

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN KANDUNGAN FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL DAUN *Lawsonia inermis* Linn. TERHADAP *Propionibacterium acnes* Dan *Escherichia coli*

*Antibacterial Activity And Phytochemical Content Of Ethanolic Extract
Of Lawsonia inermis Linn. Leaves Against Propionibacterium Acnes And
Escherichia coli*

Siti Samaniyah¹, Syarifah Asyura², Rulia Meilina³, Periskila Dina Kali Kulla⁴

^{1,2,3}Program Studi S-1 Farmasi, Fakultas Kesehatan Universitas Ubudiyah Indonesia, Banda Aceh

*Corresponding Author: sitisamaniyah@uui.ac.id

Abstrak

Latar Belakang: Indonesia memiliki kekayaan biodiversitas, termasuk tanaman herbal seperti daun *Lawsonia inermis* Linn. Biasa di kenal dengan daun pacar kuku, dikenal dalam pengobatan tradisional sifat antibakterinya. Namun, penelitian ilmiah tentang efektivitas daun pacar kuku terhadap bakteri patogen, seperti *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli*, masih terbatas. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi kulit dan pencernaan, yang sering diobati dengan antibiotik, tetapi penggunaan antibiotik berlebihan menyebabkan resistensi. Penelitian ini mengeksplorasi kandungan fitokimia ekstrak etanol daun pacar kuku dalam mengatasi infeksi bakteri sebagai alternatif pengobatan berbasis herbal. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kandungan fitokimia dan aktivitas antibakteri parameter Kosentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etanol daun pacar kuku pada variasi kosentrasi terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli*. Metode penelitian yang digunakan ekperimental laboratorium, . Uji KHM ekstrak daun pacar kuku menggunakan metode dilusi cair kemudian diukur kekeruhan dengan spektrofotometer UV-Vis. Konsentrasi estrak yang digunakan 5%, 30%, 45%, 60%, 85%, ,100% serta Kontrol positif (tetrasiklin 30µg) dan Kontrol negatif DMSO (1%). Hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) memiliki kemampuan menghambat bakteri *Propionibacterium acnes* dengan rerata zona 18-24.85mm, sedangkan *Escherichia coli* rerata zona sekitar 6.21-11.78mm. Nilai KHM pada kosentrasi 6.25-50%. Disimpulkan pada penelitian ini ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli* memiliki kemampuan menghambat (KHM) Saran: Ekstrak daun pacar kuku ini berpotensi dikembangkan sebagai sediaan topikal seperti krim atau gel untuk pengobatan jerawat, dan uji klinis diperlukan untuk memastikan keamanan dan efektivitasnya. Penelitian lanjutan dibutuhkan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif yang berperan dalam aktivitas antibakteri.

Kata Kunci: Daun Pacar Kuku, Antibakteri, KHM, *Propionibacterium acnes*, *Escherichia coli*

Abstract

Background: Indonesia has a wealth of biodiversity, including herbal plants such as Lawsonia inermis Linn leaves. Commonly known as henna leaves, known in traditional medicine for its antibacterial properties. However, scientific research on the effectiveness of henna leaves against pathogenic bacteria, such as Propionibacterium acnes and Escherichia coli, is still limited. These bacteria can cause skin and digestive infections, which are often treated with antibiotics, but excessive use of antibiotics causes resistance. This study explores the phytochemical content of henna leaf ethanol extract in treating bacterial infections as an alternative herbal-based treatment. The purpose of this study was to determine the phytochemical content and antibacterial

activity of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) parameter of henna leaf ethanol extract at various concentrations against *Propionibacterium acnes* and *Escherichia coli*. The research method used was a laboratory experiment. The MIC test of henna leaf extract used a liquid dilution method and then measured the turbidity with a UV-Vis spectrophotometer. The extract concentrations used were 5%, 30%, 45%, 60%, 85%, 100%, as well as positive control (tetracycline 30µg) and negative control DMSO (1%). The results of this study indicate that the ethanol extract of henna leaves (*Lawsonia inermis* Linn.) has the ability to inhibit *Propionibacterium acnes* bacteria with an average zone of 18-24.85mm, while *Escherichia coli* has an average zone of around 6.21-11.78mm. The MIC value at a concentration of 6.25-50%. It was concluded in this study that henna leaf extract (*Lawsonia inermis* Linn.) has antibacterial activity against *Propionibacterium acnes* and *Escherichia coli* has the ability to inhibit (MIC). Suggestion: This henna leaf extract has the potential to be developed as a topical preparation such as a cream or gel for the treatment of acne, and clinical trials are needed to ensure its safety and effectiveness. Further research is needed to isolate and identify the active compounds that play a role in antibacterial activity.

Keywords: Henna Leaves, Antibacterial, KHM, *Propionibacterium acnes*, *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara dengan kekayaan biodiversitas yang luar biasa, termasuk berbagai jenis tanaman herbal yang memiliki manfaat besar dalam pengobatan. Dengan semakin berkembangnya zaman, penelitian tentang penggunaan obat herbal untuk kesehatan terus meningkat. Pengobatan tradisional, yang banyak diminati oleh masyarakat Indonesia, sering kali dianggap sebagai alternatif yang praktis dengan efek samping yang relatif lebih kecil dibandingkan dengan obat konvensional. Penggunaan tanaman herbal dalam pengobatan tradisional menjadi pilihan utama bagi banyak orang karena kepraktisan dan keamanan relatif yang ditawarkannya. (Henaulu & Kaihena, 2020).

Lawsonia inermis Linn. adalah tanaman dari keluarga Lythraceae yang banyak ditemukan di daerah tropis seperti Asia dan Afrika. Di aceh tanaman ini terkenal dalam bidang kosmetik karena kemampuannya untuk mewarnai rambut, kuku, tangan, dan tekstil, yang disebabkan oleh kandungan lawsone dan senyawa *naphthoquinone*. Selain itu, daun inai mengandung berbagai senyawa kimia lainnya, seperti *mucilage*, *mannite*, *gallic acid*, dan *tannic acid* (Rivai Z & Zubardiah L, 2023). Daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) digunakan dalam pengobatan tradisional untuk penyembuhan luka dan sebagai obat herbal penurun demam, berkat berbagai kandungan kimia yang dimilikinya.

Selain manfaat tersebut, penting juga untuk memahami hubungan antara infeksi dan mikroorganisme patogen seperti bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli*. Infeksi terjadi ketika mikroorganisme seperti bakteri, virus, atau jamur memasuki tubuh, berkembang biak, dan menyebabkan penyakit. *Propionibacterium acnes* memainkan peran penting dalam perkembangan *acne vulgaris* dengan memproduksi *lipase* yang memecah asam lemak bebas dari lipid kulit, yang dapat menyebabkan inflamasi dan pembentukan jerawat (Zahrah *et al.*, 2018). *Escherichia coli* umumnya ditemukan dalam usus dan berfungsi dalam proses pencernaan, namun beberapa strain patogenik dapat menyebabkan infeksi pencernaan seperti diare (Dela Cruz *et al.*, 2022).

Kandungan Fitokimia ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.), dengan sifat antibakterinya, dapat menjadi solusi potensial untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli*. *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri gram positif yang termasuk dalam kelompok bakteri *corynebacteria*. Secara morfologi, bakteri ini tidak bersifat toksigenik. Terlibat dalam patogenesis *acne vulgaris* dengan menghasilkan lipase yang memecah asam lemak bebas dari lipid kulit, berkontribusi pada

pembentukan jerawat. *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif anaerobik yang dominan dalam flora kolon manusia, dan memiliki alat gerak berupa flagel. Infeksi oleh patogenik *E. coli* dapat menyebabkan infeksi saluran, infeksi sistemik, gagal ginjal, dan diare. (Hardiana *et al.*, 2020).

Pemanfaatan daun ini biasanya dengan cara dihaluskan dan ditempelkan langsung pada area kulit yang luka, lalu dibalut dengan kain kasa atau kain. Sudah diantisipasi daunnya *Lawsonia inermis* Linn. mempunyai sifat antibakteri sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka kulit. Selain itu di masyarakat pedesaan tertentu di Indonesia daun pacar kuku ini juga sering digunakan untuk menghilangkan rasa panas terbakar api pada kulit. Tanaman pacar kuku mengandung banyak manfaat diantaranya anti-iritan, karsinogenik, antioksidan, analgetik, antipiretik serta antimikroba. Selain itu, tanaman ini memiliki khasiat sebagai *antirheumatic*, *antidiabetic agent* serta *anti neuralgic agent* (Komala *et al.*, 2019).

Daun pacar kuku juga telah terbukti efektif menghambat pertumbuhan bakteri rongga mulut *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Efek antibakteri yang dihasilkan daun ini juga telah terbukti dapat digunakan sebagai obat kumur yang dapat membantu dalam penyembuhan gingivitis (Rivai Z & Zubardiah L, 2023). Hasil penelitian Amelia *et al.*, (2022) menunjukkan bahwa ekstrak NADES daun pacar kuku dan daun alpukat dimulai dari konsentrasi 25%, dapat menghambat pertumbuhan jamur *Pityrosporum ovale*. Nilai *r* (koefisien korelasi) peningkatan konsentrasi terhadap daya hambat jamur *Pityrosporum ovale* dari ekstrak NADES daun pacar kuku dan daun alpukat secara berturut-turut adalah 0,935 dan 0,893 yang menunjukkan hubungan yang sangat signifikan.

Beberapa penelitian yang telah dilakukan, terbukti bahwa fenol yang terkandung dalam tanaman ini memiliki daya antioksidan (Husni E *et al.*, 2018). Menurut penelitian Fatmawati (2019) ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) memiliki kemampuan antibakteri terhadap pertumbuhan *Salmonella sp.* pada konsentrasi 100%, 75%, dan 50% dengan besaran zona hambat masing-masing 16,1 mm, 15,2 mm, dan 14,4 mm. Hasil penelitian Zubardiah *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa penurunan PBI pada infusa daun pacar kuku dengan konsentrasi 10000 µg/mL (80%) lebih kuat dari heksetidin 0,1% (76%). Infusa daun pacar kuku efektif dalam menurunkan PBI lebih baik dari pada heksetidin, daun pacar kuku efektif untuk mengobati radang gusi.

Hasil penelitian Harahap *et al.*, (2020) bahwa ekstrak daun pacar dapat diformulasikan sebagai persiapan salep dan memenuhi persyaratan untuk pengujian kualitas sediaan salep, termasuk uji karakterisasi. Hasil uji aktivitas antibakteri formulasi salep ekstrak pacar pada konsentrasi 8%, 12% dan 16% bisa menghambat pertumbuhan bakteri. Pada konsentrasi 16% merupakan yang baik dengan rata-rata diameter bakteri *Staphylococcus aureus* 11,93 mm dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* 17,2 mm. dapat dikatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar penghambatan diberikan. Persiapan salep ekstrak daun pacar dengan konsentrasi 8%, 12% dan 16% adalah salep terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Pada zaman ini masih minimnya pemanfaatan tanaman herbal asli Indonesia dalam praktik medis modern, terutama dalam konteks pengobatan infeksi bakteri. Meskipun daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) telah lama dikenal dalam pengobatan tradisional dan terbukti memiliki sifat antibakteri yang efektif, penelitian ilmiah yang mendalam mengenai efektivitas ekstrak daun ini terhadap bakteri patogen seperti *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli* masih terbatas. Bakteri-bakteri tersebut dapat menyebabkan berbagai infeksi, termasuk jerawat dan infeksi pencernaan, yang sering kali membutuhkan pengobatan dengan antibiotik konvensional. Namun, penggunaan antibiotik berlebihan telah menyebabkan masalah resistensi antibiotik yang semakin meningkat. Penelitian ini juga akan mengeksplorasi konsentrasi minimum (KHM) yang efektif dari ekstrak etanol daun pacar kuku untuk menghambat

pertumbuhan kedua bakteri tersebut, sebagai langkah awal dalam pengembangan pengobatan berbasis herbal yang lebih aman dan berkelanjutan.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antaranya seperti timbangan analitik, *vacum rotary evaporator*, oven, inkubator, lemari pengering, mikroskop, pinset, autoklaf, erlenmeyer, cawan petri, *laminar air flow (LAF)*, Spektro Uv-vis tabung reaksi, jangka sorong, mikropipet, *cutton bud*, jarum ose, dan *fortex*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) yang diperoleh dari Desa Blang Mane Dua Meunasah, Bireuen, *Mc. Farland Standart* 0,5%; etanol 96%, aquades steril, *Mueller Hinton Agar (MHA)*, Natrium Agar (NA), *paper disk*, *aluminium foil*, *methylene blue*, kristal violet, lugol iodine, safranin, *tetracyclin*, DMSO 1% (Dimetil sulfoksida), NaCl 0,9%, *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli*.

b. Prosedur Penelitian

Pembuatan Simplisia Daun Pacar Kuku

Simplisia daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) dimulai dengan pemisahan 3 kg daun segar dari batangnya, lalu dilakukan sortasi basah, pencucian, dan penirisan. Sampel dikeringkan dalam lemari pengering hingga remasannya hancur, kemudian disortasi kering. Simplisia kering dihaluskan menggunakan blender, diayak dengan ukuran 40 mesh, dan disimpan di tempat kering (Samaniyah & Sitorus, 2022).

Pembuatan Ekstrak

Serbuk daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) sebanyak 500gram dimasukkan kedalam bejana kaca dimaserasi menggunakan etanol 96%. Serbuk simplisia direndam 3x24 jam dengan sesekali diaduk, kemudian disaring, dan proses diulangi sekali lagi dengan setengah pelarut volume awal. Semua maserat diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 40°C, lalu dikeringkan dengan waterbath hingga diperoleh ekstrak kental (Meilina *et al.*, 2022).

Pembuatan Kosentrasi Ekstrak

Dalam pengenceran kosentrasi ini, ekstrak daun pacar kuku ditimbang sebagai langkah awal. Setelah penimbangan, ekstrak tersebut diencerkan dengan DMSO (1%) untuk mendapatkan beberapa konsentrasi yang berbeda, yaitu 100%, 85%, 60%, 40%, 35%, dan 5%.

Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA)

MHA ditimbang 10 Gram dan dilarutkannya dalam 100 mL aquadest. Campuran dipindahkan ke tabung Erlenmeyer 500 mL, ditutup kapas, lalu disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 15 menit. Setelah itu, media yang telah disterilkan dituangkan sebanyak 20 mL ke dalam setiap cawan petri (Zahrah *et al.*, 2018)

Peremajaan Bakteri

Satu koloni bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli* diambil dari stok kultur dengan menggunakan jarum ose steril, lalu ditanamkan pada media agar dengan cara menggores. Kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Brooks *et al.*, 2007).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Diambil 1 ose bakteri bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli* yang telah diremajakan kemudian dimasukan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 10 ml. kemudian tabung reaksi dikocok menggunakan *fortex* sehingga larutan tersebut homogen, larutan yang sudah dihomogenkan disamakan dengan standar *Mc. Farland* (Utami *et al.*, 2021).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode zona hambat untuk uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi kertas cakram berdiameter 6 mm pada media agar MHA yang telah memadat di tiga cawan petri. Suspensi bakteri diambil sekitar 0,1 ml dan dioleskan pada media menggunakan metode 4 kuadrat, lalu dibiarkan selama 30 menit. Kertas cakram direndam dalam ekstrak etanol daun pacar kuku yang telah diencerkan sesuai konsentrasi serta kontrol positif (tetrasiklin) dan kontrol negatif (DMSO 1%), kemudian didiamkan 30 menit. Setelah itu, kertas cakram ditempatkan pada media MHA dan dilakukan tiga kali pengulangan. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. (Kulla & Herrani, 2022).

Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum

Ekstrak daun pacar kuku dilarutkan dalam DMSO, kemudian ditambahkan 5 mL medium MHB dan di homogenkan. Setelah itu tambahkan suspensi bakteri uji diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C (Pratiwi, *et al.*, 2023).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi Tanaman Daun Pacar Kuku

Hasil determinasi menunjukkan bahwa benar sampel tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan tumbuhan daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.).

Hasil Standarisasi Simplisia Daun Pacar Kuku

Standarisasi simplisia daun pacar kuku yang diteliti memenuhi standar kualitas simplisia menurut Materia Medika Indonesia (MMI) dari parameter simplisia daun pacar kuku meliputi kadar air, kadar abu total, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, dan kadar sari tidak larut asam.

Tabel 1 Hasil Standarisasi Simplisia Daun Pacar Kuku

Penetapan	Hasil (%)	Syarat menurut MMI (%)	Keterangan
Kadar air	3,16%	< 10%	Memenuhi syarat
Kadar abu total	0,92 %	< 11%	Memenuhi syarat
Kadar abu tidak larut asam	0,56%	< 1%	Memenuhi syarat
Kadar sari larut air	15,6%	> 5%	Memenuhi syarat
Kadar sari larut etanol	18,6%	> 5%	Memenuhi syarat

Kandungan Fitokimia

Kandungan fitokimia merupakan pemeriksaan senyawa kimia secara kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tumbuhan. Serbuk simplisia daun pacar kuku yang akan dilakukan skrining fitokimia untuk melihat kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada sampel yang meliputi identifikasi Alkaloid, Flavonoid, Steroid/Terpenoid, Saponin, dan tanin.

Tabel 2 Hasil Kandungan Fitokimia Daun Pacar Kuku

Metabolit sekunder	Reagen	Hasil	Hasil Pengamatan
Alkaloid	Mager	-	Terhasil endapan
	Wagner	+	Terhasil endapan coklat
	Dragendroff	+	Terhasil endapan putih

Saponin	Pengocokan	+	Menghasilkan busa yang stabil
Terpenoid	CH ³ COOH dan H ₂ SO ₄	+	Menghasilkan warna hijau
Flavonoid	HCl dan Mg	+	Menghasilkan warna kuning
Tanin	FeCl ₃	+	Menghasilkan hijau kehitaman

Keterangan : + (Terdeteksi)
 - (Tidak Terdeteksi)

Hasil dari skrinning fitokimia terbukti sampel daun pacar kuku memiliki kandungan fitokimia senyawa metabolit sekunder seperti Pengujian Alkaloid, Flavonoid, Terpenoid, Tanin dan Saponin. Namun pada pereaksi Mayer, daun pacar kuku menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuk endapan putih pada sampel uji. Menurut Era *et al.*, (2017), pengujian alkaloid pada ekstrak daun pacar kuku menggunakan pereaksi Mayer tidak menunjukkan hasil positif karena kemungkinan disebabkan oleh jenis pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi, serta bisa disebabkan faktor lingkungan tempat tanaman tumbuh, seperti iklim, kualitas tanah, dan mutu air, yang dapat memengaruhi kualitas dan kuantitas metabolit sekunder.

Hasil dari penelitian ini dengan penelitian sebelumnya oleh Narsa *et al.*, (2022), yang juga menemukan bahwa daun pacar kuku mengandung senyawa-senyawa tersebut Alkaloid, Flavonoid, Terpenoid, Tanin dan Saponin. Penemuan ini membuktikan keberadaan berbagai senyawa aktif dalam ekstrak, yang dapat memiliki berbagai manfaat farmakologis, terapeutik dan zat antibakteri.

Mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai antibakteri terjadi melalui beberapa proses. Flavonoid memiliki sifat lipofilik, yang memungkinkan mereka untuk berinteraksi langsung dengan membran mikroba. Interaksi ini merusak integritas membran, sehingga mengganggu fungsi normalnya. Selain itu, flavonoid juga menghambat aktivitas enzim transpeptidase yang berperan dalam sintesis peptidoglikan, komponen penting dari dinding sel bakteri. Ketika struktur peptidoglikan terganggu, dinding sel bakteri menjadi lemah, menyebabkan lisis sel atau kematian bakteri. Proses ini efektif menghancurkan bakteri gram positif maupun gram negatif (Fransisca *et al.*, 2020).

Mekanisme kerja senyawa alkaloid adalah senyawa organik yang mengandung nitrogen dan banyak terdapat dalam tumbuhan. Mekanisme utama alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan menghambat sintesis peptidoglikan, komponen penting dinding sel bakteri yang menjaga kestabilannya. Gangguan ini membuat dinding sel tidak terbentuk sempurna, sehingga terjadi kebocoran komponen intraseluler yang mengakibatkan lisis sel. Selain itu, alkaloid juga dapat mengubah permeabilitas membran bakteri, menyebabkan kerusakan pada protein dan lipid penting dalam membran, sehingga mengganggu fungsinya. (Fransisca *et al.*, 2020)

Mekanisme kerja senyawa saponin bekerja dengan cara merusak dinding sel bakteri melalui mekanisme yang berbeda. Saponin memiliki kemampuan untuk mengganggu tegangan permukaan dinding sel bakteri, yang menyebabkan permeabilitas membran sel meningkat. Dengan terganggunya tegangan permukaan, zat antibakteri dari saponin dapat menembus membran sel bakteri dengan lebih mudah, mengganggu metabolisme intraseluler dan akhirnya menyebabkan kematian bakteri (Lady *et al.*, 2020).

Mekanisme kerja senyawa tanin, yang dikenal karena aktivitas antibakterinya, bekerja melalui mekanisme yang berbeda. Tanin dapat menghambat enzim dalam replikasi bakteri, seperti enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase, yang penting untuk sintesis DNA dan pembelahan sel bakteri. Dengan menghambat enzim-enzim ini, tanin mencegah pembentukan sel bakteri baru dan mengganggu proses replikasi. Selain itu, tanin juga mengganggu transport protein dan menginaktivasi adhesin sel, yang penting untuk kolonisasi bakteri, serta menghambat enzim-enzim vital di dalam sel bakteri, menyebabkan terganggunya fungsi sel dan akhirnya menghentikan pertumbuhan bakteri secara (Fortunata *et al.*, 2023).

Mekanisme kerja senyawa terpenoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun pacar kuku ini memiliki aktivitas antibakteri dengan cara menghambat pembentukan lipid dan mengubah struktur membran sel melalui penghambatan sintesis ergosterol. Aktivitas antimikroba terpenoid berasal dari sifat lipofiliknya. Terpenoid dapat berdisosiasi dan mengganggu komponen lipid pada membran plasma bakteri, yang pada akhirnya menyebabkan ketidakseimbangan permeabilitas membran sel. Hal ini mengakibatkan gangguan homeostasis ion dalam sel bakteri (Kuswandani *et al.*, 2019).

Identifikasi Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

Identifikasi bakteri dilakukan untuk menentukan jenis bakteri berdasarkan sifat morfologinya, termasuk apakah bakteri tersebut gram positif atau gram negatif. Dalam hasil identifikasi bakteri gram positif (*Propionibacterium acnes*) yang diamati di bawah mikroskop, ditemukan bahwa koloni bakteri berwarna ungu dan berbentuk batang. Warna ungu menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri gram positif, karena proses pewarnaan Gram menggunakan pewarna kristal violet yang akan menempel pada dinding sel bakteri gram positif dan memberikan warna ungu. Hasil identifikasi bakteri gram negatif menunjukkan bahwa koloni yang diamati di bawah mikroskop berwarna merah dan berbentuk batang pendek. Warna merah ini mengindikasikan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif, karena proses pewarnaan Gram menggunakan pewarna safranin yang menempel pada bakteri gram negatif setelah pewarna kristal violet hilang dari dinding selnya.

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli*

Untuk pengujian aktivitas antibakteri pada ekstrak daun pacar kuku digunakan variasi konsentrasi ekstrak yaitu 5%, 30%, 45%, 60%, 85%, dan 100%. Pengukuran dilakukan dengan mengamati diameter zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram pada setiap konsentrasi ekstrak, untuk menentukan seberapa efektif ekstrak tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Tabel 3 Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku Terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli*

Bakteri Uji	Ulangan	Zona Hambat/ Zona Bening atau Zona Bunuh (mm)							
		Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Konsentrasi Ekstrak Daun Pacar Kuku					
				5%	30%	45%	60%	85%	100%
<i>P. acnes</i>	1	26.2	0	19.5	24.55	25.1	22.8	23.2	24.35
	2	26.95	0	17.9	22.2	23.95	24.3	25.5	25.5
	3	26.07	0	16.6	20.55	21.85	22.9	24.75	24.75
	Total	78.2	0	54	67.33	70.9	70.3	73.83	74.55
	Rerata	26.07	0	18	22.43	23.63	23.33	24.61	24.85
<i>E. coli</i>	1	24.3	0	6.05	7.7	8.3	10.3	11.15	12.45
	2	24.7	0	6.2	7.65	9.35	11.55	13	11.65
	3	23.85	0	6.4	9	7.95	8.45	9.5	11.25
	Total	72.85	0	18.65	24.35	25.6	30.25	33.65	35.35
	Rerata	24.28	0	6.21	8.12	8.53	10.08	11.22	11.78

Keterangan :

K+ (Kontrol Positif) : Tetracyclin 30µg
K- (Kontrol negatif) : DMSO 1%

Kontrol positif dalam penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan tetrasiklin dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji, yang ditunjukkan melalui pembentukan zona

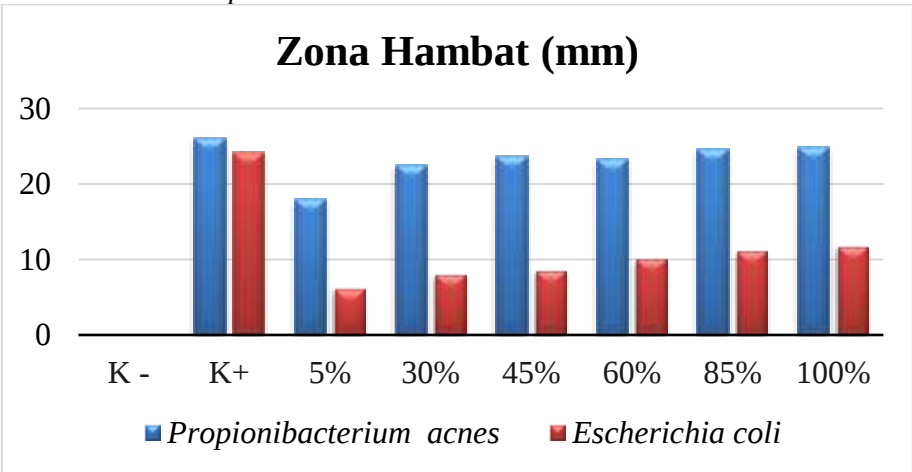
hambat. Mekanisme kerjanya adalah dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri. Kontrol positif ini bertujuan untuk mengamati efek kematian bakteri uji dan membandingkan zona hambat ekstrak etanol daun pacar kuku. Hasil aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa tetrasiklin sebagai kontrol positif mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan rata-rata zona hambat sebesar 26,07 mm, yang dikategorikan sebagai sangat kuat. Hal ini mengindikasikan bahwa tetrasiklin efektif dalam menghambat aktivitas bakteri *Propionibacterium acnes* dan bakteri *Escherichia coli*. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO (1%), yang berfungsi untuk memastikan bahwa pelarut DMSO (1%) yang digunakan untuk melarutkan ekstrak etanol daun pacar kuku tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Berdasarkan hasil penelitian, kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat terhadap *Propionibacterium acnes* dapat disimpulkan bahwa DMSO (1%) tidak mempengaruhi bakteri uji yang digunakan.

Tabel 4 Kategori Zona Hambat Bakteri Menurut David Stout

Zona Hambat	Kategori
≥ 20mm	Sangat kuat
10–20mm	Kuat
5–10mm	Sedang
≤ 5mm	Lemah

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat terhadap *Propionibacterium acnes* dibandingkan *Escherichia coli*. Pada *Propionibacterium acnes*, zona hambat berkisar antara 18 mm hingga 24.85 mm, dengan konsentrasi 5% menunjukkan hambatan kuat (18mm) dan konsentrasi 10%-100% menunjukkan hambatan sangat kuat (22.43 mm-24.84 mm). Sementara itu, terhadap *Escherichia coli*, zona hambat berkisar antara 6.21 mm hingga 11.78 mm, di mana konsentrasi 5%-45% memberikan hambatan sedang (6.21 mm - 8.53 mm) dan konsentrasi 60%-100% menunjukkan hambatan kuat (10.08 mm - 11.78 mm). Peningkatan konsentrasi ekstrak meningkatkan efektivitas antibakteri untuk kedua jenis bakteri.

Gambar 1 Grafik Perbedaan Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku Terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli*



Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak daun pacar kuku memiliki potensi antibakteri yang lebih baik terhadap *Propionibacterium acnes*. Namun, daya hambat terhadap *Escherichia coli* relatif lebih rendah dibandingkan dengan *Propionibacterium acnes*. Zona hambat *Escherichia coli* relatif rendah karena adanya perbedaan struktur dinding sel antara *Propionibacterium acnes*

dan *Escherichia coli*. *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri gram positif yang memiliki dinding sel terdiri dari lapisan peptidoglikan yang sangat tebal, tetapi sederhana.

Menurut Brooks *et al.*, (2007) struktur dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari 40%–80% peptidoglikan. Lapisan peptidoglikan ini lebih mudah ditembus oleh ekstrak etanol daun pacar kuku dan antibiotik, terutama yang menargetkan sintesis dinding sel (seperti penisilin dan sefalosporin). Karena dinding sel bakteri Gram positif lebih permeabel, efektivitas agen antibakteri dalam menghancurkan atau menghambat pertumbuhannya lebih tinggi. Hal ini menjelaskan mengapa zona hambat pada bakteri Gram positif sering kali lebih besar dibandingkan dengan bakteri Gram negatif.

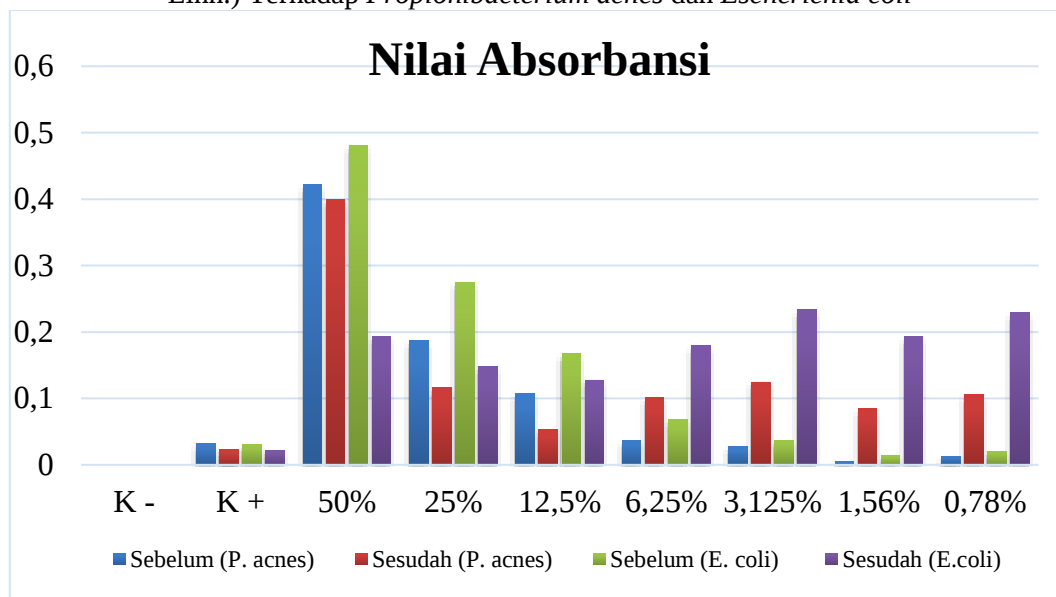
Escherichia coli adalah bakteri gram negatif yang memiliki struktur dinding sel lebih kompleks, dengan lapisan peptidoglikan yang tipis tetapi dilindungi oleh membran luar tambahan yang mengandung lipopolisakarida (LPS). Membran luar ini berfungsi sebagai penghalang fisik yang melindungi bakteri dari berbagai jenis antibiotik, sehingga sulit bagi metabolit sekunder dari ekstrak etanol daun pacar kuku untuk menembus sel dan memberikan efek. Akibatnya, zona hambat pada bakteri gram negatif sering kali lebih kecil.

Hasil Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah untuk menentukan konsentrasi minimum ekstrak etanol daun pacar kuku yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Penentuan ini menggunakan konsentrasi ekstrak yang bervariasi, yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, dan 0,78%, untuk menguji pengaruhnya terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli*. Pengukuran Absorbansi memastikan keakuratan hasil penentuan KHM, nilai kekeruhan diukur secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Menurut Assauqi *et al.*, (2023) kekeruhan yang lebih tinggi menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan kekeruhan yang rendah menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri oleh ekstrak etanol daun pacar kuku. Konsentrasi ekstrak dengan absorbansi terendah menunjukkan konsentrasi KHM, yaitu konsentrasi di mana tidak ada pertumbuhan bakteri yang terdeteksi.

Berdasarkan Tabel 4 nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun pacar kuku terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli* adalah pada konsentrasi 12,5%. Penurunan nilai absorbansi setelah inkubasi selama kurang lebih 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan bahwa pada konsentrasi ini, ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) mampu menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli* (Assauqi *et al.*, 2023).

Gambar 2 Grafik Perbedaan Nilai Absorbansi Ekstrak Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) Terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli*



Pada gambar 2 menunjukkan grafik perbedaan Nilai Absorbansi *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli* Terhadap Ekstrak Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) dapat dilihat adanya perbedaan nilai absorbansi sebelum inkubasi dan sesudah inkubasi. Pada konsentrasi 50% sampai 12,5% menunjukkan apabila nilai absorbansi sebelum inkubasi lebih tinggi dibanding sesudah inkubasi dapat disimpulkan pada konsentrasi tersebut memiliki KHM, namun apabila nilai absorbansi sebelum inkubasinya lebih rendah daripada nilai absorbansi sesudah inkubasi dapat disimpulkan pada konsentrasi tersebut tidak memiliki KHM.

Hasil Analisis Data SPSS

Data pengujian menggunakan *Two Way Anova* untuk mengevaluasi perbedaan yang signifikan dari perlakuan setiap variasi konsentrasi ekstrak etanol daun pacar kuku terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli*. Data hasil uji Normalitas menunjukkan hasil uji normalitas menggunakan dua metode, yaitu Kolmogorov-Smirnov dan Shapiro-Wilk, untuk berbagai konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku terhadap Zona Hambat (mm). Data ini diambil untuk mengetahui apakah distribusi zona hambat pada tiap konsentrasi memiliki distribusi normal atau tidak. Analisis dilakukan pada beberapa konsentrasi ekstrak, termasuk kontrol positif (tidak termasuk kontrol negatif, yang dihilangkan karena zona hambatnya konstan).

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa pada beberapa konsentrasi ekstrak (seperti 5%, 45%, dan 100%), terdapat ketidaksesuaian antara uji *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk*, di mana *Shapiro-Wilk* lebih sensitif dalam mendeteksi penyimpangan dari distribusi normal. Untuk konsentrasi ekstrak lainnya (30%, 60%, 85%), data cenderung berdistribusi normal menurut kedua uji. Ketika terdapat perbedaan antara hasil uji, biasanya *Shapiro-Wilk* yang lebih dipercaya, terutama untuk ukuran sampel kecil ($n < 50$). Uji Shapiro-wilk dilakukan karena sampel dalam penelitian ini < 50 sampel data yang didapatkan dari uji normalitas normal.

Hasil uji *Tukey HSD* (*Honestly Significant Difference*) yang didapatkan bahwa ada perbedaan signifikan antara kelompok dengan konsentrasi ekstrak rendah seperti pada konsentrasi 5%, kontrol positif dan kontrol negatif memiliki perbedaan perlakuan menunjukkan adanya perbedaan perlakuan yang signifikan yaitu ≥ 0.05 . Pada konsentrasi 45%, 60%, dan 85%, tidak ada perbedaan signifikan dalam zona hambat ($p > 0,05$), sehingga konsentrasi tersebut

dikelompokkan dalam subset yang sama. Dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun pacar kuku berhubungan dengan peningkatan zona hambat (efek antibakteri), tetapi perbedaan signifikan mulai terlihat setelah konsentrasi ekstrak di atas 5%.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* dengan zona hambat 18 mm hingga 24.85 mm, dan *Escherichia coli* dengan zona hambat 6.21 mm hingga 11.78 mm. Efektivitas penghambatannya lebih rendah dibandingkan dengan *Propionibacterium acnes*.
2. KHM ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli* ditetapkan pada konsentrasi 12,5%, di mana penurunan nilai absorbansi mengindikasikan penghambatan pertumbuhan bakteri.

Saran

1. Ekstrak ini berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut dalam bentuk sediaan topikal seperti krim atau gel untuk pengobatan jerawat dan uji klinis lebih lanjut untuk memastikan keamanan dan efektivitas pada manusia.
2. Penelitian lebih mendalam diperlukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif lebih spesifik yang berperan penting atas aktivitas antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Amelia, R., Asih, N. M., Lati, P., Sulastri, L., Farmasi, S. T., & Cirebon, M. (2022). Aktivitas Antifungi Ekstrak Nades Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L) Dan Daun Alpukat (*Persea americana*) Terhadap *Pityrosporum Ovale*. *Medical Sains*, 7(1).
- Brooks George F, Carrol Karen C, & Butel Janet S. (2007). *Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology* (24th ed., Vol. 7). McGraw-Hill Medical. <http://www.mcgraw-hill.co.uk/html/0071476660.html>
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1985). Cara Pembuatan Simplisia (Hargono Djoko, J.P. Siregar Charles, G Winarno F, & Hargini, Eds.; Sirait Midian, Vol. 1). Direktorat Jenderal Pengawasan.
- Dela Cruz, A. L., L. Buendia, N. J., & J. Condes, R. B. (2022). Antibacterial Activity of Cassava *Manihot Esculenta* Leaves Extract Against *Escherichia coli*. *American Journal of Environment and Climate*, 1(2), 23–30. <https://doi.org/10.54536/ajec.v1i2.484>
- Era Sandhi Kusuma Yuda, P., Cahyaningsih, E., & Luh Putu Yuni Winariyanthi, N. (2017). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 3(2), 2356–4814.
- Devi S, & Mulyani T. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* Linn) Pada Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, 30–34.
- Fortunata, R., Ayu, D., Permatasari, I., & Wardani, T. S. (2023). Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi n-Heksana, Etil Asetat, Air Dari Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 Dengan Metode Difusi Dan Dilusi. *Jurnal Medika Nusantara*, 1(4), 84–102. <https://doi.org/10.59680/medika.v1i4.610>
- Lady, D., Handoyo, Y., Eko, M., Program, P., Farmasi, S., & Kesehatan, I. (2020). Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta Indica*). In *Jurnal Farmasi Tinctura* (Vol. 1, Issue 2)
- Meilina, R., Ibna Maghlisa, U., & Husna Dhirah, U. (2022). Antiinflamasi Ekstrak Etanol Bunga Kenop (*Gomphrena globosa* L.) pada Tikus (*Rattus novergicus*) *Anti-Inflammation of*

- Gomphrena globosa* Ethanol Extract in Wistar Rats. *Journal of Healthcare Technology and Medicine*, 8(2), 648–657.
- Fransisca, D., Kahanjak, D. N., & Frethernety, A. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Cakram Kirby-Bauer. *JPLB*, 1, 460–470. <http://www.bkpsl.org/ojswp/index.php/jplbJPLB,4>
- Harahap, N. I., Sari, R. P., Harnis, Z. E., Marbun, N. R., Rahayu, S., Kesehatan, I., Husada, D., & Tua, D. (2020). Uji Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Daun Pacar (*Lawsonia inermis* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. In *Jurnal Peneletian Farmasi Herbal* (Vol. 3, Issue 2). <http://ejournal.delihusada.ac.id/index.php/JIP>
- Hardiana, Safrida Y, & Maulianda R. (2020). Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Serambi Engineering*, V (4).
- Henaulu, A. H., & Kaihena, M. (2020). Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* In Vitro. *Biofaal Journal*, 1(1), 44–54.
- Husni E, Suharti N, & Atma A. (2018). Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Daun Pacar Kuku. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 12–16.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II* (II, Vol. 2). Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- Komala O, Yulianita, & Siwi Fuji raka. (2019). Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol 50% Dan Etanol 96% Daun Pacar Kuku Terhadap *Trichopyton mentagrophytes*. *Jurnal Illmiah Ilmu Dasar Dan Lingkungan*, 12–19.
- Narsa, A. C., Salman, A. A., & Prabowo, W. C. (2022). Identifikasi Metabolit Sekunder dan Profil Farmakognosi Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L) Sebagai Bahan Baku Farmasi Terbaru. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 4(6), 645–653. <https://doi.org/10.25026/jsk.v4i6.1551>
- Rivai Z, & Zubardiah L. (2023). Manfaat Ekstrak Etanol Daun Inai (*Lawsonia innermis* L.) Sebagai Bahan Pewarna Alami Untuk Kontrol Plak (kajian pada tikus *Sprague dawley*). *Jurnal Kedokteran Gigi Terpadu*, 5(1). <https://doi.org/10.25105/jkgt.v5i1.16780>
- Samaniyah, S., & Sitorus, P. (2022). *Antibacterial Activity Of Daemonorops Draco* (Willd) *Blume Fruit Ethanol Extract Against Some Bacterial Pathogens*. In *International Journal of Science*. <http://ijstm.inarah.co.id>
- Utami, M. P., Kholis, A., Mulyasari, I., Noor, N., & Fadel, M. N. (2021). Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Putri Malu (*Mimosa pudica* L.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat.
- Zahrah, H., Mustika, A., & Debora, K. (2018). Aktivitas Antibakteri Dan Perubahan Morfologi Dari *Propionibacterium acnes* Setelah Pemberian Ekstrak *Curcuma xanthorrhiza*. In *Jurnal Biosains Pascasarjana* (Vol. 20, Issue 3).
- Zubardiah, L., Nurul Mustaqimah, D., & Ibrahim Auerkari, E. (2012). Efektivitas *Lawsonia inermis* Linneaus Daun Infus Dalam Penyembuhan *Gingivitis*. www.onlinedoctranslator.com