

Potensi Antibakteri Senyawa Etil Para Metoksi Sinamat Terhadap Bakteri Jerawat

I. M. Kusuma¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional

Email: imaruya@yahoo.com

ABSTRAK

Faktor penyebab jerawat meliputi: hiperpoliferasi epidermis folikuler, produksi sebum berlebih, inflamasi dan aktivitas *P.acne*. Berdasarkan terapeutik, penggunaan antibiotik adalah bentuk pengobatan yang paling efektif. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri *P.acne in vitro* menggunakan Ethil Para Metoksi Sinamat (EPMS). Penelitian ini termasuk penelitian eksperimen, diawali dari senyawa EPMS yang diisolasi dari rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L) diuji dengan KLT, DSC dan FTIR, kemudian evaluasi uji aktivitas antibakteri menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan analisis SPSS, tingkat kepercayaan 99% ($p < 0,01$) dan dilanjutkan uji ANOVA dengan metode difusi cakram dan dilusi cair untuk menentukan KHM. Pada uji *in vitro* menggunakan 4 konsentrasi; yaitu: 0,3; 0,6; 1,2 dan 2,4%, kontrol positif (klindamisin) dan kontrol negatif (aquades dan 30% DMSO). Sedangkan metode dilusi menggunakan konsentrasi yang sama, dengan kontrol media, bakteri dan pelarut. Penelitian dilakukan di Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia dan Universitas Yarsi Jakarta. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Hasil uji ANOVA pada setiap konsentrasi diuji terhadap bakteri *P.acne* dengan konsentrasi 0,3; 0,6; 1,2 dan 2,4% memperoleh hasil yang berbeda secara signifikan ($p < 0,01$) dengan zona masing-masing, 9,00; 11.50; 14.50; Dan 16.00 mm dengan kriteria menengah-kuat. Zona yang jelas pada *klindamycin* adalah 33,00 mm. Senyawa EPMS dengan konsentrasi 0,6; 1,2 dan 2,4% ditemukan memiliki KHM melawan bakteri *P.acne*. Pada penelitian ini perlu dilakukan uji potensi antibakteri senyawa EPMS terhadap bakteri *S. epidermidis* yang juga merupakan bakteri penyebab jerawat.

Katakunci: Antibakteri, EPMS, *P.acne*, Difusi, Dilusi

ABSTRACT

Acne causing factors include: hyperproliferation of follicular epidermis, excess sebum production, inflammation and *P.acne* activity. Based on therapeutics, the use of antibiotics is the most effective form of treatment. The research aims to test the antibacterial activity of *P.acne in vitro* uses ethyl para methoxy cinnamate (EPMS). The research included experimental research, beginning with EPMS compound isolated from kencur rhizome (*Kaempferia galanga* L) was tested using TLC, DSC and FTIR, then evaluation of antibacterial activity test using complete randomized design (RAL) with SPSS analysis 99% confidence level ($p < 0,01$) and continued ANOVA test using disc diffusion method and liquid dilution to determine KHM. In vitro test used 4 concentrations, 0.3; 0.6; 1.2 and 2.4%, positive control (clindamycin) and negative control (aquades and 30% DMSO). While the dilution method uses the same concentration with the media disc, bacteria and solvent. The research was conducted at the Faculty of Pharmacy, University of Indonesia and Yarsi University Jakarta. From this research it can be concluded that ANOVA test results at each concentration were tested against *P.acne* bacteria with concentration 0.3; 0.6; 1.2 and 2.4% obtained significantly different results ($p < 0.01$) with their respective zones, 9.00; 11.50; 14.50; and 16.00 mm with medium-strength criteria. The clear zone on clindamycin is 33.00 mm. EPMS compounds with concentrations of 0.6; 1.2 and 2.4% were found to have KHM against *P.acne* bacteria. In this research, it is necessary to test the antibacterial potency of EPMS compound against *S. epidermidis* bacteria which is also the cause of acne bacteria.

Keywords: Antibacterial, EPMS, *P.acne*, Diffusion, Dilution

PENDAHULUAN

Gangguan jerawat umumnya terjadi pada masa remaja, baik pada laki-laki atau pada perempuan yang berkisar antara 47-90%. Meskipun tidak mengancam jiwa, namun gangguan jerawat dapat mempengaruhi kualitas hidup dan dapat memberikan dampak sosial ekonomi bagi penderitanya. Berdasarkan patogenesisnya faktor penyebab jerawat antara lain: hiperpoliferasi epidermis folikel, produksi sebum berlebih, inflamasi dan aktivitas *P.acne*. Sehingga berdasarkan terapeutiknya, penggunaan obat topikal sebagai antibiotik merupakan salah satu bentuk pengobatan yang paling efektif pada jerawat jika dibandingkan dengan

pengobatan antikomedo dan antiinflamasi (Movita, 2013).

Tanaman yang telah banyak diteliti memiliki khasiat antibakteri salah satunya adalah rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) yang memiliki senyawa identitas etil para metoksi sinamat (EPMS). Aktivitas antibakteri dari rimpang kencur (*Kaempferia galanga*) diketahui berasal dari senyawa etil para metoksi sinamat (EPMS). Ekstrak rimpang kencur sebagai antibakteri telah diteliti pada bakteri *S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *M. tuberculosis*, *V. cholera*, *V. parahaemolyticus*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa* dan *S. typhi* [2]. Ekstrak etanol rimpang kencur sebagai antibakteri *S. aureus* juga telah

dilaporkan dengan zona hambat tertinggi ($21,3 \pm 0,08$) (Kochuthressia, 2012).

Antibiotik sintesis yang telah banyak digunakan dalam pengobatan jerawat salah satunya adalah *clindamycin*, antibiotik ini dianggap paling efektif dalam pengobatan jerawat dibandingkan dengan *erythromycin* dan *tetracycline*. Namun penggunaan *clindamycin* jangka panjang memunculkan strain *P. Acnes* yang resistan terhadap *clindamycin*. Dan penggunaan *clindamycin* sebagai obat jerawat topikal yang digunakan dalam waktu panjang mulai diragukan (Nugroho, 2013). Sehingga penelitian terhadap alternatif antibiotik yang berasal dari bahan alami sebagai terapi jerawat menjadi berkembang lebih luas.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi aktivitas antibakteri dan KHM senyawa etil para metoksi sinamat (EPMS) dari rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) terhadap *P.acne* secara *in vitro*, dibandingkan dengan kontrol positif yaitu antibiotik sintesis *clindamycin* yang biasa digunakan sebagai pengobatan jerawat secara topikal.

METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai April 2014 di Fakultas Farmasi Universitas Indonesia meliputi: proses persiapan simplisia, ekstraksi, isolasi dan uji karakteristik EPMS. Kemudian dilanjutkan uji mikrobiologi difusi cakram dan dilusi cair di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Yarsi. Jenis penelitian yang digunakan termasuk kedalam jenis penelitian eksperimen, menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan analisis SPSS tingkat kepercayaan 99% ($p < 0,01$) dan dilanjutkan uji ANOVA pada uji aktivitas antibakteri secara *in vitro*.

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini meliputi: Uji karakteristik EPMS menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk menentukan nilai *Rf*, *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) untuk membandingkan antara EPMS sampel dengan titik leleh EPMS standar, dan analisis struktur digunakan spektrofotometer IR untuk dibandingkan antara EPMS sampel dengan struktur EPMS standar. Dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri dan Kadar Hambat Minimum (KHM) dengan metode difusi cakram dan dilusi cair.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari-April 2014, dengan beberapa tahap meliputi: determinasi, persiapan simplisia, pembuatan ekstrak, pemurnian kristal EPMS, uji karakteristik EPMS dan dilanjutkan dengan uji mikrobiologi.

Determinasi dan Penyiapan Simplisia Rimpang Kencur

Rimpang kencur (umur 10-12 bulan) diperoleh dari kebun tanaman obat, Bogor dideterminasi di Herbarium Bogoriense LIPI Bogor. Kemudian rimpang kencur dicuci, dikering anginkan sampai kulit tidak basah. Kemudian dihilangkan kulit arinya, diiris dengan irisan melintang ketebalan 2-5 mm, dikeringkan selama

4 hari dan diserbuk serta diayak dengan ayakan no. 40 (Siswanto, 2010).

Ekstraksi Rimpang Kencur

Ekstrak rimpang kencur diperoleh dari hasil metode maserasi dengan pelarut heksan. Pada penelitian ini maserat yang terkumpul disaring dengan kertas saring dan dievaporasi pada suhu 48°C . Hasil evaporasi kemudian didiamkan pada suhu ruang, di dalam vial-vial hingga terbentuk kristal yang masih berwarna kekuningan dan pelarutnya habis menguap.

Pemurnian Kristal

Kristal yang berwarna kekuningan, kemudian direkristalisasi dengan sedikit heksan sebanyak 4 kali. Filtrat kemudian didiamkan pada suhu kamar hingga pelarutnya habis menguap. Proses rekristalisasi dilakukan hingga kristal yang diperoleh murni.

Karakterisasi EPMS

Uji karakterisasi kristal EPMS dilakukan melalui beberapa tahapan antara lain: kromatografi lapis tipis (KLT) dengan tujuan untuk memisahkan senyawa yang terkandung dalam ekstrak dan dibandingkan antara senyawa EPMS sampel dengan EPMS standar berdasarkan kesamaan harga retensi (*Rf*), uji titik leleh dan kemurnian dengan alat *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) untuk dibandingkan antara EPMS sampel dengan titik leleh EPMS standar, dan analisis struktur digunakan spektrofotometer IR untuk dibandingkan antara EPMS sampel dengan struktur EPMS standar.

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Penentuan senyawa yang terkandung, secara kualitatif digunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Kristal EPMS sampel yang diperoleh dari ekstrak heksan, dan EPMS standar dilarutkan dalam pelarut heksan. Kemudian ekstrak heksan, EPMS sampel dan EPMS standar ditotol pada lempeng KLT G60F254 menggunakan pipa kapiler, dengan perbandingan eluen heksan dan etil asetat yaitu 8:2. Selanjutnya dianalisis secara visual, di bawah lampu UV 254 nm dan setelah disemprot dengan H_2SO_4 10% secara visual.

Uji analisis struktur dengan spektrofotometer IR

Analisis struktur dengan spektrofotometer IR digunakan untuk membandingkan kesamaan antara struktur yang didapat dari EPMS sampel dan EPMS standar literatur. Kesamaan struktur dari kedua senyawa menunjukkan bahwa senyawa tersebut adalah senyawa yang sama.

Uji titik leleh dengan DSC

Uji titik leleh dengan DSC dilakukan untuk memperkuat dugaan bahwa kristal tersebut adalah senyawa EPMS. Nilai titik leleh yang diperoleh dari alat DSC kemudian dibandingkan dengan titik leleh kristal EPMS standar dari literatur. Titik leleh EPMS berkisar antara $48-50^{\circ}\text{C}$ (Setyawan, 2012). Nilai titik

leleh yang sama antara EPMS sampel dan EPMS standar literatur menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut adalah senyawa yang sama.

Uji Antibakteri Sterilisasi Alat

Semua alat yang digunakan dalam uji bakteri seperti: cawan petri, kertas cakram, erlenmeyer, tabung reaksi dan alat gelas lainnya disterilisasi terlebih dahulu pada suhu 180°C dalam oven selama 2 jam, setelah dicuci, dikeringkan dan dibungkus kertas.

Pembuatan Media Agar Darah Brucella

Pembuatan media agar darah Brucella Bubuk agar Brucella sebanyak 43g dilarutkan dalam 1 L aquades dan dipanaskan hingga larut. Kemudian disterilkan dalam autoklaf 121°C. Setelah steril didinginkan hingga suhu menjadi 40-50°C, lalu ditambahkan darah domba 5%, kemudian setelah homogen tuang ke dalam cawan petri dan didiamkan hingga memadat.

Pembuatan media Brain Heart Infusion (BHI)

Timbang 37 g BHI dalam 1 L aquades, kemudian dipanaskan hingga larut. Lalu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C.

Penapisan Bakteri

Larutan karbol kristal ungu 0,5 % (UKK) dituang pada gelas objek yang berisi preparat bakteri, setelah 5 menit didiamkan, preparat dicuci dengan aquades. Kemudian, cairan lugol dituangkan ke dalam preparat selama 45-60 detik lalu dicuci dengan air. Selanjutnya preparat dicelupkan ke dalam bejana yang berisi alkohol 96 % dan digoyang-goyangkan selama 30 detik atau sampai warna bersih lalu preparat dicuci dengan air. Kemudian, air fukhsin dituangkan ke dalam preparat dan dibiarkan selama 1-2 menit, lalu dicuci dengan air dan dikeringkan, lalu diamati dengan mikroskop.

Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan pada bakteri yang akan diuji aktivitasnya. Pada *P. acne*, umur bakteri yang digunakan antara 24-48 jam. Peremajaan bakteri *P. acne* dilakukan pada media Brucella agar darah dengan cara menggores bakteri pada media agar dengan ose. Inkubasi dilakukan dalam kondisi anaerob (anaerobjer) pada suhu 37°C untuk bakteri *P. acne*.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *P. acne* yang digunakan adalah bakteri yang berumur 48 jam. Bakteri diambil menggunakan jarum ose, kemudian disuspensikan dengan larutan NaCl 0,9%. Kekeruhan diukur menggunakan standar 0,5 Mc Farland dari oxoid (1,5 x 10⁸ sel bakteri/ ml).

Penentuan Aktivitas Antibakteri

Uji *in vitro* pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan analisis SPSS

dilanjutkan dengan uji ANOVA pada uji aktivitas antibakteri. Kemudian dilanjutkan dengan penentuan KHM menggunakan metode dilusi cair. Pada metode difusi cakram nilai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. acnes*, ditentukan dengan mengamati zona bening disekitar kertas cakram. Kertas cakram yang digunakan berdiameter 6 mm. Media yang digunakan untuk pembiakan bakteri *P. acnes* adalah *Brucella* agar darah. Media dalam bentuk cair, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril ukuran 20 mL dan didinginkan hingga padat. Konsentrasi EPMS yang digunakan pada penelitian ini adalah 0,3; 0,6; 1,2 dan 2,4%. Cakram klindamisin (oxoid) digunakan sebagai kontrol positif dan aquades dengan 30% DMSO sebagai kontrol negatif. Kertas cakram yang sudah disterilkan kemudian ditetesi larutan EPMS dari ekstrak kencur masing-masing dengan konsentrasi sesuai perlakuan sebanyak 20 µL, dan didiamkan hingga pelarutnya menguap. Pelarut kristal EPMS dilakukan dengan menambahkan aquades dan 30% DMSO. Untuk larutan kontrol positif menggunakan cakram klindamisin dan kontrol negatif ditetesi pelarut aquades dan 30% DMSO. Kemudian setelah pelarut masing-masing menguap, kertas cakram diletakkan diatas permukaan agar dan diinkubasi dalam keadaan posisi terbalik selama 48 jam pada suhu 37°C untuk *P. acnes* dengan kondisi anaerob (dalam anaerobjar). Aktivitas antibakteri diperhitungkan berdasarkan zona bening yang terbentuk dan tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Penentuan KHM dilakukan dengan menggunakan metode dilusi cair. Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri *P. acne* yaitu *Brain Heart Infusion*. Pada pengujian digunakan 3 kontrol negatif diantaranya; kontrol media (2 mL), kontrol bakteri (2 mL media + 10 µL bakteri) dan kontrol pelarut (1 mL media + 1 mL pelarut EPMS + 10 µL bakteri). Konsentrasi EPMS yang digunakan pada metode dilusi cair sama dengan metode difusi cakram yaitu : 0,3; 0,6; 1,2; dan 2,4%. Pada perlakuan, masing-masing tabung berisi konsentrasi EPMS yang telah dilarutkan sebanyak 0,5 mL + 1,5mL media + 10 µL bakteri. Setelah diinkubasi 48 jam untuk bakteri *P. acne*, kemudian diamati tingkat kekeruhan dari tabung. Kekeruhan larutan uji dengan berbagai konsentrasi, kemudian dibandingkan dengan kekeruhan pada kontrol (bakteri dan pelarut). Jika konsentrasi larutan uji dengan kadar terendah terlihat lebih jernih dibandingkan dengan kontrol (bakteri dan pelarut) ditetapkan sebagai nilai KHM.

Analisis data

Data hasil uji aktivitas antibakteri secara *in vitro* diolah dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan analisis SPSS tingkat kepercayaan 99% (p<0,01) dan dilanjutkan uji ANOVA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Senyawa Etil Para Metoksi Sinamat (EPMS)

Ekstrak rimpang kencur yang diperoleh dari pelarut heksan hasil maserasi seberat 37,52 g dengan proses rekristalisasi diperoleh kristal EPMS seberat 11,04 g. dengan rendemen sebesar 0,55% dari serbuk kering rimpang kencur. Hasil rendemen dengan pelarut heksan yang diperoleh lebih kecil jika dibandingkan dengan rendemen yang dihasilkan dari penelitian sebelumnya (Taufikurrohman dkk, 2008). yaitu sebesar 2,11%. Perbedaan rendemen dari kristal EPMS yang diperoleh dapat dipengaruhi oleh jenis, usia dan kondisi lingkungan dari rimpang kencur yang digunakan.

Senyawa etil p-metoksi sinamat (EPMS) merupakan salah satu turunan asam sinamat, termasuk jenis senyawa yang tergolong dalam fenil propanoid, kelompok senyawa fenol yang berasal dari jalur sikimat (Nugraha dkk, 2012). Senyawa fenol memiliki aktivitas antioksidan dan dapat sebagai antimikroba dan antiinflamasi (Umar, 2011).

Uji Karakteristik Senyawa Etil Para Metoksi Sinamat (EPMS)

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pada uji karakteristik senyawa EPMS meliputi uji KLT, Spektrofotometer IR dan DSC. Eluen yang digunakan dalam uji KLT pada fase gerak yaitu dengan perbandingan heksan: etil asetat (8:2). Dari hasil pengamatan dibawah lampu UV 254 nm, spot penotolan tampak lebih jelas dibandingkan dengan penampakan secara visual sebelum dan sesudah disemprot dengan H₂SO₄ 10% (Gambar 1).

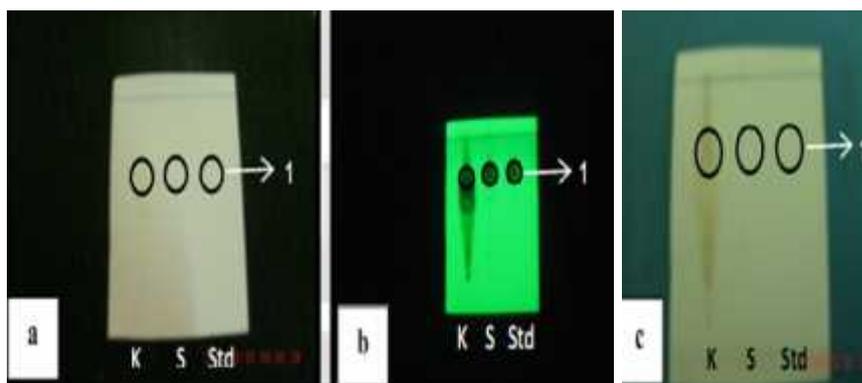
Berdasarkan uji karakteristik EPMS dengan kromatografi lapis tipis (KLT) pengamatan dibawah

lampu UV 254 nm, ketiga spot hasil penotolan pada lempeng KLT dengan fase diam silika G60F254 terlihat adanya kesamaan harga retensi (R_f) yaitu sebesar 0,54 pada ekstrak kencur (K), EPMS sampel (S) dengan EPMS standar (Std) (Gambar 1). Jika diamati berdasarkan spot yang tampak pada EPMS sampel (S) terbentuk spot tunggal yang sama dengan EPMS standar (Std). Ini berarti bahwa senyawa EPMS sampel (S) sudah murni dan diduga senyawa tersebut adalah etil p-metoksi sinamat (EPMS). Namun, pada ekstrak kencur (K) dari hasil KLT masih terlihat adanya beberapa spot yang terbentuk yang menunjukkan bahwa dalam ekstrak kencur (K) masih ada senyawa lain, sehingga dapat dikatakan pada ekstrak kencur (K) spot belum murni.

Analisis struktur menggunakan Spektrofotometer IR.

Berdasarkan hasil pengukuran dan analisis struktur EPMS hasil isolasi menggunakan spektrofotometer IR, dibandingkan dengan EPMS standar diperoleh hasil yang menunjukkan gugus yang sama dan serapan gelombang tidak jauh berbeda yang dapat dilihat pada tabel 1.

Senyawa EPMS memiliki gugus penciri yaitu: aromatik C-H, karbonil ester C=O dan gugus substitusi cincin 1,4 disubstitusi (para). Berdasarkan literatur ketiga gugus tersebut memiliki serapan panjang gelombang secara berturut 2978,09; 1705,07 dan 2036,83-1913,39 cm⁻¹ yang tidak berbeda dengan serapan gelombang pada EPMS sampel 2978,19; 1705,13 dan 2036,90-1909,59 cm⁻¹. Selain itu masih ada kesamaan gugus lain dengan gugus yang ada pada EPMS standar literatur (Tabel 1). Hal ini memperkuat dugaan bahwa senyawa pada sampel adalah senyawa etil p-metoksi sinamat (EPMS).



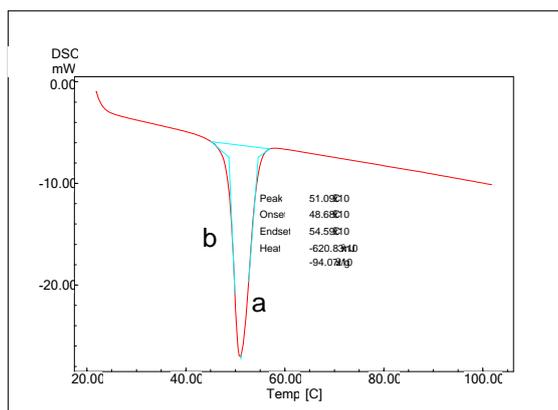
Gambar 1. Profil Kromatografi (a) Visual; (b) UV 254 nm; (c) H₂SO₄ 10%
Keterangan : K : Ekstrak Kencur; S : EPMS Sampel; Std : EPMS Standar

Tabel 1. Interpretasi Data Spektrum IR antara EPMS Hasil Isolasi dan EPMS Standar

Karakteristik	Panjang Gelombang (cm ⁻¹) EPMS	
	Hasil Isolasi	Standar
Gugus = C-H aromatik	2978,19 cm ⁻¹	2978,09 cm ⁻¹
Gugus -C-H alifatik	2933,83 cm ⁻¹	2931,80 cm ⁻¹
Gugus substitusi cincin benzen 1,4 disbtitusi (para)	2036,90-1909,59 cm ⁻¹	2036,83-1913,39 cm ⁻¹
Gugus C=O karbonil ester	1705,13 cm ⁻¹	1705,07 cm ⁻¹
Gugus C=C alkena	1631,83 cm ⁻¹	1627,92 cm ⁻¹
Gugus C=C aromatik	1602,90 cm ⁻¹	1604,77 cm ⁻¹

Uji titik leleh dengan alat *Differential Scanning Calorimetry (DSC)*

Hasil uji titik leleh dengan menggunakan alat DSC menunjukkan bahwa puncak titik leleh dari kristal EPMS sampel 51°C. Jika dibandingkan dengan data literatur, titik leleh dari kristal EPMS standar 48-50°C [6]. Dari hasil pengukuran menunjukkan titik leleh dari EPMS sampel tidak jauh berbeda dengan EPMS data literatur.



Ga

Gambar 2. Termogram dari DSC Kristal EPMS Hasil Isolasi

Pengukuran titik leleh dengan menggunakan alat DSC, kristal EPMS sampel dibandingkan dengan standar -alumina, sehingga membentuk garis lurus b pada termogram (Gambar 2). Terbentuknya satu cekungan dengan puncak a menghadap keatas pada garis lurus b, menunjukkan bahwa senyawa EPMS

Tabel 2. Rerataan Zona Hambat dari Kristal EPMS terhadap Bakteri *P.acne*

Jenis Perlakuan	Rerataan Zona Hambat (mm)	Kriteria Aktivitas Antibakteri
Konsentrasi 0% (kontrol -)	-	-
Konsentrasi 0,3%	9,00	Sedang
Konsentrasi 0,6%	11,50	Kuat
Konsentrasi 1,2%	14,50	Kuat

sampel merupakan senyawa murni dengan proses leleh tipe eksoterm pada suhu 51°C. Jika terdapat pengotor pada sampel yang diuji dengan DSC dapat diketahui dengan terbentuknya beberapa puncak cekungan terhadap garis standar -alumina dan cekungan yang terbentuk tidak runcing pada satu titik.

Respon Aktivitas Antibakteri

Penentuan respon aktivitas antibakteri senyawa EPMS terhadap *P. acne* dilakukan dengan menggunakan difusi cakram dan konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan menggunakan metode dilusi cair.

Metode Difusi Cakram

Aktivitas antibakteri kristal etil para metoksi sinamat (EPMS) yang diuji terhadap bakteri *P. acne*, secara *in vitro* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri kristal EPMS dengan konsentrasi 0,3%; 0,6%; 1,2%; dan 2,4% secara *in vitro*, menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi dari senyawa EPMS memiliki aktivitas daya hambat terhadap bakteri *P.acne*. Rerataan zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 0,3%; 0,6%; 1,2%; dan 2,4% secara berturut adalah 9,00 mm; 11,50 mm; 14,50 mm; dan 16,00 mm. Zona hambat yang terbentuk pada *clindamycin* sebagai obat standar antibakteri jerawat tetap memiliki zona bening paling besar yaitu 33,00 mm. Dari hasil analisis SPSS dan dilanjutkan dengan uji ANOVA dengan menggunakan RAL setiap konsentrasi yang diujikan terhadap bakteri *P.acne* dengan konsentrasi 0,3%; 0,6%; 1,2% dan 2,4% memperoleh hasil yang secara signifikan berbeda nyata ($p < 0,01$).

Konsentrasi 2,4%	16,00	Kuat
Klindamisin	33,00	Sangat Kuat
(kontrol +)		

Keterangan:

kriteria aktivitas antibakteri yaitu: lemah (< 5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-19 mm), sangat kuat (> 20 mm).

Berdasarkan kriteria aktivitas antibakteri zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 0,3% sedang; 0,6% kuat; 1,2% kuat; dan 2,4% kuat (Tabel 2) (Ambarwati, 2007). Dari kriteria tersebut menunjukkan bahwa kristal EPMS dengan konsentrasi 0,3%;

konsentrasi terendah masih membentuk zona hambat yang menandakan adanya aktivitas antibakteri.

Dari hasil pengukuran terhadap aktivitas antibakteri penyebab jerawat yaitu *P.acne*, dengan metode difusi menunjukkan semakin besar konsentrasi EPMS yang diujikan, maka semakin besar aktivitas antibakteri yang dihasilkan. Hal ini ditunjukkan dengan zona bening yang terbentuk disekitar cakram.

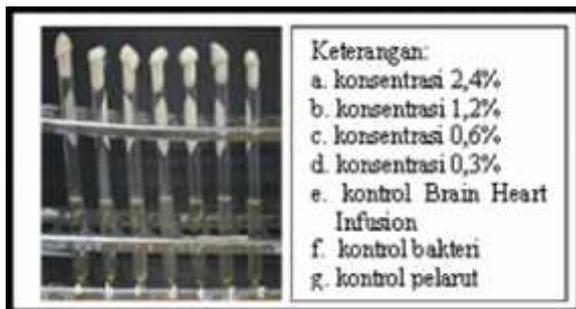
Metode Dilusi Cair

Pengujian dengan metode dilusi dilakukan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM), untuk memperkuat data aktivitas antibakteri. Pada metode dilusi cair, konsentrasi yang diujikan sama dengan pengujian difusi cakram, yaitu konsentrasi 0,3%; 0,6%; 1,2%; dan 2,4% kristal EPMS dibandingkan dengan 3 macam kontrol yaitu: media, bakteri, dan pelarut. Jika diamati berdasarkan hasil pengujian pada bakteri *P.acne*, konsentrasi 0,6%; 1,2%; dan 2,4% terlihat lebih jernih jika dibandingkan dengan konsentrasi 0,3% yang terlihat masih sedikit lebih keruh, yang berarti masih ada sedikit pertumbuhan bakteri *P.acne* (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) EPMS terhadap *P.acne*

Konsentrasi	Aktivitas Hambat
konsentrasi 0,3%	+
konsentrasi 0,6%	-
konsentrasi 1,2%	-
konsentrasi 2,4%	-

Keterangan: ++ : aktif (ada pertumbuhan), + : aktif (sedikit pertumbuhan), - : tidak aktif (tidak ada pertumbuhan).



Gambar 3. Hasil Uji Metode Dilusi pada Bakteri *P.acne*

KESIMPULAN

Senyawa etil para metoksi sinamat (EPMS) dari rimpang kencur terbukti berpotensi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P.acne* penyebab jerawat, dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dianalisis dengan SPSS dan dilanjutkan uji ANOVA secara signifikan memiliki nilai ($p < 0,01$) pada konsentrasi 0,3%; 0,6%; 1,2%; dan 2,4 % secara berturut adalah 9,00 mm; 11,50 mm; 14,50 mm; dan 16,00 mm dengan kriteria sedang-kuat. Senyawa EPMS dengan konsentrasi 0,6%; 1,2%

dan 2,4 % terbukti memiliki konsentrasi hambat minimum (KHM) terhadap bakteri *P.acne*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati. (2007). Efektivitas Zat Antibakteri Biji Mimba (*Azadirachta indica*) untuk Menghambat Pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureu*. *J. Biodiv*, 8, 320-325.
- Kochuthressia, et al. 2012. Antimicrobial Activities of *Kaempferia galangal* Leaf Extract-an In Vitro. *IJBPAS, December, 2012, 1 (11): 1734-1740*.
- Mekseepalard, et al. (2010). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Traditional Thai Herbal Remedies for Aphthous Ulcer. *J. Phytother. Res*, 24, 1514-1519.
- Metoksisinamat Hasil Isolasi Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.). *Seminar Nasional Kimia Unesa. Surabaya*
- Movita, T. 2013. Acne Vulgaris. *Contiuning Medical Education. vol. 40 no. 3, th. 2013*
- Nugroho, R.A. 2013. *Terapi Topikal Clindamisin Dibandingkan dengan Niacinamide + Zinc pada Acne Vulgaris. Skripsi. Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.*
- Nugraha, Siadi dan Sudarmin. (2012). Uji Antimikroba Etil p-Metoksi Sinamat dari Rimpang Kencur terhadap *Bacillus subtilis*. *Indo. J. Chem. Sci. 1, 147-151*.
- Setyawan dkk., 2012. Optimasi Yield Etil P-Metoksisinmat Pada Ekstraksi Oleoresin Kencur (*Kaempferia galanga*) Menggunakan Pelarut Etanol. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan. Vol. 1 No.2 Desember 2012*.
- Siswanto, Rahayu, Utami. (2010). Formulasi Krim Tabir Surya Ekstrak Etanol Rimpang Kencur (*Kaempferia galangal* L.). *J. Ilmiah Far.*
- Umar, et al. (2011). Phytochemistry and medicinal properties of *Kaempferia galanga* L. (*Zingiberaceae*) extracts. *Af. J. Phar and Pharm*, 5, 1638-1647.