

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL HERBA
ALFALFA (*Medicago sativa* L.) TERHADAP *Propionibacterium
acnes* SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI



oleh:

Danang Yogo Wijaya

165010036

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG
Maret 2020**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL HERBA
ALFALFA (*Medicago sativa* L.) TERHADAP *Propionibacterium
acnes* SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
dalam mencapai derajat Sarjana Farmasi
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim**

oleh:

**Danang Yogo Wijaya
165010036**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS WAHID HASYIM
SEMARANG
Maret 2020**

INTISARI

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL HERBA ALFALFA (*Medicago sativa* L.) TERHADAP *Propionibacterium acnes* SECARA IN VITRO

Herba alfalfa diduga mengandung flavonoid yang dapat berkhasiat sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba alfalfa (EEHA) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*, serta kandungan flavonoidnya.

Herba alfalfa dimaserasi menggunakan etanol 70%. Uji antibakteri EEHA dilakukan pada 7 kelompok yaitu K1 (Klindamisin *disk*), K2 (DMSO 50%), K3 (EEHA 40%), K4 (EEHA 50%), K5 (EEHA 60%), K6 (EEHA 70%) dan K7 (EEHA 80%). Data uji antibakteri berupa diameter daerah hambat yang dianalisis secara statistik menggunakan uji *Anova* satu jalan kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* dengan taraf kepercayaan 95 %.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa EEHA mengandung flavonoid. Seluruh konsentrasi uji EEHA (40, 50, 60, 70, dan 80)% memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. acnes* dengan rata rata diameter daerah hambat iradikal masing masing (14,60; 14,89; 15,56; 16,52; dan 18,59) mm.

Kata Kunci : Ekstrak Etanol, Herba Alfalfa, *Propionibacterium acnes*, Antibakteri, Flavonoid.

ABSTRACT

ACTIVITIES OF ALFALFA HERB EXTRACT (*Medicago sativa* L.) ON *Propionibacterium acnes* IN VITRO

Alfalfa herb is thought to contain flavonoids which can be efficacious as antibacterial. This study aims to determine the antibacterial activity of ethanol extract of herbal alfalfa (AHEE) against Propionibacterium acnes, as well as its flavonoid content.

The alfalfa herb was macerated using 70% ethanol. AHEE antibacterial tests were carried out in 7 groups namely K1 (Clindamycin disk), K2 (DMSO 50%), K3 (AHEE 40%), K4 (AHEE 50%), K5 (AHEE 60%), K6 (AHEE 70%) and K7 (AHEE 80%). Antibacterial test data in the form of inhibitory diameter were analyzed statistically using the one-way Anova test then continued with the Post Hoc Tukey test with a 95% confidence level.

The results showed that EEHA contained flavonoids. All EEHA test concentrations (40, 50, 60, 70, and 80)% had antibacterial activity against P. acnes with an average diameter of the respective iradic inhibitory area (14,60; 14,89; 15,56; 16,52; and 18.59) mm.

Keywords : Ethanol Extract, Alfalfa Herb, Propionibacterium acnes, Antibacterial, Flavonoids.

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL HERBA
ALFALFA (*Medicago sativa* L.) TERHADAP *Propionibacterium
acnes* SECARA *IN VITRO***

oleh:

Danang Yogo Wijaya
165010036

**Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim
Pada tanggal: 6 Maret 2020**

Pembimbing,



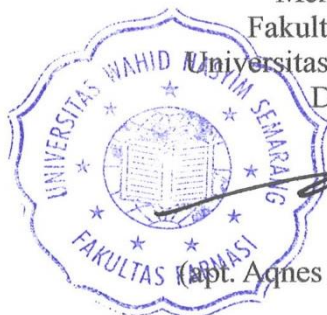
(apt. Risha Fillah Fithria, M.Sc.)

Mengetahui:

Fakultas Farmasi

Universitas Wahid Hasyim

Dekan,



(apt. Agnes Budiarti, M.Sc.)

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Danang Yogo Wijaya

NIM : 165010036

Judul Skripsi : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Alfalfa
(*Medicago sativa* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*
secara *In Vitro*

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi saya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah skripsi saya dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Demikian surat pernyataan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 6 Maret 2020



Danang Yogo Wijaya

“ Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda–tanda bagi orang yang berakal.” (Q.S. Ali Imron ; 190)

Kupersembahkan untuk:

*Kedua orang tua sebagai wujud hormat dan baktiku
Almamater sebagai wujud terima kasih dan khidmahku*

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji syukur senantiasa penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “**Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (*Medicago sativa* L.) terhadap *Propionibacterium acnes* secara *In Vitro***”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam memperoleh derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Ucapan terimakasih juga penulis haturkan kepada :

1. Ibu apt. Aqnes Budiarti, S.F., M.Sc selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.
2. Ibu apt. Risha Fillah Fithria, M.Sc dan Ibu Erika Indah Safitri, M.Farm selaku dosen pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini.
3. Ibu apt. Dewi Andini Kunti Mulangsri, M.Farm dan Ibu apt. Ririn Lispita Wulandari, M.Si.Med selaku dosen penguji atas koreksi, saran dan masukan terhadap skripsi ini.
4. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan sebagai dasar penulisan skripsi ini.

5. Pimpinan dan Staf Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang yang telah mengizinkan dan membantu pelaksanaan penelitian ini.
6. Staf Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang yang telah membantu pelaksanaan determinasi tanaman.
7. Eko Wahyu Saputro, Nurazisa, dan Kharista Khasanyzulaikhah yang telah berjuang bersama dalam melakukan penelitian.
8. Seluruh teman-teman angkatan 16 dan semua pihak yang tidak mungkin disebutkan satu persatu yang telah memberikan kontribusinya dalam membantu pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa banyak kekurangan dalam skripsi ini, untuk itu segala kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan di masa mendatang. Semoga penelitian ini dapat memberikan sumbangan yang berarti bagi ilmu pengetahuan pada umumnya dan dunia farmasi pada khususnya.

Semarang, 6 Maret 2019



Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
INTISARI.....	ii
<i>ABSTRACT</i>	iii
PENGESAHAN SKRIPSI	iv
SURAT PERNYATAAN.....	v
PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Manfaat Penelitian	3
E. Tinjauan Pustaka	3
1. <i>Propionibacterium acnes</i> (<i>P. acnes</i>)	3
2. Alfalfa (<i>Medicago sativa</i> L.)	5
3. Flavonoid.....	7
F. Landasan Teori.....	7
G. Hipotesis.....	9
BAB II. METODE PENELITIAN	10
A. Bahan dan Alat yang Digunakan.....	10
1. Bahan.....	10
2. Alat	10
B. Jalannya Penelitian.....	11
1. Determinasi Tanaman.....	11
2. Pembuatan Simplisia Herba Alfalfa	11

3. Pembuatan Ekstrak Etanol Herba Alfalfa.....	12
4. Identifikasi Kandungan Senyawa Flavonoid.....	13
5. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (EEHA)	13
C. Analisis Data	17
BAB III. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	18
A. Determinasi Herba Alfalfa	18
B. Pembuatan Ekstrak Etanol Herba Alfalfa	18
C. Uji Kandungan Senyawa Flavonoid (Uji Shinoda).....	19
D. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (EEHA).....	21
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN	25
A. Kesimpulan	25
B. Saran.....	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN.....	30

DAFTAR TABEL

Tabel I.	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Alfalfa terhadap <i>Propionibacterium acnes</i>	22
----------	--	----

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tampilan mikroskopis bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	3
Gambar 2. Tanaman, daun, bunga, dan polong alfalfa	5
Gambar 3. Struktur Kimia Flavonoid Golongan Aglikon.....	7
Gambar 4. Skema jalannya penelitian.....	16
Gambar 5. Serbuk herba alfalfa (a) dan ekstrak etanol herba alfalfa (b)	19
Gambar 6. Hasil uji kandungan senyawa flavonoid dengan uji Shinoda : EEHA + etanol 96 % (a) dan EEHA + etanol 96 % + serbuk Mg + HCl pekat (b).....	20
Gambar 7. Reaksi flavonoid dengan logam Mg dan HCl	20
Gambar 8. Zona hambat setelah perlakuan EEHA (a) replikasi I, (b) replikasi II, dan (c) replikasi III	21

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Alfalfa (<i>Medicago sativa</i> L.)	30
Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Simplisia dan Ekstrak Etanol Herba Alfalfa	33
Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Seri Konsentrasi Ekstrak Etanol Herba Alfalfa	34
Lampiran 4. Perhitungan Konversi Konsentrasi Ekstrak Etanol Herba Alfalfa ke dalam Konsentrasi di <i>Paper Disk</i>	35
Lampiran 4. Hasil Analisis Statistik Data Nilai DDH dari Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (<i>Medicago sativa</i> L.) terhadap Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	36

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bakteri *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri Gram positif anaerob yang dapat menyebabkan terjadinya jerawat melalui proses inflamasi (Brzuszkiewicz, dkk., 2011). 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 (Harahap, 2000).

Pengembangan obat dengan bahan alam untuk mengendalikan infeksi *Propionibacterium acnes* pada jerawat, salah satunya dapat menggunakan herba alfalfa (*Medicago sativa* L.). Herba alfalfa mengandung senyawa alkaloid, isoflavonoid, saponin, kumarin, steroid, karbohidrat dan pektin metilesterase (Newall dkk., 1996). Susilowati dkk. (2014) melaporkan bahwa ekstrak etanol herba alfalfa mengandung flavonoid dengan kadar total 8,13 %, alkaloid dengan kadar 48,86 ppm dan kumarin dengan kadar 229,83 ppm.

Penelitian Sundu dkk. (2018) menyatakan bahwa ekstrak etanol umbi paku atai merah (*Angiopteris ferox* Copel) mengandung senyawa flavonoid dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*. Penelitian tersebut terdapat kesamaan dalam penelitian ini dengan pelarut ekstrak yang sama yang diujikan pada bakteri *Propionibacterium acnes*.

Hasil penelitian Doss dkk. (2011) bahwa ekstrak etanol herba alfalfa (*Medicago sativa* L.) mengandung flavonoid dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis*,

Pseudomonas aeruginosa, dan *Klebsiella pneumonia* dengan metode difusi agar sumuran. Doss dkk. (2011) telah membuktikan bahwa EEHA mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif atau Gram negatif, sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian EEHA terhadap bakteri lain yaitu *Propionibacterium acnes*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba alfalfa terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* yang dinyatakan dengan nilai diameter daerah hambat (DDH) serta kandungan flavonoidnya.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu :

1. Apakah ekstrak etanol herba alfalfa (*Medicago sativa* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*?
2. Apakah ekstrak etanol herba alfalfa (*Medicago sativa* L.) mengandung flavonoid?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini sebagai berikut :

1. Mengetahui adanya ekstrak etanol herba alfalfa (*Medicago sativa* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*.
2. Menetapkan kandungan flavonoid dari ekstrak etanol herba alfalfa (*Medicago sativa* L.).

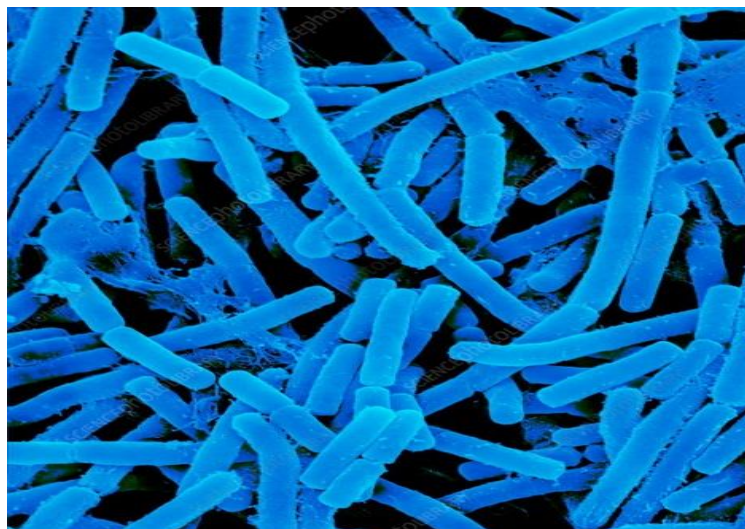
D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat serta informasi kepada peneliti selanjutnya khususnya para ahli farmakologi mengenai potensi herba alfalfa (*Medicago sativa* L.) sebagai antibakteri yang memberikan kontribusi dalam pengembangan penggunaan obat tradisional.

E. Tinjauan Pustaka

1. *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) Penyebab Jerawat

Propionibacterium acnes (Gambar 1) adalah mikrobiota kulit yang biasanya sering ditemukan pada kulit yang kaya akan kelenjar sebacea seperti di kulit kepala dan muka (Jawetz dkk., 2005). *P. acnes* termasuk jenis bakteri gram positif berbentuk batang yang berperan dalam pembentukan jerawat. *P. acnes* adalah bakteri yang bersifat anaerob aerotoleran yang berbentuk batang dan memiliki lebar 0,5-0,8 μm dan panjang 3-4 μm (Loop, 2011).



Gambar 1. Tampilan mikroskopis bakteri *Propionibacterium acnes* (Science Photo Library, 2020)

Mekanisme timbulnya jerawat yaitu peningkatan produksi minyak oleh kelenjar sebaceous. Sebum yang dihasilkan keluar melewati saluran pilosebaceous dan mencapai permukaan kulit, kemudian sebum memproduksi asam linoleat yang disalurkan ke keratinosit melalui folikel rambut. Asam lemak bebas terbentuk oleh rangsangan faktor pencetus jerawat sehingga asam lemak bebas memicu produksi sitokin inflamasi seperti IL-8, IL-6, IL-1 β , dan TNF- α yang menyebabkan peradangan dan peningkatan aktivitas keratinosit. Keratinosit yang menumpuk dan menyumbat menghasilkan asam linoleat yang dibawa oleh sebum berubah menjadi komedo yang berkembang dan membentuk menjadi jerawat (Prasad, 2016; Tuchayi, dkk., 2015).

Jerawat ditandai adanya komedo, papul, pustul, nodus, dan kista pada daerah wajah, leher, lengan atas, dada, dan punggung (Lai dan Mercurio, 2009; Kurokawa, dkk., 2009). Meskipun tidak memiliki pengaruh yang signifikan, jerawat dapat mempengaruhi kualitas hidup seseorang dengan memberikan efek psikologis yang buruk (Hafez, dkk., 2009).

Klasifikasi *Propionibacterium acnes* menurut Loop (2011) :

<i>Kingdom</i>	: Eukariotik
<i>Phylum</i>	: Antinobacteria
<i>Class</i>	: Actinomyceles
<i>Order</i>	: Propionibacterineae
<i>Family</i>	: Propionibacteriaceae
<i>Genus</i>	: Propionibacterium
<i>Spesies</i>	: Propionibacterium acnes

2. Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

a. Morfologi Tanaman

Alfalfa (*Medicago sativa* L.) dikenal dengan nama *Queen of Forages* yang memiliki kaya gizi, protein, vitamin, dan mineral yang dapat digunakan sebagai sumber energi untuk memenuhi kebutuhan hidup ternak karena mempunyai serat yang tinggi (Orloff, 1997). Pertumbuhan alfalfa membutuhkan sinar matahari dan kadar kapur yang cukup dan tahan pada temperatur tinggi tetapi tidak tahan pada kelembaban tinggi.

Alfalfa (Gambar 2) merupakan tanaman tahunan berupa herba berakar dalam, bercabang, dan membentuk rhizom. Alfalfa memiliki batang mendatar, menanjak sampai tegak, berkayu pada bagian dasar, cabang-cabang pada bagian dasar. Batang alfalfa memiliki tinggi sekitar 30-120 cm, satu tangkai berdaun tiga (trifoliat), panjang daun 5-15 mm, dan berbulu pada permukaan bawah. Pada tangkai alfalfa memiliki daun berbulu. Alfalfa memiliki bunga berbentuk tandan yang rapat berisi sekitar 10-35 bunga dan mahkota yang memiliki beraneka ragam warna yaitu ungu, biru dan putih (Mannetje dan Jones, 2000).



Gambar 2. Tanaman, daun, bunga dan polong alfalfa (Undersander, dkk., 2015)

Klasifikasi tanaman alfalfa menurut USDA (2011) :

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Subkingdom</i>	: <i>Tracheobionta</i>
<i>Phylum</i>	: <i>Tracheophyta</i>
<i>Subphylum</i>	: <i>Spermatophytina</i>
<i>Super division</i>	: <i>Spermatophyta</i>
<i>Division</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Super class</i>	: <i>Angiospermae</i>
<i>Class</i>	: <i>Gymnospermae</i>
<i>Subclass</i>	: <i>Dicotyledonae</i>
<i>Order</i>	: <i>Fabales</i>
<i>Family</i>	: <i>Fabaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Medicago</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Medicago sativa</i> L.

b. Kandungan dan Khasiat Alfalfa

Tanaman alfalfa mengandung protein dan serat yang tinggi dan sangat cocok digunakan sebagai pakan ternak maupun sebagai suplemen. Senyawa yang terkandung dalam alfalfa yaitu flavonoid, apigenin, glikosida, luteolin, dan adenosin yang berkhasiat sebagai antibakteri, antiperadangan, antibodi, antiparasit dan antioksidan (Rahmayanti dan Sitanggang, 2006).

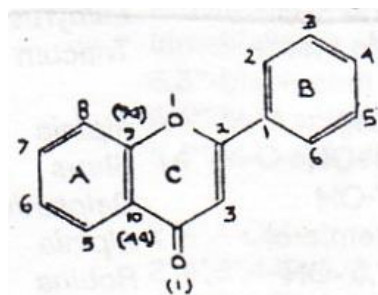
Alfalfa mempunyai khasiat yang sangat baik untuk tubuh sebagai antianemia, antiinflamasi, antiparasit, antioksidan, analgetika, *detox*, diuretika, pelancar ASI,

pencahar, probiotik, mempercepat penyerapan gizi, regulator pH darah, dan tonikum (Rahmayanti dan Sitanggang, 2006).

Identifikasi flavonoid menggunakan uji shinoda dengan cara menguapkan larutan uji yang ditambahkan etanol 96 % sebagai pelarut dengan penambahan pereaksi serbuk Mg dan HCl pekat (Djamil dan Yenni, 2014).

3. Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah salah satu kelompok senyawa fenol yang terbesar dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆ (Gambar 3) yang ditemukan di alam. Senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Markham, 1988).



Gambar 3. Stuktur Kimia Flavonoid Golongan Aglikon (Mursyidi, 1990)

Flavonoid merupakan senyawa polar yang memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Flavonoid dapat tersari oleh pelarut polar seperti metanol, aseton, etanol, air, dan isopropanol (Suryani, dkk., 2016). Flavonoid yang terkandung dalam alfalfa adalah flavonoid golongan isoflavonoid (Newall, dkk., 1996). Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri terhadap *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 (Cushnie dan Lamb, 2005)

F. Landasan Teori

Herba alfalfa mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, vitamin, dan kumarin (Susilowati, dkk., 2014). Pelarut etanol dapat menarik senyawa flavonoid karena memiliki sifat polaritas yang sama (Robinson, 1995). Penelitian Doss dkk. (2011) menyatakan bahwa ekstrak etanol herba alfalfa (*Medicago sativa* L.) mengandung senyawa flavonoid dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *S. pyogens*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *K. Pneumoniae* menggunakan metode agar sumuran dengan hasil DDH berturut turut sebesar 11,6 mm; 10,2 mm; 9,3 mm; 8,9 mm; dan 9,13 mm.

Penelitian Tenda dkk. (2017) menyatakan bahwa ekstrak etanol kulit pohon faloak (*Sterculia sp.*) mengandung senyawa flavonoid dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter daerah hambat (DDH) berturut-turut sebesar 1,33 cm; 1,66 cm; 1,90 cm; dan 2,13 cm pada konsentrasi 250 mg/mL, 500 mg/mL, 750 mg/mL, 1000 mg/mL. Penelitian tersebut terdapat kesamaan pada penelitian yang dilakukan, meliputi pelarut etanol dalam ekstraksi dan bakteri yang memiliki karakteristik Gram positif yang dapat menyebabkan jerawat. Penelitian Yuliawati dkk. (2016) mengatakan bahwa ekstrak etanol selada air (*Nasturtium officinale*) dan pohpohon (*Pilea trinervia*) mengandung senyawa flavonoid dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* dengan DDH yang dihasilkan berada dalam rentang 10-20 mm. Penelitian tersebut telah membuktikan bahwa etanol dapat menyari senyawa flavonoid dan ekstraknya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*. Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri dengan

menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi (Cushnie dan Lamb, 2005).

G. Hipotesis

Berdasarkan uraian tersebut dapat dirumuskan hipotesis yaitu :

1. Ekstrak etanol herba alfalfa (*Medicago sativa* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*.
2. Ekstrak etanol herba alfalfa (*Medicago sativa* L.) mengandung flavonoid.

BAB II. METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat yang Digunakan

1. Bahan

a. Bahan Preparasi Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu herba alfalfa (*Medicago sativa* L.) diperoleh dari Desa Tlatar, Kabupaten Boyolali, Jawa Tengah. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi herba alfalfa (*Medicago sativa* L.) yaitu etanol 70% (teknis).

b. Bahan Uji Kandungan Flavonoid

Bahan uji kandungan flavonoid yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96 %, serbuk Mg dan HCl pekat.

c. Bahan Uji Aktivitas Antibakteri

Bahan uji antibakteri yang digunakan penelitian adalah bakteri *P. acnes*, kertas cakram klindamisin (2 µg/disk), dimetilsulfoksida (DMSO) 50%, larutan NaCl 0,9 %, media *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Merck), larutan standar *McFarland I* (10⁸ CFU/ml), *Brain Heart Infusion* (BHI), dan akuades steril.

2. Alat

a. Alat-alat yang digunakan untuk pembuatan simplisia adalah pisau, talenan, nampan, lemari pengering (Mommert), mesin penyerbuk yang dilengkapi ayakan, *moisture balance* (Ohaus), timbangan digital (Ohaus).

b. Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi maserasi adalah bejana kaca, batang pengaduk kayu, pompa vakum (Buchi V500), corong *Buchner* (Pyrex), alat-alat

gelas (Pyrex), klem dan statif, timbangan analitik (Ohaus), dan penguap vakum putar (Buchi B-490).

- c. Alat yang digunakan untuk uji Shinoda adalah alat-alat gelas (Pyrex), rak tabung, kompor listrik, dan cawan porselin (Pyrex).
- d. Alat yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah *micropipete* 5-50 μL , 10-100 μL , 100-1000 μL (Gilson), *yellow* dan *blue tip* (Brand), inkubator (Binder BD 115), cawan petri (Pyrex), *Laminar Air Flow* (Labconco), pinset, ose bulat, bunsen, autoklaf (Hirayama), serta alat-alat gelas (Pyrex).

B. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui identitas tanaman herba alfalfa yang akan dilakukan dalam penelitian. Determinasi dilakukan dengan mengidentifikasi sifat morfologi tanaman tersebut dan mencocokkannya dengan kunci kunci determinasi dalam buku *Flora of Java* (Backer dan Brink, 1980). Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistemika, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Diponegoro, Semarang.

2. Pembuatan Simplisia Herba Alfalfa

Herba alfalfa disortasi basah untuk menghilangkan kotoran dan bahan-bahan asing lainnya pada daun. Herba alfalfa dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dengan lemari pengering pada suhu 40⁰C sampai kering. Simplisia yang sudah kering jika bagian daun dari tanaman mudah hancur bila diremas dengan tangan. Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak dalam penyimpanan yang lama (Harborne, 1987).

Simplisia yang sudah kering disortasi kering terlebih dahulu dihaluskan dengan menggunakan mesin pernyerbuk yang sudah disertai pengayak lalu diukur kadar airnya dengan alat *moisture content balance*. Persyaratan kadar air pada simplisia kering yaitu kurang dari 10 %. Setelah itu disimpan dalam wadah tertutup rapat dalam ruangan terlindung dari cahaya matahari supaya tidak terjadi kerusakan dekomposisi kandungan senyawanya (Depkes RI, 1986).

3. Pembuatan Ekstrak Etanol Herba Alfalfa

Pembuatan ekstrak etanol herba alfalfa dilakukan dengan metode maserasi dengan perbandingan bahan dan pelarut adalah 1:10. Cairan pelarut yang digunakan untuk maserasi yaitu etanol 70 %. Serbuk simplisia yang digunakan 850 gram dengan pelarut 8,5 L. Proses pertama yang dilakukan adalah serbuk simplisia herba alfalfa ditimbang sebanyak 850 gram dimasukkan ke dalam toples kaca ditambahkan pelarut etanol 70 % sebanyak 6,375 L (75 %) selama 3 hari dan campuran diaduk perlahan-lahan. Pengadukan dilakukan minimal 3 kali sehari. Setelah 3 hari campuran tersebut disaring menggunakan corong *Buchner* dan Pompa vakum, disebut maserat I.

Proses remaserasi dilakukan dengan menambahkan sisa pelarut 2,125 L (25 %) ke dalam ampas dari proses maserasi di dalam toples, campuran diaduk perlahan dan proses ini dilakukan selama 2 hari. Setelah proses penyaringan diperoleh maserat II. Hasil maserat I dan II kemudian dicampurkan.

Maserat diuapkan menggunakan penguap vakum putar pada suhu 55⁰C untuk mendapatkan ekstrak kental herba alfalfa. Ekstrak kental tersebut ditimbang beratnya lalu dimasukkan ke dalam wadah botol gelap bertujuan untuk mencegah

reaksi fotolitik yang dikatalisis oleh cahaya matahari. Ekstrak kental kemudian dihitung rendemennya dan disimpan dalam desikator (Depkes RI., 1985)

Perhitungan rendemen ekstrak dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang didapatkan (g)}}{\text{Bobot serbuk simplisia herba alfalfa (g)}} \times 100 \%$$

4. Identifikasi Kandungan Senyawa Flavonoid

Senyawa golongan flavonoid diujikan dengan uji Shinoda sebanyak 2 mg ekstrak etanol herba alfalfa (*Medicago sativa* L.) dimasukkan ke dalam cawan petri. Kemudian ditambahkan 3 tetes etanol 70 % dan diaduk hingga homogen. Ekstrak diuapkan dan ditambahkan etanol 96 % sebanyak 1 mL. Serbuk Mg ditambahkan sebanyak 100 mg ke dalam larutan uji, lalu diberikan 3 tetes larutan HCl pekat. Perubahan warna kuning, orange, merah atau biru menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid (Depkes RI., 1995).

5. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (EEHA)

a. Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media *Mueller Hinton Agar* ditimbang sebanyak 11,4 gram dan dilarutkan dalam 330 mL *aquadest* di dalam erlenmeyer, lalu dipanaskan di atas kompor listrik dan diaduk hingga media terlarut sempurna. Media disterilisasi dengan *autoclave* suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri dalam *Laminar Air Flow* (LAF) dan dibiarkan memadat, lalu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C (Fatimah dkk., 2006).

b. Pembuatan Media BHI (*Brain Heart Infusion*)

Media BHI ditimbang sebanyak 0,74 gram dan dilarutkan dengan *aquadest* 20 mL, dipanaskan di atas kompor listrik hingga larut dan homogen. Media disterilisasi dengan autoklaf (Pakekong dkk., 2016)

c. Pembuatan larutan Standar 0,5 *Mc. Farland I*

Larutan BaCl_2 1% sebanyak 0,05 mL dan larutan asam sulfat 1% sebanyak 9,95 mL dicampurkan dalam tabung reaksi, kemudian ditutup rapat agar tidak terjadi penguapan dan dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan digunakan sebagai standar kerapatan suspensi bakteri uji. Larutan standar *Mc. Farland* 0,5 (biakan cair kekeruhannya setara dengan 0,5 *Mc. Farland I* dengan kerapatan populasi bakteri (1×10^8 CFU/ml) (Pakekong dkk., 2016).

d. Pembuatan Biakan Bakteri

Bakteri *Propionibacterium acnes* dari induk ditanam kembali pada permukaan media MHA yang digoreskan secara zig-zag menggunakan ose bulat lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Nurjanah, dkk., 2018).

e. Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *P. acnes* dalam cawan petri diambil menggunakan kawat ose bulat, kemudian disuspensikan ke dalam media BHI. Biakan bakteri tersebut kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi bakteri diambil sebanyak 200 μL kemudian dimasukkan ke dalam larutan NaCl 0,9% b/v sebanyak 10 mL, tingkat kekeruhan suspensi bakteri dibandingkan dengan

0,5 Mc Farland I dengan kerapatan bakteri 1×10^8 CFU/ml (Nurjanah, dkk., 2018).

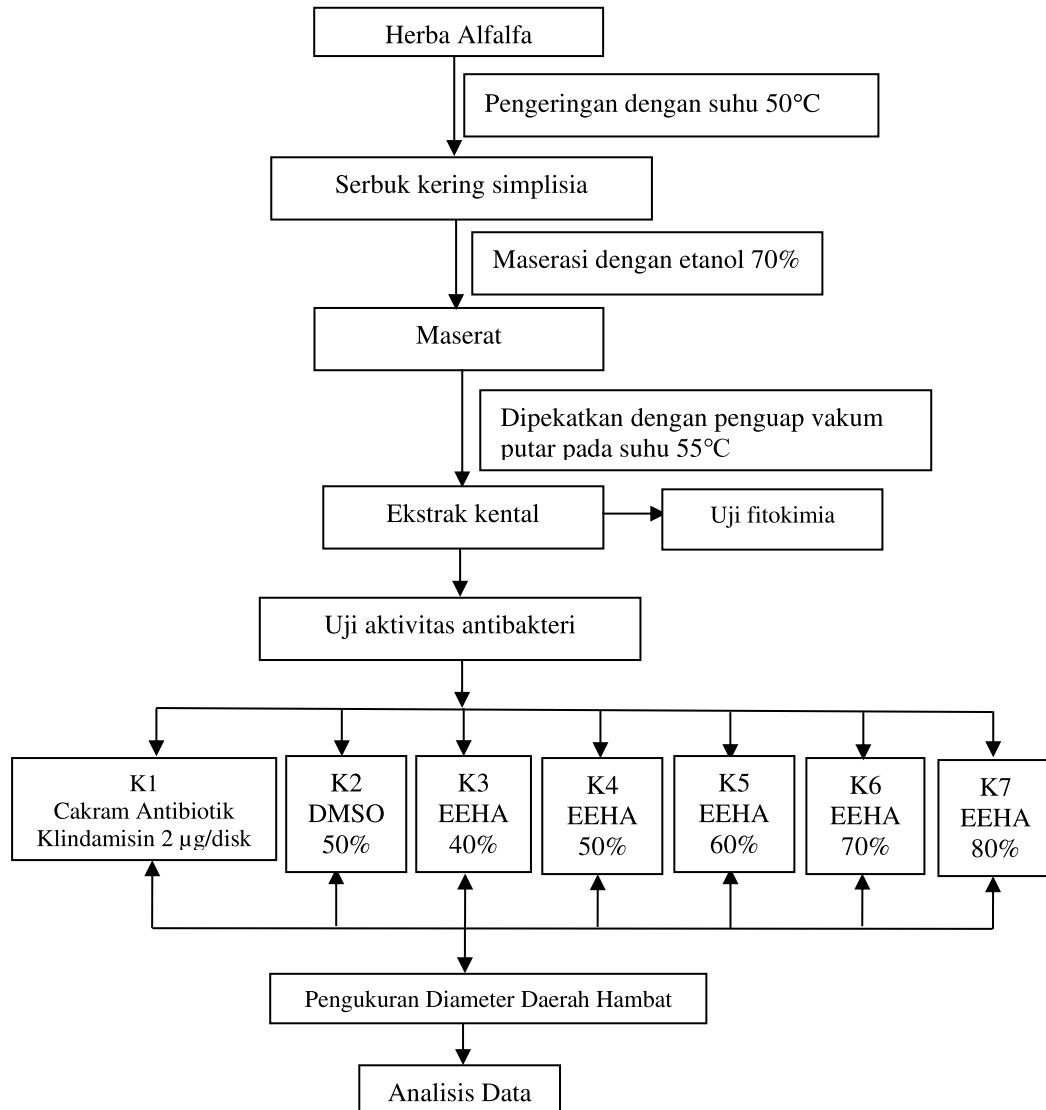
f. Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Uji

Larutan stok uji ekstrak etanol herba alfalfa (*Medicago sativa* L.) dibuat sebanyak 400 μ L dengan melarutkan senyawa uji dalam DMSO 50 % perbandingan 1 : 1 (g/mL) sehingga diperoleh konsentrasi 100%. Larutan stok ekstrak etanol herba alfalfa dibuat seri konsentrasi 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80% ad 80 μ L larutan DMSO (Doss, dkk., 2011). Konsentrasi EEHA 40 % setara dengan 4000 μ g/disk, EEHA 50 % setara dengan 5000 μ g/disk, EEHA 60 % setara dengan 6000 μ g/disk, EEHA 70 % setara dengan 7000 μ g/disk, dan EEHA 80 % setara dengan 8000 μ g/disk.

g. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Alfalfa

Media *Mueller Hinton Agar* dituang ke dalam cawan petri hingga media memadat, kemudian suspensi bakteri sebanyak 50 μ L dituangkan di permukaan media dan diratakan menggunakan *spiner*. Kontrol negatif (K2 DMSO 50 %) dan seluruh konsentrasi larutan uji (K3 EEHA 40 %), (K4 EEHA 50 %), (K5 EEHA 60 %), (K6 EEHA 70 %), (K7 EEHA 80 %), diteteskan 10 μ L pada masing-masing kertas cakram dalam petri steril dan didiamkan 10 menit agar larutan uji menyebar secara merata pada kertas cakram. Kontrol positif (K1 cakram klindamisin 2 μ g/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 (K3-K7), DMSO 50 %

maupun cakram klindamisin 2 µg/disk. Zona jernih tersebut diukur menggunakan jangka sorong dan ditentukan dalam satuan milimeter (mm) (Doss, dkk., 2011). Skema jalannya penelitian tersaji pada Gambar 4.



Gambar 4. Skema jalannya penelitian

C. Analisis Data

Data diameter daerah hambat (DDH) ekstrak etanol herba alfalfa pada bakteri *P. acnes* dianalisis secara statistik menggunakan *software SPSS 16*. Data DDH diuji sebaran datanya menggunakan uji *Shapiro Wilk*, sedangkan homogenitas varian data menggunakan uji *Levene's test*. Hasil uji yang diperoleh menunjukkan terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan uji beda >2 variabel menggunakan *One Way Anova* ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji *Pos Hoc Tukey* dengan taraf kepercayaan 95%. Ekstrak etanol herba alfalfa dikatakan mempunyai aktivitas antibakteri jika nilai DDH lebih besar secara signifikan dibanding kontrol negatif, sedangkan EEHA dikatakan mengandung flavonoid dengan uji skrining fitokimia yang menunjukkan perubahan dari warna hijau pekat menjadi merah kecoklatan (Jangnga, 2018).

HALAMAN INI TIDAK TERSEDIA

BAB III

**DAPAT DIAKSES MELALUI
UPT PERPUSTAKAAN UNWAHAS**

BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah :

1. Ekstrak etanol herba alfalfa memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* berupa zona iradikal.
2. Ekstrak etanol herba alfalfa mengandung senyawa flavonoid.

B. Saran

Saran yang diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah :

1. Perlu dilakukan fraksinasi EEHA dengan pelarut non polar untuk menghilangkan resin sebagai zat pengotor.
2. Perlu dilakukan uji antibakteri EEHA terhadap bakteri lain baik Gram positif maupun Gram negatif untuk lebih mengetahui potensi EEHA sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Backer, C.A., dan Bakhuizen van den Brink, R.C., 1980, *Flora of Java*, Springer, Netherlands, 37.
- Brzuszkiewicz, E., Weiner, J., Wollherr, A., Thurmer, A., Jennifer Hupeden, J., Lomholt, H.B., Kilian, M., Gottschalk, G., Daniel, R., Mollenkopf, H.J., Meyer, T.F., dan Bruggemann, H., 2011, Comparative Genomics and Transcriptomics of *Propionibacterium acnes*, *Journal Plos One*, 6(6), 79-83.
- Cushnie, T.P., dan Lamb, A.J., 2005, Antimicrobial Activity of Flavonoids, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(1), 343-356.
- Depkes RI., 1985, *Pembuatan Simplisia*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 11.
- Depkes RI., 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 1, 9, 11.
- Depkes RI., 1995, *Material Medika Indonesia*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta, 337.
- Djamil, R., dan Yenni, C., 2014, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Fraksi *n*-Butanol Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC) secara Spektrofotometri UV-Cahaya Tampak, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12(1), 94.
- Doss, A., Parivuguna, V., Vijayasanthi, M., dan Surendran, S., 2011, Antibacterial Evaluation And Phytochemical Analysis Of *Medicago sativa* L. Against Some Microbial Pathogens, *Indian Journal of Science and Technology*, 4(5), 550-552.
- Fatimah, C., Harahap, U., Sinaga, I., Safrida, dan Ernawati, 2006, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Angsana (*Pterocarpus indicus* Willd) secara In Vitro, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 1(1), 3.
- Hafez, K.A., Mahran, A.M., Hofny, E.R.M., Mohammed, K.A., Darweesh, A.M., dan Aal, A., 2009, The Impact of Acne Vulgaris on the Quality of Life and Psychologic Status in Patients from Upper Egypt, *Journal Dermatology*, 48(3), 280-285.
- Harahap, M., 2000, *Ilmu Penyakit Kulit*, Hipokrates, Jakarta, 35-45.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Institut Teknologi Bandung Press, Bandung, 69-94, 142-158, 234-238.

- Huda, C., Putri, A.E., dan Sari, D.W., 2019, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi dari Maserat *Zibethinus folium* terhadap *Escherichia coli*, *Jurnal SainHealth*, 3(1), 7-12.
- Jangnga, I.D., Kabaya, P.P., dan Kosala, K., 2018, 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*, 5(2), 104-105.
- Jawetz, E., 1997, Principle of Antimicrobial Drug Action Basic and Clinical Pharmacology Third Edition, Mc Graw Hill, New York, 207-208.
- Jawetz, E., Melnick, G.E., dan Adelberg, C.A., 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*, Penerjemah Bagian Mikrobiologi Kedokteran Universitas Airlangga, Edisi I, Penerbit Salemba Medika, Surabaya, 211-249.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., dan Adelberg, C.A., 2005, *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*, Penerjemah: Huriati dan Hartanto, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 45-50.
- Kurokawa, I., Danby, F.W., Ju, Q., Wang, X., Xiang, L.F., Xia, L., Chen, W.C., dan Nagy, I., 2009, New Developments in Our Understanding of Acne Pathogenesis and Treatment, *Experimental Dermatology*, 18(10), 821-832.
- Lai, K.W., dan Mercurio, M.G., 2009, Update on the Treatment of *Acne Vulgaris*, *Journal of Clinical Outcomes Management*, 16(3), 115.
- Loop, R., 2011, *Propionibacterium Acnes and it's Phages*, Departemen of Clinical Sciences, Lund Univercity, 23-26.
- Mannetje, L., dan Jones, R.M., 2000, *Sumber Daya Nabati Asia Tenggara*, PT. Balai Pustaka, Bogor, 78-80.
- Markham, K.R., 1988, Cara Mengidentifikasi *Flavanoid*, Terjemahan Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 1,19-21.
- Miratunnisa, Mulqie, L., dan Hajar, S., 2015, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Kentang (*Solanum Tuberosum* L.) terhadap *Propionibacterium*, *Jurnal Kesehatan dan Farmasi*, 1(1), 513-514
- Mursyidi, A., 1990, *Analisis Metabolit Sekunder*, editor Achmad Mursyidi, Proyek Pengembangan Pusat Fasilitas Bersama Antar Universitas (Bank Dunia XVII)-PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 172.

- Newall, C.A., Anderson, L.A., dan Phillipson, J.D., 1996, *Herbal Medicines : A Guide For Health-Care Professionals*, London Pharmaceutical Press, London, 23-24
- Nurjanah, S., Rokiban, A., dan Irawan, E., 2018, Ekstrak Umbi Rumput Teki (*Cyperus Rotundus*) sebagai Antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*, *Jurnal Tadris Pendidikan Biologi*, 9(2), 165-175.
- Orloff, S.B., 1997, *Intermountain Alfalfa Management*, Division of Agriculture and Natural Resources, California, 1-2.
- Pakekong, E.D., Homenta, H., dan Mintjelungan, C.N., 2016, Uji Daya Hambat Ekstrak Bawang Bombay (*Allium cepa* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro, *Jurnal Ilmu Farmasi*, 1(5), 34-35.
- Prasad, S.B., 2016, *Acne Vulgaris: A Review On Pathophysiology And Treatment*, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Reserch*, 9(4), 55-59.
- Rahmayanti dan Sitanggang, 2006, *Taklukkan Penyakit dengan Klorofil Alfalfa*, Argo Media, Jakarta, 13-22.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Obat Tinggi*, Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata, ITB, Bandung, 191-209.
- Science Photo Library (SPL), 2020, *Propionibacterium acnes*, Harrow Road, United Kingdom, Data diperoleh melalui situs internet <https://www.sciencephoto.com/media/798632/view/propionibacterium-acnes-prokaryote-sem>, diunduh pada tanggal 2 Maret 2020.
- Sundu, R., Sapri., dan Handayani, F., Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Umbi Paku Atai Merah (*Angiopteris ferox* Copel) Terhadap *Propionibacterium acnes*, 2(2), 75-82.
- Suryani, N.C., Permana, D.G.M., dan Jambe, A.G.A., 2016, Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Total Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata*), *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 5(1), 55-57.
- Susilowati, S., Nuria, M.C., dan Budiarti, A., 2014, Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (*Medicago sativa* L), *Jurnal Media Farmasi Indonesia*, 9(2), 736-741.
- Tenda, P.E., Lenggu, M.Y., Ngale, M.S., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Pohon Faloak (*Sterculia sp.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Info Kesehatan*, 15(1), 70-74.

- Tuchayi, S.M., Makrantonaki, E., Ganceviciene, R., Dessinioti, C., Feldman, S.R., dan Zouboulis C.C., 2015, Acne vulgaris, *Nature Reviews Disease Primers*, 1, 1-20.
- Undersander, D., Renz, M., Sheaffer, C., Shewmaker, G., dan Sulc, M., 2015, Alfalfa Management Guide, *American Society of Agronomy*, 1-2.
- USDA, 2011, *Germplasm Resources Information Network (GRIN)*, United State Department of Agriculture, Agriculture Research Service, Bellsville Area, 178-179.
- Utami, E.R., 2011, Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi, *Jurnal El-Hayah*, 1(4), 193.
- Wahdaningsih, S., Untari, E.K., dan Fauziah, Y., 2014, Antibakteri Fraksi *n*-Heksana Kulit *Hylocereus polyrhizus* Terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*, *Journal Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(3), 187-188.
- Warnida, H., Mustika, D., Supomo, dan Sukawaty, Y., 2018, Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Mahang (*Macaranga Triloba*) sebagai Obat Anti Jerawat, *Jurnal Penelitian Ekosistem Dipterokarpa*, 4(1), 9-18.
- Yuliawati, K.M., Risnawati, E., dan Dasuki, U.A., 2016, Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Selada Air Dan Pohpohan Terhadap *Propionibacterium acnes*, *Jurnal Kesehatan*, 6(1), 224-233.