 215–222. 2023. <https://doi.org/10.33387/Bioedu.V6i1.5754>
- [9] S. Fatmawati, Bioaktivitas dan Konstituen Kimia Tanaman Obat Indonesia. Yogyakarta: Penerbit Deepublish CV Budi Utama, 2019.
- [10] Riskiyani, T .S, Nurcahyo, H. Febriyanti R. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* L). *Ejournal poltektegal*. 2020. 7(1). 1-6
- [11] Vifta, R. L., & Advistasari, Y. D. Skrining Fitokimia, Karakterisasi, Dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla Speciosa* B.) *Pytochemical Screening, Characterization, And Determination Of Total Flavonoids Extracts And Fractions Of Parijoto Fruit. Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 2018, 8– 14.
- [12] Rini, C.S., Rohmah, J., Widyaningrum, L.Y. *The Antibacterial Activity Test Galanga (Alpinia galangal) On The Growth Of Bacteria Bacillus subtilis And Escherichia coli*, *IOP Publishing Material Science And Engineering*, 2018. 420. doi:10.1088/1757-899X/420/1/012142.

- [13] Susanty, Susanty, and Fairus Bachmid. "Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea Mays L.*)."
Jurnal Konversi Universitas Muhammadiyah Jakarta, vol. 5, no. 2, 2016, doi:[10.24853/konversi.5.2.87-92](https://doi.org/10.24853/konversi.5.2.87-92).
- [14] M. Adhariani, M. Maslahat, and R. Sutamihardja, "Kandungan Fitokimia Dan Senyawa Katinon Pada Daun Khat Merah (*Catha Edulis*)", *Jurnal Sains National.*, vol. 8, no. 1, pp. 35–42, 2018. <https://doi.org/10.31938/jsn.v8i1.113>.
- [15] Dianda , T. P. .; Suharti , P. H. . PENGARUH WAKTU DAN KADAR ETANOL PADA MASERASI LIDAH BUAYA TERHADAP ANTISEPTIK HAND SANITIZER GEL. *Distilat: J. Tekn. Sep* **2022**, *8*, 1000-1008.
- [16] A. Y. Putri, Uji Antibakteri Kombucha Daun Sirih (*Piper Betle L.*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Raden Intan Lampung, 2021.
- [17] Senduk, T. W.; Montolalu, L. A. D. Y.; Dotulong, V. The Rendement of Boiled Water Extract of Mature Leaves of Mangrove *Sonneratia Alba*. *JPKT* , 2020, *11*, 9-15.
- [18] Ergina, Ergina, et al. "Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave Angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol." *Jurnal Akademika Kimia*, vol. 3, no. 3, pp. 165-172, 2014
- [19] G. Donadio, F. Mensitieri, V. Santoro, V. Parisi, M. L. Bellone, De Tommasi N., Interactions with Microbial Proteins Driving the Antibacterial Activity of Flavonoids. *Pharmaceutics*. *5*;13(5):660, 2021. doi: 10.3390/pharmaceutics13050660. PMID: 34062983; PMCID: PMC8147964.
- [20] Surahmaida. Umarudin. Studi Fitokimia Ekstrak Daun Kemangi Dan Daun Kumis Kucing Menggunakan Pelarut Metanol. *Indonesian Chemistry And Application Journal*, 3(1), 1, 2019, <https://doi.org/10.26740/p1-6>.
- [21] Supriyanto, "Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica* Juss)." *Seminar Nasional Teknologi dan Informatika 2017*, Kudus, Indonesia, Universitas Muria Kudus, 2017.
- [22] Gerung, W. H. P., Fatimawali, F., & Antasionasti, I. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Botol (*Averrhoa Bilimbi L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat. *Pharmacon*, 2021. 10(4), 1087_1093. <https://doi.org/10.35799/pha.10.2.021.37403250>
- [23] A. R. P. Hasanudin. S Salnus, "Uji Bioaktivitas Minyak Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans* Penyebab Karier Gigi." *Bioma*, vol. 5, no. 2, 2020, pp. 241-250
- [24] Sayekti, S., Farhan, A., Alan, M. S. Uji Daya Hambat Antibakteri Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A . Juss .) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Insan Cendekia*, 2023.10(3), 220–226. <https://doi.org/10.35874/jic.v10i3.1253>.

Conflict of Interest Statement:

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.