



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL TOTAL
DAN EKSTRAK ETANOL TERPURIFIKASI DAUN
BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP
Staphylococcus aureus RESISTEN**

SKRIPSI

Oleh :

FAIQOH AWWALITA

NIM 082210101062

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL TOTAL
DAN EKSTRAK ETANOL TERPURIFIKASI DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP
Staphylococcus aureus RESISTEN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Pendidikan Strata Satu Fakultas Farmasi
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**Faiqoh Awwalita
NIM 082210101062**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

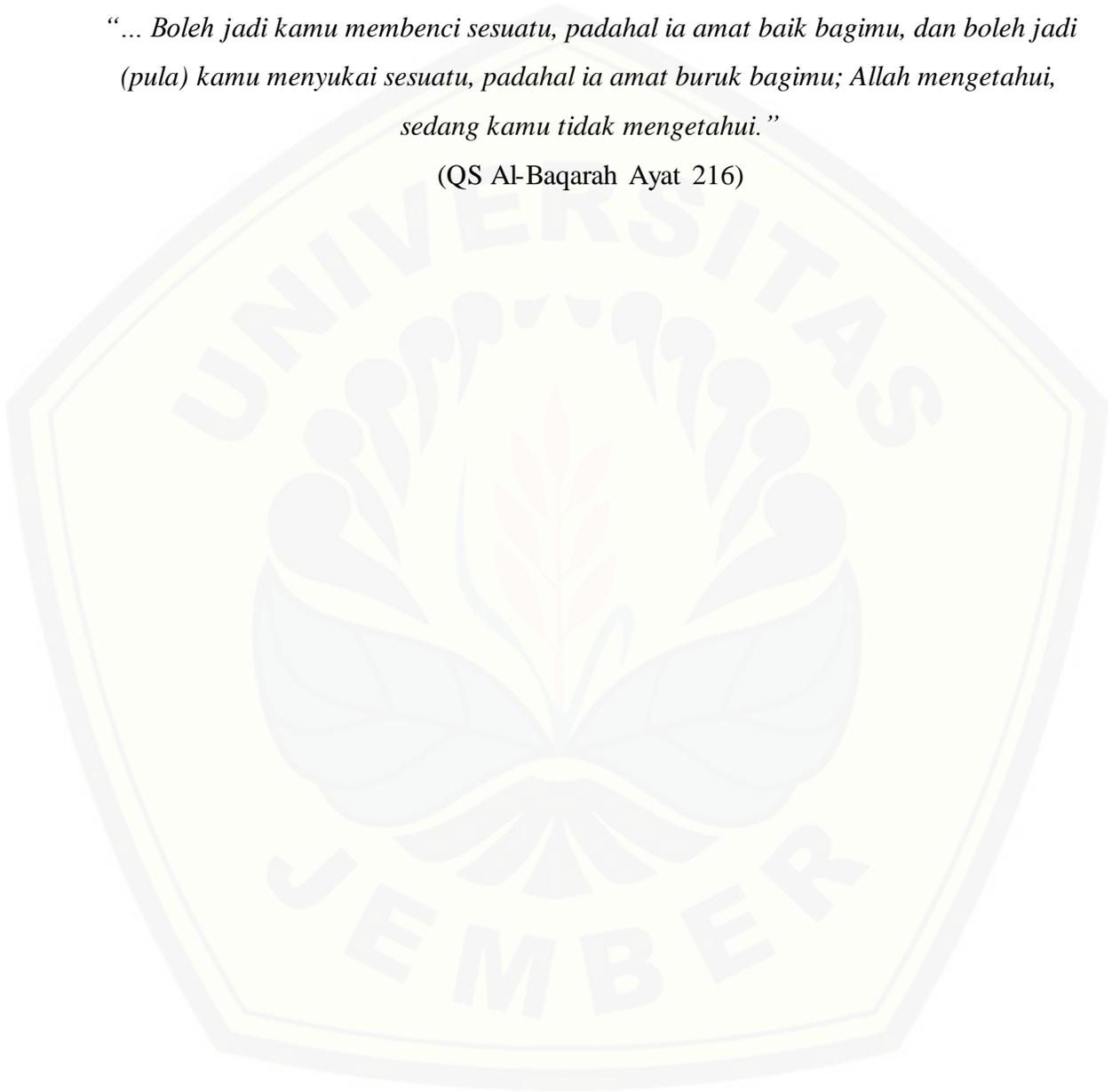
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tuaku tercinta, Ayah Sudartoyo dan Mama Suud Munaharoh untuk segenap doa, kepercayaan, nasehat dan kasih sayang, serta dukungan materiil dan immateriil selama ini. Terima kasih telah menjadi orang tuaku yang senantiasa mengiringi setiap langkah bagi keberhasilanku;
2. Kedua saudaraku tersayang, Adik Arum Dwi Hidayati dan Adik Rafika Nur Hayati atas dorongan dan semangat yang diberikan hingga saat ini. Senang sekali bisa tumbuh besar bersama dan kukasihi semoga Allah merahmati kalian;
3. Guru-guruku sejak SD sampai SMA, dosen dan segenap civitas akademika Universitas Jember khususnya Fakultas Farmasi terhormat, yang telah menjadi tempat menimba ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran.
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTO

“... Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu; Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.”

(QS Al-Baqarah Ayat 216)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Faiqoh Awwalita

NIM : 082210101062

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Total dan Ekstrak Etanol Terpurifikasi Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Staphylococcus aureus Resisten* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 9 Febuari 2016

Yang menyatakan,

Faiqoh Awwalita

NIM. 082210101062

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL TOTAL
DAN EKSTRAK ETANOL TERPURNIFIKASI DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP
Staphylococcus aureus RESISTEN**

Oleh

**Faiqoh Awwalita
NIM 082210101062**

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Endah Puspitasari S.Farm., M.Sc., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Siti Muslichah S.Si., M.Sc., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul : *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Total dan Ekstrak Etanol Terpurifikasi Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Staphylococcus aureus Resisten* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

hari : Selasa
tanggal : 9 Febuari 2016
tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Tim Penguji

Ketua,

Sekretaris,

Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP. 198107232006042003

Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt.
NIP. 197305132005012001

Anggota I,

Anggota II,

Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP. 198407122008122002

Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP. 198204062006042001

Mengesahkan

Dekan,

Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.
NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Total dan Ekstrak Etanol Terpurifikasi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap *Staphylococcus aureus* Resisten; Faiqoh Awwalita, 082210101062; 2016: 50 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Infeksi merupakan keadaan masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh, kemudian berkembang biak dan menimbulkan penyakit. Sebagian besar penyakit infeksi yang merugikan bagi manusia disebabkan oleh bakteri salah satunya *Staphylococcus aureus* yang merupakan patogen penting dan berbahaya diantara marga *Staphylococcus*. Bakteri *S.aureus* juga sering resisten terhadap berbagai jenis obat, sehingga mempersulit pemilihan antimikroba yang sesuai untuk terapi.

S. aureus dapat ditemukan pada permukaan kulit sebagai flora normal, terutama di sekitar hidung, mulut, alat kelamin, dan sekitar anus. *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi pada luka. Infeksi oleh *S. aureus* dapat menyebabkan sindroma kulit. Resistensi muncul pertama kali yaitu pada populasi bakteri penyebab suatu infeksi, baik karena keadaan umum pasien atau karena pengaruh pertahanan tubuh hospes yang lemah, sehingga menyebabkan penggunaan antibiotik dalam jumlah banyak.

Pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan bakteri yang resisten terhadap antibiotika memerlukan produk baru yang memiliki potensi tinggi. Penelitian zat yang berkhasiat sebagai anti bakteri perlu dilakukan untuk menemukan produk antibakteri baru yang berpotensi untuk menghambat atau membunuh bakteri yang resisten terhadap antibiotik dengan harga yang terjangkau. Salah satu alternatif yang dapat ditempuh adalah memanfaatkan zat aktif pembunuh bakteri yang terkandung dalam tanaman obat dan memiliki prospek sebagai sumber bahan obat salah satunya adalah tanaman binahong.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan aktivitas ekstrak etanol total dan ekstrak etanol terpurifikasi daun terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* serta menentukan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) pada kedua ekstrak tersebut. Daun binahong yang digunakan berasal dari Kecamatan Kreongan Kabupaten Jember. Daun binahong dicuci, disortasi kemudian dikeringkan dan diultrasonikasi dengan etanol 70%. Dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran *in vitro*.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut diperoleh hasil pengujian aktivitas antibakteri berupa nilai daya hambat ekstrak etanol total daun binahong konsentrasi 2,4, 6,8% b/v terhadap bakteri *S. aureus* yaitu sebesar $8,00 \pm 0,04$; $9,42 \pm 0,103$; $11,56 \pm 0,007$ dan $13,23 \pm 0,058$ mm. Sedangkan pada uji aktivitas antibakteri ekstrak terpurifikasi daun binahong pada konsentrasi yang sama menunjukkan nilai daya hambat sebesar $10,54 \pm 0,064$; $12 \pm 0,073$; $13,45 \pm 0,074$; dan $15,11 \pm 0,034$ mm.

Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol total terhadap *S. aureus* resisten adalah 1,5% b/v, sedangkan nilai KHM untuk ekstrak etanol terpurifikasi terhadap *S. aureus* resisten adalah 1,7 % b/v.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat ALLAH SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Total dan Ekstrak Etanol Terpurifikasi Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Staphylococcus aureus Resisten*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Dekan Fakultas Farmasi Unej, Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan tugas akhir ini;
2. Ibu Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt., selaku dosen pembimbing utama Ibu Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt., selaku dosen pembimbing anggota, Ibu Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt., dan Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt., selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penyusunan skripsi ini;
3. Ibu Ayik Rosita, S.Si., Apt., M.Si selaku dosen pembimbing akademik;
4. Ayah dan Mamaku, Sudartoyo dan Suud Munaharoh untuk segenap doa, kepercayaan, nasehat dan kasih sayang, serta dukungan materiil dan immateriil selama ini. Terima kasih telah menjadi orang tuaku;
5. Adik-adikku tersayang Arum Dwi Hidayati dan Rafika Nur Hayati yang selalu memberiku motivasi untuk menyelesaikan skripsi ini;
6. Bapak dan Ibu Suwono sebagai orangtuaku yang kedua di Jember. Terimakasih atas saran dan motivasinya selama ini;

7. Moh. Za'far Nasrulloh yang selalu memberi dukungan, motivasi, dan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini;
8. Teman-temanku di kos "Rotawu Ungu", Tyas, Ulan, Vita, Ruri, Andeh, Yessy, walau jarang di kos tetapi semua *memorial* ini terkenang selalu;
9. Teman-teman seperjuangan skripsi deryll Agustin Yuana, Ida Marwah, Rahayenda Ivory atas semua kerjasamanya;
10. Bu Widi dan Mbak Anggra selaku teknisi Bagian Biologi Farmasi atas kerjasama dan bantuannya selama mengerjakan penelitian ini;
11. Teman-teman Farmasi 2008 dan semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penulisan skripsi ini.

Penulis juga menerima segala saran dan kritik yang membangun dari semua pihak guna kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua. Amiin.

Jember, 9 Febuari 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan tentang Binahong	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Binahong	5
2.1.2 Deskripsi Tanaman Binahong	5
2.1.3 Penelitian Pendahuluan Tanaman Binahong	6
2.2 Tinjauan tentang Bakteri <i>S.aureus</i>	7
2.2.1 Klasifikasi bakteri <i>S.aureus</i>	7
2.2.2 Deskripsi bakteri <i>S.aureus</i>	7

2.3 Tinjauan tentang Infeksi.....	8
2.4 Tinjauan tentang Antibakteri	8
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	9
3.1 Jenis Penelitian	9
3.2 Rancangan Penelitian	9
3.3 Tempat Penelitian	10
3.1..Variabel Penelitian	10
3.1.1 Variabel Bebas	10
3.1.2 Variabel Terikat	10
3.1.3 Variabel Terkendali	11
3.2 Definisi Operasional	11
3.3 Alat dan Bahan	12
3.3.1 Alat Penelitian	12
3.3.2 Bahan Penelitian	12
3.4 Tahapan Penelitian	12
3.4.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Total dan Terpurifikasi Daun Binahong.....	12
3.4.2 Sterilisasi Alat dan Bahan	13
3.4.3 Pembuatan Media agar Mueller Hinton.....	13
3.4.4 Pembuatan suspensi bakteri <i>S. aureus</i> resisten	14
3.4.5 Pembuatan Kontrol.....	14
3.4.6 Pembuatan Larutan Uji.....	14
3.5 Tahap Pengujian	14
3.5.1 Uji Aktivitas Antibakteri.....	15
3.5.2 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	15
3.6 Tahap Pengamatan	15
3.7 Analisa Data	16
3.8 Skema Pelaksanaan Penelitian	17

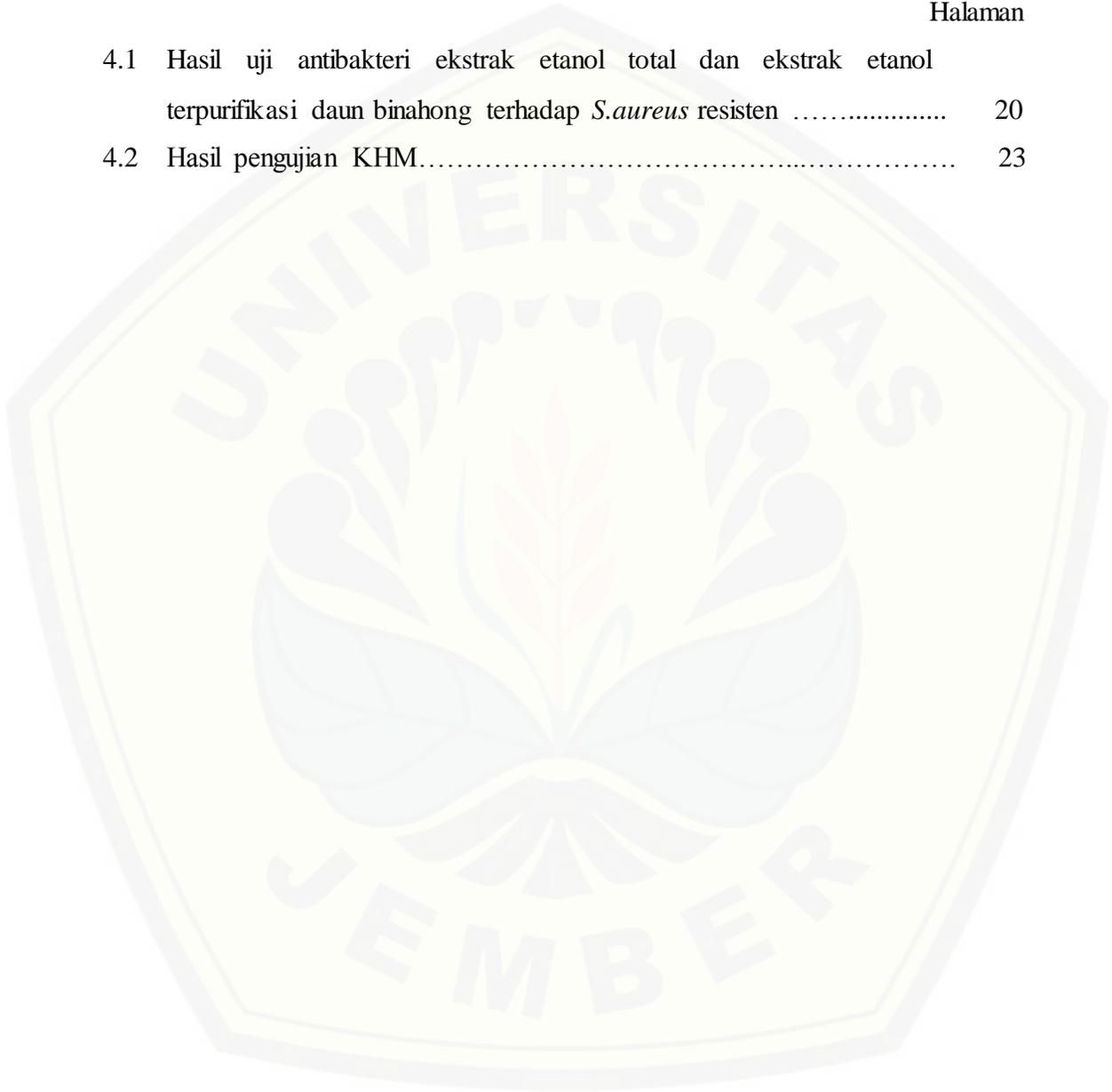
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	18
4.1 Hasil Penelitian	18
4.1.1 Hasil Ultrasonikasi Ekstrak Total dan Terpurifikasi daun Binahong.....	18
4.1.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Total dan Terpurifikasi Daun Binahong.....	18
4.1.3 Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	21
4.2 Pembahasan	24
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	27
5.1 Kesimpulan	27
5.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	31

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tanaman binahong.....	6
3.1 Rancangan penelitian.....	9
3.2 Pengamatan uji aktivitas dengan metode sumuran.....	15
3.3 Skema pelaksanaan penelitian.....	17
4.1 Hasil uji aktivitas dengan metode sumuran.....	19
4.2 Hasil uji KHM dengan metode sumuran.....	21
4.3 Hasil uji KHM lanjutan.....	22

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Hasil uji antibakteri ekstrak etanol total dan ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong terhadap <i>S.aureus</i> resisten	20
4.2 Hasil pengujian KHM.....	23



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Hasil microbiology chart report.....	32
B. Perhitungan persen rendemen ekstrak etanol total dan terpurifikasi daun binahong	34
C. Perhitungan konsentrasi larutan uji.....	35
D. Perhitungan kontrol negatif dan kontrol positif.....	36
E. Perhitungan diameter hambat uji aktivitas ekstrak etanol total dan ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong.....	37
F. Perhitungan diameter hambat uji KHM ekstrak etanol total dan ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong terhadap <i>S.aureus</i> resisten.....	40
G. Hasil uji ANOVA dan t-test aktivitas antibakteri.....	41
H. Hasil uji t KHM ekstrak etanol total dan ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong terhadap <i>S.aureus</i> resisten.....	45

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi masih menempati urutan teratas penyebab penyakit dan kematian di negara berkembang termasuk Indonesia. Infeksi merupakan keadaan masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh, kemudian berkembang biak dan menimbulkan penyakit. Mikroorganisme yang menyebabkan infeksi yaitu bakteri. Bakteri dapat menyebabkan infeksi secara lokal maupun sistemik (Ganiswarna, 1995).

Sebagian besar penyakit infeksi yang merugikan bagi manusia disebabkan oleh bakteri, salah satunya adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* merupakan patogen penting dan berbahaya di antara marga *Staphylococcus*. Bakteri ini sering resisten terhadap berbagai jenis obat, sehingga mempersulit pemilihan antimikroba yang sesuai untuk terapi (Lisa, 2007).

Infeksi *S. aureus* merupakan infeksi yang kejadiannya umum, berat, dan berhubungan dengan jumlah kesakitan dan kematian yang signifikan (Perloth *et al.*, 2008). Menurut data profil kesehatan Indonesia tahun 2009, infeksi subkutan, terutama disebabkan oleh *S. aureus* berada pada posisi ketiga atau sebanyak 247.256 kasus dari 10 penyakit terbanyak pada pasien rawat jalan di rumah sakit (Kemenkes, 2010).

S. aureus dapat ditemukan pada permukaan kulit sebagai flora normal, terutama di sekitar hidung, mulut, alat kelamin, dan sekitar anus. *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi pada luka biasanya berupa abses yang merupakan kumpulan nanah atau cairan dalam jaringan yang disebabkan oleh infeksi. Infeksi oleh *S. aureus* dapat menyebabkan sindroma kulit. Infeksi *S. aureus* dapat menular selama ada nanah yang keluar dari lesi atau hidung. Selain itu jari jemari juga dapat membawa infeksi *S. aureus* dari satu bagian tubuh yang luka atau robek (Dowshen *et al.*, 2002).

Dewasa ini, penggunaan antibiotik sangat banyak terutama dalam pengobatan yang berhubungan dengan infeksi, namun kenyataannya masalah infeksi terus berlanjut (Depkes, 2008). Resistensi muncul pertama kali yaitu pada populasi bakteri penyebab suatu infeksi, baik karena keadaan umum pasien atau karena pengaruh pertahanan tubuh hospes yang lemah, sehingga menyebabkan penggunaan antibiotik dalam jumlah banyak (Alanis, 2005).

Pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan bakteri yang resisten terhadap antibiotika memerlukan produk baru yang memiliki potensi tinggi, Penelitian zat yang berkhasiat sebagai anti bakteri perlu dilakukan untuk menemukan produk antibakteri baru yang berpotensi untuk menghambat atau membunuh bakteri yang resisten terhadap antibiotik dengan harga yang terjangkau. Salah satu alternatif yang dapat ditempuh adalah memanfaatkan zat aktif pembunuh bakteri yang terkandung dalam tanaman obat. Salah satu tanaman obat yang banyak dikenal masyarakat Indonesia dan memiliki prospek sebagai salah satu sumber bahan obat adalah binahong (Rahmawati, 2007).

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah tanaman obat potensial yang dapat mengatasi luka. Tanaman ini berasal dari dataran Cina dengan nama asalnya adalah *Dheng shan chi*, dikenal dengan sebutan *Madeira vine* (Manoi, 2009).

Penelitian mengenai kandungan metabolit sekunder dari daun binahong pernah dilakukan, bahwa dalam simplisia daun binahong terkandung senyawa alkaloid, polifenol, dan saponin (Annisa, 2007). Pemilihan pelarut dalam ekstraksi juga berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri (Iras, 2013). Hasil uji fitokimia kandungan metabolit sekunder alkaloid, polifenol dan saponin pada daun binahong berfungsi sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* (Khunaifi, 2010).

Ekstrak cair yang diperoleh dari proses ekstraksi simplisia tanaman obat dengan menggunakan pelarut organik atau air seringkali mengandung senyawa yang tidak diinginkan seperti zat warna (pigmen), karbohidrat, lilin, resin dan sejenisnya. Keberadaan senyawa tersebut seringkali merugikan pada kestabilan dan mengurangi kadar senyawa aktif didalam ekstrak sehingga harus dihilangkan. Namun, dalam sistem pengobatan tradisional seperti Ayurveda atau pengobatan

tradisional cina (*Traditional Chinese Medicine*) sinergisme dari seluruh kandungan kimia yang terdapat dalam suatu tanaman dapat menghasilkan efek terapeutik yang maksimal (Ulrich-Merzenich *et al.*, 2010). Sehingga, keberadaan zat ballast dalam daun binahong secara tidak langsung akan dapat mempengaruhi kemampuannya sebagai antibakterinya.

Daun binahong memiliki komponen zat ballast yang sangat tinggi terutama klorofil dan lemak. Keduanya cenderung bersifat non polar dalam hal kelarutannya pada pelarut organik. Sehingga pada proses purifikasi akan digunakan pelarut n-heksana dengan tujuan dapat menarik komponen non polar yang diharapkan dapat menghilangkan senyawa-senyawa pengganggu namun tetap mempertahankan senyawa aktifnya. Purifikasi ekstrak diharapkan dapat meningkatkan khasiat ekstrak.

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol total maupun ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* resisten belum pernah dilakukan. Sehingga pada penelitian ini dilakukan pengujian pengaruh kedua ekstrak tersebut yaitu ekstrak etanol total dan terpurifikasi daun binahong terhadap *S. aureus* resisten.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana perbandingan aktivitas ekstrak etanol total dan ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong terhadap pertumbuhan *S.aureus* yang resisten?
2. Berapa konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol total dan ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong terhadap pertumbuhan *S.aureus* yang resisten?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui perbandingan aktivitas ekstrak etanol total dan ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong terhadap pertumbuhan *S. aureus* resisten
2. Mengetahui konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol total dan ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong terhadap pertumbuhan *S. aureus* resisten.

1.4 Manfaat Penelitian

Beberapa manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi mengenai aktivitas antibakteri pada tanaman obat terhadap bakteri yang telah resisten.
2. Memacu munculnya penelitian-penelitian terhadap obat antibakteri dari bahan alam sebagai pemanfaatan keanekaragaman hayati, terutama yang ada di Indonesia.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Binahong

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Binahong

Klasifikasi ilmiah dari tanaman binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis menurut *United States Departement of Agriculture*, (2012) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Hamamelidae
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Basellaceae
Genus	: <i>Anredera</i>
Spesies	: <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis).

2.1.2 Deskripsi Tanaman Binahong

Binahong mempunyai nama latin *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. Merupakan tanaman obat dari daratan Tiongkok yang dikenal dengan nama asli dheng san chi, sedangkan di dunia internasional binahong dikenal dengan nama *hearth leaf madeiravine* (Tshikalange, 2005).

Bagian tanaman binahong yang bermanfaat sebagai anti bakteri salah satunya adalah daunnya. Daun binahong merupakan daun tunggal, bertangkai sangat pendek (*subsessile*), tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung (*cordata*), panjang 5 - 10 cm, lebar 3 - 7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk (*emarginatus*), tepi rata, permukaan licin, dapat dimakan (Gambar 2.1), (Rahmawati, 2007).



Gambar 2.1. Tanaman Binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.
(Sumber: United States Departement of Agriculture, 2012).

2.1.3 Penelitian Pendahuluan Tanaman Binahong

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri daun binahong dan kandungan metabolit sekundernya pernah dilakukan, bahwa dalam simplisia daun binahong terkandung senyawa alkaloid, polifenol, dan saponin (Annisa, 2007). Rachmawati (2007) telah melakukan skrining fitokimia daun binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis) dengan melakukan maserasi terhadap serbuk kering daun dengan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol didapatkan kandungan kimia berupa saponin triterpenoid, flavonoid dan minyak atsiri.

Rochani (2009) melakukan ekstraksi dengan cara maserasi daun binahong menggunakan pelarut petroleum eter, etil asetat dan etanol, setelah dilakukan pengujian secara KLT ditemukan senyawa alkaloid, saponin dan flavanoid. Setiaji (2009) telah melakukan ekstraksi pada rhizoma binahong dengan pelarut etil asetat, petroleum eter, dan etanol 70% didapatkan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol.

Hasil uji fitokimia ekstrak daun binahong ditemukan senyawa polifenol, alkaloid dan flavonoid berfungsi sebagai antibakteri terhadap *S.aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Khunaifi, 2010). Dalam identifikasi golongan triterpenoid ekstrak daun binahong, ditemukan senyawa 2,3,19,23-tetrahidroksi-12-ene-24,28-dimetil ester yang berfungsi sebagai antibakteri (Murdiyanto *et al*, 2012).

Ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol 70 % daun binahong terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dengan, perbedaan pelarut pada ekstrak daun binahong berpengaruh terhadap aktivitas antibakterinya (Diah, 2013). Pemberian ekstrak daun binahong secara topikal terhadap luka infeksi *S. aureus* memberikan aktivitas antibakteri yang poten dalam menghambat infeksi *Staphylococcus aureus* pada mencit (Umar *et al*, 2012).

2.2 Tinjauan tentang Bakteri *S. aureus*

2.2.1 Klasifikasi Bakteri *S. aureus*

Klasifikasi ilmiah menurut Todar, K. (2008) mengenai *Staphylococcus aureus*.

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Protophyta
Sub Divisi	: Schizomycetea
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2.2.2 Deskripsi Bakteri *S. aureus*

S.aureus merupakan bakteri gram positif, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul, berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1mm, dapat berdiri sendiri, berpasangan membentuk rantai atau berkelompok tidak teratur. *S.aureus* mudah tumbuh pada kebanyakan pembenihan bakteriologik, dalam keadaan aerobik atau mikroaerobik. *S.aureus* tumbuh paling cepat pada suhu kamar (20-25°C) dan pada media dengan pH 7,2-7,4. Koloni pada pembenihan padat berbentuk bulat halus menonjol, dan berwarna abu-abu sampai kuning emas tua (Jawetz, 1996).

S.aureus merupakan bakteri koagulase positif, hal ini membedakannya dengan spesies lain. *Staphylococcus aureus* merupakan

patogen utama bagi manusia dan hewan, sering menghemolisa darah, mengkoagulasi plasma, serta menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler dan toksin. *Staphylococcus* cepat menjadi resisten terhadap banyak zat antimikroba sehingga menimbulkan masalah pengobatan yang sulit (Jawetz, 2008).

2.3 Tinjauan tentang Infeksi

Infeksi merupakan masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh, berkembang biak dan menimbulkan penyakit. Keadaan ini dapat ditinjau sebagai suatu tipe parasitisme yang terjadi bila satu organisme hidup dengan merugikan organisme lain yaitu inangnya. Di dalam tubuh inang, parasit berkembang biak dan aktif secara metabolik (Raharjo, 2002).

2.4 Tinjauan tentang Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan (Syahrurachman, 1994). Dalam penggolongannya anti bakteri dikenal dengan antiseptik atau antibiotik. Berbeda dengan antibiotik yang tidak merugikan sel-sel jaringan manusia, daya kerja antiseptik tidak membedakan antara mikroorganisme dan jaringan tubuh. Namun pada dosis normal, praktis tidak bersifat merangsang kulit (Sastroamidjoyo, 1967). Antibiotik merupakan zat-zat kimia yang dihasilkan oleh bakteri dan fungi. Antibiotik memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman. Obat yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi pada manusia dan harus memiliki toksisitas selektif yang tinggi (Sastroamidjoyo, 1967).

Zat antimikroba yang terdapat pada daun binahong yaitu flavonoid, polifenol, saponin, alkaloid, terpenoid, minyak atsiri, tanin. Zat antimikroba dalam melakukan efeknya harus dapat mempengaruhi bagian-bagian vital sel seperti membran sel, enzim-enzim dan protein struktural (Pelczar *et al.*, 2008).

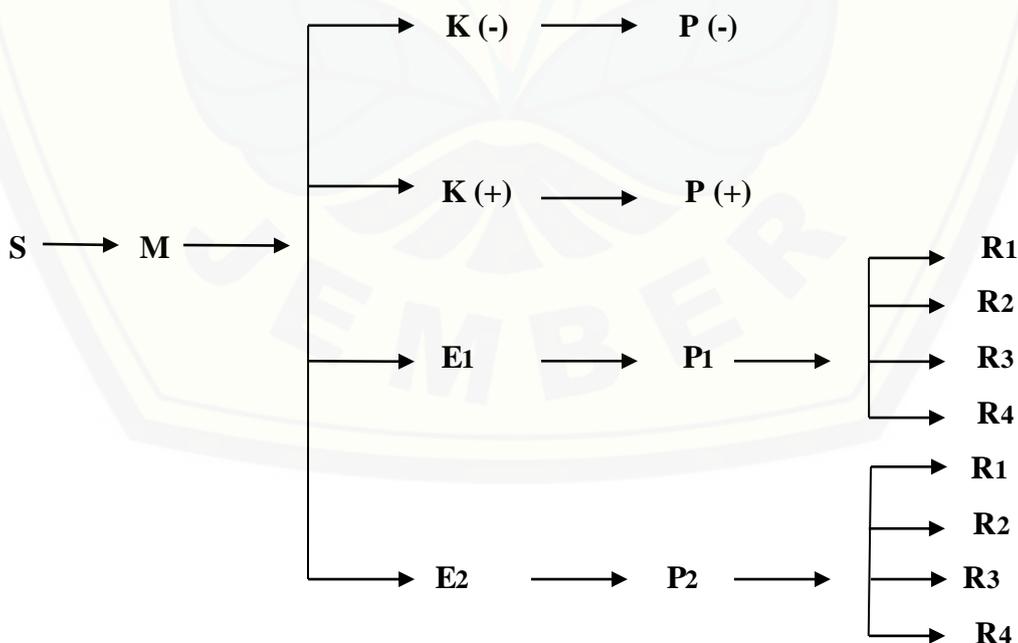
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental laboratories* yang bertujuan untuk menyelidiki kemungkinan saling berhubungan sebab akibat dengan cara mengadakan intervensi atau mengenakan perlakuan kepada satu atau lebih kelompok eksperimen, kemudian hasil dari intervensi tersebut dibandingkan dengan kelompok yang tidak dikenakan perlakuan (kelompok kontrol)

3.2 Rancangan penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan eksperimental sederhana *The Post Test Only Controlled Group Design* dengan 2 kelompok perlakuan, 1 kelompok kontrol positif dan 1 kelompok kontrol negatif (Gambar 3.1).



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

Keterangan :

S : Suspensi bakteri *S.aureus*

M : Media Mueller Hinton

K(-) : Kelompok kontrol negatif (DMSO 0,5%)

K(+) : Kelompok kontrol positif dengan pemberian antibiotik pembanding yaitu vancomycin HCl 0,0025%

E1-2 : Kelompok perlakuan1,2

P(+) : Perlakuan berupa kontak dengan kontrol positif selama 24 jam suhu 37°C

P(-) : Perlakuan berupa kontak dengan kontrol negatif selama 24 jam suhu 37°C

P1 : Ekstrak etanol daun binahong total

P2 : Ekstrak etanol daun binahong terpurifikasi

R1-4 : Variasi konsentrasi pada masing-masing ekstrak

3.3 Tempat Penelitian

Penelitian ini mengambil dua tempat sebagai lokasi pelaksanaannya, yaitu:

- a. Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Jember sebagai tempat ekstraksi dan purifikasi daun binahong.
- b. Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk pengujian aktivitas antibakteri

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis ekstrak dan variasi konsentrasi ekstrak daun binahong yaitu ekstrak etanol total dan ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong dengan variasi konsentrasi 2, 4, 6, dan 8% b/v.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah daya hambat terhadap *S.aureus*.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini meliputi pembuatan biakan bakteri *S.aureus*, pembuatan ekstrak etanol daun binahong, media Mueller Hinton, suhu dan waktu inkubator, sterilisasi alat dan bahan dengan menggunakan autoklaf, cara pengukuran daya hambat *S.aureus*, prosedur penelitian.

3.5 Definisi Operasional Penelitian

Definisi operasional penelitian ini meliputi:

- a. Daun binahong yang digunakan dalam penelitian ini merupakan daun binahong yang dipanen bulan Agustus, diambil 5 helai dari ujung, kondisi daun sehat tidak berlubang dan layu, daun binahong diperoleh dari kecamatan Kreongan, kabupaten Jember, Jawa Timur.
- b. Ekstrak etanol total daun binahong yang digunakan adalah ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi daun binahong dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu ultrasonikasi.
- c. Ekstrak etanol terpurifikasi yang digunakan adalah ekstrak etanol total daun binahong yang telah mengalami proses *defatting* (penghilangan lemak dengan menggunakan n-heksana).
- d. Bakteri *S. aureus* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Bakteri ini diketahui resisten terhadap 57 antibiotik dan sensitif terhadap 6 antibiotik (Lampiran 1).
- e. Daya hambat ekstrak daun binahong adalah kemampuan ekstrak etanol 70% total dan ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) atau mematikan bakteri (bakterisida). Daya hambat larutan uji dinyatakan

sebagai diameter hambatan. Hambatan diukur berdasarkan zona bening di sekitar sumuran dengan menggunakan penggaris dikurangi diameter sumuran.

- f. Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol 70% daun binahong adalah konsentrasi terkecil yang masih dapat menghambat pertumbuhan *S.aureus*.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah seperangkat alat *ultrasonic homogenizer*, seperangkat alat gelas (Pyrex), *rotary evaporator* (Heidolph-Laborota 4000), neraca analitik (Ohaus), oven, blender, spuit dan jarum suntik (Terumo), jangka sorong, jarum ose, stirer, autoklaf.

3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong yang telah di determinasi, bakteri *S.aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember, etanol 70%, media Mueller Hinton (MH), standar Mc Farland 0.5, media agar dan Tween 80, akuades dan n-heksana.

3.7 Tahapan Penelitian

3.7.1 Pembuatan Ekstrak Daun Binahong

Daun binahong yang diambil kemudian disortasi secara sortasi basah. Hasil sortasi dicuci dengan air, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar dan tidak terkena sinar matahari langsung hingga diperoleh simplisia kering, kemudian dioven pada suhu 40°C, simplisia kering digiling dan diayak sehingga diperoleh serbuk halus yang homogen. Serbuk halus yang dihasilkan kemudian diultrasonik dengan menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 350 ml selama 3 jam. Ekstrak yang dihasilkan kemudian disaring dengan corong untuk diperoleh filtratnya. Pemekatan ekstrak dilakukan dengan

rotary evaporator dengan suhu 50° C hingga diperoleh ekstrak etanol total daun binahong.

Ekstrak etanol terpurifikasi didapatkan dari ekstrak total daun binahong yang ditambahkan dengan etanol : air dengan perbandingan 1:1, kemudian ditambahkan n-heksana dengan perbandingan 1:1, dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Fase etanol dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 50° C selama 2 jam, sehingga didapatkan ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong.

3.7.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua peralatan dan bahan (kecuali ekstrak) yang akan digunakan disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit dengan mengatur suhu sebesar 121°C, sebelumnya peralatan dicuci bersih, dikeringkan dan dibungkus dengan kertas (Dwijoseputro, 1990).

3.7.3 Pembuatan Media Agar Mueller Hinton

Sebanyak 5 gram agar Mueller Hinton dilarutkan dalam 125 ml akuades, kemudian dipanaskan dan diaduk sampai larut. Media agar disterilkan di autoklaf selama 15 menit pada suhu 121° C. Media agar didinginkan kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 20 ml dan dibiarkan memadat pada suhu kamar (Susan dan Poelongan, 2008).

3.7.4 Pembuatan Suspensi Bakteri *S aureus*

Pembuatan suspensi bakteri dengan cara menginokulasi 1 ose biakan murni bakteri pada media miring Agar nutrien, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam di dalam inkubator. Diambil 1-2 ose biakan bakteri, masukkan pada 10 ml aqua steril dalam tabung reaksi steril, vortex sampai didapat kekeruhan yang setara dengan standart Mc Ferland 0,5 (1×10^8 CFU/ml) (Saeed dan Tariq, 2005).

3.7.5 Pembuatan Kontrol

Pada penelitian kali ini dibuat 2 macam kontrol yaitu:

a. Suspensi vancomycin HCl sebagai kontrol positif

Kontrol positif yang digunakan untuk bakteri adalah vancomycin HCl sebanyak 0,02 g ditambah akuades steril hingga 10 ml kedalam labu ukur 10 ml, lalu suspensi divortex dan dipindah ke dalam vial 15 ml, kemudian dilakukan pengenceran hingga konsentrasi 0,0025%.

b. Larutan DMSO 0,5% sebagai kontrol negatif.

Sebanyak 0,1 ml DMSO ditambah akuades steril hingga 10 ml kedalam labu ukur 10 ml, lalu larutan divortex dan dipindah ke dalam vial 15 ml, kemudian dilakukan pengenceran hingga konsentrasi 0,5%.

3.7.6 Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji konsentrasi 8% b/v dibuat dengan cara menimbang ekstrak etanol daun binahong sebanyak 0,8 gram (setara dengan 0,8 ml) labu ukur 10 ml, ditambah dengan tween80 sebanyak 0,2 ml sehingga didapatkan konsentrasi ekstrak daun binahong 8% b/v, ditambah dengan aquadest steril hingga tanda selanjutnya larutan divortex. Larutan uji dengan konsentrasi 6% b/v, 4% b/v dibuat dengan pengenceran bertingkat dari larutan uji konsenrasi 8%b/v. Semua larutan uji dipindahkan ke dalam vial dan beri label pada vial untuk setiap kali pengenceran sesuai dengan konsentrasi dan nama ekstraknya.

3.8 Tahap Pengujian

3.8.1 Uji Aktivitas Antibakteri

Lidi kapas steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri *S.aureus*. Lidi kapas diusap pada seluruh permukaan medium agar Mueller Hinton. Agar dibuat lubang sumuran dengan menggunakan *cork borer* steril yang berdiameter 10 mm. Larutan uji ekstrak daun binahong dengan berbagai konsentrasi yang telah dibuat,

sebanyak 100 μl ke dalam sumuran lain yang masih kosong sebagai kontrol. didiamkan selama 10 menit agar terjadi difusi, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan menggunakan inkubator.

3.8.2 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Penentuan KHM dilakukan dengan metode difusi. Metode ini menggunakan bakteri *S.aureus* yang disebar merata menggunakan metode swab menggunakan lidi. Kemudian dibiarkan selama 10 menit agar terjadi difusi, dibuat lubang diameter 10mm. kedalam lubang tersebut dimasukkan larutan zat yang akan diuji aktivitasnya sebanyak 50 μl , dan dibiarkan selama 10 menit, kemudian dimasukkan kedalam incubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian diamati secara visual aktivitas antibakterinya dengan mengamati daerah bening yang mengelilingi sumuran.

3.9 Tahap Pengamatan

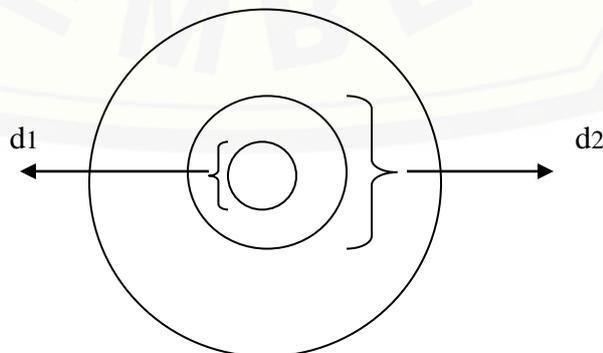
Pengamatan dilakukan dengan cara mengukur diameter hambatan dari larutan uji berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan *S. aureus* dengan menggunakan jangka sorong (Gambar 3.2). Pengukuran dilakukan menggunakan rumus:

$$d = d_2 - d_1$$

keterangan d = diameter hambatan bakteri

d_1 = diameter sumuran (6-8mm)

d_2 = diameter sumuran + zona bening



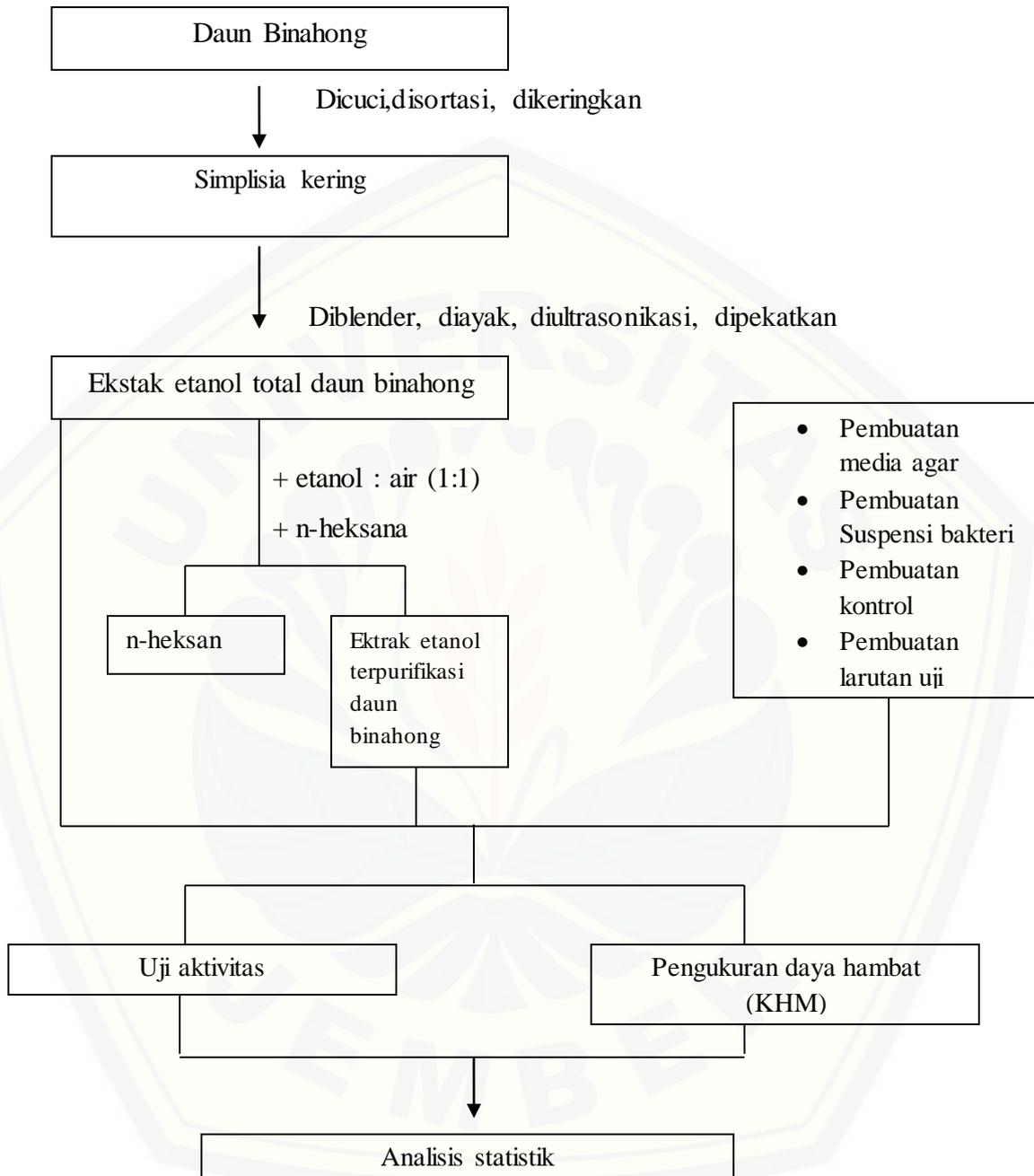
Gambar 3.2 pengamatan Uji aktivitas antibakteri dengan Metode Sumuran.

3.10 Analisis Data

Data hasil pengujian aktivitas ekstrak etanol total dan ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dianalisa secara statistik menggunakan metode *One way* ANOVA (analisis varians satu arah) dengan taraf kepercayaan 95% atau $\alpha = 0,05$ untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* resisten, apabila dari hasil analisis menggunakan ANOVA diketahui memiliki perbedaan nyata maka dilanjutkan dengan pengujian *LSD Post Hoc*.

Selain dilakukan uji ANOVA, juga dilakukan pengujian *t-test* terhadap data hasil penelitian. Dalam penelitian ini digunakan *t-test independent* yang merupakan jenis uji statistika yang bertujuan untuk membandingkan rata-rata dua grup yang tidak saling berkaitan. Tidak saling berkaitan dapat diartikan bahwa penelitian dilakukan untuk dua subjek sampel yang berbeda. Pada penelitian ini *t-test* digunakan untuk membandingkan aktivitas antibakteri ekstrak total dan ekstrak etanol terpurifikasi terhadap bakteri *S. aureus* resisten dengan variasi konsentrasi yang sama yaitu 2, 4, 6, 8 % b/v. Selain itu *t-test* juga digunakan untuk membandingkan rata-rata nilai KHM pada kedua ekstrak tersebut.

3.11 Skema Pelaksanaan Penelitian



Gambar 3.3 Skema pelaksanaan penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Ekstrak etanol total dan ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong memiliki aktivitas antibakteri yang tidak berbeda signifikan terhadap *S. aureus* resisten *in vitro* pada konsentrasi 2, 4, 6, 8 % b/v.
2. Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol total terhadap bakteri *S. aureus* resisten adalah 1,5 %b/v, sedangkan nilai KHM untuk ekstrak etanol terpurifikasi terhadap bakteri *S. aureus* resisten adalah 1,7% b/v.

5.2 Saran

Penelitian lanjutan yang dapat dilakukan adalah:

1. Perlu dilakukan pengkajian komponen zat aktif yang terkandung pada ekstrak daun binahong sebagai antibakteri.
2. Perlu dilakukan pengembangan obat antibakteri dari standarisasi ekstrak daun binahong.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella thipymorium* terhadap Ekstrak *Psidium guajava* L. *Bio Selective*, (1): 31-38
- Akiyama, H. F., K. Iwatsuki, T. 2001. Antibacterial Action of Several Tennis Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemoterapy*. (48): 487-491.
- Alanis A.J. 2005. Resistance to Antibiotics : Are we in the post antibiotic era?. *Archive of medical Research*, (36): 697- 705.
- Annisa, N. 2007. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Daun Binahong (*Anredera scandesn (L) Mor*) terhadap Bakteri *Klebseilla pneumonia* dan *Bacillus substilis* ATCC 6633 Beserta Skrining Fitokimia dengan Uji Tabung. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Anonim. 2012. *Anredera cordifolia (Ten) Steeniss* [http://www.Plantamor.com/species/Anredera cordifolia \(Ten\) Steeniss](http://www.Plantamor.com/species/Anredera_cordifolia_(Ten)_Steeniss) (20 Oktober 2015).
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Pedoman Penatalaksanaan Kasus Infeksi di Indonesia*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan.
- Diah, I. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksana, Etil asetat dan Etanol70% Daun Binahong (*Anredera cordifolia (Ten) Steenis*). terhadap Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus secara in vitro*. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Jember. Jember.
- Dianasari, N. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysentriae* Serta Bioautografinya. *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Dwidjoseputro, D. 1990. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta.
- Dzen, M. R. 2003. *Bakteriologi Medik*. Edisi Pertama. Bayumedia Publishing. Malang.

- Ganiswarna, G.S, 1995. *Famakologi dan Terapi*, Edisi keempat. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta, hlm 517-518,571-573, 651-656,682-685.
- Harborne, J. B., dan Dew, P.M. 1996. *Methods in Plant Biochemistry Vol VI*. London: Academic Press, hlm. 135-141.
- Jawetz, E. Melnick. J. L, Adelberg. E. A., Brooks, G. F., Janeth, S.B ., and Stephen, A. M. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC
- Jawetz, E. Melnick. J. L, Adelberg. E. A.,2008. *Medical Mikrobiologi Twenty Second Ed. Buku 1. Terjemahan Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran. Universitas Airlangga*. Jakarta : Salemba Medika.
- Jawetz, E. Melnick. J. L, and Adelberg. E. A.1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Jakarta: EGC
- Khunaifi, M. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak daun Binahong Terhadap *S. aureu* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi*, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.
- Lisa, N. 2007. Uji Aktivitas in vitro Levofloksasin terhadap Isolat *S aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Resisten Multi obat di RSUD Dr Soetomo Surabaya : Isolat dari pasien Infeksi Kulit dan Infeksi Saluran Kemih. *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Unair Surabaya.
- Masduki, I. 1996. Efek antibacterial Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escheria coli*. *Cermin Dunia Kedokteran* (109): 21- 24.
- Pelczar, Michael, J., E.C.S and Chan. 1998. *Dasar – Dasar Mikrobiologi*, Edisi kedua. Jakarta : UI Press
- Pelczar, Michael, J., E.C.S and Chan. 2005. *Dasar – Dasar Mikrobiologi*, Edisi keempat Jakarta : UI Press.
- Perloth J, dan Kuo M, Tan J, *Adjunctive Use Rifampisin for the Treatment of Staphylococcus aureus infection*. *Arch Intern med* 2008: 168 (8) : 805-19
- Profil Kesehatan Indonesia 2009. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.

- Raharjo, M. R. 2002. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Bunga Pepaya Jantan (*Carica papaya L*) terhadap *Escheria coli* dan *Staphylococcus aureus* Multiresisten Antibiotik". Tidak diterbitkan. *Skripsi*. Surakarta : Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rahmawati, S. 2007. Studi Mikroskopi, dan Skrining Fitokimia Daun *Binahong* (*Andredera cordifolia (Ten) steenis*). *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. Surakarta.
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*, diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB: Bandung.
- Rochani, N. 2009. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Candida albicans* serta Skrining Fitokimianya. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. Surakarta.
- Saeed, S. dan Tariq, P. 2005. Antibacterial Activities of *Mentha piperita*, *Pisum sativum*, and *Momordica charantia*. Pak. J. Bot. Vol 37 (4): 997-1001.
- Sastrohamidjojo. 2001. *Dasar-Dasar Spektroskopi*, edisi kedua, cetakan kedua, Liberty, Yogyakarta.
- Setiaji, A. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol 70 % Rhizoma Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) steenis) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escheria colli* ATCC 11229 serta skrining Fitokimia. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. Surakarta.
- Susan, M. N dan Poelongan, M. 2008. Pola Kepekaan *Enterobacter sakazakii* Terhadap antibiotika. Bogor : Balai Besar Penelitian Veteriner.
- Syahrurachman, A., 1994, *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*, ed revisi, Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta, hlm.103,177.
- Todar, K. 2008. *Staphylococcus aureus*. <http://www.textbookofbacteriology.net/>. (22 Mei 2015).
- Tshikalange, T.E., Meyer, J.J.M.,Hussein, A.A., 2005, Antimicrobial Activity, Toxicity and the Isolation of a Bioactive Compound from Plants Used to Treat Sexually Transmitted Diseases, *Journal of Ethnopharmacology*, (96): 515-519.

Ulrich-Merzenich, G., Panek, D., Zeitler, H., Vetter, H., dan Wagner, H. 2010. Drug Development From Natural Products:Exploiting Synergistics Effects. *Indian Journal of Experimental Biology*. (48): 208-219.

Umar, A. Dwi. K., dan Diah. T. M. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera scandesn (L) Mor*) terhadap Kesembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* pada Mencit. *Skripsi*. Jurusan Analis Medis. Poltekkes Surabaya. Surabaya.

Wattimena, J.R., 1981, *Farmakodinamik dan Terapi Antibiotik*, UGM, Yogyakarta, hlm : 1-2, 19-30, 60-62, 308-313

Widyaningtias, N. M. S. R., Yustiantara, P. S., dan Paramita, N. L. P.V, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Skripsi*. Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana. Bali.

LAMPIRAN B. PERHITUNGAN PERSEN RENDEMEN EKSTRAK ETANOL TOTAL DAN EKSTRAK TERPURIKASI DAUN BINAHONG

Berat ekstrak etanol total daun binahong + wadah = 151,42 gram

Berat wadah kosong = 125,82 gram

Berat ekstrak etanol total pekat = 25,6 gram

Berat simplisia = 107,82 gram

Rendemen total (%) = $\frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$

$$= \frac{25,6 \text{ gram}}{107,82 \text{ gram}} \times 100\%$$

= 23,74 %

Berat ekstrak terpurifikasi daun binahong + wadah = 128,248 gram

Berat wadah kosong = 124,62 gram

Berat ekstrak etanol total pekat = 3,628 gram

Berat ekstrak etanol total = 10 gram

Rendemen ekstrak etanol terpurifikasi = $\frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Ekstrak etanol total}} \times 100\%$

$$= \frac{3,628 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\%$$

= 36,28 %

LAMPIRAN C. PERHITUNGAN KONSENTRASI LARUTAN UJI

Pembuatan larutan uji ekstrak etanol total dan ekstrak terpurifikasi daun binahong

- a. Konsentrasi 8% b/v

Pembuatan larutan stok = 10 ml

$$\begin{aligned} &= \frac{0,8 \text{ gram}}{10 \text{ ml}} \\ &= 8\% \text{ b/v} \end{aligned}$$

Pembuatan: 0,8 gram ekstrak + 0,2 ml DMSO 0,5% vortex hingga homogen, larutkan dengan akuades hingga 10 ml, kemudian vortex kembali hingga homogen

- b. Konsentrasi 6% b/v

Pengenceran ekstrak = 10 ml

$$\begin{aligned} &= \frac{6\%}{X} = \frac{8\%}{10 \text{ ml}} \\ &= 7,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

Pembuatan: 7,5 ml ekstrak konsentrasi 8% + 0,2 ml DMSO 0,5% vortex hingga homogen, larutkan dengan akuades hingga 10 ml, kemudian vortex kembali hingga homogen

- c. Konsentrasi 4% b/v

Pengenceran ekstrak = 10 ml

$$\begin{aligned} &= \frac{4\%}{X} = \frac{6\%}{10 \text{ ml}} \\ &= 6,7 \text{ ml} \end{aligned}$$

Pembuatan: 6,7 ml ekstrak konsentrasi 6% + 0,2 ml DMSO 0,5% vortex hingga homogen, larutkan dengan akuades hingga 10 ml, kemudian vortex kembali hingga homogen

- d. Konsentrasi 2% b/v

- Pengenceran ekstrak = 10 ml

$$\begin{aligned} &= \frac{2\%}{X} = \frac{4\%}{10 \text{ ml}} \\ &= 5 \text{ ml} \end{aligned}$$

Pembuatan: 5 ml ekstrak konsentrasi 4% + 0,2 ml DMSO 0,5% vortex hingga homogen, larutkan dengan akuades hingga 10 ml, kemudian vortex kembali hingga homogen.

LAMPIRAN D. PEMBUATAN KONTROL NEGATIF DAN KONTROL POSITIF

a. Pembuatan Kontrol Negatif

Larutan DMSO 0,5% sebagai kontrol negatif sebanyak 0,1 ml kemudian ditambahkan dengan akuades steril, kemudian divortex dan dimasukkan kedalam labu ukur 10ml, tambahkan akuades steril hingga tepat tanda.

Perhitungan larutan induk DMSO konsentrasi 1%

Pembuatan larutan stok 1 % = 10 ml (dibuat dengan volume 10 ml)

$$\begin{aligned} &= \frac{0,1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100\% \\ &= 1\% \text{ v/v} \end{aligned}$$

Pengenceran 0,5% = 10 ml (diencerkan dengan labu ukur dengan volume 10 ml)

$$= \frac{0,5\%}{x} = \frac{1\%}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 5 \text{ ml}$$

b. Pembuatan Kontrol Positif

Vancomycin HCl sebagai kontrol positif sebanyak 0,02 gram, kemudian ditambahkan dengan akuades steril, kemudian divortex dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml, tambahkan akuades steril hingga tepat tanda.

Pembuatan larutan stok = 10 ml (dibuat dengan volume 10 ml)

$$= \frac{0,02 \text{ gram}}{10 \text{ ml}} \times 100\%$$

$$= 0,2\% \text{ b/v}$$

$$\text{Pengenceran } 0,02\% = \frac{0,02\%}{x} = \frac{0,2\%}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 1 \text{ ml}$$

$$\text{Pengenceran } 0,01\% = \frac{0,01\%}{x} = \frac{0,02\%}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 5 \text{ ml}$$

$$\text{Pengenceran } 0,0025\% = \frac{0,0025\%}{x} = \frac{0,01\%}{10 \text{ ml}}$$

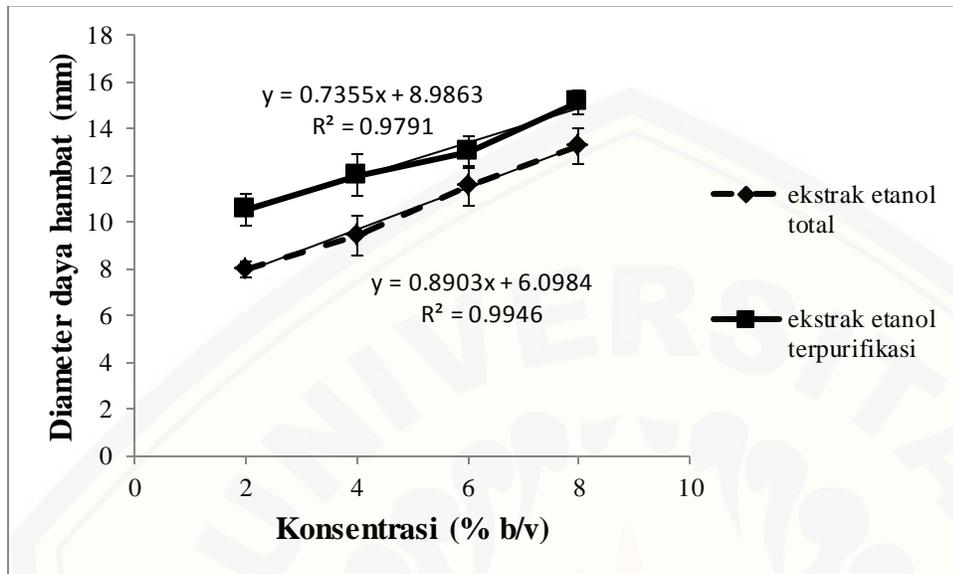
$$x = 2,5 \text{ ml}$$

Pembuatan : diambil 2,5 ml larutan konsentrasi 0,01%, ditambahkan akudes steril hingga 10 ml kemudian vortex hingga homogen.

LAMPIRAN E. PERHITUNGAN DIAMETER HAMBAT UJI AKTIVITAS EKSTRAK TOTAL DAN EKSTRAK TERPURIKASI DAUN BINAHONG

Konsentrasi Ekstrak total	Replikasi	Diameter zona hambat	
		Replikasi pengujian (mm)	Rata-rata pengukuran (mm)
2%	I	8	7,67
		8	
		7	
	II	8	8,33
		8	
		7	
	III	8	8
		8	
		8	
Diameter zona hambat rata-rata			8 ± 0,04
4%	I	9	9,33
		9	
		10	
	II	10	10,33
		11	
		10	
	III	9	8,67
		9	
		8	
Diameter zona hambat rata-rata			9,42 ± 0,103
6%	I	10	10,33
		11	
		10	
	II	10	10,33
		11	
		10	
	III	9	8,67
		9	
		8	
Diameter zona hambat rata- rata			11,56 ± 0,007
8%	I	14	13,67
		13	
		13	
	II	13	13,33
		14	
		13	
	III	12	12,33
		13	
		12	
Diameter zona hambat rata-rata			13,223 ± 0,058

Konsentrasi E. Terpurifikasi	Diameter zona hambat		
	Replikasi	Replikasi pengujian	Rata-rata pengukuran (mm)
2%	I	11	11,33
		12	
		11	
	II	11	10
		10	
		9	
	III	10	10,33
		11	
		10	
Diameter zona hambat rata-rata			10,55 ± 0,064
4%	I	9	13
		9	
		10	
	II	9	11,33
		9	
		10	
	III	9	11,67
		9	
		8	
Diameter zona hambat rata-rata			12 ± 0,073
6%	I	14	14
		14	
		14	
	II	13	12,63
		12	
		13	
	III	13	13,67
		14	
		14	
Diameter zona hambat rata-rata			13,45 ± 0,074
8%	I	15	15,67
		16	
		16	
	II	16	15
		14	
		15	
	III	14	14,67
		15	
		15	
Diameter zona hambat rata-rata			15,11 ± 0,034



Gambar : Diagram diameter daya hambat ekstrak etanol total dan ekstrak etanol terpurifikasi daun binahong terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* resisten.

LAMPIRAN F. PERHITUNGAN DIAMETER HAMBAT UJI KONSENTRASI HAMBAT MINIMUM (KHM) EKSTRAK TOTAL DAN EKSTRAK TERPURIKASI DAUN BINAHONG TERHADAP *S.aurueus* RESISTEN.

Jenis Ekstrak	Nilai KHM (% b/v)	Plate	Replikasi Pengukuran (mm)	Rata-rata pengukuran (mm)
Ekstrak etanol total	1,5	I	6	6,33
			7	
			6	
		II	7	7
			7	
			7	
		III	5	5,67
			6	
			6	
Diameter zona hambat rata- rata				6,33
Ekstrak etanol terpurifikasi	1,7	I	7	8
			8	
			9	
		II	8	8,67
			6	
			7	
		III	7	8
			9	
			8	
Diameter zona hambat rata- rata				8,22

LAMPIRAN G. HASIL UJI ANOVA DAN *t- Test* AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL TOTAL DAN EKSTRAK ETANOL TERPURIFIKASI DAUN BINAHONG

Perhitungan Analisa Varian

A. Ekstrak Etanol Total Daun Binahong

kosentrasi		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Daya hambat	2 %	.291	3	.124	.925	3	.471
	4 %	.312	3	.129	.895	3	.370
	6 %	.293	3	.227	.922	3	.489
	8 %	.255	3	.370	.963	3	.630
Asym.sig				.401			

a. Lilliefors Significance

Dari hasil pengujian normalitas menggunakan uji Komogorov-Sminornov didapatkan nilai signifikasi ekstrak etanol total daun binahong sebesar $0.401 > P(0,05)$ yang artinya data terdistribusi normal

Test of Homogeneity of Variances

Daya hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.552	3	8	.661

Uji Homogenitas dilakukan menggunakan uji Lavene didapatkan nilai signifikansi sebesar $0.552 > p(0,05)$ yang artinya bahwa varian data homogen, dengan hasil tersebut maka data daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* resisten tersebut dapat dilakukan pengujian lebih lanjut menggunakan uji One way ANOVA.

Oneway

Descriptives

daya hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					2 %	3		
4 %	3	12.0000	.88255	.50954	9.8076	14.1924	11.33	13.00
6 %	3	13.4467	.69256	.39985	11.7263	15.1671	12.67	14.00
8 %	3	15.1133	.50954	.29418	13.8476	16.3791	14.67	15.67
Total	12	12.7758	1.86960	.53971	11.5879	13.9637	10.00	15.67

ANOVA

daya hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	34.500	3	11.500	23.293	.000
Within Groups	3.950	8	.494		
Total	38.449	11			

Berdasarkan uji One way ANOVA diketahui bahwa pada variabel terikat dalam penelitian ini yaitu daya hambat terhadap *S. aureus* resisten diperoleh nilai signifikansi $0,000 < P (0,05)$ dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna pada daya hambat terhadap *S. aureus* resisten akibat pengaruh perlakuan dari beberapa konsentrasi ekstrak daun binahong yang diberikan.

B. Ekstrak Etanol Terpurifikasi Daun Binahong

kosentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
daya hambat 2 %	.175	3	.767	1.000	3	1.000
4 %	.226	3	.843	.983	3	.751
6 %	.221	3	.867	.986	3	.775
8 %	.385	3	.943	.750	3	.000
asymp. Sig			.904			

a. Lilliefors Significance

Dari hasil pengujian normalitas menggunakan uji Komogorov-Sminornov didapatkan nilai signifikasi ekstrak etanol total daun binahong sebesar $0.904 > P (0,05)$ yang artinya data terdistribusi normal

Test of Homogeneity of Variances

daya hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.935	3	8	.468

Uji Homogenitas dilakukan menggunakan uji Lavene didapatkan nilai signifikansi sebesar $0,953 > p (0,05)$ yang artinya bahwa varian data homogen, dengan hasil tersebut maka data daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* resisten tersebut dapat dilakukan pengujian lebih lanjut menggunakan uji One way ANOVA.

Oneway

Descriptives

daya hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					2 %	3		
4 %	3	9.4233	.82197	.47456	7.3814	11.4652	8.67	10.30
6 %	3	11.5567	.83578	.48254	9.4805	13.6329	10.67	12.33
8 %	3	13.2233	.77365	.44667	11.3015	15.1452	12.33	13.67
Total	12	10.5508	2.17337	.62740	9.1699	11.9317	7.67	13.67

ANOVA

daya hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	47.796	3	15.932	30.615	.000
Within Groups	4.163	8	.520		
Total	51.959	11			

Berdasarkan uji One way ANOVA diketahui bahwa pada variabel terikat dalam penelitian ini yaitu daya hambat terhadap *S. aureus* resisten diperoleh nilai signifikansi $0,000 < P (0,05)$ dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna pada daya hambat terhadap *S. aureus* resisten akibat pengaruh perlakuan dari beberapa konsentrasi ekstrak daun binahong yang diberikan.

Setelah mengetahui bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna pada daya hambat maka pengujian tidak dilanjutkan menggunakan uji LSD, melainkan pengujian dilanjutkan dengan *t-test* untuk membandingkan rata-rata dua grup yang tidak saling berkaitan.

Ekstrak etanol total dan etanol terpurifikasi konsentrasi 2%

t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

Diameterzona hambat	8	10,55
Mean	8.165	10.165
Variance	0.05445	0.05445
Observations	2	2
Pooled Variance	0.05445	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	-8.57099129	(tidak berbeda signifikan)
P(T<=t) one-tail	0.006670355	
t Critical one-tail	2.91998558	
P(T<=t) two-tail	0.013340709	
t Critical two-tail	4.30265273	

Ekstrak etanol total dan etanol terpurifikasi konsentrasi 4%

t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

Diameter hambat rata-rata	9.42	12
Mean	9.5	11.5
Variance	1.3778	0.0578
Observations	2	2
Pooled Variance	0.7178	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	2.360631884	
P(T<=t) one-tail	0.071080042	(tidak berbeda signifikan)
t Critical one-tail	2.91998558	
P(T<=t) two-tail	0.142160084	
t Critical two-tail	4.30265273	

Ekstrak etanol total dan etanol terpurifikasi konsentrasi 6%

t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

Diameter hambat rata- rata	10.33	14
Mean	9.5	13.15
Variance	1.3778	0.5408
Observations	2	2
Pooled Variance	0.9593	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	3.726624563	
P(T<=t) one-tail	0.032528959	(tidak berbeda signifikan)
t Critical one-tail	2.91998558	
P(T<=t) two-tail	0.065057918	
t Critical two-tail	4.30265273	

Ekstrak etanol total dan etanol terpurifikasi konsentrasi 8%

t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

Diameter hambat rata-rata	13.22	15.11
Mean	12.83	14.835
Variance	0.5	0.05445
Observations	2	2
Pooled Variance	0.277225	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	3.808010883	
P(T<=t) one-tail	0.031279712	(tidak berbeda signifikan)
t Critical one-tail	2.91998558	
P(T<=t) two-tail	0.062559424	
t Critical two-tail	4.30265273	

LAMPIRAN G. HASIL UJI T KHM AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL TOTAL DAN EKSTRAK ETANOL TERPURIFIKASI DAUN BINAHONG

t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances

Diameter hambat rata- rata	5.67	8.22
Mean	6.665	8.335
Variance	0.22445	0.22445
Observations	2	2
Pooled Variance	0.22445	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	2	
t Stat	-3.524980073	
P(T<=t) one-tail	0.035953538	(tidak berbeda signifikan)
t Critical one-tail	2.91998558	
P(T<=t) two-tail	0.071907075	
t Critical two-tail	4.30265273	