

Uji Potensi Antijerawat Secara *In Vitro* dan *Ex Vivo* dari Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

(Potention Test of Antiacne by *In Vitro* and *Ex Vivo* from Ethanol Extract of Alfalfa Herbs (*Medicago sativa* L.))

ERIKA INDAH SAFITRI^{1*}, RISHA FILLAH FITHRIA¹, EKO WAHYU SAPUTRO¹, DANANG YOGO WIJAYA¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Semarang, Jawa Tengah 50232

Diterima 7 Januari 2021, Disetujui 19 Oktober 2021

Abstrak: Bakteri *Propionibacterium acnes* merupakan salah satu bakteri penyebab jerawat. Permasalahan jerawat dapat dikendalikan dengan tanaman herbal yaitu herba alfalfa. Kandungan flavonoid dalam herba alfalfa berkhasiat sebagai antijerawat. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kadar flavonoid total serta pengujian potensi ekstrak etanol herba alfalfa (EEHA) sebagai antijerawat secara *in vitro* dan *ex vivo* yang diinduksi bakteri *Propionibacterium acnes*. Penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode spektrofotometer dengan pembanding kuersetin. Pengujian ekstrak etanol herba alfalfa secara *in vitro* menggunakan metode difusi cakram pada seri konsentrasi 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%. Sementara itu, pengujian ekstrak secara *ex vivo* menggunakan kelinci yang diinduksi bakteri *Propionibacterium acnes* secara intradermal pada 3 konsentrasi optimal dari uji *in vitro* (50%, 60%, dan 70%). Parameter pengujian ini berupa diameter daerah hambat dan penurunan diameter eritema. Ekstrak etanol herba alfalfa mengandung flavonoid total sebesar 2,323 mgQE/g. Seluruh konsentrasi ekstrak etanol herba alfalfa memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. acnes* dengan rata-rata diameter daerah hambat iradikal masing-masing 14,60 mm; 14,89 mm; 15,56 mm; 16,52 mm; dan 18,59 mm. Persentase rata-rata penurunan diameter eritema secara *ex vivo* pada ekstrak etanol herba alfalfa (50%, 60% dan 70%) secara berturut-turut sebesar 48,70%; 48,26% dan 54,09%.

Kata kunci: Ekstrak etanol herba alfalfa, flavonoid, antijerawat, *in vitro*, *ex vivo*.

Abstract: *Propionibacterium acnes* is one of the bacteria that causes acne. Acne problems can be controlled with herbal plants, namely alfalfa herbs. The content of flavonoids in alfalfa herb is efficacious as an antiacne. This study aimed to determine the total flavonoid content and to test the potency of alfalfa herb ethanol extract (AHEE) as an antiacne *in vitro* and *ex vivo* induced by *Propionibacterium acnes*. Determination of total flavonoid levels using the spectrophotometer method with quercetin comparison. Test of alfalfa herbs ethanol extract by *in vitro* using disk diffusion method in concentration series 40%, 50%, 60%, 70%, and 80%. Meanwhile, test of extract by *ex vivo* using rabbits induced *Propionibacterium acnes* bacteria intradermally in 3 optimal concentration from *in vitro* test (50%, 60%, dan 70%). The parameter of test in the form of zone inhibition and percentage reduction in erythema diameter. Ethanol extract of alfalfa herbs contains total flavonoids of 2,323 mgQE/g. All ethanol extract of alfalfa herbs test concentrations had antibacterial activity against *P. acnes* with an average diameter of the respective iradic inhibitory area 14,60 mm; 14,89 mm; 15,56 mm; 16,52 mm; and 18,59 mm. The average percentage reduction in erythema diameter by *ex vivo* on ethanol extract of alfalfa herbs (50%, 60%, and 70%) were 48.70%, 48.26%, and 54.09%, respectively.

Keywords: ethanol extract of alfalfa herbs, flavonoid, antiacne, *in vitro*, *ex vivo*.

PENDAHULUAN

BAKTERI *Propionibacterium acnes* (*P.acnes*) merupakan bakteri Gram positif anaerob yang dapat menyebabkan terjadinya jerawat melalui proses inflamasi⁽¹⁾. Bakteri tersebut mengeluarkan enzim hidrolitik yang menyebabkan kerusakan folikel polisebasea dan menghasilkan enzim lipase, hialuronidase, protease, lesitinase, dan neurimidase yang memegang peranan penting pada proses peradangan jaringan yang memicu terjadinya jerawat⁽²⁾. Jerawat dapat diterapi dengan menggunakan antibiotik, asam azelat dan retinoid, namun obat-obat ini memiliki efek samping dalam penggunaannya sebagai antijerawat antara lain resistensi antibiotik, iritasi, kerusakan organ dan terjadinya imunohipersensitivitas⁽³⁾. Upaya dalam meminimalkan efek samping tersebut dengan mengembangkan alternatif pengobatan antijerawat menggunakan herbal. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antijerawat adalah herba alfalfa (*Medicago sativa* L.)⁽⁴⁾. Herba alfalfa merupakan tanaman yang berasal dari famili Fabaceae atau kacang-kacangan yang telah terbukti sebagai antiinflamasi dan antibakteri⁽⁴⁾. Herba alfalfa mengandung senyawa alkaloid, isoflavonoid, saponin, kumarin, steroid, karbohidrat dan pektin metilesterase. Kandungan utama dari ekstrak etanol daun dan batang alfalfa adalah flavonoid. Ekstrak etanol herba alfalfa mengandung flavonoid dengan kadar total 8,13 %, alkaloid dengan kadar 48,86 ppm dan kumarin dengan kadar 229,83 ppm⁽⁵⁾. Flavonoid dari golongan flavonol, flavon dan isoflavon potensial sebagai antiinflamasi yang mampu menghambat asam arakhidonat yang akan memproduksi prostaglandin⁽⁶⁾ serta antibakteri dengan merusak dinding sel, menonaktifkan kerja enzim, dan merusak membran sel⁽⁷⁾. Ekstrak etanol herba alfalfa (*Medicago sativa* L.) mengandung flavonoid dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thypi* dan *Klebsiella pneumonia* dengan metode difusi agar sumuran. Ekstrak etanol herba alfalfa mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif atau Gram negatif⁽⁸⁾. Aktivitas antijerawat secara *ex vivo* pada herba alfalfa belum pernah dilaporkan, tetapi pada salah satu penelitian aktivitas krim antijerawat kayu secang secara *ex vivo* terhadap *P. acnes* pada kelinci telah dilakukan⁽⁹⁾. Oleh karena itu, maka dilakukan penelitian ekstrak etanol herba alfalfa terhadap bakteri *P.acnes* secara *in vitro* dan *ex vivo* serta kandungan flavonoidnya.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Herba alfalfa (*Medicago sativa* L.) diperoleh dari Desa Tlatar, Kabupaten Boyolali, Jawa Tengah. Bahan lain diantaranya pelarut etanol 70% (Barataco, teknis), etanol 96% (Brataco, teknis), etanol p.a (Merck), serbuk Mg, larutan HCl pekat, serbuk kuersetin (Sigma), AlCl₃ (Merck), CH₃COOK (Merck), bakteri *P. acnes*, kertas cakram klindamisin (2 µg/disk), dimetilsulfoksida (Merck), larutan NaCl 0,9%, media Mueller Hinton Agar (MHA) (Merck), larutan standar Mc. Farland I (108 CFU/ml), Brain Heart Infusion (BHI), akuades steril.

METODE

Pembuatan Ekstrak Etanol Herba Alfalfa.

Herba alfalfa dipanen, disortasi basah, dan dicuci dengan air mengalir. Herba alfalfa kemudian dikeringkan dengan lemari pengering pada suhu 40°C. Bahan yang sudah kering kemudian disortasi kering dan dicek kadar airnya menggunakan *moisture balance*. Persyaratan kadar air pada simplisia yaitu < 10%. Herba alfalfa yang memenuhi syarat kadar air kemudian diserbuk dan diayak dengan ayakan 40 mesh. Serbuk simplisia sebanyak 850 gram dimaserasi dengan etanol 70% dengan perbandingan antara simplisia dan pelarut sebesar 1:10. Proses ekstraksi terbagi menjadi 2 yaitu proses maserasi dengan 75% dari total pelarut selama 3 hari dan remaserasi dengan 25% dari total pelarut selama 2 hari. Kedua proses tersebut sambil dilakukan pengadukan 2 kali sehari selama 15 menit tiap kali pengadukan. Filtrat hasil maserasi dan remaserasi dicampurkan dan dienapkan selama 24 jam. Filtrat diuapkan dengan penguap vakum putar pada suhu 55°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak disimpan dalam botol gelap dan disimpan dalam desikator yang dilengkapi silika gel yang sudah diaktifkan sebelum digunakan untuk uji selanjutnya⁽¹⁰⁾.

Identifikasi Senyawa Flavonoid. Ekstrak etanol herba alfalfa ditimbang 50 mg dilarutkan dengan etanol 70% sebanyak 1 ml dan diaduk hingga homogen. Ekstrak diuapkan dan ditambahkan etanol 96% sebanyak 1 mL. larutan ekstrak ditambahkan serbuk Mg sebanyak 100 mg, lalu diberikan 3 tetes larutan HCl pekat. Perubahan warna kuning, *orange*, merah atau biru menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid⁽¹¹⁾.

Penetapan Kadar Flavonoid. Penetapan kadar flavonoid ekstrak etanol herba alfalfa diawali dengan melakukan penentuan panjang gelombang maksimal, *operating time*, dan kurva baku dengan pembanding kuersetin. Seri konsentrasi kuersetin yang digunakan untuk penentuan kurva baku yaitu (2, 4, 6, 8, 10, 12) ppm. Ekstrak etanol herba

alfalfa ditimbang sebanyak 125 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a secukupnya dengan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 300 rpm hingga terlarut sempurna. Larutan ekstrak dimasukkan dalam labu takar ad etanol p.a 50 ml. Larutan ekstrak diambil 1000 µL ditambahkan AlCl₃ 10 % sebanyak 200 µL dan CH₃COOK 1 M sebanyak 200 µL. Absorbansi dibaca pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 429,5 nm dan operating time yang telah diperoleh yaitu 25 menit. Penetapan kadar flavonoid dilakukan replikasi 3 kali⁽¹²⁾.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (EEHA) Secara *In Vitro*. Media MHA dituang ke dalam cawan petri hingga media memadat, kemudian suspensi bakteri sebanyak 50 µL dituangkan di permukaan media dan diratakan menggunakan *spiner*. Kontrol negatif (DMSO 50%) dan seluruh konsentrasi larutan uji EEHA 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80% diteteskan 10 µL pada masing-masing kertas cakram yang telah ditempelkan pada permukaan media dan didiamkan 10 menit agar larutan uji menyebar secara merata pada kertas cakram. Kontrol positif (cakram klindamisin 2 µg/disk) ditempelkan pada permukaan media yang sudah diberi suspensi bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, DDH yang terbentuk ditandai dengan zona jernih di sekitar kertas cakram baik yang telah diteteskan larutan uji EEHA, kontrol positif dan kontrol negatif. Zona jernih tersebut diukur menggunakan jangka sorong dan ditentukan dalam satuan milimeter (mm).

Uji Aktivitas Antijerawat Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (EEHA) Secara *Ex Vivo*. Kelinci sebanyak lima ekor diinduksi dengan suspensi bakteri *P. acnes* pada 5 titik lokasi pada punggung yang telah dicukur dengan luas masing-masing (3 x 3) cm². Suspensi bakteri *P. acnes* diinduksikan dengan jalan disuntikkan secara intradermal sebanyak 0,2 mL. Hewan uji didiamkan selama 24 jam sampai timbul jerawat. Setelah jerawat muncul, kemudian dilakukan pengolesan pada masing-masing area pada punggung kelinci dengan larutan klindamisin 2%, DMSO 50%, serta EEHA 50%, 60%, dan 70% sebanyak 1 mL setiap hari (2 kali pengolesan yaitu pagi dan malam) selama 15 hari. Parameter yang diamati adalah area inflamasi dan kemerahan pada area uji. Diameter eritema

diamati dan diukur hari ke-1 dan hari ke-15. Tanda-tanda kesembuhan pada kelinci berupa kulit yang tidak kemerahan, tidak mengalami pembengkakan dan beberapa pada jerawat kelinci tidak terdapat nanah. Penurunan diameter eritema dihitung dengan rumus yaitu, diameter eritema hari ke-1 setelah induksi dikurangi diameter eritema hari ke-15 setelah perlakuan. Penurunan diameter eritema dibuat dalam bentuk persen setiap kelompok perlakuan.

Analisis Data. Data berupa diameter daya hambat dan penurunan diameter eritema dianalisis secara statistik menggunakan uji Anova satu jalan dilanjutkan uji *Post Hoc Tukey* dengan taraf kepercayaan 95%⁽¹³⁾. Sementara itu, kadar flavonoid total dianalisis dengan memplotkan nilai absorbansi pada persamaan regresi linier kemudian kadar flavonoid dihitung dengan rumus⁽¹⁴⁾:

$$\text{Kadar flavonoid} = \frac{C \times V \times Fp}{m}$$

Keterangan :

C : konsentrasi flavonoid (ppm)

V : volume sampel (ml)

Fp: faktor pengenceran

m : berat ekstrak (g)

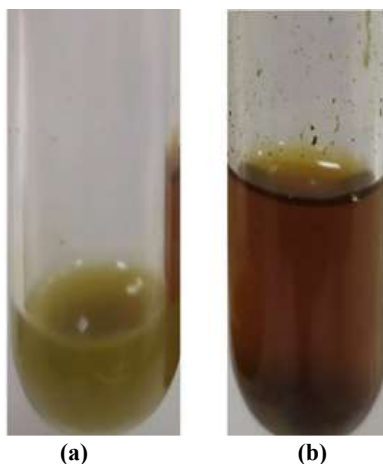
HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Etanol Herba Alfalfa. Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar tanaman alfalfa (*Medicago sativa* L.) sesuai hasil determinasi yang dicocokkan dengan kunci-kunci determinan⁽¹⁵⁾. Simplisia herba alfalfa yang diperoleh sebanyak 0,855 kg dari 2,535 kg herba alfalfa segar dengan rendemen 33,73%. Kadar air herba alfalfa sebesar 6,7% sehingga dapat dikatakan kadar airnya memenuhi syarat untuk dilanjutkan tahap maserasi. Ekstrak etanol herba alfalfa yang diperoleh setelah dikentalkan sebanyak 135,5 gram dengan rendemen sebesar 15,94%. Hasil rendemen tersebut tidak jauh berbeda dengan penelitian Susilowati yang menghasilkan rendemen 13,04%. Ekstrak etanol herba alfalfa memiliki tekstur yang kental, berwarna hijau kehitaman dan berbau khas. Tampilan ekstrak etanol herba alfalfa dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tampilan ekstrak etanol herba alfalfa

Identifikasi Senyawa Flavonoid. Ekstrak diidentifikasi senyawa flavonoidnya menggunakan uji Shinoda karena penggunaan reaksi HCl pada uji ini dapat mendeteksi secara spesifik melalui pembentukan kompleks tahan asam dengan gugus hidroksi (C3 atau C6) dan keton serta pembentukan kompleks tidak tahan asam dengan gugus orto-dihidroksil⁽¹⁶⁾. Ekstrak etanol herba alfalfa menunjukkan hasil positif flavonoid dengan menghasilkan warna merah kecoklatan (Gambar 2). Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung dua cincin aromatik dengan gugus hidroksi lebih dari satu. Serbuk Mg dan HCl pekat akan mereduksi inti benzopiron dari flavonoid sehingga terbentuk garam flavilum berwarna merah jingga⁽¹⁷⁾. Penambahan HCl pada uji senyawa flavonoid dapat menghidrolisis O-glikosil yang akan menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya. Glikosil akan tergantikan oleh H⁺ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik⁽¹⁸⁾.

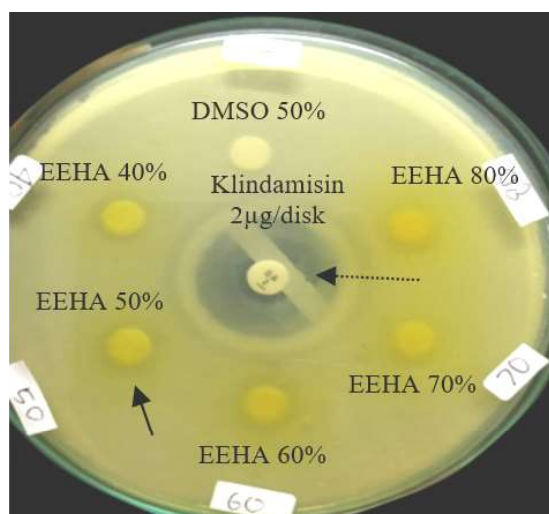


Gambar 2. Hasil uji kandungan senyawa flavonoid dengan uji Shinoda: EEHA + etanol 96% (a); EEHA + etanol 96% + serbuk Mg + HCl pekat (b)

Penetapan Kadar Flavonoid. Prinsip penetapan kadar flavonoid ini adalah terjadinya pembentukan kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keton pada atom C4 dan gugus hidroksi pada atom C3 atau C5 yang berdampingan dari golongan flavon dan flavonol. Kuersetin digunakan sebagai pembanding karena kuersetin merupakan flavonoid yang mempunyai gugus keton pada atom C4 dan gugus hidroksi pada atom C3 atau C5⁽¹⁹⁾.

Penetapan kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol herba alfalfa dilakukan pada panjang gelombang 429,5 nm dengan operating time selama 25 menit. Kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol herba alfalfa sebanyak $2,323 \pm 0,264$ mgQE/gram. Kadar tersebut dapat dikatakan sedikit untuk suatu golongan senyawa aktif. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil uji kandungan senyawa kimia pada herba alfalfa mengandung flavonoid, fitoestrogen, kumarin dan glikosida jantung. Senyawa flavonoid yang ada dalam ekstrak etanol herba alfalfa merupakan senyawa yang diketahui memiliki banyak aktivitas biologis seperti antibakteri dan antiinflamasi⁽²⁰⁾. Hasil pengujian kadar flavonoid secara kuantitatif ini dapat dikembangkan lebih lanjut untuk membuktikan potensi ekstrak etanol herba alfalfa sebagai dasar penelitian antijerawat secara *in vitro* maupun *ex vivo*.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (EEHA) Secara *In Vitro*. Uji aktivitas antibakteri secara *in vitro* menggunakan 2 kontrol yaitu cakram klindamisin 2 μ g/disk sebagai kontrol positif dan DMSO 50% sebagai kontrol negatif. Kontrol positif digunakan untuk memastikan validitas proses uji aktivitas antibakteri, sedangkan kontrol negatif digunakan pada uji aktivitas untuk memastikan bahwa pelarut bahan uji tidak memiliki aktivitas antibakteri, sehingga dapat dipastikan bahwa DDH yang terbentuk dari larutan uji karena senyawa yang terkandung dalam EEHA, bukan berasal dari pelarut yang digunakan. Pelarut DMSO juga merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar dengan baik dan tidak mempunyai aktivitas antibakteri pada uji difusi⁽²¹⁾. Ekstrak etanol herba alfalfa menghasilkan daya hambat yang bersifat iradikal pada *P. acnes*. Zona hambat iradikal hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri saja, tidak sampai membunuh bakteri tersebut. Zona iradikal ditandai dengan daerah yang tidak terlalu jernih di sekitar kertas cakram larutan uji karena masih ada bakteri yang dapat tumbuh pada zona tersebut. Sementara itu, zona hambat dari klindamisin menunjukkan zona radikal yang jernih disekitar cakupannya. Tampilan hasil uji aktivitas antibakteri EEHA terhadap *P.acnes* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Tampilan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba alfalfa terhadap *Propionibacterium acnes*
Keterangan : —→ zona iradikal; —→ zona radikal

Aktivitas antibakteri suatu zat dipengaruhi oleh faktor-faktor diantaranya konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa metabolit, daya difusi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat. Berdasarkan hasil pengukuran DDH yang tertera pada Tabel I menunjukkan bahwa seluruh seri konsentrasi ekstrak etanol herba alfalfa memiliki nilai DDH yang berbeda secara signifikan terhadap kontrol negatif ($p < 0,05$) artinya EEHA memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. acnes* secara *in vitro*, sedangkan EEHA seluruh konsentrasi terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif ($p < 0,05$) artinya kontrol positif memiliki aktivitas

antibakteri yang lebih besar dibandingkan dengan EEHA secara *in vitro*. Sementara itu, ekstrak etanol herba alfalfa konsentrasi 40% memiliki aktivitas antibakteri yang berbeda secara signifikan dengan konsentrasi lain (60, 70, 80)% ($p < 0,05$), tetapi sebanding aktivitas antibakterinya dengan konsentrasi 50% ($p > 0,05$). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba alfalfa konsentrasi 50% berbeda secara signifikan dengan konsentrasi (60, 70, 80)% ($p < 0,05$).

Klindamisin merupakan zat antibakteri murni sehingga sudah terbukti sangat berpotensi dalam membunuh bakteri *P. acnes* yang ditunjukkan terbentuknya zona radikal di sekitar cakram klindamisin, sedangkan EEHA berupa ekstrak kasar yang masih mengandung bahan organik lain selain senyawa aktif antibakteri. Bahan organik lain yang diduga masih terdapat dalam ekstrak etanol herba alfalfa yaitu resin yang merupakan zat pengotor sehingga dapat mengganggu senyawa aktif dalam ekstrak dalam menghasilkan aktivitas antibakteri⁽²²⁾.

P. acnes merupakan bakteri gram positif yang memiliki struktur dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid (1-4 %) dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat). Asam teikoat merupakan polimer yang larut dalam air, yang berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar atau masuk. Sifat larut air tersebut yang menunjukkan bahwa dinding sel bakteri gram positif bersifat lebih polar sehingga lebih sukar ditembus oleh senyawa antibakteri yang bersifat non polar. Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri terhadap

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba alfalfa terhadap *Propionibacterium acnes* secara *in vitro* Menggunakan Metode Difusi Cakram

Perlakuan	Rata-rata DDH \pm SD (mm)	Tipe zona
EEHA 40%	14,60 \pm 0,261	Irakikal
EEHA 50%	14,89 \pm 0,236	Irakikal
EEHA 60% ^b	15,56 \pm 0,300	Irakikal
EEHA 70% ^b	16,52 \pm 0,368	Irakikal
EEHA 80% ^b	18,59 \pm 0,311	Irakikal
DMSO 50% ^a	-	-
Klindamisin 2 μ g/disk	20,54 \pm 0,420	Radikal

Keterangan :

EEHA = ekstrak etanol herba alfalfa

(-) = Tidak ada diameter daerah hambat

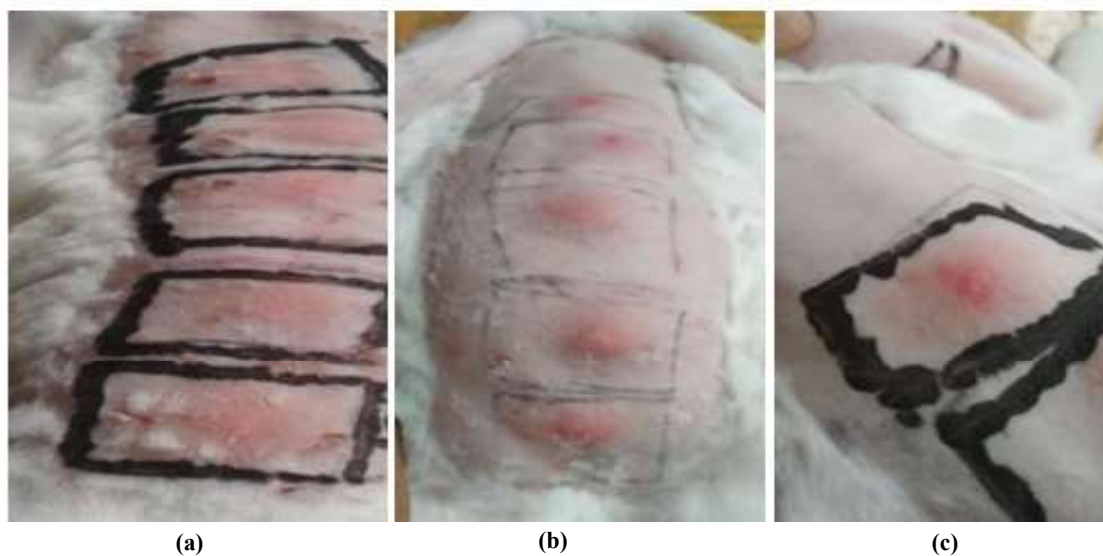
(a) = $p < 0,05$, berbeda signifikan terhadap seluruh seri konsentrasi EEHA dan kontrol positif

(b) = $p < 0,05$, berbeda signifikan terhadap EEHA konsentrasi 40% dan 50%

Propionibacterium acnes dari gugus alkohol pada flavonoid yang bereaksi dengan dinding sel bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino sehingga dinding sel rusak dan senyawa tersebut masuk ke inti sel bakteri. Inti sel bakteri akan lisis dan mati karena DNA pada inti sel kontak dengan senyawa ini dengan adanya perbedaan kepolaran pada gugus alkohol dan lipid penyusun DNA pada senyawa flavonoid terjadi reaksi kerusakan pada struktur lipid dari DNA⁽²³⁾.

Uji Aktivitas Antijerawat Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (EEHA) Secara Ex Vivo. Uji aktivitas antijerawat secara *ex vivo* diawali dengan injeksi suspensi bakteri *P.acnes* secara intradermal sebanyak 0,2 ml. Kulit kelinci mengalami udem dan inflamasi sesaat setelah injeksi suspensi bakteri.

Inflamasi yang terjadi setelah induksi diakibatkan karena suspensi bakteri *P. acnes* menghasilkan enzim lipase yang menjadi mediator untuk merubah trigliserida menjadi asam lemak bebas. Asam lemak bebas menjadi media yang baik untuk pertumbuhan bakteri sehingga jumlah bakteri akan bertambah dan menyebabkan inflamasi jaringan⁽²⁴⁾. Kulit yang mengalami inflamasi akibat adanya infeksi bakteri akan memicu timbulnya jerawat setelah 24 jam pemberian induksi bakteri tersebut. Tampilan kulit kelinci pada proses induksi bakteri *P.acnes* dapat dilihat pada Gambar 4.

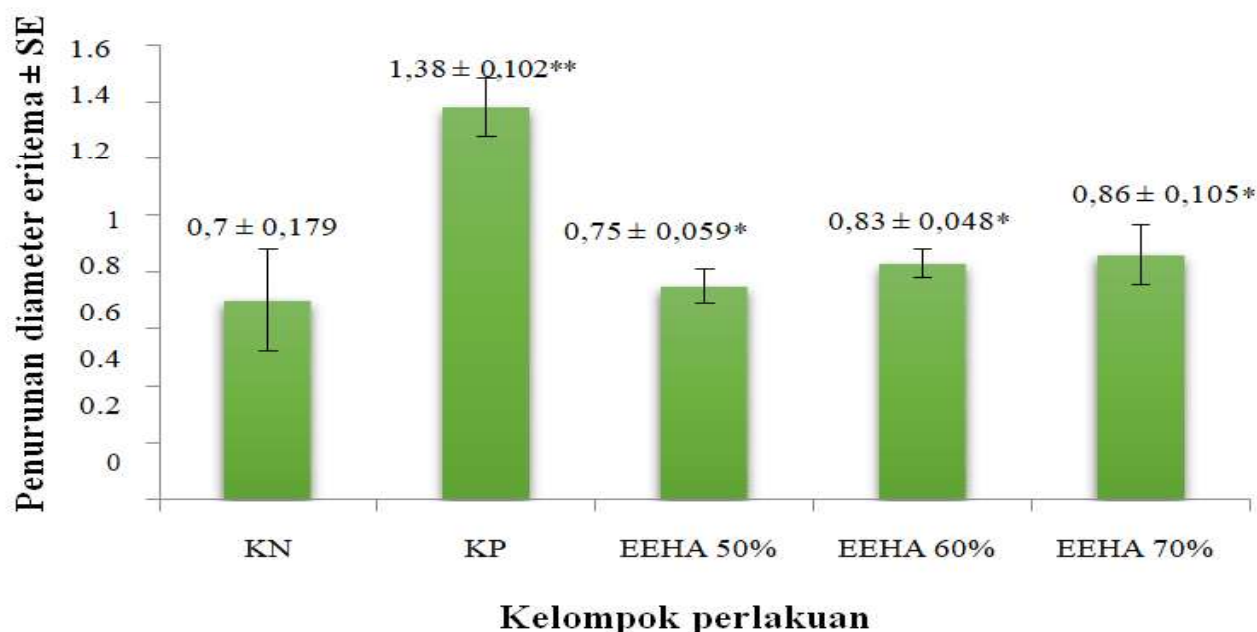


Gambar 4. Tampilan uji aktivitas antijerawat secara *ex vivo* (a) Permukaan kulit kelinci normal (sebelum diinduksi), (b) Udem dan kemerahan sesaat setelah diinduksi suspensi *P. acnes*, (c) timbulnya jerawat setelah 24 jam diinduksi suspensi bakteri *P.acnes* (0,2 ml)

Berdasarkan anatomi dan fisiologi, kulit normal mengalami pergantian kulit berkisar antara 14-21 hari sehingga pengujian antijerawat secara *ex vivo* dilakukan 15 hari untuk memperoleh hasil yang optimal⁽²⁵⁾. Kulit yang mengalami proses penyembuhan jerawat dapat dilihat dengan tanda tidak kemerahan, tidak mengalami pembengkakan dan beberapa pada jerawat kelinci tidak terdapat nanah.

Persentase rata-rata penurunan diameter eritema pada EEHA (50%, 60% dan 70%) secara berturut-turut sebesar 48,70%; 48,26% dan 54,09%. Potensi antijerawat ekstrak etanol herba alfalfa pada konsentrasi 50%, 60% dan 70% berbeda tidak signifikan jika dibandingkan antar konsentrasi

($p > 0,05$) artinya potensi EEHA pada konsentrasi rendah sebanding dengan konsentrasi yang lebih tinggi (Gambar 5). Ekstrak etanol herba alfalfa belum optimal dalam mengurangi eritema pada kulit kelinci yang mengalami jerawat. Hal tersebut dapat dikarenakan konsentrasi flavonoid dalam ekstrak terlalu kecil sehingga potensinya sebagai antijerawat tidak optimal. Herba alfalfa yang diekstraksi dengan etanol 70% diduga lebih banyak flavonoid yang bersifat lebih polar dibandingkan non polar. Sementara itu, susunan kulit yang terdiri atas lapisan lemak, dimungkinkan akan lebih sulit ditembus oleh senyawa yang memiliki sifat polar, salah satunya flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol herba alfalfa.



Gambar 5. Grafik rata-rata penurunan diameter eritema kelinci pada uji antijerawat secara *ex vivo* (\pm SE)

Keterangan :

* : terdapat perbedaan yang tidak signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif ($p > 0,05$)

** : terdapat perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$)

SIMPULAN

Ekstrak etanol herba alfalfa mengandung senyawa flavonoid sebesar $2,323 \pm 0,264$ mgQE/gram dan memiliki potensi sebagai antijerawat yang disebabkan oleh bakteri *Propionibacterium acnes* meskipun efek yang dihasilkan belum optimal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis sampaikan kepada pihak-pihak yang terlibat dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Brzuszkiewicz, E., January, W., Antje, W., Andrea, T., Jennifer, H., Hans, B. L., Mogens, K., Gerhard, G., Rolf, D., Hans, J. M., Thomas, F. M., dan Holger, B. Comparative Genomics and Transcriptomics of *Propionibacterium acnes*, Plos One, 2011, 6(6):1-13.
2. Tunnisa, M., Mulqie, L., dan Hajar, S., 20Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Kentang (*Solanum tuberosum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* [skripsi]. Bandung : Fakultas Farmasi Universitas Islam Bandung; 2015. hal. 24
3. Dewi, D. N. S. Aktivitas Antibakteri Minyak

Atsiri Batang Sereh (*Cymbopogon citratus*) terhadap *Propionibacterium acnes* Secara *In vitro* [skripsi]. Jawa Timur: Fakultas Kedokteran Universitas Jember. 2015. hal. 54

4. Karimi, E., Oskoueian, E., Oskoueian, A., Omidvar, V., Hendra, R., Nazeran, H. Insight Into the Functional and Medicinal Properties of *Medicago Sativa* (Alfalfa) Leaves Extract. Journal of Medicinal Plants Research. 2013. 7(7):290-297
5. Susilowati, S., Nuria, M.C., dan Budiarti., A. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (*Medicago sativa* L.), Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik, 2014, 9 (2):738-741.
6. Madeswaran, A., Umamaheswari, M., Asokkumar, K., Sivashanmugam, T., Subhadradevi, V., Jagannath, P. Discovery of Potential Cyclooxygenase Inhibitors Using in Silico Docking Studies. J.Pharmacol. 2011, 7:21-27.
7. Osuntokun, O.T., Jemilaiye, T.A., and Akele, E.O. Antimicrobial Properties, Phytochemical Composition, and Phenotypic Resistance Pattern of Selected Enteropathogenic Microorganism in *Ageratum conyzoides* (Goat Weed) Leaf Extract, Intl. Res. J. Microbiol. 2018. 7(2):18-28
8. Doss, A., Parivuguna, V., Vijayanthi, M., and Surendran, S. Antibacterial Evaluation and Phytochemical Analysis of *Medicago sativa* L. Against Some Microbial Pathogens, Indian Journal

- of Science and Technology, 2011, 4(5):550-552.
9. Sa'diah, S., Darusman, L.K., Triwahyuni, W., dan Batubara, I., Efektivitas Krim Anti Jerawat Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Terhadap *Propionibacterium acnes* pada Kulit Kelinci, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 2013, 11(2):175-181.
 10. Depkes RI. Cara Pembuatan Simplisia, Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1985. p. 11.
 11. Depkes RI. *Materia Medika Indonesia*, Jakarta : Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan; 1995. P. 337.
 12. Puspitasari, A.D., dan Wulandari, R. L. Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etil Asetat Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Pharmascience*. 2017. 4(2):167-175.
 13. Jangnga, I.D., Kabaya, P.P., dan Kosala, K. Uji Aktivitas Antibakteri dan Analisis Bioautografi Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap *Enterococcus faecalis* secara *In Vitro*. *ODONTO Dental Journal*. 2018. 5(2):104-105.
 14. Samin, A., Ahmad, Bialangi, dan Salimu. Penentuan Kandungan Fenolik Total dan Aktivitas Antioksidan dari Rambut Jagung (*Zea mays* L.) yang Tumbuh di Daerah Gorontalo [skripsi]. Gorontalo : Fakultas Matematika dan IPA Universitas Negeri Gorontalo; 2013. hal. 57
 15. Backer and Van Den Brink. *Flora of Java* Volume I, II, III, Netherland : Woilters Noordhoff, Groningen; 1968. p. 313.
 16. Markham, K.R. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Bandung : Institute Teknologi Bandung Press; 1988. 5-6.
 17. Ergina., Nuryanti, S., dan Puspitasari, I.D., Uji Kualitas Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol. *J. Akad. Kim.* 2014. 3(3):169.
 18. Ikalinus, R., Widyastuti, S.K., dan Setiasih, N.L.E. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*. 2015. 4(1):76.
 19. Azizah, D.N., Kumolowati, E., dan Faramayuda, F. Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl₃ pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2014. 2(2):45-49.
 20. Panche, A.N., Diwan, A.D., and Chandra, S.R. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*. 2016. 5:47.
 21. Brito, R. C., Silva, D.G.N., Farias, T.C., and Ferreira, S. B. Standarization of The Safety Level of The Use of DMSO in Viability Assays in Bacterial Cells. *International Conference Series on Multidisciplinary Science*. 2017. 3:1-6.
 22. Huda, C., Putri, A.E., dan Sari, D.W. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi dari Maserat *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal SainHealth*. 2019. 3(1):7-12.
 23. Mukti, D. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charatia* L.) Terhadap *Streptococcus mutans* Penyebab Karies Gigi [skripsi]. Jawa Barat : Universitas Pakuan Bogor; 2012. hal. 26.
 24. Beylot, C., Auffret, N., Poli, F., Claudel, J.-P., Leccia, M.-T., Giudice, P. Del., and Dreno, B. *Propionibacterium acnes*: an update on its role in the pathogenesis of acne. *Journal of European Academy of Dermatology Veneorology*. 2013. 28(3):271-278.
 25. Angraini, L., Rostamailis., dan Minerva, P., Pengaruh Pemanfaatan Lulur Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Pencerahan Kulit Badan, Sumatra Barat : Fakultas Teknik Jurusan Kesejahteraan Keluarga Program Studi Pendidikan Tata Rias Dan Kecantikan. 2015. hal. 7.