

Pengaruh Waktu Inkubasi Terhadap Daya Hambat Ekstrak Daun Binahong Pada *Cutibacterium Acnes*

Valentina Nancy Alvista¹, Hendra Tarigan Sibero², Muhammad Aditya³, Ety Apriliana⁴

¹Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

²Bagian Kulit dan Kelamin, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

³Bagian Jantung dan Pembuluh Darah, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

⁴Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Jerawat (*acne vulgaris*) adalah gangguan kulit yang sering disebabkan oleh bakteri *Cutibacterium acnes*. Resistensi bakteri terhadap antibiotik yang digunakan untuk mengobati jerawat menjadi masalah yang perlu diperhatikan. Penelitian ini mengevaluasi pengaruh waktu inkubasi terhadap besarnya diameter zona hambat ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dalam menghambat pertumbuhan *C. acnes* menggunakan metode sumuran dengan konsentrasi ekstrak 25%, 50%, 75%, dan 100%. Analisis data dilakukan menggunakan uji T-test berpasangan. Terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,001$) pada zona hambat yang terbentuk berdasarkan variasi waktu inkubasi. Hasil menunjukkan bahwa semakin lama waktu inkubasi maka semakin besar zona hambat yang terbentuk. Ekstrak daun binahong terbukti efektif dalam menghambat pertumbuhan *C. acnes*, terutama pada konsentrasi tinggi dan durasi inkubasi yang lebih lama. Hal ini menunjukkan potensi penggunaan ekstrak daun binahong sebagai pengobatan jerawat yang efektif dalam mengatasi resistensi antibiotik.

Kata Kunci: Antibakteri, *Cutibacterium acnes*, Ekstrak Daun Binahong, Waktu Inkubasi

The Effect of Incubation Time on the Inhibitory Activity of Binahong Leaf Extract Against *Cutibacterium acnes*

Abstract

Acne (*Acne vulgaris*) is a common skin disorder often caused by the bacterium *Cutibacterium acnes*. Bacterial resistance to antibiotics used in acne treatment has become a significant concern. This study evaluated the effect of incubation time on the diameter of the inhibition zone produced by binahong (*Anredera cordifolia*) leaf extract in inhibiting the growth of *C. acnes*. The well diffusion method was employed using extract concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%. Data analysis was conducted using a paired *t*-test. The results showed a significant difference ($p < 0.001$) in the inhibition zones formed based on variations in incubation time. The findings indicated that longer incubation times resulted in larger inhibition zones. Binahong leaf extract was found to be effective in inhibiting the growth of *C. acnes*, particularly at higher concentrations and with longer incubation durations. These results demonstrate the potential of binahong leaf extract as an effective acne treatment to address antibiotic resistance.

Keywords: Antibacterial, Binahong Leaf Extract, *Cutibacterium acnes*, Incubation Time

Pendahuluan

Jerawat (*acne vulgaris*) terjadi akibat penyumbatan kelenjar sebacea, menyebabkan terbentuknya komedo, papula, pustul, nodul, dan kista. Faktor utama penyebab jerawat koloni *Cutibacterium acnes*. Prevalensi global jerawat sekitar 9,4%, biasanya muncul saat pubertas karena peningkatan produksi hormon seks, dan menurun seiring bertambahnya usia. Pada laki-laki, prevalensi jerawat meningkat dari 40% pada usia 12 tahun menjadi 95% pada usia 16 tahun, sedangkan pada perempuan, meningkat dari 61% menjadi 83% dalam rentang usia yang sama.¹⁻³

Cutibacterium acnes (*C. acnes*) pertama kali diidentifikasi pada pasien dengan jerawat kronis (*acne vulgaris*) pada awal abad

ke-20. Bakteri ini bersifat gram-positif dan anaerob fakultatif, serta merupakan bagian dari mikrobiota normal manusia. Namun, pada kondisi tertentu, seperti produksi sebum berlebihan, perubahan hormon, atau peradangan, bakteri ini dapat berkembang biak secara berlebihan. Proliferasi tersebut mendukung pembentukan biofilm yang memungkinkan *C. acnes* menempel pada permukaan kulit, termasuk folikel rambut dan kelenjar sebacea. Pertumbuhan bakteri ini dipengaruhi oleh durasi inkubasi, yang terdiri dari beberapa tahap, yaitu fase adaptasi, logaritmik, stasioner, dan kematian. Pada bakteri gram-positif, fase stasioner biasanya muncul setelah 28 jam inkubasi, meskipun

pada umumnya inkubasi untuk bakteri jenis ini berkisar antara 24 hingga 48 jam.^{4,5}

Pengobatan *acne vulgaris* dapat dilakukan dengan penggunaan antibiotik yang berguna untuk menurunkan jumlah koloni dari *Cutibacterium acnes* seperti klindamisin dan eritromisin. Pengobatan antibiotik jangka panjang dapat menimbulkan resistensi oleh karena faktor penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dan mutasi genetik bakteri. Hasil penelitian menunjukkan saat ini tingkat tertinggi resistensi antibiotik terhadap *C. acnes* ditemukan pada klindamisin (57,7%) dan eritromisin (57,7%) sehingga diperlukan pengobatan lain untuk mengatasi angka resistensi tersebut.⁶

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia*) dikenal sebagai tanaman yang sering dimanfaatkan sebagai antibakteri. Penelitian oleh Sasebohe (2023) menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% yang diujikan pada bakteri penyebab jerawat yakni *Cutibacterium acnes*, menunjukkan adanya daya hambat dari ekstrak daun binahong terhadap *Cutibacterium acnes* yang besarnya semakin meningkat sejalan dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak.^{7,8}

Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas ekstrak daun binahong dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Cutibacterium acnes*.

Metode

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *rotary evaporator*, botol maserasi, gelas ukur, cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, batang pengaduk, pipet tetes, inkubator, autoklaf, jangka sorong, oven, lampu spiritus, jarum ose, timbangan analitik, beaker glass, plat tetes, mikropipet, kertas saring, blender, tip kuning, spatula, serta mesh 60.

Bahan yang dipakai dalam penelitian ini adalah media agar, isolat bakteri *cutibacterium acnes*, kontrol (+) klindamisin 1,2 % solution, daun binahong, etanol 96%, NaCl dan aquades.

Sampel daun binahong diambil dari Desa Gisting Bawah, Kecamatan Gisting, Kabupaten Tanggamus. Daun yang dipilih

adalah daun yang terletak pada maksimal 10 urutan teratas atau sekitar tiga perempat bagian dari pohon. Setelah itu daun dikeringkan dan di haluskan menggunakan blender menjadi serbuk halus yang disebut simplisia.

Pembuatan Ekstrak

Simplisia dicampurkan dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:10 (serbuk : larutan) dan dibiarkan selama tiga hari. Setelah itu, proses remaserasi dilakukan selama dua hari, kemudian hasilnya disaring untuk memperoleh filtrat. Filtrat dimasukkan dalam rotary evaporator bersuhu 40°C untuk menguapkan pelarut sehingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak tersebut akan diencerkan menjadi empat konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%.

Uji Senyawa Fitokimia

1. Uji Flavonoid

Untuk mengidentifikasi flavonoid, 1 ml ekstrak disiapkan dan dicampurkan dengan dua tetes HCl pekat. Setelah itu, ditambahkan serbuk magnesium, dan pengamatan dilakukan terhadap perubahan warna menjadi jingga atau merah, yang menunjukkan keberadaan flavonoid.⁹

2. Uji Saponin

Uji untuk mendeteksi saponin pada binahong dilakukan dengan mencampurkan 0,5 g daun binahong dengan etanol ke dalam 10 mL air panas. Setelah campuran didinginkan, dikocok selama sepuluh detik. Jika buih yang terbentuk tetap ada setelah penambahan satu tetes HCl 2N, ini menandakan adanya saponin dalam sampel.¹⁰

3. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan memisahkan ekstrak daun binahong ke dalam dua tabung reaksi. Pada tabung pertama, ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff, sementara tabung kedua menerima reagen Mayer dalam jumlah yang setara. Adanya alkaloid dapat dikenali dari terbentuknya endapan berwarna jingga di tabung pertama dan endapan berwarna putih di tabung kedua.¹⁰

4. Uji Tanin

Untuk mendeteksi tanin, 1 gram ekstrak etanol dan 1 gram daun binahong dilarutkan dalam 20 mL aquadest, lalu didinginkan selama 30 menit. Setelah itu, ditambahkan lima tetes larutan NaCl 10%, kemudian campuran disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi menjadi dua bagian; satu bagian berfungsi sebagai kontrol, sementara bagian lainnya diuji dengan menambahkan tiga tetes larutan FeCl₃. Adanya tanin ditunjukkan melalui perubahan warna setelah penambahan FeCl₃: tanin terhidrolisis menghasilkan warna biru kehitaman, sedangkan tanin terkondensasi menunjukkan warna hijau kecoklatan.¹⁰

Pembuatan medium *Muller Hinton Agar* (MHA) Media disiapkan dengan menimbang 34 gram serbuk *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan melarutkannya dalam akuades sampai volume akhir mencapai 1000 ml. Suspensi tersebut kemudian dipanaskan dengan *hotplate stirrer* hingga larut sepenuhnya. Setelah itu, media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri untuk digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri.

Penyiapan bakteri uji (*Cutibacterium acnes*). *Cutibacterium acnes* yang telah dikultur diambil menggunakan ose dan diinokulasikan pada medium MHA dengan metode tuang.

Penyiapan Klindamisin. Sebanyak 50µl klindamisin 1,2% diambil menggunakan mikropipet.

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian dilaksanakan dengan menggunakan metode sumuran. Media agar yang telah diinokulasi oleh bakteri *C.acnes* dilubangi secara aseptik menggunakan tip kuning dengan diameter 6 mm. Selanjutnya dimasukkan empat macam konsentrasi ekstrak daun binahong, klindamisin (kontrol positif) dan aquades (kontrol negatif) ke dalam sumuran tersebut serta diberikan label nama masing-masing antimikroba yang diujikan di belakang cawan petri. Selanjutnya, media diinkubasi

pada suhu 37°C selama 24 hingga 48 jam, kemudian diamati diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran dengan menggunakan penggaris yang berskala milimeter.

Analisis Data

Analisis data dilakukan melalui uji parametrik T-test berpasangan setelah dilakukan pengujian normalitas data menggunakan uji Shapiro-Wilk. Hipotesis akan dianggap signifikan jika p-value < 0,05 dan tidak signifikan jika p-value > 0,05. Semua analisis data dilakukan menggunakan perangkat lunak statistik SPSS.

Hasil

Ekstrak Daun Binahong

Ekstrak etanol dari daun binahong dihasilkan melalui proses pemisahan dengan *rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarut. Proses ini memberikan rendemen sebesar 26,06% dengan berat ekstrak kental mencapai 104,25 gram. Perhitungan ekstrak dapat dilihat pada tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Hasil Ekstrak Daun Binahong

Tanaman	Berat Simplisia	Berat Ekstrak	Presentasi Rendeman
Daun Binahong	250 gr	11,48 gr	4,59%

Uji Fitokimia

Pengujian fitokimia secara kualitatif dapat mendeteksi keberadaan senyawa metabolit sekunder melalui perubahan warna. Ekstrak daun binahong menunjukkan hasil positif mengandung senyawa metabolit sekunder seperti tanin, saponin, flavonoid, dan alkaloid, yang dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Hasil Uji Skrining Fitokimia

Senyawa	Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Binahong
Saponin	+
Tanin	+
Alkaloid	+
Flavonoid	+

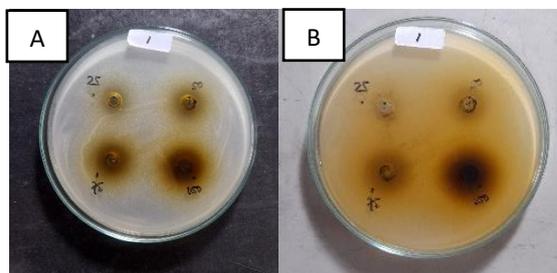
Hasil Pengamatan Zona Hambat

Setelah dilakukan pemberian ekstrak berkonsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% maka dilakukan proses inkubasi selama 24 jam dan 48 jam untuk mengetahui terbentuknya zona

hambat pada pertumbuhan bakteri *C. acnes*. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 3 dan gambar 1 dibawah ini.

Tabel 3. Hasil Pengamatan Uji Daya Hambat

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)	
	24 jam	48 jam
Konsentrasi 25%	8,92±0,55	9,85±0,32
Konsentrasi 50%	10,33±0,49	11,08±0,28
Konsentrasi 75%	12,07±0,37	12,83±0,27
Konsentrasi 100%	15,22±0,69	16,71±0,12
Kontrol +	18,81±0,57	21,16±0,51
Kontrol -	00,00±0,00	00,00±0,00



Gambar 1. (A) Hasil Uji Daya Hambat Dalam Waktu 24 jam, (B) Hasil Uji Daya Hambat Dalam Waktu 48 jam

Pembahasan

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan, ditemukan bahwa daun binahong memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Cutibacterium acnes*. Hal ini terlihat dari terbentuknya zona bening di sekitar lubang, yang berfungsi sebagai area penghambatan untuk pertumbuhan bakteri. Zona bening ini menandakan adanya aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh daun binahong.

Zona hambat yang terbentuk disebabkan oleh kandungan senyawa antibakteri yang berada dalam ekstrak daun binahong. Berdasarkan hasil uji fitokimia, ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Setiap kelompok senyawa fitokimia ini memiliki mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri yang berbeda-beda.

Saponin mengganggu proses transportasi bahan yang diperlukan untuk

pembentukan dinding sel bakteri, menyebabkan dinding sel menjadi tidak sempurna dan akhirnya memicu kematian sel. Flavonoid, melalui sifat lipofiliknya, merusak struktur membran sel, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri. Alkaloid berfungsi dengan mengganggu sintesis asam nukleat dan protein bakteri, serta memodifikasi permeabilitas membran sel, yang dapat berujung pada kematian bakteri. Sementara itu, tanin menurunkan pH dalam sel, menginaktivasi enzim, dan mengganggu proses metabolisme bakteri.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa inkubasi selama 48 jam menghasilkan nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan inkubasi selama 24 jam. Pada konsentrasi ekstrak 25%, zona hambat yang terbentuk setelah 24 jam adalah 8,92 mm, sementara setelah 48 jam meningkat menjadi 9,85 mm. Untuk konsentrasi 50%, zona hambat tercatat sebesar 10,33 mm pada waktu 24 jam dan meningkat menjadi 11,08 mm pada waktu 48 jam. Pada konsentrasi 75%, zona hambat awalnya 12,07 mm dalam waktu 24 jam, lalu meningkat menjadi 12,83 mm setelah 48 jam. Sementara itu, pada konsentrasi 100%, zona hambat terbesar tercatat sebesar 15,22 mm dalam waktu 24 jam dan 16,71 mm setelah 48 jam inkubasi. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Indarto (2019) yang menunjukkan bahwa zona hambat terbesar dihasilkan pada konsentrasi ekstrak daun binahong 100% dan lebih besar pada waktu inkubasi 48 jam yaitu 11,20 mm dibanding pada waktu inkubasi 24 jam sebesar 9,00 mm.¹¹

Perbedaan zona hambat dalam dua waktu ini selanjutnya diolah menggunakan SPSS untuk menilai signifikansi dari perbedaan waktu inkubasi yang digunakan. Pertama, dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk dan diperoleh bahwa data terdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$. Selanjutnya, dilakukan uji T test berpasangan untuk melihat pengaruh waktu inkubasi terhadap besarnya diameter zona hambat. Hasil uji T-test berpasangan menunjukkan nilai $p < 0,001$ yang berarti terdapat perbedaan signifikan zona hambat dari waktu inkubasi 24 jam dan 48 jam.

Simpulan

Waktu inkubasi memiliki pengaruh terhadap kemampuan daya hambat ekstrak daun binahong dalam menghambat pertumbuhan *Cutibacterium acnes*. Hal ini ditandai dengan daya hambat yang akan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak dan lamanya waktu inkubasi.

Daftar Pustaka

1. Legiawati L, Halim PA, Fitriani M, Hikmahrachim HG, Lim HW. Microbiomes in Acne Vulgaris and Their Susceptibility to Antibiotics in Indonesia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics*. 2023;12(1):1–17.
2. Alarik L. A, Indistuti DN, Astari L, Setyaningrum T. The Effects of Hormonal Factor on the Degree of Acne Vulgaris Severity. *Berk Ilmu Kesehat Kulit dan Kelamin*. 2023;35(2):126–9.
3. Sibero HT, Sirajudin A, Indria Anggraini D. PREVALENSI DAN GAMBARAN EPIDEMI OLOGI AKNE VULGARIS DI PROVINSI LA MPUNG AUTHOR Excluded from Similarity Report Internet database Publications database Crossref database Crossref Posted Content database Bibliographic material Quoted material Cited materia. *JK Unila |*. 2019;3(2).
4. Pambudi DR, Fitriyanti F, Kholilah S, Jamalludin W Bin, Chandra MA. Pengaruh Masa Inkubasi Bakteri *Propionibacterium acnes* terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.). *J Pharmascience*. 2023;10(2):369.
5. Burkhart CG. Assessment of *Cutibacterium acnes*: Acne Biofilm, Comedones, and Future Treatments for Acne. *Open Dermatol J*. 2024;18(1):1–6.
6. Sari L, Jusuf N, Putra I. Bacterial sensitivity pattern to antibiotics in acne vulgaris at Universitas Sumatera Utara Hospital Medan, Indonesia in 2019. *J Gen - Proceed Dermatology Venereol Indones*. 2022;6(1):1–6.
7. Sasebohe VY, Prakasita VC, Adityarini D. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Binahong Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat. *Sciscitatio*. 2023;4(1).
8. Mengga C, Rampe M, Sangande F. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biofarmasetikal Trop*. 2022;5(1):60–5.
9. Bidara C, Umar P, Tinggi S, Kesehatan I, Husada M, Niwelle A. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis*. 2022;2(2).
10. Khairol Razi T, Khiisfanda, Rizarullah. Analysis of Anti-Bacterial Acetivity Test of Binahong Leaves Ethanol Extract Agains Bacteria. 2022;05(2):189–97.
11. Indarto I, Narulita W, Anggoro BS, Novitasari A. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong Terhadap *Propionibacterium Acnes*. *Biosf J Tadris Biol*. 2019;10(1):67–78.