

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL
DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) dan DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP
Staphylococcus aureus ATCC 25923
SECARA DILUSI**



Oleh :

**Sri Winarni Sofya
20144135A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL
DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) dan DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP
Staphylococcus aureus ATCC 25923
SECARA DILUSI**

SKRIPSI

 *Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi S1-Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Sri Winarni Sofya
20144135A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Dengan judul :

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN
JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) dan DAUN BINAHONG (*Anredera cardifolia*
(Ten.) Steenis) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA
DILUSI**

disusun oleh:

Nama : Sri Winarni Sofya

Nim : 20144135A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 10 Maret 2018



Dekan,

Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Pembimbing Utama

Iswandi, S.Si,M.Farm.,Apt

Pembimbing Pendamping

Edy Prasetya, Drs., M.Si

Penguji:

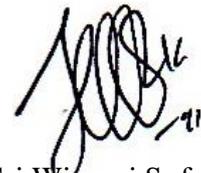
1. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt
2. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt
3. Sri Rejeki Handayani, M.Farm., Apt
4. Iswandi S.Si,M.Farm., Apt

PERNYATAAN

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

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari peneliti/ karya ilmiah/ skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum

Surakarta, 2018



Sri Winarni Sofya

HALAMAN PERSEMBAHAN

*“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”
(QS AL-Baqarah: 286)*

*“Dan janganlah kamu berputus asa daripada rahmat Allah. Sesungguhnya tiada berputus asa daripada rahmat Allah melainkan orang-orang yang kufur”
(QS Yusuf: 87)*

*“Thought give birth to actions, actions spawned a habit, habit bore the
character, and the character created fate”
(Aristoteles)*

*Skripsi ini kupersembahkan untuk:
Ayah dan Ibu, Keluargaku,
Sahabat, Almamater, Agama, Bangsa dan Negaraku*

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT Tuhan semesta alam Sang Pemberi Rizki dan kesempatan, atas magfirah dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) dan DAUN BINAHONG (*Anredera cardifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA DILUSI**. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, baik secara moril maupun materiil. Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. DR. R.A. Oetari, SU., MM., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Iswandi, M farm., Apt. selaku Pembimbing Utama dan Drs. Edy prasetia, Msi selaku Pembimbing Pendamping yang telah berkenan mengorbankan waktunya guna membimbing, memberi nasehat, dan mengarahkan penulis pada saat penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Dosen penguji yang telah memberikan masukan demi kesempurnaan dalam skripsi ini.
5. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium Universitas Setia Budi.
6. Kedua Orang Tuaku, kakak, adik dan sahabatku serta seluruh keluarga besarku yang telah memberikan pengorbanan, nasehat, pengertian, dan dukungan moril maupun materiil, serta semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
7. Rekan penelitian Nur dyah kumalasari dan Risky herdina putri atas bantuan dan kerjasamanya dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini.

8. Mia ariasti, Mega ayu kusniawati, Indri kurniawati, Retno wulandari, Cindy palosa, Putri ayu K, Fanny atrisca devi, Dyah ayu, Muharrir hidayatulloh, Amirudin R. J yang telah memberikan semangat kepadaku.
9. Teman-teman seperjuanganku FKK 3, Teori 1,2 dan 3, teman teman kost dewi sartika, teman teman KKN dan teman-teman S1 Farmasi yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, serta semua pihak yang telah membantu kelancaran proses skripsi ini.

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan oleh karena itu, penulis menerima kritikan atau saran yang bersifat membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan di bidang ilmu farmasi khususnya obat tradisional Indonesia.

Surakarta, Maret 2018

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|----------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| PENGESAHAN SKRIPSI | ii |
| PERNYATAAN..... | iii |
| HALAMAN PERSEMBAHAN..... | iv |
| KATA PENGANTAR | v |
| DAFTAR ISI..... | vii |
| DAFTAR GAMBAR..... | xii |
| DAFTAR TABEL | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xiv |
| INTISARI..... | xv |
| ABSTRACT | xvi |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang Masalah..... | 1 |
| B. Perumusan Masalah | 4 |
| C. Tujuan Penelitian | 4 |
| D. Kegunaan Penelitian | 4 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| A. Tanaman Jambu biji..... | 5 |
| 1. Sistematika tanaman jambu biji..... | 5 |
| 2. Nama daerah | 5 |
| 3. Deskripsi tanaman..... | 6 |
| 4. Kandungan kimia | 6 |
| 4.1 Saponin | 6 |
| 4.2 Flavonoid | 7 |
| 4.3 Alkaloid | 7 |
| 4.4 Tanin..... | 7 |
| 5. Khasiat tanaman..... | 7 |
| B. Daun Binahong | 8 |
| 1. Sistematika tanaman..... | 8 |
| 2. Nama daerah | 8 |
| 3. Deskripsi tanaman..... | 9 |

| | | |
|-----|---|----|
| 4. | Kandungan kimia | 9 |
| 5. | Khasiat tanaman..... | 9 |
| C. | Simplisia | 10 |
| 1. | Simplisia | 10 |
| 2. | Pengumpulan simplisia..... | 10 |
| 3. | Pencucian dan pengeringan | 10 |
| D. | Ekstraksi | 11 |
| 1. | Pengertian ekstraksi | 11 |
| 2. | Metode maserasi | 11 |
| 3. | Pelarut..... | 12 |
| E. | Media..... | 12 |
| 1. | Pengertian | 12 |
| 2. | Macam-macam media | 13 |
| 3. | Klasifikasi media..... | 13 |
| 3.1 | Media Pengayaan | 13 |
| 3.2 | Media biakan khusus | 13 |
| 3.3 | Media sintetik..... | 14 |
| 3.4 | Media selektif dan differensial..... | 14 |
| 3.5 | Media kompleks | 14 |
| 3.6 | Media anaerob..... | 14 |
| F. | Sterilisasi | 15 |
| 1. | Pengertian sterilisasi..... | 15 |
| G. | <i>Staphylococcus aureus</i> | 15 |
| 1. | Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i> | 16 |
| 2. | Morfologi dan Identifikasi..... | 16 |
| 3. | Faktor Virulensi <i>Staphylococcus aureus</i> | 16 |
| 3.1 | Eksotoksin..... | 16 |
| 3.2 | Koagulase..... | 16 |
| 3.3 | Katalase..... | 17 |
| 3.4 | Leukosidin | 17 |
| 3.5 | Hemolisin..... | 17 |
| 3.6 | Enterotoksin | 17 |
| 3.7 | Toksin eksfoliatif..... | 17 |
| 3.8 | Toksin Sindrom Syok Toksik (TSST)..... | 18 |
| 4. | Patogenisitas | 18 |
| 5. | Pengobatan..... | 19 |
| 6. | Mekanisme antibakteri | 19 |
| 6.1 | Mengganggu jalur metabolisme utama..... | 19 |
| 6.2 | Menghambat sintesis dinding sel bakteri..... | 19 |
| 6.3 | Mengganggu fungsi membran sel. | 20 |
| 6.4 | Menghambat sintesis protein sel bakteri | 20 |
| 6.5 | Penghambatan sintesis asam nukleat sel bakteri..... | 20 |
| H. | Aktivitas Antibakteri..... | 21 |
| 1. | Antibakteri..... | 21 |
| 2. | Metode pengujian antibakteri | 21 |
| 2.1 | Metode dilusi..... | 21 |

| | |
|---|--------|
| 2.2 Metode difusi agar..... | 21 |
| I. Efek Kombinasi Obat Tradisional | 22 |
| J. Landasan Teori | 23 |
| K. Hipotesis | 25 |
| BAB III METODE PENELITIAN..... | 26 |
| A. Populasi dan Sampel | 26 |
| B. Variabel Penelitian..... | 26 |
| 1. Identifikasi variabel utama | 26 |
| 2. Klasifikasi variabel utama | 26 |
| 2.1 Variabel bebas | 26 |
| 2.2 Variabel kendali | 27 |
| 2.3 Variabel tergantung | 27 |
| 3. Definisi operasional variabel utama..... | 27 |
| C. Alat dan Bahan | 29 |
| 1. Alat | 29 |
| 2. Bahan..... | 29 |
| D. Jalannya Penelitian..... | 29 |
| 1. Identifikasi tanaman | 29 |
| 2. Pengambilan bahan | 30 |
| 3. Pembuatan serbuk | 30 |
| 3.1 Daun jambu biji..... | 30 |
| 3.2 Daun binahong | 30 |
| 4. Kadar lembab serbuk..... | 30 |
| 4.1 Penetapan kadar lembab daun jambu biji dan daun binahong | 30 |
| 5. Pembuatan ekstrak etanol..... | 31 |
| 5.1. Ekstrak daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.) | 31 |
| 5.2 Ekstrak daun binahong (<i>Androdera cordifolia</i> (Ten.) Steenis) | 31 |
| 5.3 Kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong 1:1 | 31 |
| 5.4 Kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong 1:3 | 31 |
| 5.5 Kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong 3:1 | 31 |
| 6. Tes bebas etanol daun jambu biji dan daun binahong..... | 32 |
| 7. Identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak daun jambu dan daun binahong | 32 |
| 7.1 Identifikasi alkaloid | 32 |
| 7.2 Identifikasi saponin | 32 |
| 7.3 Identifikasi tanin..... | 32 |
| 7.4 Identifikasi flavonoid..... | 33 |
| 8. Sterilisasi | 33 |
| 9. Identifikasi bakteri | 33 |

| | |
|--|-----------|
| 9.1 Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> pada medium Vogel Jhonson Agar..... | 33 |
| 9.2 Identifikasi mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i> dengan pewarnaan Gram..... | 33 |
| 9.3 Uji Biokimia..... | 34 |
| 10. Pembuatan suspensi bakteri uji..... | 34 |
| 11. Pengujian aktivitas antibakteri..... | 34 |
| 12. Analisis Hasil..... | 35 |
| E. Skema pembuatan ekstrak etanol daun jambu biji..... | 36 |
| F. Skema pembuatan ekstrak etanol daun binahong (<i>Anredera cardifolia</i> (Ten.) Steenis)..... | 37 |
| Daun binahong (<i>Anredera cardifolia</i> (Ten.) Steenis)..... | 37 |
| G. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.) dan daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)..... | 38 |
| BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN..... | 40 |
| A. Hasil Penelitian..... | 40 |
| 1. Identifikasi Tanaman Jambu biji dan Tanaman Binahong | 40 |
| 1.1 Identifikasi Tanaman Jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.)..... | 40 |
| 1.2 Identifikasi Tanaman Binahong (<i>Anredera cardifolia</i> (Ten.) Steenis)..... | 40 |
| 2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun jambu biji dan daun binahong..... | 40 |
| 3. Hasil penetapan kadar lembab serbuk..... | 41 |
| 4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong..... | 42 |
| 5. Hasil pengujian bebas alkohol etanol 96% ekstrak..... | 43 |
| 6. Identifikasi kandungan senyawa ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong..... | 44 |
| 7. Hasil pembuatan suspensi bakteri..... | 45 |
| 8. Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923..... | 45 |
| 8.1 Hasil identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 pada medium Vogel Jhonson Agar..... | 45 |
| 8.2 Hasil identifikasi mikroskopis bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram..... | 46 |
| 8.3 Hasil identifikasi biokimia <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923..... | 46 |
| 9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong dan kombinasinya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara dilusi..... | 47 |

| | |
|---|----|
| 9.1 Hasil ekstrak etanol daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.) dan ekstrak etanol daun binahong (<i>Anredera cardifolia</i> (Ten.) Steenis)..... | 47 |
| 9.2 Hasil kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.) dan ekstrak etanol daun binahong (<i>Anredera cardifolia</i> (Ten.) Steenis). | 48 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN | 52 |
| A. Kesimpulan..... | 52 |
| B. Saran..... | 52 |
| DAFTAR PUSTAKA | 53 |
| LAMPIRAN | 58 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 1. Daun Jambu Biji (Parimin 2005)..... | 5 |
| Gambar 2. Daun Binahong (Arief 2006) | 8 |
| Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak etanol daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.)..... | 36 |
| Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak etanol daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)..... | 37 |

DAFTAR TABEL

Halaman

| | | |
|----------|---|----|
| Tabel 1. | Perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu biji dan daun binahong | 41 |
| Tabel 2. | Hasil penetapan kadar lembab daun jambu biji dan daun binahong | 41 |
| Tabel 3. | Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun jambu biji dan daun binahong | 42 |
| Tabel 4. | Hasil identifikasi bebas alkohol..... | 44 |
| Tabel 5. | Identifikasi senyawa menggunakan KLT | 45 |
| Tabel 6. | Hasil uji dilusi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923..... | 48 |
| Tabel 7. | Hasil uji dilusi antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923..... | 49 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman | 60 |
| Lampiran 2. Gambar tanaman jambu biji dan daun binahong | 62 |
| Lampiran 3. Gambar timbangan, mesin penggiling simplisia dan vortex, alat <i>moistur balance</i> dan botol maserasi | 63 |
| Lampiran 4. Hasil pembuatan ekstrak daun jambu biji, daun binahong dan kombinasi 1:1;1:3;3:1..... | 64 |
| Lampiran 5. Gambar alat oven binder, <i>rotary evaporator</i> , incubator, autoklaf..... | 65 |
| Lampiran 6. Hasil identifikasi senyawa menggunakan KLT | 66 |
| Lampiran 7. Hasil Pembuatan suspensi | 68 |
| Lampiran 8. Hasil identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> pada medium Vogel Jhonson Agar..... | 69 |
| Lampiran 9. Gambar uji antibakteri ekstrak daun jambu biji dan inokulasi pada media VJA..... | 70 |
| Lampiran 10. Gambar uji antibakteri ekstrak daun binahong..... | 71 |
| Lampiran 11. Gambar uji antibakteri kombinasi ekstrak 1:1; 1:3; 3:1 | 72 |
| Lampiran 12. Perhitungan presentase bobot kering terhadap bobot bawah daun jambu biji daun binahong dan binahong..... | 75 |
| Lampiran 13. Perhitungan penetapan kadar lembab serbuk daun jambu biji dan daun binahong | 76 |
| Lampiran 14. Pembuatan larutan stok sediaan uji..... | 77 |
| Lampiran 15. Formulasi dan pembuatan media | 79 |
| Lampiran 16. Hasil analisis data dengan statistic menggunakan Kruskal- Wallis Test..... | 80 |

INTISARI

SOFYA S.W. 2018 Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cardifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Secara Dilusi, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Daun jambu biji mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin dilaporkan memiliki aktifitas antibakteri. Daun binahong mengandung senyawa kandungan metabolit sekunder daun binahong, yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, triterpenoid, saponin, dan minyak atsiri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Serbuk daun jambu biji dan daun binahong serta kombinasinya dimaserasi dengan etanol 96%, dan ekstrak diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi dengan menggunakan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19%, 0,09% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji lebih efektif dibandingkan dengan daun binahong sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, dengan konsentrasi bunuh minimum untuk jambu biji yaitu 6,25% dan untuk daun binahong yaitu 12,5% sedangkan untuk kombinasi menunjukkan konsentrasi bunuh minimum untuk perbandingan 1:1 yaitu 12,5%, 1:3 yaitu 25%, dan 3:1 yaitu 6,25%. Daun jambu biji dan daun binahong memiliki aktifitas terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, namun jika dikombinasikan aktifitasnya menurun.

Kata kunci : Daun Jambu biji (*Psidium guajava* L.), Daun Binahong (*Anredera cardifolia* (Ten.) Steenis), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 antibakteri, ekstrak etanol.

ABSTRACT

SOFYA S.W. 2018. TEST ACTIVITES ANTIBAKTERIALS ETHANOL EXTRACT COMBINATION OF (*Psidium guajava* L.) and (*Anredera cardifolia* (Ten.) Steenis) ON *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ONLY DILUTION, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY SURAKARTA.

Guava leaf contains compounds of flavonoid, alkaloid, tannin, and saponin that had antibacterial activity. Binahong leaf contains compounds of secondary metabolite that is flavonoid, alkaloid, tannin, steroid, triterpenoid, and saponin. The study aimed to know the activity of the combination between ethanol extract of guava leaf and binahong leaf as antibacterial to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Guava leaf powder and binahong leaf were macerated with 96% ethanol, and combinaton, the extracts tested for antibacterial activity using dilution method, with concentrations of 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.12%, 1.56% 0.78%, 0.39%, 0.19%, and 0.09%, consecutevely, against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bacteria.

The results showed that ethanol extract of guava leaf more effective than binahong leaf as antibacterial to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, with minimum killing concentration for guava and binahong leaf were 6.25% and 12.5%, consecutevely, while results for combination showed minimum inhibition concentration for a ratio of 1: 1 was 12.5%, 1: 3 was 25%, and 3: 1 was 6.25%. Guava leaf and binahong leaf have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, but if combined the activity becomes decreased.

Keywords : *Psidium guajava* L., *Anredera cardifolia*. (Ten.) Steenis, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, antibacterial, and etahnol ekstrak.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi merupakan penyebab paling utama tingginya angka kesakitan dan angka kematian terutama pada negara- negara berkembang seperti halnya Indonesia. Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan karena adanya mikroba patogen (Darmadi 2008). Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri (Radji 2011). Luka merupakan proses hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh atau rusaknya kesatuan/komponen jaringan, secara spesifik terdapat substansi jaringan yang rusak atau hilang (Kaplan dan Hentz 1992). Menurut Campbell (2004), peradangan setempat merupakan sifat dan ciri khas dari infeksi *Staphylococcus aureus*. Kerusakan jaringan oleh masuknya mikroorganisme akan memicu suatu respon peradangan yang ditandai dengan pembengkakan dan warna merah yang khas.

Bakteri mensintesis suatu enzim inaktivator atau penghancur antibiotik, misalnya *Staphylococcus*, resisten terhadap penisilin G menghasilkan β -laktamase, yang merusak obat tersebut. β -laktamase lain dihasilkan oleh bakteri batang Gram-negatif. Enzim β -laktamase disintesis secara kromosomal, seperti pada *Pseudomonas aeruginosa* atau melalui plasmid mediated, seperti pada *Aeromonas hydrophila* dan *Staphylococcus aureus*. Penyebaran sifat resistensi antar kuman diperantarai oleh plasmid yang dapat saling transfer antar kuman Gram Negatif melalui proses kojugasi dan antar kuman Gram Positif melalui bakterofaga. Setelah dibentuk, kuman Gram Positif akan mensekresikan ke luar dinding sel sedangkan kuman Gram-negatif akan menyimpannya di dalam ruang periplasmic (ruang kosong yang terletak antara dinding dan membran sel). Keadaan inilah yang menjadikan cara kerja enzim β -laktamase pada kuman Gram-negatif lebih efektif dibandingkan kuman Gram-positif (Dessy 2014)

Indonesia, dikenal lebih dari 20.000 jenis tumbuhan obat, namun ± 1.000 jenis tumbuhan yang baru terdata dan yang dimanfaatkan hanya ± 300 sebagai obat tradisional. Bahan obat tradisional baik yang berasal dari hewan maupun dari

tumbuhan banyak digunakan untuk mengatasi berbagai masalah kesehatan sejak zaman dahulu. Pengobatan dengan obat tradisional tersebut merupakan salah satu alternatif untuk memenuhi kebutuhan dasar masyarakat di bidang kesehatan (Dalimartha 2005).

Tanaman obat tradisional di Indonesia yang akhir-akhir ini manfaatnya banyak dikembangkan adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Senyawa dalam daun jambu biji yang berupa flavonoid, eugenol, tanin, terpenoid, dan saponin mempunyai efek antibakteri. Tanin mampu berikatan membentuk kompleks dengan enzim bakteri ataupun substrat, kemudian memasuki sel bakteri melalui dinding sel bakteri. Flavonoid merusak sel bakteri, denaturasi protein, inaktivasi enzim dan menyebabkan lisis. Triterpenoid dan saponin menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan cara merusak struktur membran sel (Minasari *et al.* 2016).

Rachmawati, (2008) dalam Ekaviantiwi *et al.* (2013), kandungan metabolit sekunder daun binahong, yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, triterpenoid, saponin, dan minyak atsiri. Selanjutnya, menurut penelitian Kumalasari dan Nanik, (2011), menyatakan bahwa hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 70% dari batang binahong mengandung senyawa polifenol, flavonoid, dan saponin. Senyawa ini diduga memberikan kontribusi dalam aktivitas antimikroba.

Jeanly (2014), ekstrak etanol dari daun jambu biji mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasil pengamatan dan perhitungan didapatkan penurunan jumlah koloni seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun jambu biji yaitu pada berdasarkan pada konsentrasi 1%, 1,5%, 2%, dan 2,5%. Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak daun jambu biji sebesar 3% dan berdasarkan penelitian Khunaifi *et al* (2010) konsentrasi b/v ekstrak daun binahong yang digunakan adalah kontrol 25%, 30%, 35%, 40%, 45% dan 50% untuk bakteri *Staphylococcus aureus*, didapatkan KHM ekstrak daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25%. Pada uji KBM ekstrak daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50%. Penelitian sebelumnya daun jambu biji dan daun binahong memiliki

aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* namun belum ada penelitian yang menunjukkan kombinasi daun jambu biji dan daun binahong memiliki aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Penggunaan kombinasi obat herbal yang berbeda secara bersama-sama diharapkan mampu memperlihatkan kerja sama yang baik antara kedua obat (sinergisme) sehingga efeknya saling menguatkan (Tjay dan Rahardja 2007).

Latar belakang tersebut menjadi dasar perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan kombinasi antara daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) untuk mengetahui aktivitas dari ekstrak kedua tanaman tersebut yang berkhasiat sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Tujuan dari kombinasi ekstrak daun jambu biji dan daun binahong adalah untuk mendapatkan konsentrasi yang paling efektif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan belum dilakukan penelitian mengenai kombinasi daun jambu biji dan daun binahong, berdasarkan hal itu peneliti ingin menguji adanya aktivitas daun jambu biji dan daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan metode maserasi yang merupakan proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (DepKes 2008).

Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Pelarut etanol digunakan karena kebanyakan golongan senyawa seperti flavonoid, fenol, terpenoid, minyak atsiri, yang larut dalam pelarut tersebut. Etanol juga memiliki kelebihan karena lebih selektif dan tidak dapat ditumbuhi oleh kapang dan mikroorganisme (Voigt 1995). Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode dilusi. Keuntungan dari metode dilusi yaitu lebih teliti, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat ditentukan, lebih mudah dan praktis, serta memungkinkan adanya hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme yang di uji (Jawetz *et al.* 2008).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kombinasi ekstrak etanol daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
2. Manakah dari variasi konsentrasi dari kombinasi kedua tanaman yang paling efektif memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
3. Apakah kombinasi daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) lebih efektif dari tunggal?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kombinasi ekstrak etanol 96% daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Untuk mengetahui manakah dari variasi konsentrasi dari kombinasi kedua tanaman yang paling efektif memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
3. Apakah kombinasi daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) lebih efektif dari tunggal?

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi masyarakat sebagai obat tradisional dan dapat menambah ilmu pengetahuan bagi masyarakat untuk mengatasi masalah penyakit infeksi pada kulit khususnya yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Jambu biji

1. Sistematika tanaman jambu biji

Secara botani, tanaman jambu biji diklasifikasikan sebagai berikut (Herbie 2015) :

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Class : Dicotyledoneae
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : Psidium
Spesies : *Psidium guajava* L.



Gambar 1. Daun Jambu Biji (Parimin 2005)

2. Nama daerah

Tanaman jambu biji memiliki nama yang berbeda pada setiap daerah di Indonesia. Glima Breuh (aceh); Glimeu Beru (Gayo); Galiman (Batak); Masiambu (Nias); Jambu Biji (Melayu); Jambu Klutuk (Jawa Tengah); Sotong (Bali); Guwaya (Ternate); Dambu (Gorontalo); Lutu Hatu (Ambon) (Herbie 2015).

3. Deskripsi tanaman

Tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.) bukanlah merupakan tanaman asli Indonesia. Tanaman ini pertama kali ditemukan di Amerika Tengah. Seiring dengan berjalannya waktu, jambu biji menyebar di beberapa negara seperti Thailand, Taiwan, Indonesia, Jepang, Malaysia, dan Australia. Di Thailand dan Taiwan, jambu biji menjadi salah satu tanaman yang dikomersialkan (Parimin 2005).

Tanaman memiliki batang berkayu berbentuk bulat. Kulit batang licin dan mengelupas. Batang bercabang dan berwarna coklat kehijauan. Daun berupa daun tunggal berbentuk bulat telur dengan pertulangan menyirip. Ujung daun tumpul dan pangkalnya membulat, dan tepi daun rata. Daun tumbuh saling berhadapan. Panjang daun 6-14 cm dan lebarnya 3-6 cm. daun berwarna hijau kekuningan atau hijau. Bunga tunggal, bertangkai dan berada diketiak daun.

Kelopak bunga berbentuk corong dengan panjang 7-10 mm. mahkota berbentuk bulat telur dengan panjang 1,5 cm. benang sari berbentuk pipih dan berwarna putih. Putik berbentuk bulat kecil berwarna putih atau putih kekuningan. Buah berbentuk bulat telur berwarna putih kekuningan. Biji keras, kecil, berwarna kuning kecoklatan. Akarnya merupakan akar tunggang yang berwarna kuning kecoklatan (Herbie 2015).

4. Kandungan kimia

Tanin merupakan komponen utama dari daun jambu biji, senyawa tanin yang terkandung dalam daun jambu biji adalah sebanyak 9-12% bersifat antibakteri dengan cara mempresipitasi protein. Tanin mampu berikatan membentuk kompleks dengan enzim bakteri ataupun substrat, kemudian memasuki sel bakteri melalui dinding sel bakteri (Minasari *et al* 2016). Senyawa dalam daun jambu biji yang berupa flavonoid, eugenol, tanin dan terpenoid mempunyai efek antibakteri dengan merusak struktur membrannya (Akiyama 2001).

4.1 Saponin. Saponin adalah glikosida yang banyak terdapat dalam tanaman, dicirikan dengan rasa pahit, berbusa, dan bersifat hemolisis terdapat pada sel darah merah. Saponin sangat toksik bagi ikan dan hewan air lainnya

tetapi efeknya terhadap hewan yang lebih tinggi bervariasi. Saponin ini berperan dalam aktivitas antibakteri (Zuhud *et al.* 2001). Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteriolisis, jadi mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida (Darsana *et al.* 2012).

4.2 Flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk golongan fenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Redha 2010). Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air, sebagian dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada dalam lapisan air setelah lapisan ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid berupa senyawa fenol, Karena itu warnanya berubah jika ditambah basa atau ammonia (Octavia 2009).

4.3 Alkaloid. Alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom N, biasanya dalam gabungan sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid biasanya tanpa warna, kebanyakan berbentuk kristal, hanya sedikit yang berupa cairan. Senyawa alkaloid dapat dideteksi dengan pereaksi Dragendorff (Harborne, 1987).

4.4 Tanin. Tanin merupakan zat organik yang sangat kompleks dan terdiri dari senyawa fenolik. Tanin larut dalam pelarut organik polar namun tidak larut dalam pelarut organik non polar (Jayanegara *et al.* 2008).

5. Khasiat tanaman

Daun jambu biji ternyata memiliki khasiat tersendiri bagi tubuh kita, baik untuk kesehatan ataupun untuk obat penyakit tertentu. Dalam penelitian yang telah dilakukan, daun jambu biji memiliki kandungan yang banyak bermanfaat bagi tubuh kita. Diantaranya, anti inflamasi, anti mutagenik, anti mikroba dan analgesik (Dalimartha 2000)

Daun jambu biji juga berkhasiat untuk menyembuhkan penyakit disentri, keputihan, sariawan, kurap, diare, radang lambung, gusi bengkak, dan peradangan mulut, serta kulit terbakar sinar matahari, dan luka (Cahyono 2010).

B. Daun Binahong

1. Sistematika tanaman

Sistematika tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) menurut Octaviana (2009) sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Sub kingdom : Tracheobionta
Superdivisio : Spermatophyta
Divisio : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Hamamelidae
Ordo : Caryophyllales
Familia : Basellaceae
Genus : *Anredera*
Species : *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis dalam Octaviana (2009).



Gambar 2. Daun Binahong (Arief 2006)

2. Nama daerah

Nama Daerah Binahong, gondola (Sunda), gondola (Bali), lembayung (Minangkabau), genjerot, gedrek, uci-uci (Jawa), kandula (Madura), tatabuwe (Sulawesi utara), poiloo (Gorontalo), kandola (Timor) (Arief 2006).

3. Deskripsi tanaman

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan tumbuhan menjalar, berumur panjang (perennial), bisa mencapai panjang \pm 5 m. Tanaman binahong berbatang lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tidak beraturan dan bertekstur kasar. Tanaman binahong mempunyai daun dengan ciri-ciri tunggal, bertangkai sangat pendek (sessile), 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, dan bisa dimakan (Rochani 2009).

4. Kandungan kimia

Ekstraksi dengan cara maserasi daun binahong dengan menggunakan pelarut petroleum eter, etil asetat dan etanol setelah dilakukan uji tabung ditemukan kandungan alkaloid, saponin dan flavanoid, sedangkan pada analisis kromatografi lapis tipis ditemukan senyawa alkaloid, saponin dan flavonoid (Rochani 2009). Flavonoid dalam binahong dapat berfungsi sebagai antibakteri melalui pembentukan senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri *Staphylococcus aureus* (Manoi 2009).

5. Khasiat tanaman

Adapun khasiat dari daun binahong dapat dimanfaatkan untuk pengobatan berbagai jenis penyakit seperti batuk/muntah darah, paru-paru bolong, diabetes, sesak nafas, borok akut (menahun), patah tulang, darah rendah, radang ginjal, gatal-gatal/eksim kulit, bisul, disentri/buang air besar, ambeien berdarah, hidung mimisan, luka pasca bedah/operasi, luka bakar, kecelakaan/cedera benda tajam, jerawat, usus bengkak, gusi berdarah, kurang nafsu makan, haid tidak lancar, penyembuhan pasca bersalin/melahirkan, menjaga stamina tubuh, penghangat badan, lemah syahwat, dan kanker (Shabella 2012). Menurut penelitian Paju *et al.* (2013), binahong memiliki efektivitas penyembuh luka yang terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus*.

C. Simplisia

1. Simplisia

Simplisia merupakan bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan (DepKes 1985). Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman atau gabungan dari ketiganya. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh atau zat- zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan 2004). Simplisia yang akan digunakan adalah simplisia nabati dan bagian tanaman yang digunakan adalah daun dari tanaman jambu biji dan daun daun dari tanaman binahong.

2. Pengumpulan simplisia

Simplisia yang digunakan adalah simplisia nabati dan bagian yang digunakan adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis).

3. Pencucian dan pengeringan

Pencucian dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut air, dilakukan dalam waktu yang secepat mungkin (DepKes 1985).

Pengeringan simplisia secara alamiah dengan sinar matahari atau dengan suatu alat pengering. Pengeringan pada dasarnya dikenal dengan dua cara, yaitu pengeringan secara alamiah dan buatan. Pengeringan alamiah dapat dilakukan dengan panas sinar matahari langsung dan dengan diangin- anginkan tanpa dipanaskan dengan sinar matahari langsung. Pengeringan buatan dapat dilakukan dengan menggunakan suatu alat atau mesin pengering yang suhu, kelembaban, tekanan dan aliran udaranya dapat diukur (DepKes 1985).

Proses pengeringan simplisia bertujuan untuk menurunkan kadar air, sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim (Gunawan 2004).

D. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi merupakan sediaan kering, kental atau cair, yang diambil dari sari simplisia nabati atau hewani dengan cara yang sesuai, tanpa pengaruh cahaya matahari langsung. Cairan penyari yang digunakan antara lain air, eter, atau campuran etanol air. Bahan mentah obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan dan dikeringkan. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi untuk memperoleh ekstrak yang sempurna dari obat. Sifat dari bahan mentah obat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih suatu metode ekstraksi (Tiwari *et al.* 2011).

2. Metode maserasi

Metode maserasi merupakan proses ekstraksi simplisia dengan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (DepKes 2008). Prinsip dari metode ini adalah pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Metode maserasi menggunakan pelarut etanol, karena kebanyakan golongan senyawa seperti flavonoid, fenol, terpenoid, minyak atsiri, yang larut dalam pelarut tersebut. Etanol juga memiliki kelebihan karena lebih selektif, dan tidak dapat ditumbuhi oleh kapang dan mikroorganisme (Voigt 1995).

Maserasi dapat dilakukan dengan cara: 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk (Sediaan galenik 1986). Setelah 5 hari, ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya diaduk dan disaring, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Maserasi memiliki keuntungan yaitu metode ini sangat sederhana namun mampu memisahkan senyawa kimia yang diinginkan hanya menggunakan pelarut tertentu (Harbone 1987), sedangkan kerugiannya adalah membutuhkan waktu yang lama, dan penyariannya kurang sempurna.

3. Pelarut

Pelarut adalah cairan yang digunakan untuk ekstraksi. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dari bahan obat tertentu berdasarkan daya larut yang aktif, zat yang tidak aktif serta yang tidak diinginkan tergantung preparat yang digunakan (Ansel 1989). Pelarut juga harus mempertimbangkan beberapa faktor antara lain: murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika kimia, bereaksi netral dan inert, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, serta tidak mempengaruhi zat berkhasiat (List 2000). Etanol digunakan sebagai cairan penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol lebih mudah menembus membran sel dalam mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% karena menghasilkan ekstrak yang kental sehingga mempermudah untuk proses identifikasi dan merupakan bahan pelarut dengan campuran etanol dan air yang menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal.

E. Media

1. Pengertian

Media adalah suatu substansi yang komposisinya terdiri dari nutrisi tertentu yang diperlukan untuk menumbuhkan bakteri tertentu dan mempelajari sifat-sifat bakteri. Komposisi nutrisi media yang komplit mengandung sumber karbon, nitrogen, belerang, fosfat, logam mikro, vitamin, penyubur, NaCl dan air. Kristal violet, *brilian green*, bile salt, natrium selenit, antibiotik dan anti jamur (fungizon) adalah bahan penghambat atau pembunuh bakteri atau jamur yang tidak diinginkan pada waktu isolasi yang sering ditambahkan kedalam media *Fenol red neutral red*, *bromthimol blue* (Sutarma 2000).

Medium memerlukan keasaman (pH) tertentu tergantung pada jenis jasad yang ditumbuhkan. Aktivitas metabolisme mikroba dapat mengubah pH, sehingga untuk mempertahankan pH medium ditambahkan bahan buffer. Beberapa komponen penyusun medium dapat juga berfungsi sebagai buffer (Waluyo 2004).

2. Macam-macam media

Berdasarkan bentuk fisiknya media dibagi menjadi tiga yaitu media cair, semi padat, dan padat. Pertama, media padat (solid medium) berbentuk padat, tidak mengandung agen cair dan apabila kedalam media ditambahkan antara 12-15 gram tepung agar- agar per 1000 ml media. Tepung agar- agar yang ditambahkan tergantung pada jenis dan kelompok mikroba yang ditambahkan. Media padat pada umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur dan mikroalga (Suriawiria 2005).

Kedua, media cair (liquid medium) berbentuk cair, media ini dapat berupa bahan organik alamiah (yang dibuat dari kentang, wortel), atau dapat juga berupa bahan anorganik (misal silica gel) dan biasa digunakan untuk pembiakan organisme dalam jumlah besar, fermentasi dan berbagai uji. Media ini tidak ditambahkan zat pematat, media cair dipergunakan untuk pembiakan mikroalga dan mikroba lain terutama bakteri dan ragi (Suriawiria 2005).

Ketiga, media semi padat (semi solid medium). Media ini digunakan untuk melihat gerak kuman secara mikroskopik (Waluyo 2004). Medium setengah padat mengandung gelatin ataupun agar, namun konsentrasi lebih kecil dari pada medium padat (Hadioetomo 1985). Media ini pada umumnya dipergunakan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup anaerob atau fakultatif (Suriawiria 2005).

3. Klasifikasi media

3.1 Media Pengayaan. Media yang digunakan untuk pengayaan biasanya dalam bentuk media cair dan dirancang untuk memperbanyak tipe bakteri yang diinginkan sehingga dapat dideteksi. Tahapan pengayaan adalah upaya untuk menumbuhkan bakteri dalam beberapa kali pemindahan ke media yang baru. Ketika biakan pengayaan terakhir disebarkan di atas media padat yang mengandung komposisi yang sama dengan media cair, hanya koloni yang mampu menggunakan fenol yang bertahan tumbuh (Radji 2011).

3.2 Media biakan khusus. Media ini digunakan untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya untuk mengadakan perubahan kimia tertentu. Bakteri aerob membutuhkan CO₂ dengan konsentrasi lebih tinggi

ataupun lebih rendah daripada konsentrasi CO₂ di udara, maka konsentrasi CO₂ dapat dinaikkan pada media ini (Radji 2011).

3.3 Media sintetik. Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri kemoheterotrof. Pada uji kadar vitamin secara mikrobiologis, media yang digunakan mengandung faktor pertumbuhan yang dibutuhkan oleh bakteri kecuali vitamin yang diuji. Pertumbuhan bakteri sebanding dengan kadar asam laktat yang dihasilkan bakteri akan sebanding dengan jumlah vitamin dalam bahan uji. Organisme yang banyak menumbuhkan faktor pertumbuhan disebut fastidious, misalnya *Lactobacillus* (Radji 2011).

3.4 Media selektif dan differensial. Media selektif merupakan media yang ditambah zat-zat tertentu yang bersifat selektif untuk mencegah pertumbuhan mikroba lain. Misalnya media yang mengandung kristal violet pada kadar tertentu dapat mencegah pertumbuhan bakteri Gram positif tanpa mempengaruhi pertumbuhan bakteri Gram negatif. Media differensial yang merupakan media yang ditambah zat kimia (bahan) tertentu yang menyebabkan suatu mikroba membentuk pertumbuhan atau mengadakan perubahan tertentu sehingga dapat dibedakan tipe-tipenya (Radji 2011).

3.5 Media kompleks. Media ini mengandung nutrisi tinggi yang terdiri atas ekstrak ragi, ekstrak daging atau tumbuhan, ataupun protein, sederhana dari sumber lain. Vitamin, mineral, dan bahan organik lain yang diperoleh dari ekstrak daging atau ragi merupakan sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri. Media kompleks yang berbentuk cair disebut *nutrient broth*, sedangkan yang ditambahkan agar disebut *nutrient agar* (Radji 2011).

3.6 Media anaerob. Bakteri anaerob ditanam pada media yang disebut reducing media yang menggunakan natrium thioglikolat. Media ini sebelum digunakan dipanaskan perlahan-lahan terlebih dahulu untuk menghilangkan oksigen yang terserap. Bejana anaerob digunakan untuk menginkubasi bakteri anaerob yang diinokulasi dalam media agar didalam cawan petri (Radji 2011).

F. Sterilisasi

1. Pengertian sterilisasi

Sterilisasi merupakan setiap proses baik fisika, kimia, dan mekanik yang membunuh semua bentuk hidup terutama mikroorganisme. Cara sterilisasi yang paling umum digunakan berupa sterilisasi secara fisik (pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar gelombang pendek yang dapat dilakukan selama senyawa kimia yang jika disterilkan tidak dapat terurai atau berubah akibat temperatur atau tekanan tinggi) (Waluyo 2004). Sterilisasi secara kimia menggunakan disinfektan biasanya digunakan untuk bahan yang dapat berubah akibat tekanan atau suhu tinggi misalnya saringan atau filter (Suriawiria 2005). Media yang digunakan disterilisasi terlebih dahulu dengan *autoclav* pada suhu 121°C selama 15 menit. Gelas ukur dan *beaker glass* disterilkan dengan oven pada suhu 170°C -180°C selama 2 jam, alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung. Sterilisasi inkas menggunakan formalin (Denyer 2004).

G. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan nama spesies yang merupakan bagian dari genus *Staphylococcus*. Nama genus *Staphylococcus* ditemukan oleh Ogston. Bakteri ini pada pengamatan mikroskopis berbentuk seperti setangkai buah anggur, sedangkan nama spesies aureus diberikan oleh Rosenbach. Bakteri ini pada biakan murni, koloni bakteri ini terlihat berwarna kuning-keemasan (Jawetz *et al.* 2010). Rosenbach juga mengungkapkan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi pada luka dan furunkel. Sejak itu *Staphylococcus aureus* dikenal secara luas sebagai penyebab infeksi pada pasien pasca bedah dan pneumonia terutama pada musim dingin/hujan. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu ruangan yang berkisar antara 20-25°C). Koloni bakteri ini berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bulat, menonjol, halus dan berkilau (Jawetz *et al.* 2010).

1. Sistematika *Staphylococcus aureus*

Menurut Levinson (2004) Sistematika *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

| | |
|--------|--------------------------------|
| Divisi | : Protophyta |
| Kelas | : Schizomycetes |
| Bangsa | : Eubacteriales |
| Suku | : Micrococcaceae |
| Marga | : Staphylococcus |
| Jenis | : <i>Staphylococcus aureus</i> |

2. Morfologi dan Identifikasi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *Staphylococcus aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz *et al.* 2008).

3. Faktor Virulensi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya tersebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler. Berbagai zat yang berperan sebagai faktor virulensi dapat berupa protein, termasuk enzim dan toksin, antara lain :

3.1 Eksotoksin. Eksotoksin dapat ditemukan dalam filtrat hasil pemisahan dari kuman dengan jalan menyaring kultur. Bahan ini bersifat tidak tahan pemanasan (termolabil) dan bila disuntikan pada hewan percobaan dapat menimbulkan kematian dan nekrosis kulit yang terdiri dari α - hemolisin, β - hemolisin, δ - hemolisin, leukosidin, sitotoksin, dan toksin eksfoliatin.

3.2 Koagulase. Koagulase merupakan suatu protein yang menyerupai enzim dan dapat menggumpalkan plasma sitrat dengan bantuan suatu faktor

koagulase reaktif dalam serum yang bereaksi dengan enzim tersebut. Esterase yang dihasilkan dapat meningkatkan aktifitas penggumpalan sehingga terbentuk deposit fibrin pada permukaan sel bakteri yang dapat menghambat fagositosis (Jawetz *et al.* 2008)

3.3 Katalase. Katalase merupakan enzim yang berperan pada daya tahan bakteri terhadap proses fagositosis. Tes adanya katalase menjadi pembeda antara genus *Staphylococcus* dengan *Streptococcus* (Jawetz *et al.* 2008).

3.4 Leukosidin. Toksin ini dapat mematikan sel darah putih pada hewan yang terkena infeksi. Leukosidin juga suatu antigen tetapi lebih termolabil dari pada eksotoksin (DepKes RI 1989).

3.5 Hemolisin. Hemolisin merupakan toksin yang dapat membentuk suatu zona hemolisis di sekitar koloni bakteri. Hemolisin pada *Staphylococcus aureus* terdiri dari alfa hemolisin, beta hemolisin, dan delta hemolisin. Alfa hemolisin adalah toksin yang bertanggung jawab terhadap pembentukan zona hemolisis di sekitar koloni *Staphylococcus aureus* pada medium agar darah. Toksin ini dapat menyebabkan nekrosis pada kulit hewan dan manusia. Beta hemolisin adalah toksin yang terutama dihasilkan *Staphylococcus* yang diisolasi dari hewan, yang menyebabkan lisis pada sel darah merah domba dan sapi. Sedangkan delta hemolisin adalah toksin yang dapat melisis sel darah merah manusia dan kelinci, tetapi efek lisisnya kurang terhadap sel darah merah domba (Jawetz *et al.* 2012).

3.6 Enterotoksin. Enterotoksin merupakan suatu protein dengan berat molekul 3×10^4 yang tahan terhadap pendidihan selama 30 menit. *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab penting dalam keracunan makanan. enterotoksin dihasilkan ketika *Staphylococcus aureus* tumbuh pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein (Jawetz *et al.* 2008)

3.7 Toksin eksfoliatif. Toksin ini mempunyai aktivitas proteolitik dan dapat melarutkan matriks mukopolisakarida epidermis, sehingga menyebabkan pemisahan intraepitelial pada ikatan sel di stratum granulosum. Toksin eksfoliatif merupakan penyebab *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*, yang ditandai dengan melepuhnya kulit (Jawetz *et al.* 2012).

3.8 Toksin Sindrom Syok Toksik (TSST). Sebagian besar galur *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari penderita sindrom syok toksik menghasilkan eksotoksin pirogenik. Pada manusia, toksin ini menyebabkan demam, syok, ruam kulit, dan gangguan multisistem organ dalam tubuh (Jawetz *et al* 2012).

4. Patogenisitas

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *Staphylococcus aureus* yang pathogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulase, dan mampu meragikan manitol (Warsa 1994).

Kontaminasi langsung *Staphylococcus aureus* pada kulit terbuka (seperti luka pasca bedah) atau infeksi setelah trauma (seperti osteomielitis kronis setelah fraktur terbuka) dan meningitis setelah fraktur tengkorak merupakan penyebab infeksi nosokomial (Jawetz *et al.* 2008). Bisul atau abses setempat, seperti jerawat dan borok merupakan infeksi kulit di daerah folikel rambut, kelenjar sebacea, atau kelenjar keringat. Mula-mula terjadi nekrosis jaringan setempat, lalu terjadi koagulasi fibrin di sekitar lesi dan pembuluh getah bening, sehingga terbentuk dinding yang membatasi proses nekrosis. Infeksi dapat menyebar ke bagian tubuh lain melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah, sehingga terjadi peradangan pada vena, trombosis, bahkan bakterimia. Bakterimia dapat menyebabkan terjadinya endokarditis, osteomielitis akut hematogen, meningitis atau infeksi paru-paru (Jawetz *et al.* 2008).

Keracunan makanan dapat disebabkan kontaminasi enterotoksin dari *Staphylococcus aureus*. Waktu onset dari gejala keracunan biasanya cepat dan akut, tergantung pada daya tahan tubuh dan banyaknya toksin yang termakan. Jumlah toksin yang dapat menyebabkan keracunan adalah 1,0 µg/gr makanan. Gejala keracunan ditandai oleh rasa mual, muntah-muntah, dan diare yang hebat tanpa disertai demam (Ryan *et al.* 1994 ; Jawetz *et al.* 1995).

Sindroma syok toksik (SST) pada infeksi *Staphylococcus aureus* timbul secara tiba-tiba dengan gejala demam tinggi, muntah, diare, ruam, dan hipotensi,

dengan gagal jantung dan ginjal pada kasus yang berat. SST sering terjadi dalam lima hari permulaan haid pada wanita muda yang menggunakan tampon, atau pada anak-anak dan pria dengan luka yang terinfeksi stafilokokus. *Staphylococcus aureus* dapat diisolasi dari vagina, tampon, luka atau infeksi lokal lainnya, tetapi praktis tidak ditemukan dalam aliran darah (Jawetz *et al.* 1995).

5. Pengobatan

Pada infeksi yang cukup berat, diperlukan pemberian antibiotik secara oral atau intravena, seperti penisilin, metisillin, sefalosporin, eritromisin, linkomisin, vankomisin, dan rifampisin. Sebagian besar galur Stafilokokus sudah resisten terhadap berbagai antibiotik tersebut, sehingga perlu diberikan antibiotik berspektrum lebih luas seperti kloramfenikol, amoksilin, dan tetrasiklin (Jawetz *et al.* 2012).

6. Mekanisme antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Dalam penggolongannya antibakteri dikenal dengan antiseptik dan antibiotik. Berbeda dengan antibiotik yang tidak merugikan sel jaringan manusia, daya kerja antiseptik tidak membedakan antara mikroorganisme dan jaringan tubuh. Antibiotik adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh bakteri dan fungi (Odianti 2010). Mekanisme kerja antibakteri antara lain:

6.1 Mengganggu jalur metabolisme utama. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bila bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat non fungsional, sehingga kebutuhan asam folat tidak terpenuhi hal ini bisa menyebabkan bakteri mati (Odianti 2010). Contoh antibiotik sulfonamide dan trimethoprim (Bakung 2014).

6.2 Menghambat sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan. Polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer glikopeptida. Salah satu kerja antibakteri adalah menghambat sintesis dinding sel.

Struktur dinding sel dapat rusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Odianti 2010). Contoh antibiotik penisilin sefalosporin karbapenem, manobaktam, vancomycin (Bakung 2014).

6.3 Mengganggu fungsi membran sel. Membran sel memegang peranan penting dalam sel, yakni sebagai penghalang dengan permeabilitas selektif, melakukan pengangkutan aktif, dan pengendalian susunan dalam sel. Membran sel mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi di dalam sel dan merupakan tempat berlangsungnya pernafasan dan aktivitas biosintesis tertentu. Beberapa antibiotik diketahui mampu merusak atau memperlemah satu atau lebih dari fungsi-fungsi tersebut. Bila fungsi-fungsi tersebut terganggu, maka akan menyebabkan gangguan terhadap kehidupan sel. Contoh antibiotiknya: polimiksin, kolistin, amphotericin B, dan nistatin (Waluyo 2004). Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Odianti 2010).

6.4 Menghambat sintesis protein sel bakteri. Sintesis protein merupakan hasil akhir dari dua proses utama, yakni: transkripsi (sintesis asam ribonukleat) dan translasi (sintesis protein yang RNA-dependent) (Waluyo 2004). Untuk kehidupannya, bakteri perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Salah satu kerja antibakteri adalah menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein, akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba (Odianti 2010). Contoh antibiotik adalah aminoglikosida, makrolida, tetrasiklin, streptogamin, kloramfenikol (Bakung 2014).

6.5 Penghambatan sintesis asam nukleat sel bakteri. Asam nukleat merupakan bagian yang sangat vital bagi perkembangbiakan sel. Untuk pertumbuhannya, kebanyakan sel tergantung pada sintesis DNA, sedangkan RNA diperlukan untuk transkripsi dan menentukan informasi sintesis protein dan enzim (Pabio 2009). Contoh antibiotik yang dapat menghambat sintesis asam nukleat: asam nalidixat, novobiosin, primetamin, sulfonamide, dan trimethoprim. Obat-

obat tersebut dapat membentuk kompleks dengan ADN melalui ikatan pada residu deoksiganosin. Kompleks ADN aktinomisin menghambat polimerase ARN yang tergantung pada ADN serta menahan pambentukan ARN-m (Waluyo 2004).

H. Aktivitas Antibakteri

1. Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteristatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks *et al.* 2005).

2. Metode pengujian antibakteri

2.1 Metode dilusi. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi. Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Media diinokulasikan terhadap bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat dan mematikan (Jawetz *et al.* 2012). Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 2012). Hasil yang diperoleh lebih teliti, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat ditentukan, lebih mudah dan praktis. Kekurangan metode dilusi adalah sampel yang dibutuhkan untuk percobaan harus jernih, kalau keruh akan mempersulit pengamatan dan membutuhkan alat yang lebih banyak dan tidak praktis (Pratiwi 2008).

2.2 Metode difusi agar. Metode difusi digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media

agar tersebut. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba (Pratiwi 2008). Metode difusi agar dibedakan menjadi dua yaitu cara *Kirby Bauer* dan cara sumuran merupakan metode difusi disk (tes *Kirby Bauer*) dilakukan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi 2008). Keunggulan uji difusi cakram agar mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa (Sacher dan McPherson 2004). Sedangkan sumuran menggunakan metode difusi disk, di mana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi 2008).

I. Efek Kombinasi Obat Tradisional

Dalam suatu ramuan obat tradisional umumnya terdiri dari beberapa jenis tanaman tradisional yang memiliki efek saling mendukung satu sama lain untuk mencapai efektivitas pengobatan. Formulasi dan komposisi ramuan tersebut dibuat setepat mungkin agar tidak menimbulkan kontra indikasi, bahkan harus dipilih jenis ramuan yang saling menunjang terhadap suatu efek yang dikehendaki. Setiap unsur bisa terdiri lebih dari 1 jenis tanaman obat sehingga komposisi obat tradisional lazimnya cukup komplek, misalnya suatu formulasi yang ditujukan untuk menurunkan tekanan darah, komponennya terdiri dari : daun sledri (sebagai vasodilator), daun apokat atau akar teki (sebagai diuretika), daun murbei atau besaren (sebagai Ca-antagonis) serta biji pala (sebagai sedatif ringan). Selain itu beberapa contoh tanaman obat yang memiliki efek sejenis (sinergis), misalnya untuk diuretik bisa digunakan daun keji beling, daun kumis kucing, akar teki, daun apokat, rambut jagung dan lain sebagainya. Sedangkan efek komplementer (saling mendukung) beberapa zat aktif dalam satu tanaman, contohnya seperti pada herba timi (*Tymus serpyllum* atau *T.vulgaris*) sebagai salah satu ramuan obat batuk. Herba timi diketahui mengandung minyak atsiri

(yang antara lain terdiri dari : tymol dan kalvakrol) serta flavon polimetoksi. Tymol dalam timi berfungsi sebagai ekspektoran (mencairkan dahak) dan kalvakrol sebagai anti bakteri penyebab batuk; sedangkan flavon polimetoksi sebagai penekan batuk non narkotik, sehingga pada tanaman tersebut sekurang-kurangnya ada 3 komponen aktif yang saling mendukung sebagai anti tusif. Demikian pula efek diuretik pada daun kumis kucing karena adanya senyawa flavonoid, saponin dan kalium (Pramono dan Katno 2006).

J. Landasan Teori

Sejak dulu masyarakat Indonesia mengatasi masalah infeksi dengan obat tradisional. Salah satu tanaman yang dapat digunakan adalah daun jambu biji dan daun binahong. Daun jambu biji juga berkhasiat untuk menyembuhkan penyakit disentri, keputihan, sariawan, kurap, diare, radang lambung, gusi bengkak, dan peradangan mulut, serta kulit terbakar sinar matahari, dan luka (Cahyono 2010). Adapun khasiat dari daun binahong dapat dimanfaatkan untuk pengobatan berbagai jenis penyakit seperti batuk/muntah darah, paru-paru bolong, diabetes, sesak nafas, borok akut (menahun), patah tulang, darah rendah, radang ginjal, gatal-gatal/eksim kulit, bisul, disentri/buang air besar, ambeien berdarah, hidung mimisan, luka pasca bedah/operasi, luka bakar, kecelakaan/cedera benda tajam, jerawat, usus bengkak, gusi berdarah (Shabella 2012).

Tanaman yang digunakan untuk antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.). Senyawa dalam daun jambu biji yang berupa flavonoid, eugenol, tanin, terpenoid, dan saponin mempunyai efek antibakteri. Tanin merupakan komponen utama dari daun jambu biji, senyawa tanin yang terkandung dalam daun jambu biji adalah sebanyak 9-12% bersifat antibakteri dengan cara mengkerutkan dinding sel, membrane sel, inaktivasi enzim, dan inaktivasi fungsi materi genetik bakteri. Tanin mampu berikatan membentuk kompleks dengan enzim bakteri ataupun substrat, kemudian memasuki sel bakteri melalui dinding sel bakteri. Flavonoid merusak sel bakteri, denaturasi protein, inaktivasi enzim dan menyebabkan lisis. Triterpenoid dan

saponin menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan cara merusak struktur membrane sel (Minasari *et al.* 2016).

Selain daun jambu biji (*Psidium guajava* L.), juga digunakan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dilaporkan mengandung alkaloid, saponin dan flavanoid, sedangkan pada analisis kromatografi lapis tipis ditemukan senyawa alkaloid, saponin dan flavonoid (Rochani 2009). Pengambilan ekstrak daun jambu biji dan dan binahong menggunakan metode maserasi maserasi yang merupakan penyarian sederhana dengan cara kerja merendam serbuk simplisia kedalam pelarut selama kurang lebih 5 hari. Keuntungan metode maserasi ini adalah cara pengerjaannya yang sederhana dan mudah. Etanol 96 % digunakan sebagai pelarut karena menghasilkan ekstrak yang kental sehingga mempermudah untuk proses identifikasi. Etanol juga memiliki kelebihan karena lebih selektif, dan tidak dapat ditumbuhi oleh kapang dan mikroorganisme (Voigt 1995). Etanol lebih mudah menembus membran sel dalam mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman (Tiwari *et al.* 2011).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *Staphylococcus aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz *et al.* 2008).

Menurut Campbell (2004), peradangan setempat merupakan sifat dan ciri khas dari infeksi *Staphylococcus aureus*. Kerusakan jaringan oleh masuknya mikroorganisme akan memicu suatu respon peradangan yang ditandai dengan pembekakan dan warna merah yang khas.

Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode dilusi. Metode dilusi digunakan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Prinsip metode dilusi adalah menggunakan

antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat dengan menggunakan 12 tabung dengan interval pengenceran 2 kali kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Pada penelitian ini menggunakan kombinasi daun jambu biji dan daun binahong dengan perbandingan kombinasi 1:1;1:3;3:1. Adapun tujuan dari kombinasi ekstrak daun jambu biji dan daun binahong adalah untuk mendapatkan konsentrasi yang paling efektif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

K. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

Pertama, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari hasil kombinasi ekstrak etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cardifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, variasi konsentrasi kombinasi ekstrak etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cardifolia* (Ten.) Steenis) mempunyai aktivitas antibakteri yang paling efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, kombinasi Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dan Daun Binahong (*Anredera cardifolia* (Ten.) Steenis) lebih efektif dari tunggal.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) diperoleh desa Ngawi, Jawa Timur pada bulan November 2017.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang diambil dari daun yang berwarna hijau dan diambil secara acak dalam satu pohon. Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang diambil adalah daun yang berwarna hijau dan diambil secara acak dalam satu pohon.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) beserta kombinasinya.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel kendali dan variabel tergantung.

2.1 Variabel bebas. Variabel yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja di ubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kombinasi dari ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dengan perbandingan kombinasi 1:1;1:3;3:1.

2.2 Variabel kendali. Variable kendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh penelitian lain secara tepat.

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah ekstrak daun jambu biji dan daun binahong, kemurnian bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 kondisi laboratorium (meliputi inkas, alat dan bahan yang digunakan harus steril dan media yang digunakan dalam penelitian ini).

2.3 Variabel tergantung. Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas kombinasi ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dari *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media uji yang dilihat dari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang berwarna hijau, tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, daun ketiga dari bawah, yang diambil di desa Ngawi, Jawa timur

Kedua, daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang berwarna hijau, dan tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, daun kedua dari pucuk yang diambil desa Ngawi, Jawa timur.

Ketiga, serbuk daun jambu biji adalah daun yang diambil kemudian dicuci bersih dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel setelah itu dikeringkan dalam alat pengering (oven) pada suhu 50°C, setelah kering digiling kemudian diserbuk dan diayak dengan ayakan nomer 40.

Keempat, serbuk daun jambu binahong adalah daun yang diambil kemudian dicuci bersih dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel setelah itu dikeringkan dalam alat pengering (oven) pada suhu 50°C, setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomer 40.

Kelima, ekstrak daun jambu biji adalah hasil dari maserasi 500 gram serbuk daun jambu biji dengan pelarut etanol 96%.

Keenam, ekstrak daun binahong adalah hasil dari maserasi 500 gram serbuk daun binahong dengan pelarut etanol 96%.

Ketujuh, kombinasi ekstrak daun jambu biji dengan daun binahong 1:1 adalah hasil maserasi serbuk daun jambu biji sebanyak 250 gram : serbuk daun binahong sebanyak 250 gram dengan pelarut etanol 96%.

Kedelapan, kombinasi ekstrak daun jambu biji dengan daun binahong 1:3 adalah hasil maserasi daun jambu biji sebanyak 125 gram : serbuk daun binahong sebanyak 375 gram dengan pelarut etanol 96%.

Kesembilan, kombinasi ekstrak daun jambu biji dengan daun binahong 3:1 adalah hasil maserasi serbuk daun jambu biji sebanyak 375 gram : serbuk daun binahong sebanyak 125 gram dengan pelarut etanol 96%.

Kesepuluh, bakteri uji dari penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diambil dari Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta.

Kesebelas, penentuan aktivitas antibakteri adalah dengan cara metode dilusi yang pengujian dengan membuat konsentrasi ekstrak tunggal daun jambu biji dan ekstrak tunggal daun binahong dan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong dengan perbandingan kombinasi (1:1); (1:3); (3:1) yang diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati dengan melihat tahap kekeruhan.

Keduabelas, uji aktivitas antibakteri adalah uji dengan menggunakan metode dilusi. Metode dilusi berupa satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi yaitu konsentrasi yang digunakan adalah kontrol 50% 25% 12,5% 6,25% 3,12% 1,56% 0,78% 0,39% 0,19% 0,09%.

Ketigabelas, KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) ditentukan dengan mengamati konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan kejernihan. Penentuan nilai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) adalah konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri dengan melihat bakteri pada medium pada goresan cawan petri yang kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, yang ditandai dengan ada atau tidak pertumbuhan bakteri pada media tersebut.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat penggiling, timbangan analitik, oven, ayakan nomor 40, inkas, ose platina, cawan petri, cawan porselin, Erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, pipet tetes, pipet volume, corong pisah, corong kaca, kain flanel, kertas saring, *wather bath*, lampu spiritus, *autoclave*, *Moisture Balance*, *Rotary evaporator*, inkubator, kaca objek, dan mikroskop.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) daun binahong (*Androdera cordifolia* (Ten.) Stennis), *Staphylococcus aureus*, *Brain Heart Infusion* (BHI), VJA (*Vogel Jhonson Agar*), hydrogen peroksida, plasma sitrat, sitoborat, dragendrof, liberman burchment, etil asetat, asam formiat, asam asetat glassial, toluene, dietil amin, kloroform, toluene, etanol 96%, *Mc Farland* 0,5%, pereaksi besi (III) klorida, preaksi Dragendrof, DMSO 1%, kalium tellurit.

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi tanaman

Tahapan pertama penelitian adalah menetapkan identifikasi daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun binahong (*Androdera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang dilakukan di bagian Biologi Farmasi, Universitas Sebelas Maret.

Identifikasi ini bertujuan untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya dengan tanaman lain.

2. Pengambilan bahan

Daun jambu biji dan daun binahong yang masih muda berwarna hijau yang diperoleh dari Ngawi, Jawa timur pada bulan November 2017

3. Pembuatan serbuk

3.1 Daun jambu biji. Daun jambu biji dicuci bersih terlebih dahulu dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran dan debu, dan daun binahong yang sudah bersih dipotong– potong kemudian ditimbang, setelah itu dikeringkan dengan cara di oven selama kurang lebih 5 hari pada suhu 50° C. Daun jambu biji yang sudah kering ditimbang dan diserbuk dengan alat penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 sehingga diperoleh serbuk daun jambu biji yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Pembuatan serbuk bertujuan agar luas partikel bahan yang kontak dengan larutan penyari dapat diperluas sampai penyarian berlangsung secara efektif.

3.2 Daun binahong. Daun binahong dicuci bersih terlebih dahulu dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran dan debu, dan daun binahong yang sudah bersih dipotong– potong kemudian ditimbang, setelah itu dikeringkan dengan cara di oven selama kurang lebih 5 hari pada suhu 50° C. Daun binahong yang sudah kering ditimbang dan diserbuk dengan alat penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 sehingga diperoleh serbuk daun jambu binahong yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen. Pembuatan serbuk bertujuan agar luas partikel bahan yang kontak dengan larutan penyari dapat diperluas sampai penyarian berlangsung secara efektif.

4. Kadar lembab serbuk

4.1 Penetapan kadar lembab daun jambu biji dan daun binahong. Penetapan kadar lembab daun jambu biji dan daun binahong dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Suhu yang digunakan adalah 95°C dan waktu pengeringan secara manual yaitu 15 menit kemudian ditimbang pada neraca timbangan masing- masing serbuk daun jambu biji dan dan binahong. Kemudian ditunggu sampai alat *Moisture Balance* berbunyi yang menandakan

hasil analisa telah selesai. Kadar air akan memenuhi syarat apabila kadar air suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

5. Pembuatan ekstrak etanol

5.1. Ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.). Serbuk daun jambu biji sebanyak 500 gram dimasukkan kedalam botol maserasi dengan 3750 ml pelarut etanol 96% dengan perbandingan 10:75, yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan penyari, kemudian dicampurkan diamkan selama 5 hari dan sesekali digojok. Setelah 5 hari ekstrak yang didapat disaring, kemudian dipekatkan dengan alat *Rotary evaporator* dengan suhu 65°C.

5.2 Ekstrak daun binahong (*Androdera cordifolia* (Ten.) Steenis). Serbuk daun binahong sebanyak 500 gram dimasukkan kedalam botol maserasi dengan 3750 ml pelarut etanol 96% dengan perbandingan 10:75, yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan penyari, kemudian dicampurkan diamkan selama 5 hari dan sesekali digojok. Setelah 5 hari ekstrak yang didapat disaring, kemudian dipekatkan dengan alat *Rotary evaporator* dengan suhu 65°C.

5.3 Kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong 1:1. Ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan perbandingan 1: 1 sebanyak 250 gram serbuk daun jambu biji dan 250 gram serbuk daun binahong, masukkan kedalam botol maserasi dengan 3750 ml pelarut etanol 96% dengan perbandingan 10:75 yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan penyari, dicampur dan diamkan selama 5 hari dan sesekali digojok. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan dipekatkan dengan *Rotary evaporator* pada suhu 65°C.

5.4 Kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong 1:3. Ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan perbandingan 1:3 sebanyak 125 gram serbuk daun jambu biji dan 375 gram daun binahong, masukkan kedalam botol maserasi dengan 3750 ml pelarut etanol 96% dengan perbandingan 10:75 yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan penyari, dicampur dan diamkan selama 5 hari dan sesekali digojok. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan dipekatkan dengan *Rotary evaporator* pada suhu 65°C.

5.5 Kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong 3:1 Ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan perbandingan 3:1 sebanyak 375

gram serbuk daun jambu biji dan 125 gram daun binahong. Kemudian masukkan kedalam botol maserasi dengan 3750 ml pelarut etanol 96% dengan perbandingan 10:75 yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan penyari. Kemudian campur dan diamkan selama 5 hari dan sesekali digojok. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan dipisahkan dengan *Rotary evaporator* pada suhu 65°C

6. Tes bebas etanol daun jambu biji dan daun binahong

Ekstrak yang telah pekat diuji bebas etanol dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah dengan asam asetat pekat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, uji positif bebas etanol ditandai dengan tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Praeparandi 2006).

7. Identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak daun jambu dan daun binahong

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam daun jambu biji dan daun binahong. Identifikasi dilakukan terhadap senyawa alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid dibuktikan di Laboratorium Biologi Universitas Gajah Mada.

7.1 Identifikasi alkaloid. Sampel ditimbang 20 mg dilarutkan dalam etanol 1 ml. totolkan pada Silika G254 sebanyak 5 mikro dengan mikropipet. Elusi dengan fase gerak toluene: etil asetat: dietil amin (7:2:1) sampai batas (Hendra 2015). Elusi kira- kira 8 cm dari penotolan. Setelah sampai batas, kemudian dikeringkan, kemudian semprot dengan Dragendrof. Setelah disemprot, disinari dengan sinar tampak berfloresensi menimbulkan warna orange.

7.2 Identifikasi saponin. Sampel ditimbang 20 mg dilarutkan dalam etanol 1 ml. totolkan pada Silika G254 sebanyak 5 mikro dengan mikropipet. Elusi dengan fase gerak kloroform: methanol: air (64:50:1) sampai batas (Tussanti *et al.* 2014). Elusi kira- kira 8 cm dari penotolan. Setelah sampai batas, kemudian dikeringkan, kemudian semprot dengan Liberman Bouchat. Setelah disemprot, disinari dengan sinar tampak berwarna coklat.

7.3 Identifikasi tanin. Sampel ditimbang 20 mg dilarutkan dalam etanol 1 ml. totolkan pada Silika G254 sebanyak 5 mikro dengan mikropipet. Elusi dengan

fase gerak etil asetat: asam formiat: toluene: air (6:1,5:3:0,5) sampai batas (Wagner dan Bladt 2009). Elusi kira- kira 8 cm dari penotolan. Setelah sampai batas, kemudian dikeringkan, kemudian semprot dengan FeCl₃. Setelah disemprot, disinari dengan sinar tampak berwarna hijau tua kehitaman (Dewi *et al.* 2013).

7.4 Identifikasi flavonoid. Sampel ditimbang 20 mg dilarutkan dalam etanol 1 ml. totolkan pada Silika G254 sebanyak 5 mikro dengan mikropipet. Elusi dengan fase gerak etil asetat: asam formiat: asam asetat glassial: air (100:11:11:27) sampai batas (Wagner dan Bladt 2009). Elusi kira- kira 8 cm dari penotolan. Setelah sampai batas, kemudian dikeringkan, kemudian semprot dengan siroborat. Setelah disemprot, disinari dengan sinar tampak berwarna hijau tua kehitaman.

8. Sterilisasi

Sterilisasi inkas dengan menggunakan alkohol Media yang digunakan disterilisasi terlebih dahulu dengan *autoclav* pada suhu 121°C selama 15 menit. Gelas ukur dan *beaker glass* disterilkan dengan oven pada suhu 170°C -180°C selama 2 jam, sedangkan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung. Sterilisasi inkas menggunakan formalin (Denyer 2004).

9. Identifikasi bakteri

9.1 Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada medium Vogel Jhonson Agar. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasi pada media VJA yang sebelumnya telah ditambahkan kalium tellurit 1% kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif bila terlihat koloni berwarna hitam dan warna medium sekitar koloni kuning (Jewetsz *et al.* 2007).

9.2 Identifikasi mikroskopis *Staphylococcus aureus* dengan pewarnaan Gram. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* diambil dari media biakan menggunakan jarum ose yang telah dipijarkan, lalu diratakan diatas *object glass*. Larutan zat warna kristal violet diteteskan sebanyak 2 sampai 3 tetes dan didiamkan selama 3 menit. Preparat diberikan akuades mengalir dan dikeringkan dan diamati di bawah mikroskop. Dari bahan pemeriksaan akan dibuat sediaan dari bahan kaca objek glass, lalu di warnai dengan prinsip pewarnaan Gram, dan

diamati di bawah mikroskop. Bakteri Gram positif akan terlihat dengan warna ungu sedangkan bakteri Gram negatif akan terlihat berwarna merah muda (Jawetz *et al.* 2008)

9.3 Uji Biokimia. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dua uji yaitu uji koagulase dan katalase. Uji koagulase dapat dilakukan dengan cara menginokulasikan koloni *Staphylococcus aureus* kedalam BHI 2 ml lalu dinkubasi selama 18- 24 jam pada suhu 37°C. Inoculum tersebut dipindahkan sejumlah 0,2- 0,3 ml ke dalam tabung reaksi yang sudah disterilkan kemudian ditambahkan 0,5 ml plasma lalu diaduk dan diinkubasi sampai 24 jam. Hal ini dimaksudkan untuk melihat atau mengecek koagulan yang terbentuk. Koagulan yang terbentuk secara padat atau solid serta tidak jatuh apabila tabung dibalik dinyatakan positif bahwa bakteri tersebut memang *Staphylococcus aureus*. Sedangkan uji katalase digunakan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan streptococcus dilakukan tes katalase dengan cara meneteskan H₂O₂ sebanyak 3% pada koloni yang diambil sebanyak satu ose dan dipindahkan ke atas kaca objek. Hasil positif apabila terdapat busa, menandakan *Staphylococcus aureus* (Todar 2005).

10. Pembuatan suspensi bakteri uji

Pembiakan bakteri diambil sebanyak 1-2 ose dan ditanam pada medium BHI kemudian diinkubasi selama 2-5 jam pada suhu 37°C, kemudian disuspensikan ke dalam 5 ml NaCl 0,9% sampai diperoleh kekeruhan yang sesuai dengan standar 0,5 McFarland atau sebanding dengan jumlah bakteri 10⁸ (CFU)/ml *Staphylococcus aureus*.

11. Pengujian aktivitas antibakteri

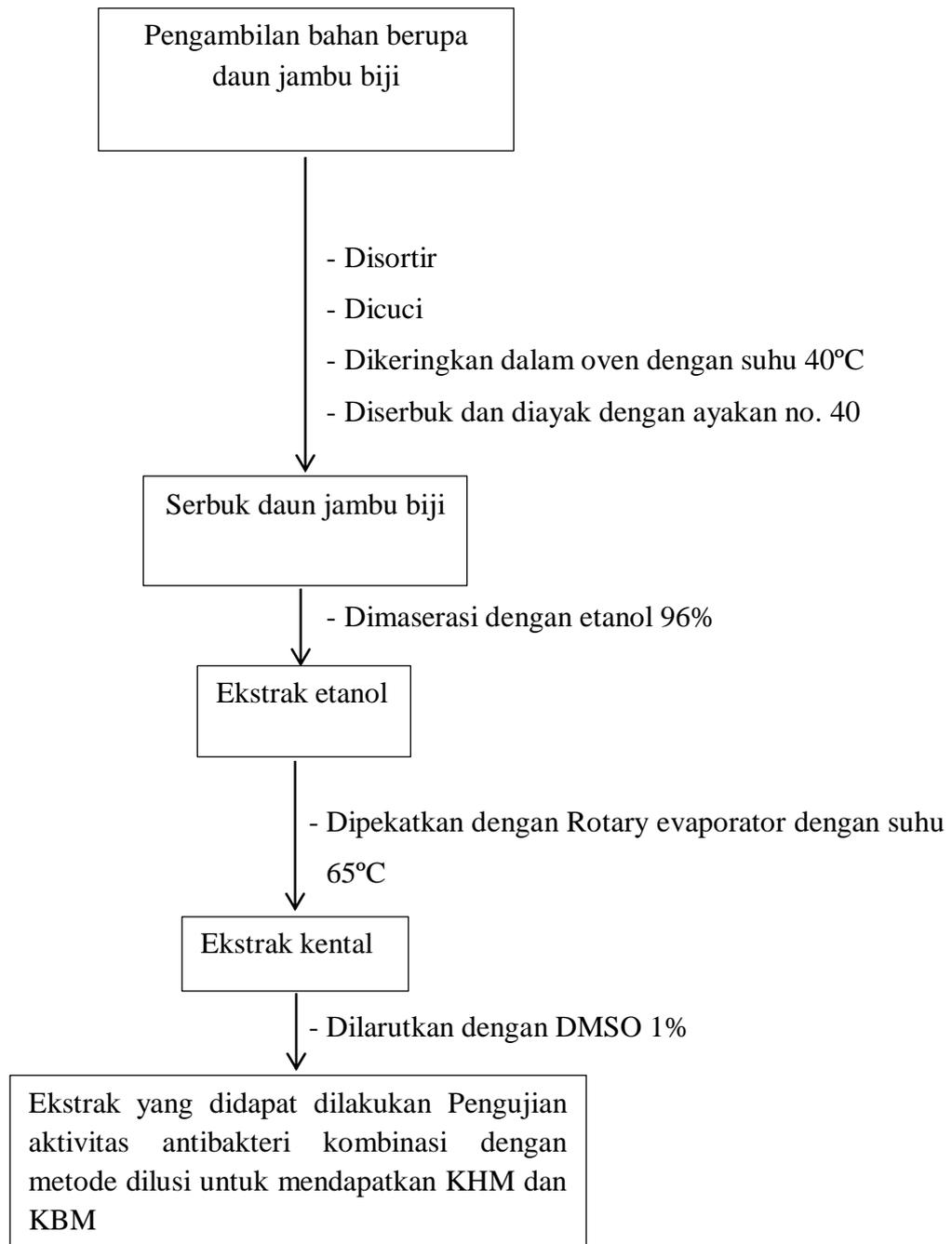
Ekstrak daun jambu biji dan daun binahong diperoleh melalui ekstraksi secara maserasi diuji secara mikrobiologi dengan bakteri uji. Metode yang digunakan adalah metode dilusi yang bertujuan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Metode dilusi menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 12 tabung steril. Konsentrasi larutan stok yaitu 50% yaitu 50 gram ekstrak kemudian diencerkan dengan DMSO 1% sebanyak 100 ml. Konsentrasi pada metode dilusi menggunakan seri

pengenceran 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19%, 0,09%. Tabung pertama sebagai kontrol negatif yang berisi larutan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong dan tabung terakhir sebagai kontrol positif yang berisi suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Suspensi bakteri dalam medium BHI dimasukkan ke dalam masing-masing tabung uji. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu kamar selama 18-24 jam pada suhu 37°C lalu diamati kekeruhannya untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan cara tabung media yang jernih diinokulasikan secara goresan pada media selektif untuk masing-masing bakteri uji. Kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 18-24 jam. Mengamati ada tidaknya koloni yang tumbuh pada permukaan media lempeng. KBM ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh.

12. Analisis Hasil

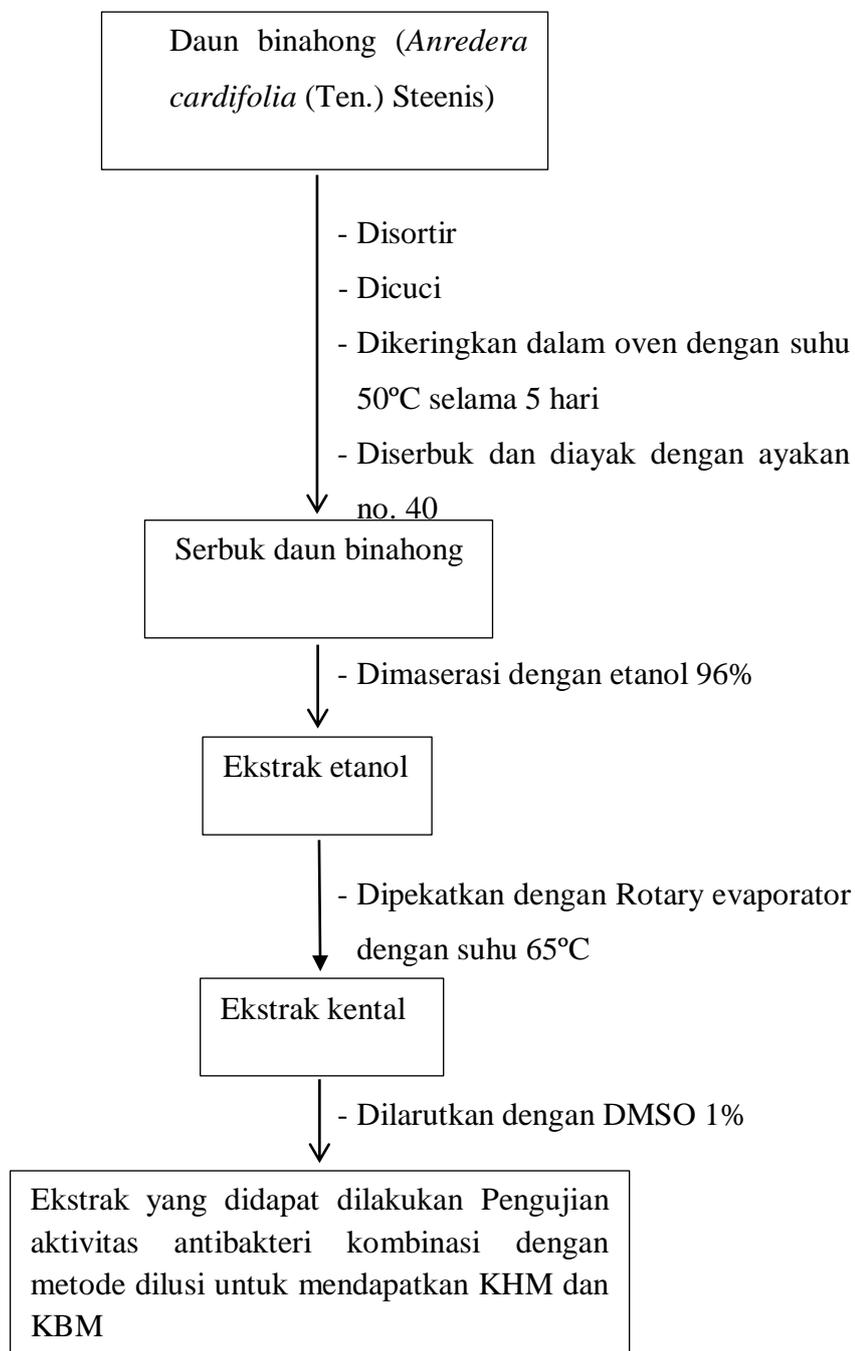
Analisis hasil yang digunakan secara dilusi adalah dengan membandingkan hasil Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong (1:1;1:3;3:1). Data yang diperoleh, sebelum dilakukan analisis statistik secara ANOVA harus dipastikan dahulu bahwa data tersebut sudah terdistribusi normal dengan melakukan tahap- tahap perhitungan Kolmogorov-Smirnov. Jika terdistribusi secara normal, dilanjutkan dengan *test homogenitas of varians* , setelah homogen dilanjutkan dengan menggunakan *analysis of varian* (ANOVA) satu jalan (one way).

E. Skema pembuatan ekstrak etanol daun jambu biji



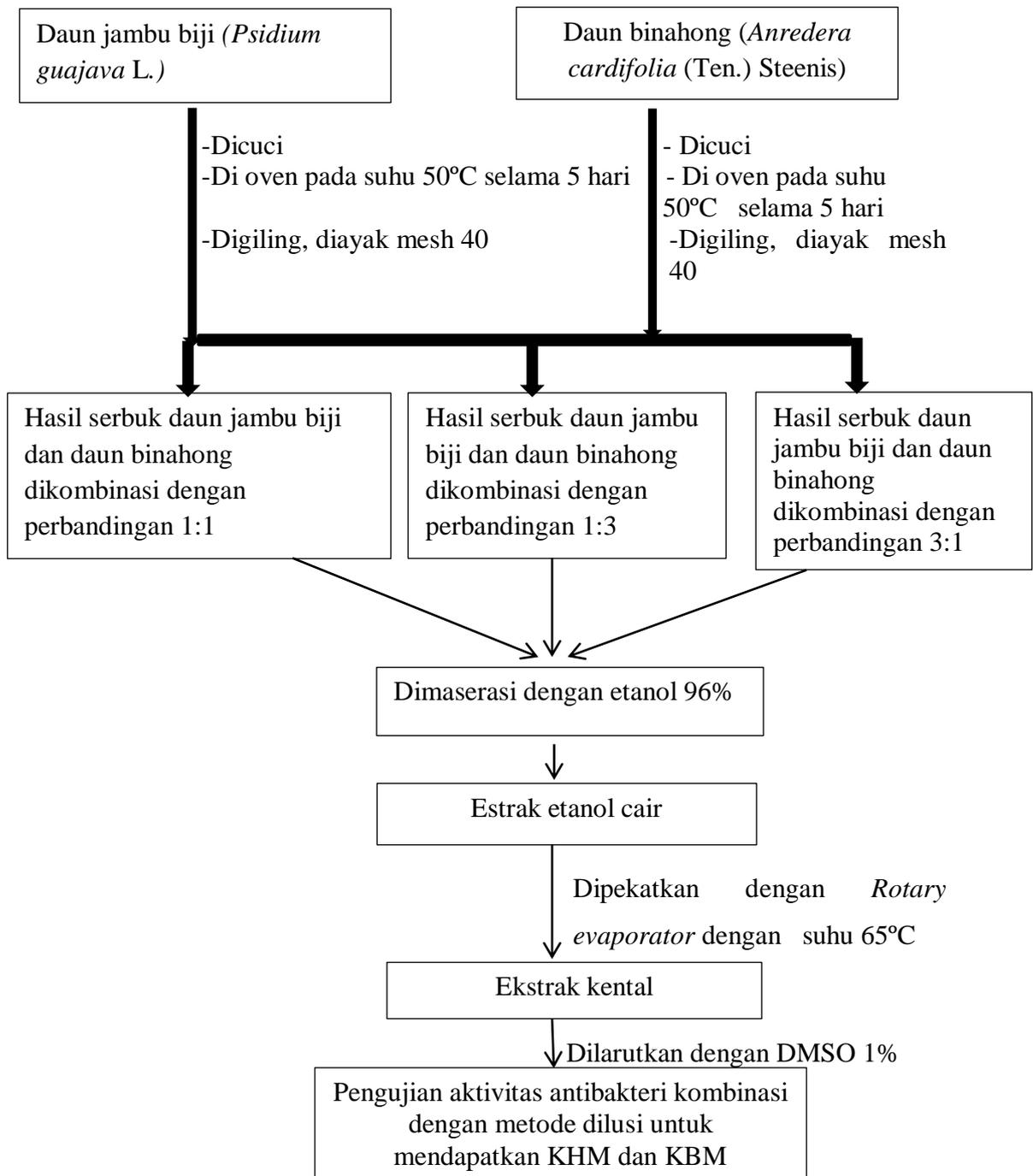
Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

F. Skema pembuatan ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

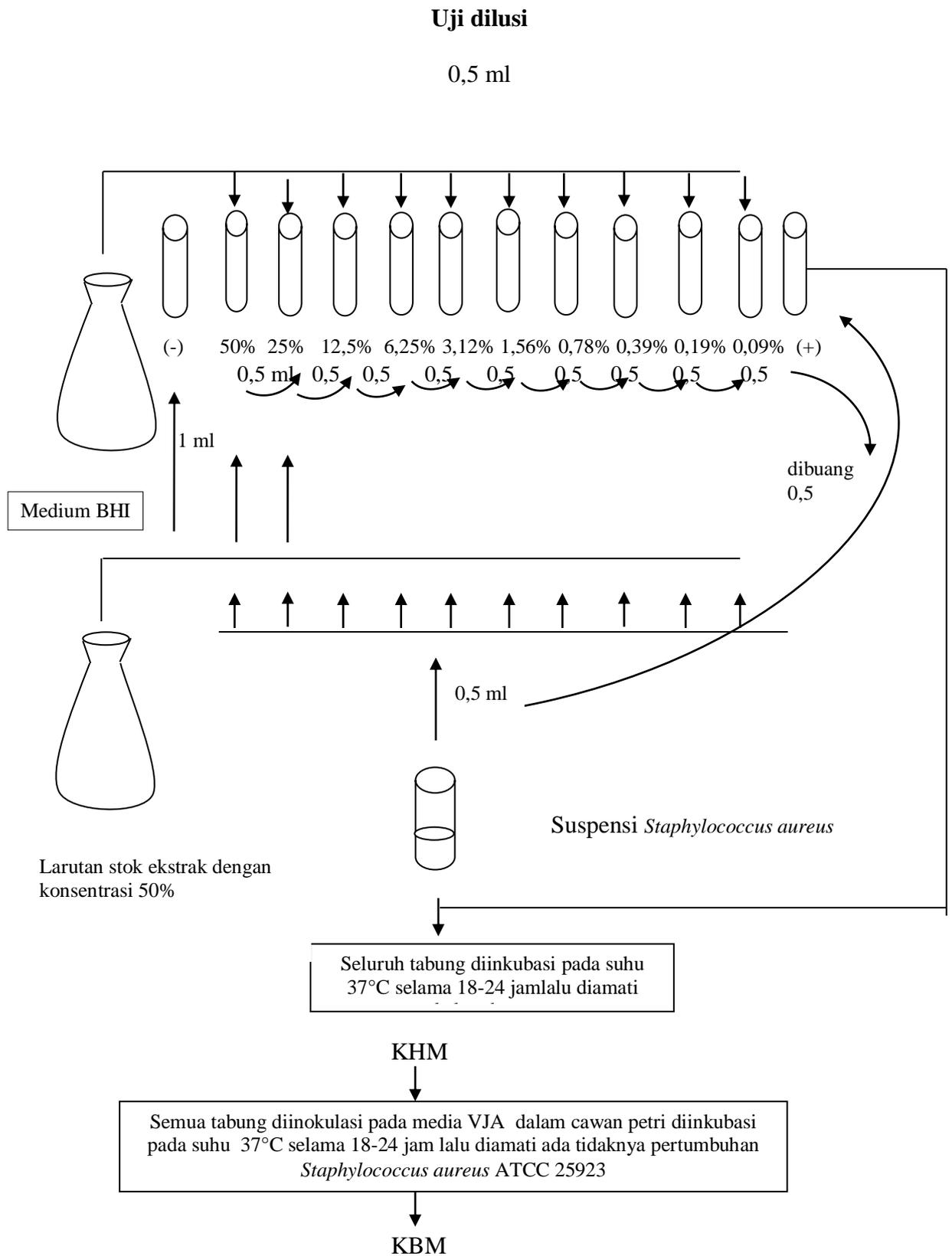


Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

G. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis).



Gambar 5. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)



Gambar 6. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun jambu biji dan daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode dilusi

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Identifikasi Tanaman Jambu biji dan Tanaman Binahong

1.1 Identifikasi Tanaman Jambu biji (*Psidium guajava* L.).

Identifikasi dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Universitas Negeri Sebelas Maret, Surakarta. Identifikasi bertujuan untuk mencocokkan ciri - ciri morfologis yang ada pada simplisia yang diteliti, mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan simplisia lain. Berdasarkan hasil identifikasi diketahui bahwa benar tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 1.

1.2 Identifikasi Tanaman Binahong (*Anredera cardifolia* (Ten.)

Steenis). Identifikasi dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Universitas Negeri Sebelas Maret, Surakarta. Identifikasi bertujuan untuk mencocokkan ciri - ciri morfologis yang ada pada simplisia yang diteliti, mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan simplisia lain. Berdasarkan hasil identifikasi diketahui bahwa benar tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong (*Anredera cardifolia* (Ten.) Steenis) Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun jambu biji dan daun binahong

Penelitian ini menggunakan daun jambu biji dan daun binahong. Daun jambu biji dan daun binahong yang diambil masih muda dan berwarna hijau yang tumbuh di daerah diperoleh desa Ngawi, Jawa Timur pada bulan November 2017. Daun jambu biji dan daun binahong dilakukan pengeringan dengan tujuan untuk mengurangi kadar air, sehingga mencegah terjadinya pembusukan oleh jamur atau mikroorganisme lainnya dan mencegah terjadinya perubahan kimia yang dapat

menurunkan mutu. Daun jambu biji dan daun binahong dicuci bersih terlebih dahulu dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran dan debu, yang sudah bersih dipotong– potong kemudian ditimbang, setelah itu dikeringkan dengan cara di oven selama kurang lebih 5 hari pada suhu 50° C. Daun jambu biji dan daun binahong yang sudah kering ditimbang dan diserbuk dengan alat penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 sehingga diperoleh serbuk daun jambu biji dan daun binahong yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen.

Tabel 1. Perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu biji dan daun binahong

| Nama simplisia | Bobot basah (gram) | Bobot kering (gram) | Rendemen (% b/v) |
|----------------|--------------------|---------------------|------------------|
| A | 5000,00 | 3000,00 | 60% |
| B | 7000,00 | 2550,00 | 36,42% |

Keterangan:

Simplisia A : Daun jambu biji

Simplisia B : Daun binahong

Tabel 1 menunjukkan bahwa daun jambu biji basah sebanyak 5000,00 gram diperoleh bobot kering serbuk daun jambu biji 3000,00 gram dan rendeman yang diperoleh sebesar 60%. Daun binahong yang masih basah sebanyak 7000,00 gram diperoleh bobot kering serbuk daun binahong 2550,00 gram dan rendeman yang diperoleh 36,42%.

3. Hasil penetapan kadar lembab serbuk

Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun jambu biji dan daun binahong dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan kadar lembab daun jambu biji dan daun binahong

| Replikasi | Bobot awal (gram) | | Bobot akhir (gram) | | Kadar lembab %b/b | |
|-----------|-------------------|------------|--------------------|------|-------------------|-------|
| | A | B | A | B | A | B |
| 1 | 2,000 | 2,000 | 1,81 | 1,83 | 9,00 | 8,30 |
| 2 | 2,000 | 2,000 | 1,81 | 1,83 | 9,40 | 8,20 |
| 3 | 2,000 | 2,000 | 1,81 | 1,83 | 9,40 | 8,30 |
| | | Rata- rata | | | 9,27% | 8,26% |

Keterangan :

A : Serbuk daun jambu biji

B : Serbuk daun binahong

Serbuk daun jambu biji ditimbang sebanyak 2,000 g, kemudian kadar lembab diukur dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Penetapan kadar lembab daun jambu biji dilakukan di laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi. Suhu yang digunakan adalah 95°C dan waktu pengeringan secara

manual yaitu 15 menit. Kadar air akan memenuhi syarat apabila kadar air suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% b/b.

Berdasarkan tabel 2, rata-rata hasil perhitungan kadar lembab serbuk daun jambu biji yang dilakukan dengan 3 kali replikasi yaitu sebesar 9,27% b/b dan serbuk binahong yang dilakukan dengan 3 kali replikasi yaitu sebesar 8,26% b/b. Serbuk daun jambu biji dan daun binahong memenuhi syarat karena persentase kadar lembab daun jambu biji dan daun binahong kurang dari 10% b/b.

Kadar lembab yang lebih dari 10% b/b yang terdapat dalam serbuk dapat mengaktifkan enzim-enzim dalam simplisia yang dapat berakibat rusak atau berubahnya komposisi kimia sehingga menurunkan kualitas pada simplisia tersebut.

4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong

Pembuatan ekstrak etanol dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi. Ekstraksi maserasi dalam penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% untuk menghasilkan ekstrak yang kental. Serbuk daun jambu biji sebanyak 500 gram dimasukkan ke dalam botol maserasi dengan 3750 ml pelarut etanol 96% dengan perbandingan 10:75, yaitu 10 bagian simplisia dimasukkan dalam 75 bagian cairan penyari, dicampurkan dan didiamkan selama 5 hari dan sesekali digojok. Setelah 5 hari ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dengan kain flannel, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* (Sediaan galenik 1986).

Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun jambu biji dan daun binahong

| Nama ekstrak | Bobot serbuk (gram) | Bobot ekstrak (gram) | Rendemen (%b/b) |
|--------------|---------------------|----------------------|-----------------|
| Ekstrak A | 500,0 | 26,07 | 5,21% |
| Ekstrak B | 500,0 | 25,77 | 5,15% |
| Ekstrak C | 500,0 | 29,54 | 5,91% |
| Ekstrak D | 500,0 | 33,44 | 6,69% |
| Ekstrak E | 500,0 | 31,36 | 6,27% |

Keterangan :

Ekstrak A : Ekstrak etanol daun jambu biji

Ekstrak B : Ekstrak etanol daun binahong

Ekstrak C : Kombinasi 1: 1 ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong

Ekstrak D : Kombinasi 1: 3 ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong

Ekstrak E : Kombinasi 3 : 1 ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong

Hasil penetapan ekstrak etanol daun jambu biji dengan metode maserasi memiliki rendemen 5,21% b/b. ekstrak etanol daun binahong dengan metode maserasi memiliki rendemen 5,15% b/b. kombinasi 1: 1 ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong dengan metode maserasi memiliki rendemen 5,91% b/b kombinasi 1: 3 ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong dengan metode maserasi memiliki rendemen 6,69% b/b, kombinasi 3 : 1 ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong dengan metode maserasi memiliki rendemen 6,27% b/b. Organoleptis ekstrak daun jambu biji, daun binahong, kombinasi 1: 1 ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong, kombinasi 1: 3 ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong, dan kombinasi 3 : 1 ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong berwarna hitam, teksturnya kental dan bau khas aromatik.

Hasil rendemen pada pembuatan ekstrak menunjukkan hasil rendemen yang kecil. Untuk menghasilkan ekstrak yang optimal, maka dalam proses ekstraksi perlu diperhatikan derajat kehalusan simplisia. Derajat kehalusan simplisia penting untuk mengupayakan agar penarikan dapat berlangsung semaksimal mungkin, kehalusan menyangkut luas permukaan yang akan berkontak dengan pelarut untuk ekstraksi (Agoes 2007). Ekstraksi sangat dipengaruhi oleh derajat kehalusan serbuk. dan perbedaan konsentrasi baik melalui pusat butir serbuk simplisia sampai permukaannya maupun lapisan batasnya (Departemen Kesehatan RI 1986). Serbuk pada penelitian ini menggunakan ayakan mesh 40 dan menghasilkan rendemen kecil, hal ini dikarenakan semakin kasar serbuk simplisia, luas permukaan semakin besar sehingga sulit ditembus oleh pelarut. Prosedur ekstraksi yang berbasis kesetimbangan konsentrasi yaitu maserasi, akan berhenti apabila distribusi zat aktif yang diekstraksi telah mencapai kesetimbangan tetap (konstan) (Sapri *et al.* 2014). Hasil ekstraksi dapat dilihat pada lampiran 4.

5. Hasil pengujian bebas alkohol etanol 96% ekstrak

Hasil esterifikasi etanol dalam ekstrak etanol daun jambu biji, daun binahong, kombinasi 1: 1 ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong, kombinasi 1: 3 ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong, dan kombinasi 3 : 1 ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong dilihat pada table 4.

Tabel 4. Hasil identifikasi bebas alkohol

| Nama simplisia | Hasil esterifikasi alkohol | Hasil |
|----------------|------------------------------------|-------|
| Ekstrak A | Tidak tercium bau etil asetat khas | - |
| Ekstrak B | Tidak tercium bau etil asetat khas | - |
| Ekstrak C | Tidak tercium bau etil asetat khas | - |
| Ekstrak D | Tidak tercium bau etil asetat khas | - |
| Ekstrak E | Tidak tercium bau etil asetat khas | - |

Keterangan :

Ekstrak A : ekstrak daun jambu biji

Ekstrak B : ekstrak daun binahong

Ekstrak C : Kombinasi 1: 1 ekstrak daun jambu biji dan daun binahong

Ekstrak D : Kombinasi 1: 3 ekstrak daun jambu biji dan daun binahong

Ekstrak E : Kombinasi 3: 1 ekstrak daun jambu biji dan daun binahong

- : Tidak tercium bau ester

Ekstrak daun jambu biji, daun binahong, kombinasi 1: 1 ekstrak daun jambu biji dan daun binahong, kombinasi 1: 3 ekstrak daun jambu biji dan daun binahong, kombinasi 3 : 1 ekstrak daun jambu biji dan daun binahong sudah bebas dari pelarut etanol yang dibuktikan dengan tidak adanya bau etil asetat yang khas. Uji ini bertujuan agar etanol yang digunakan sebagai pelarut tidak mengganggu aktivitas antibakteri dari ekstrak daun jambu biji, daun binahong, kombinasi 1: 1 ekstrak daun jambu biji dan daun binahong, kombinasi 1: 3 ekstrak daun jambu biji dan daun binahong, kombinasi 3 : 1 ekstrak daun jambu biji dan daun binahong.

6. Identifikasi kandungan senyawa ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong

Identifikasi kandungan senyawa ekstrak daun jambu biji dan daun binahong bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam daun jambu biji dan daun binahong. Identifikasi senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid dilakukan di laboratorium MIPA Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jambu biji dan daun binahong dapat dilihat pada table 5. Gambar hasil identifikasi dilihat pada lampiran 6.

Tabel 5. Identifikasi senyawa menggunakan KLT

| Kandungan senyawa | Hasil ekstrak | | Pustaka | Hasil | |
|-------------------|---|---|---|-------|---|
| | A | B | | | |
| Flavonoid | diamati disinari uv 366 tampak warna kuning | Diamati disinari uv 366 tampak warna kuning | Fase diam: silika G254 Fase gerak: etil asetat:asam format:asam asetat glassial: air (100:11:11:27) Deteksi: sitroborat | + | + |
| Saponin | disinari tampak berwarna coklat | disinari tampak berwarna coklat | Fase diam: silika G254 Fase gerak: kloroform:metanol:air (64:50:10) Deteksi: Liberman Bourchat | + | + |
| Alkaloid | disinari tampak warna orange | disinari tampak warna orange | Fase diam: silika G254 Fase gerak: Toluene: Etil asetat: dietil amin (7:2:1) Deteksi: dragendrof | + | + |
| Tanin | disinari tampak warna hijau tua kehitaman. | disinari tampak warna hijau tua kehitaman. | Fase diam: silika G254 Fase gerak: etil asetat: asam format:toluene:air (6:1,5:3:0,5) Deteksi: FeCl ₃ | + | + |

Keterangan:

A : ekstrak etanol daun binahong

B : ekstrak etanol daun jambu biji

7. Hasil pembuatan suspensi bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam biakan murni diambil masing- masing satu ose kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 2 ml media BHI (*Brain Heart Infusion*), kemudian diinkubasi pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 16- 20 jam. Suspensi yang didapat ditambahkan NaCl 0,9% kemudian distandardkan dengan Mc. Farland 0,5 setara dengan jumlah koloni 1×10^8 CFU/ml. Suspensi diencerkan sebanyak 1:1000 untuk pengujian dilusi (CLSI 2012). Hasil pembuatan suspensi dapat dilihat pada lampiran 8.

8. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

8.1 Hasil identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada medium Vogel Jhonson Agar. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasi pada media VJA yang sebelumnya telah ditambahkan kalium tellurit 1% kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Hasil positif bila terlihat koloni berwarna hitam dan warna medium sekitar koloni kuning. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara inokulasi pada medium *Vogel Jhonson Agar* dapat dilihat pada lampiran 8.

8.2 Hasil identifikasi mikroskopis bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tersebut termasuk golongan Gram positif. Bakteri uji Bakteri Gram positif akan terlihat dengan warna ungu sedangkan bakteri Gram negatif akan terlihat berwarna merah muda. Kristal Violet (Gram A) ditetaskan sehingga menyebabkan kristal ungu akan mewarnai seluruh permukaan sel bakteri Gram positif dan Gram negatif. Mordant (lugol iodine/Gram B) ditetaskan sehingga menyebabkan terbentuknya ikatan dengan iodine yang akan meningkatkan afinitas peningkatan zat warna oleh sel bakteri, seluruh bakteri akan berwarna biru. Gram C (alkohol 96%) ditetaskan sehingga menyebabkan terbentuknya pori-pori pada Gram negatif yang memiliki banyak lapisan lemak (lipid larut dalam etanol), sehingga kompleks kristal violet-iodine tidak menempel pada dinding sel bakteri, hal ini menyebabkan sel Gram positif akan kehilangan warna birunya. Pewarna safranin (Gram D) ditetaskan sehingga sel Gram positif yang awalnya kehilangan warna akan memiliki warna yang kontras yaitu merah. Gambar hasil identifikasi mikroskopis dapat di lihat pada lampiran 8.

8.3 Hasil identifikasi biokimia *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dua uji yaitu uji koagulase dan katalase. Uji koagulase dapat dilakukan dengan cara menginokulasikan koloni *Staphylococcus aureus* kedalam BHI 2 ml lalu dinkubasi selama 18- 24 jam pada suhu 37°C. Inoculum tersebut dipindahkan sejumlah 0,2- 0,3 ml ke dalam tabung reaksi yang sudah disterilkan kemudian ditambahkan 0,5 ml plasma lalu diaduk dan diinkubasi sampai 24 jam. Hal ini dimaksudkan untuk melihat atau mengecek koagulan yang terbentuk. Koagulan yang terbentuk secara padat atau solid serta tidak jatuh apabila tabung dibalik dinyatakan positif bahwa bakteri tersebut memang *Staphylococcus aureus*. Sedangkan uji katalase digunakan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan streptococcus dilakukan tes katalase dengan cara meneteskan H₂O₂ sebanyak 3% pada koloni yang diambil sebanyak satu ose dan dipindahkan ke atas kaca objek. Hasil positif apabila terdapat busa,

menandakan *Staphylococcus aureus*. Hasil identifikasi biokimia *Staphylococcus aureus* pada lampiran 9.

9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong dan kombinasinya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi

9.1 Hasil ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cardifolia* (Ten.) Steenis). Pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode dilusi yaitu dengan menggunakan seri konsentrasi pengenceran bertingkat. Seri konsentrasi yang dibuat untuk pengujian ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong adalah 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09% dengan kontrol positif berupa suspensi bakteri dan kontrol negatif berupa ekstrak. Pengujian aktivitas secara dilusi bertujuan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum ekstrak terhadap baktei uji.

Konsentrasi Hambat Minimum dilihat dari kejernihan tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ada yang tidak bisa dilihat kejernihannya karena tertutupi oleh kekeruhan dari bahan ekstrak yang digunakan. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menunjukkan adanya daya antibakteri ekstrak yang dapat dilihat dari pengujian ekstrak terhadap bakteri uji pada tabung yang kemudian diinokulasi pada media *Vogel Jhonson Agar* (VJA) untuk mengetahui ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media VJA. Hasil uji aktivitas antibakteri dilusi ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun binahong dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji dilusi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

| No. | Konsentrasi (% b/v) | Ekstrak etanol daun jambu biji | | | Ekstrak etanol daun binahong | | |
|-----|------------------------|-----------------------------------|----|-----|---------------------------------|----|-----|
| | | Replikasi | | | Replikasi | | |
| | | I | II | III | I | II | III |
| 1 | Kontrol (-) | - | - | - | - | - | - |
| 2 | 50 | - | - | - | - | - | - |
| 3 | 25 | - | - | - | - | - | - |
| 4 | 12,5 | - | - | - | - | - | - |
| 5 | 6,25 | - | - | - | + | + | + |
| 6 | 3,12 | + | + | + | + | + | + |
| 7 | 1,56 | + | + | + | + | + | + |
| 8 | 0,78 | + | + | + | + | + | + |
| 9 | 0,39 | + | + | + | + | + | + |
| 10 | 0,19 | + | + | + | + | + | + |
| 11 | 0,09 | + | + | + | + | + | + |
| 12 | Kontrol (+) | + | + | + | + | + | + |

Keterangan:

+ : Ada pertumbuhan

- : Tidak ada pertumbuhan

Berdasarkan tabel 6 dapat dilihat bahwa uji aktifitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan 3 kali pengulangan. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; dan 0,09%. Pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi ini bertujuan untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak tunggal. KBM ekstrak etanol daun jambu biji yaitu 6,25% dan KBM ekstrak etanol daun binahong yaitu 12,5%. Gambar hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi dapat dilihat pada lampiran 9. Gambar hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi dapat dilihat pada lampiran 10.

9.2 Hasil kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cardifolia* (Ten.) Steenis).

Pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode dilusi yaitu dengan menggunakan seri konsentrasi pengenceran bertingkat. Seri konsentrasi yang dibuat untuk pengujian kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong adalah 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09% dengan kontrol positif berupa suspensi bakteri dan kontrol negatif berupa ekstrak.

Pengujian aktivitas secara dilusi bertujuan untuk mengetahui KHM dan KBM ekstrak terhadap bakteri uji. Konsentrasi Hambat Minimum dilihat dari kejernihan tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tidak bisa diamati karena tertutupi oleh kekeruhan dari bahan ekstrak yang digunakan, sehingga untuk mengetahui KHM nya hasil inkubasi tersebut digoreskan pada media VJA. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menunjukkan adanya daya antibakteri ekstrak yang dapat dilihat dari pengujian ekstrak terhadap bakteri uji pada tabung yang kemudian diinokulasi pada media *Vogel Jhonson Agar* (VJA) untuk mengetahui ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media VJA. Hasil uji aktivitas antibakteri dilusi kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan ekstrak etanol daun binahong dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji dilusi antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

| No. | Konsentrasi (% b/v) | Kombinasi 1:1 | | | Kombinasi 1:3 | | | Kombinasi 3:1 | | |
|-----|------------------------|---------------|----|-----|---------------|----|-----|---------------|----|-----|
| | | Replikasi | | | Replikasi | | | Replikasi | | |
| | | I | II | III | I | II | III | I | II | III |
| 1 | Kontrol (-) | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 2 | 50 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 3 | 25 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 4 | 12,5 | - | - | - | + | + | + | - | - | - |
| 5 | 6,25 | + | + | + | + | + | + | - | - | - |
| 6 | 3,12 | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 7 | 1,56 | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 8 | 0,78 | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 9 | 0,39 | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 10 | 0,19 | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 11 | 0,09 | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 12 | Kontrol (+) | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

Keterangan:

+ : Ada pertumbuhan

- : Tidak ada pertumbuhan

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa uji aktifitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan 3 kali pengulangan. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%;

0,39%; 0,19%; dan 0,09%. Pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi ini bertujuan untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kombinasi ekstrak 1:1; 1:3 dan 3:1. KBM dari kombinasi 1:1 yaitu 12,5%, kombinasi 1:3 yaitu 25%, dan kombinasi 3:1 yaitu 6,25%. Gambar hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi 1:1, 1:3 dan 3:1 dapat dilihat pada lampiran 11.

Nilai KHM berbanding terbalik dengan nilai sensitivitas bakteri, semakin rendah nilai KHM maka nilai sensitivitas bakteri semakin tinggi. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dalam penelitian ini dapat diketahui dengan melihat ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, setelah bakteri uji digoreskan pada media *Vogel Jhoson agar* (VJA). Pembuktian secara goresan pada media selektif *Vogel Jhoson agar* (VJA) hasil positif yang tampak pada media terlihat adanya pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang bercirikan koloni berwarna hitam dengan bagian tepi koloni berwarna kuning.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong memiliki aktifitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ekstrak etanol daun jambu biji memiliki Konsentrasi Bunuh Minimum 6,25% sedangkan binahong 12,5%. Kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong dengan perbandingan 1:1 sebesar 12,5%, perbandingan 1:3 sebesar 25%, dan perbandingan 3:1 sebesar 6,25%.

Ekstrak jambu biji dan daun binahong memiliki aktifitas terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 namun jika dikombinasikan aktifitasnya turun. Kombinasi 3:1 terdiri dari 3 bagian ekstrak etanol daun jambu biji dan 1 bagian ekstrak etanol daun binahong didapatkan nilai KBM 6,25%. Hal ini disebabkan oleh senyawa polar yang terkandung dari kedua tanaman yaitu flavonoid. Senyawa polar lebih mudah menembus dinding sel Gram Negatif dibandingkan Gram positif. Hal ini karena perbedaan komponen dinding sel dari Gram Positif dibandingkan Gram Negatif. Dinding sel bakteri Gram Positif banyak mengandung peptidoglikan sedangkan bakteri Gram Negatif banyak mengandung lipopolisakarida (Pratiwi 2008). Mekanisme kerja flavonoid dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat

diperbaiki lagi (Prayudhani *et al.* 2012). Saponin mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida (Darsana *et al.* 2012). Alkaloid sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel pada bakteri tersebut (Alamsyah & Kurniawan 2014).

Hasil analisis *One- Sampel Kolmogorof- Smirnov Tes* data konsentrasi ekstrak daun jambu biji dan daun binahong serta kombinasinya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dinyatakan terdistribusi normal apabila nilai signifikannya $> 0,05$. Penelitian ini didapatkan nilai signifikansinya sebesar 0,203, nilai ini lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan data terdistribusi normal.

Sebelum dilakukan uji lanjutan, perlu dilakukan uji kesamaan varian (*Test of Homogeneity variances*). Uji kesamaan varian dilakukan uji *Levene test* untuk mengetahui data sudah homogen atau tidak. Penelitian ini didapatkan nilai signifikasinya $0,000 < 0,05$ artinya tidak homogen. Sehingga tidak bisa dilanjutkan ke ANOVA. Data yang diperoleh kemudian dilanjutkan dengan analisis *Nonparametric Test* dengan *Kruskal Wallis Test* menunjukkan nilai signifikansinya $0,010 < 0,05$ artinya terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi dan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol daun Jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun Binahong (*Anredera cardifolia* (Ten.) Steenis) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 namun jika dikombinasikan aktifitasnya menjadi turun.

Kedua, Konsentrasi Bunuh Minimum menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun binahong 1:1 yaitu 12,5%, kombinasi 1:3 yaitu 25% dan kombinasi 3:1 yaitu 6,25 %.

Ketiga, daun jambu biji (*Psidium guava* L.) mempunyai aktivitas antibakteri paling efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dibandingkan binahong dan kombinasinya, sehingga dari penelitian yang sudah dilakukan lebih baik digunakan tunggal dibandingkan digunakan secara kombinasi.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan melakukan isolasi senyawa aktif yang terdapat pada kombinasi daun jambu biji dan daun binahong yang menyebabkan aktifitasnya menjadi turun.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung : ITB. Hal : 21, 26-27.
- [Anonim]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Akiyama H. 2001. *Antibacterial Action of Several Tennis Against Staphylococcus aureus*. *J of Antimicrobial Chemo*. 48:487-91.
- Alamsyah Kurniawan H. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut (J.G.agardh) dari Perairan Pulau Pajang Jepara Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus epidermis*. *Jurnal Of Marine Research* 3:60-78).
- Ansel H. C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi edisi IV*, Jakarta: Universitas Indonesia.
- Arief Hariana 2006. *Tumbuhan Obat khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Bakung CT. 2014. Studi Penggunaan Antibiotik Pada Pasien ISPA Rawat Jalan Di Rumah Sakit Professor dr Aloe Saboe Kota Gorontalo [Thesis]. Universitas Negeri Gorontalo.
- Brooks G. F, J. S. Butel, dan S. A. Morse. 2005. *Medical Microbiology*. Mc Graw Hill, New York.
- Cahyono B. 2010. Sukses Budi Daya Jambu Biji di Pekarangan dan Perkebunan. Yogyakarta.
- Campbell N.A, Reece J.B, dan Nitchel L.G. 2004. *Biologi: Edisi Kelima Jilid 3*. Jakarta: Erlangga.
- CLSI. (2012). *Method For Dilution Antimicrobial Susceptibility Test For Racteria That Grow Aerobically; Approved Standards-Nineth Edition*. Wayne, PA *Clinical And Laboratory Standards Institute*. p.12
- Dalimartha S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat di Indonesia*, Trubus Agriwidya, Jakarta: hlm. 73.
- Dalimartha S. 2005. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Trubus Agriwidya : Jakarta. Halaman 125-135.
- Darmadi 2008. *Infeksi Nosokomial Problematika dan Pengendaliannya*, 5, Jakarta: Salemba medika.
- Darsana I.G.O Besung I.N.K, Mahatmi H. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia (Tonore) Steenis*) dalam Menghambat

Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Secara In Vitro. *Indonesia Medicus Veterinus* 1:337-351.

Denyer Stephen P, Norman A. Hodges, and Sean P. Gorman. 2004. *Pharmaceutical Microbiology*. 7th. Victoria. Australia: Blackwell. Science. Halaman 346-363.

[Departemen Kesehatan RI] 1985. *Cara pembuatan simplisia* , Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Halaman 1.

[Departemen Kesehatan RI] 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta : Depkes RI. Hal : 2, 4-7, 10-15.

[Depkes RI]. 1989. *Materia Medika*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

DepKes RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Dapertemen Kesehatan Republik Indonesia.

Dessy Triana / Jurnal Gradien Vol. 10 No. 2 Juli 2014 : 992-995 Frekuensi β -Lactamase Hasil Staphylococcus aureus Secara Iodometri Di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

Dewi, I.D.A.D.Y., Astuti, K.W.1, Warditiani, N.K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana. Bali.

Ekaviantiwi, Tyas Ayu, Enny Fachriyah, Dewi Kusriani. 2013. “Identifikasi Asam Fenolat Dari Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Dan Uji Aktivitas Antioksidan”. *Jurnal Chemical Info* 1(1): 284.

Ekoputro J.W. 2011. *Efek Antibakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium guajava Lamk.) terhadap Staphylococcus aureus secara in vitro*. [Skripsi] Univeritas Brawijaya, Malang.

Gunawan D. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 1-7, 9- 13, 86-94, 104-122.

Harborne J. B. 1987, *Metode Fitokimia : Cara Menganalisa Tanaman*, Terjemahan K. Padmawinata Z I Sudiro, ITB, Bandung. Hamburger N., dan Hostattman.

Hadioetomo RS. 1985. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik Dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: Gramedia. Halaman 42-44.

- Hendra, H. 2015. Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.). Naskah Tesis S-2. Pasca Sarjana Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Herbie T. 2015. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat 226 Tumbuhan Untuk Penyembuhan penyakit dan Kebugaran Tubuh*. Yogyakarta : Octopus Publishing Hous.
- Jawetz E. 1995. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*, edisi 16, 303-306 EGC, Jakarta.
- Jawetz, Melnick, Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. (H. Hartanto, C. Rachman, A. Dimanti, A. Diani). Jakarta: EGC. P. 199-200: 233.
- Jawetz, Melnick, J.L, Adelberg. E.A. 2010. *Medical Microbiology*. Ed ke 25. New york: McGraw Hill Medical. Hlm 238, 351-354, 357.
- Jawetz, Melnick, J.L, and Adelberg E.A. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Editor edisi bahasa Adisti adityaputri et al. Jakarta : EGC.
- Jayanegara A, Sofyan A. 2008. Penentuan Aktivitas biologi Tanin beberapa Hijauan secara in vitro menggunakan 'Hohenheim Gas test' dengan Polietilonglikol secara Determinan, jurnal Media Peternakan 31: 44-52.
- Jeanly V, Aponno, Paulina V. Y. Yamlean, Hamidah S. Supriati. 2014. Uji Aktivitas Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Terhadap Penyembuhan Luka Yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Kelinci (*Orytolagus cuniculus*). Jurnal Ilmiah Farmasi Unsrat Vol.3 No. 3.
- Kaplan N.E, V.R Hentz. 1992. *Emergency Management of Skin and Soft Tissue Wounds, An Illustrated Guide, Little Brown*. Boston, USA.
- Katzung B.G. 2007, Vasodilator & Terapi Angina Pektoris, dalam Katzung, B.G. *Farmakologi Dasar & Klinik (Basic & Clinical Pharmacology)*, edisi 10, Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta: EGC.
- Khunaifi M. 2010. *Uji Aktivitas antibakteri Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steen) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Dan Pseudomonas Aeruginosa*. Terdapat pada <http://lib.uinmalang.ac.id/fullchapter/03520025.pdf>. Diakses pada tanggal 13 Maret 2017.
- Kumalasari Eka. 2011. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (*Anredera cordifolia (Tenore) Steen*) Terhadap *Candida albicans* Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.

- Levinson W. 2004. *Medical Microbiology & Immunology*, Examination & Board review, 8th edition, McGraw-Hill. New York.
- List P. H, P. C. Schmidt. 2000. *Phytopharmaceuticals Technologi*. Alih bahasa Dvid Ellaby. Florida: CRC Prees. Hal. 67. 71. 73. 107-111.
- Markham K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB.
- Manoi F. 2009. Binahong (*Anredera cardifolia*) Sebagai Obat. *Jurnal Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. Vol.15: 3-5.
- Minasari Sri A, Jojor S. 2016. Efektivitas Ekstrak Daun Biji Putih Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dari abses. *Makasar Dent J* 5: 34-39
- Pratiwi, Sylvania T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga. Halm 188.
- Octavia D.R. 2009 *Uji Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Petroleumeter, Etil Asetat, dan Daun Binahong (Anredera Cordi Folia (Tonore) Steen) dengan metode DPPH (2,2-difrnil-1-pikrihidrazl) [Skripsi]*. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah.
- Odianti G.T. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Alfa Mangostin Kulit Buah Manggis [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhamaddiyah.
- Paju N, Yamlean P.V.Y, dan Kojong N. 2013. Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, Vol.2 : 51-61.
- Parimin SP. 2005. *Jambu Biji Budidaya dan Ragam Pemanfaatannya*. Penebar Swadaya. Bogor. pp: 11–15.
- Praepandi. 2006. *Card System Analisa Kimia Farmasi Kualitatif*. Bandung: Seksi Diktat Stenhl. Halaman 9.
- Pramono S., Katno. 2006. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat Tradisional*, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta
- Pratiwi sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga Halaman 93-96.
- Prayudani *et al.* 2012. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Sawo Kecil (*Manilkara kauki L Dubard*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Jurnal SMK Negeri 1 pasuruan dan jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang*.
- Rachmawati S. 2008. *Studi Mikroskopis, Mikroskopis, dan Skrining Fitokimia daun Anredera cardifolia (Ten.) Steen*. Universitas Airlangga.

- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, 50. Jakarta: EGC.
- Redha A. 2010. Flavonoid: Struktur, sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Berlian* 9: Halaman 196-202.
- Rochani N. 2009. Uji Aktivitas antijamur ekstrak binahong (*Anredera cardifolia* (tenore) Steenis) terhadap *Candida albicans* serta skrining fitokimianya. (Skripsi). Surakarta: Fakultas Farmasi, UMS.
- Ryan K.J, J.J. Champoux, S. Falkow, J.J. Plonde, W.L. Drew, F. C. Neidhardt, and C. G. Roy. 1994. *Medical Mikrobiologi An Introduction to Infectious Disease*. 3rd ed. Connecticut: Appleton & Lange. P. 254.
- Sacher, Ronald A dan Richard A. McPherson. 2002. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*, e/11. Jakarta: EGC.
- Sari, Yeni Dianita dkk. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Secara In Vitro terhadap *Staphylococcus aureus* Atcc 25923 dan *Escherichia coli* Atcc 35218 serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. *Jurnal Kesmas* ISSN 1978-0575: 218-238.
- Shabella R. 2012. *Terapi Daun Binahong*. Cable Book. Klaten.
- Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Papyrus Sinar Sinanti.
- Sutarma 2000. Kultur Media Bakteri. *Temu Teknis Fungsional non Peneliti*. 52-57.
- Tiwari P, Bimleshk, Mandeep K, Gurpreetk, Harleen K. 2011. *Skrining Fitokimia dan ekstraksi. International Pharmaceutica Scientia Jan-Maret 2011: Vol 1* Halaman 113-116.
- Tjay T.H, dan Rahardja K. 2002. *Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*, Edisi Kelima, Cetakan kedua, 56. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Tjay T.H, dan Rahardja K. 2007. *Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Jakarta: PT Alex Media Komputindo.
- Tussanti I, Johan A, Kidjamiatun. 2014. Sitotoksitas in vitro ekstrak etanolik buah pari-jito (*Medinilla speciosa*, reinw.ex bl.) terhadap sel kanker payudara T47D. *Jurnal Gizi Indonesia* ISSN : 1858-4942 Vol 2, No. 2: 54.
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Noerono S. Edisi V, UGM Press. Yogyakarta. Halaman 187-192.

- Wagner, H., dan Bladt, S., 2009, *Plant Drug Analysis: and ATThin Layer Chromatography Atlas*, 2 edition, Springer Dordrecht Heidelberg, New York, 330.
- Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi umum*. Edisi 1. Malang : Diterjemahkan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Warsa U. C. 1994. *Kokus Positif Gram dalam buku Ajar Mikrobiologi kedokteran Edisi Revisi*. Binarupa Aksara, Jakarta.
- Wattimena J.R. 1987. *Farmakodinamik dan Terapi Antibiotika*. Penerbit Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal. 60-61.
- Zuhelmi A, dan Ratna D. 2013. "Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Fraksi n- Butanol dan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji. Jakarta. Fakultas Farmasi. Universitas Pancasila.
- Zuhud E, Rahayu WP, Wijaya CH, Sari PP. 2001. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kedawung (*Parkia roxburghii* G. Don) terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Teknologi dan industry Pangan* 12: Halaman 6-12.

L

A

m

p

j

R

A

w

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail biologi@mipa.uns.ac.id

Nomor : 201/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Sri Winarni Sofya
NIM : 20144135A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis
Familia : Basellaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-404b-405b-414a-415b-451b-466b-467b-468b-469b-470e-541a 49. Basellaceae
1b 2. Anredera
1 Anredera cordifolia (Ten.) Steenis

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, menahun, merambat, tinggi 1-3 m. Akar : tunggang, bercabang, berdaging lunak, putih kotor atau putih kekuningan atau coklat muda. Batang : bentuk bulat, lunak berair, membelit, kulit batang berwarna merah, permukaan licin dan gundul, panjang bisa mencapai 20-30 m, diameter 3.5 cm. Umbi : muncul di ketiak daun, berbentuk bulat, permukaan kasar, kulit umbi berwarna hijau kecoklatan, daging umbi berwarna putih, panjang 5-7 cm, diameter 1-4 cm. Daun : tunggal, letak berseling, bentuk bulat telur atau jantung, panjang 1-11 cm, lebar 0.75-8 cm, pangkal berlekuk, tepi daun rata, ujung runcing atau tumpul, permukaan licin dan gundul, tulang daun menyirip, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda; tangkai daun bulat, licin dan gundul, panjang tangkai daun 1-3 cm. Bunga : majemuk tipe tandan yang, bercabang atau tidak di ketiak daun, terdiri atas banyak kuntum bunga, bunga kecil-kecil, berbau harum, berkelamin banci (biseksual) atau berkelamin satu (uniseksual), bagian-bagian bunga berbilangan 5; panjang tangkai bunga 1.5-2 mm; brakteola paling bawah bulat telur segitiga, kemerah-merahan; brakteola paling atas putih kehijauan, lebih pendek daripada perhiasan bunga; perhiasan bunga dalam bentuk tepala (tidak bisa dibedakan kelopak bunga dan mahkota bunga), berjumlah 5, bulat telur, diameter 5.5-8 mm, ujungnya tumpul, berlepasan, berwarna krem keputih-putihan; tangkai sari putih, tangkai putik putih.

Surakarta, 9 Oktober 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Ir. Sutami 36A Ketingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 200/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Sri Winarni Sofya
NIM : 20144135A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Psidium guajava* L.
Familia : Myrtaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34b-333b-334b-335a-336b-345b-346b-348b-349a-350b-351a-352a 84. Myrtaceae
1a-2b-3a-4a 2. Psidium
1a-2a Psidium guajava L.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus: perdu atau pohon, menahun, tegak, tinggi 3-10 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor hingga kuning kotor. Batang : bulat, berkayu keras dan padat, bercabang banyak, arah tumbuh cabang condong ke atas, coklat muda atau coklat keabu-abuan, kulit batang mengelupas. Daun : tunggal, berhadapan, bulat panjang atau bulat oval atau jorong, panjang 5-15 cm, lebar 3-6 cm, ujung tumpul atau runcing, pangkal membulat, tepi rata, daging daun seperti perkamen, mengkilat atau kusam, agak berambut ketika muda dan gundul ketika dewasa, hijau tua pada permukaan atas dan hijau muda pada permukaan bawah, pertulangan menyirip; tangkai daun silindris, tidak menebal pada bagian pangkalnya, panjang 3-7 mm. Bunga: majemuk, 1-3 bunga, di ketiak daun; kelopak berbagi 2-5 cuping, panjang cuping kelopak 7-10 mm, tepi kelopak sebelum mekar berlekatan menjadi bentuk cawan, hijau tua; daun mahkota bulat telur terbalik, panjang 1.5-2 cm, putih; benang sari berjumlah banyak, berwarna putih; bakal buah tenggelam, 4-5 ruangan; bakal biji banyak. Buah : buni, bulat atau bulat lonjong atau seperti buah pir, panjang 5-8.5 cm, daging buah putih atau merah, masih muda kulitnya berwarna hijau setelah tua berwarna kuning muda mengkilap. Biji : banyak, berbelah dua, keras, putih.

Surakarta, 9 Oktober 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 2. Gambar tanaman jambu biji dan daun binahong



Foto daun binahong



foto daun jambu biji



foto daun binahong



daun jambu biji

Lampiran 3. Gambar timbangan, mesin penggiling simplisia dan vortex, alat *moistur balance* dan botol maserasi



Timbangan



Penggilingan



vortex



Foto *moisture balance*



botol maserasi

Lampiran 4. Hasil pembuatan ekstrak daun jambu biji, daun binahong dan kombinasi 1:1;1:3;3:1.



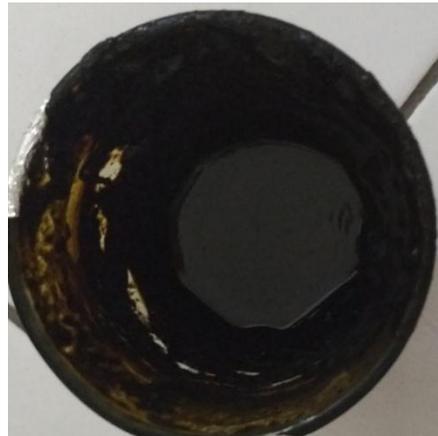
Tunggal jambu biji



tunggal binahong



Kombinasi 1:1



kombinasi 1:3



Kombinasi 3:1

Lampiran 5. Gambar alat oven binder, *rotary evaporator*, incubator, autoklaf



Foto oven binder



Foto *rotary evaporator*

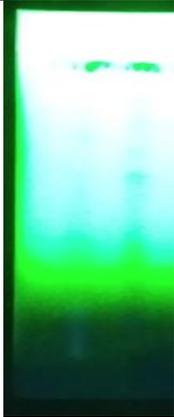
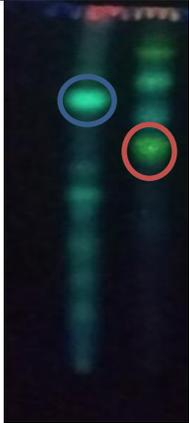
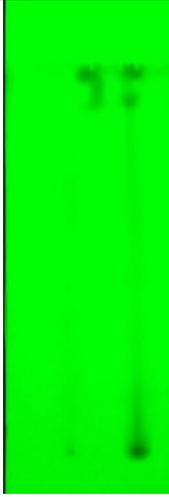


Foto Autoklaf



foto incubator

Lampiran 6. Hasil identifikasi senyawa menggunakan KLT

| Kandungan senyawa | Hasil | | |
|-------------------|--|--|--|
| | Sinar tampak | Sinar uv 254 | Sinar uv 366 |
| Flavonoid |  <p>A B</p> |  <p>A B</p> |  <p>A B</p> |
| Saponin |  <p>A B</p> |  <p>A B</p> |  <p>A B</p> |

| | | | |
|-----------------|---|--|---|
| Tanin |  A B |  A B |  A B |
| Alkaloid |  A B |  A B |  A B |

Keterangan :

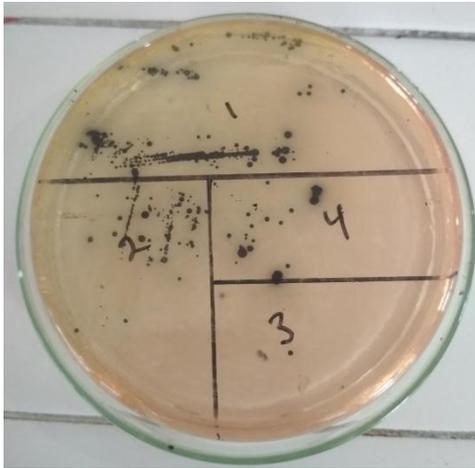
A : Daun binahong

B : Daun jambu biji

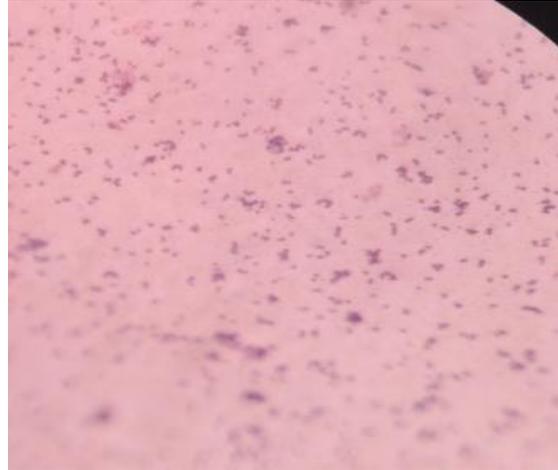
Lampiran 7. Hasil Pembuatan suspensi

Lampiran 8. Hasil identifikasi *Staphylococcus aureus* pada medium Vogel

Jhonsen Agar.



Identifikasi makroskopis



identifikasi mikroskopis

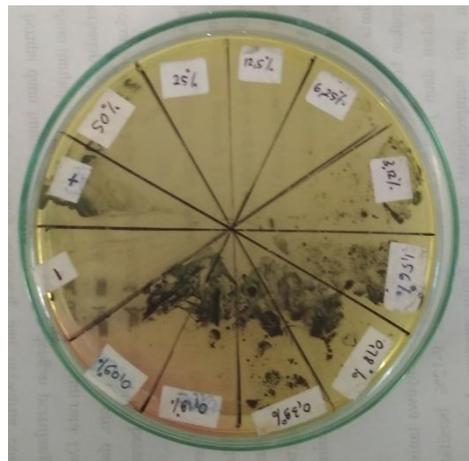
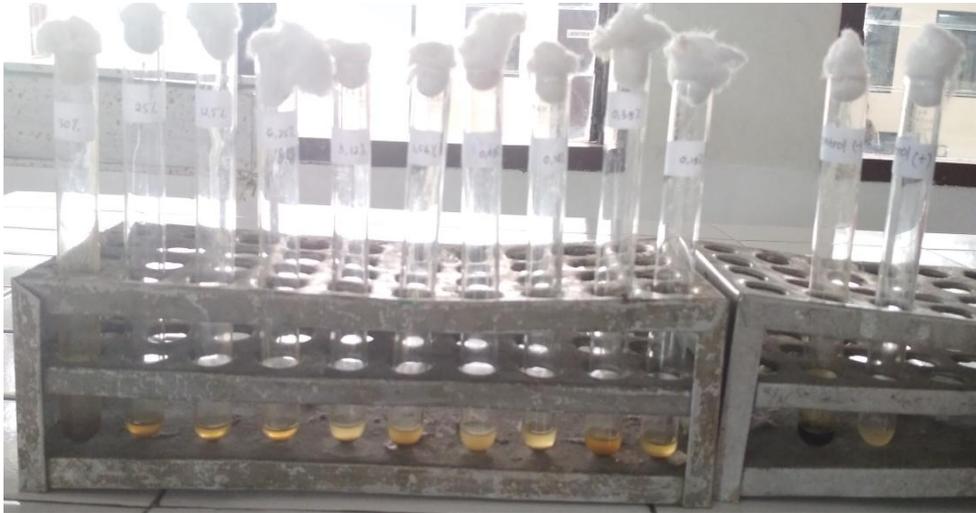


Identifikasi biokimia katalase

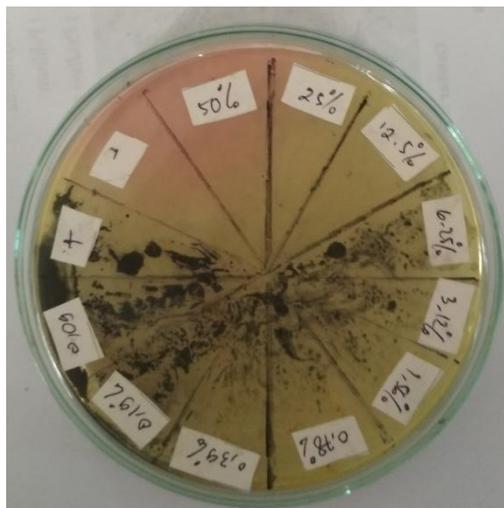


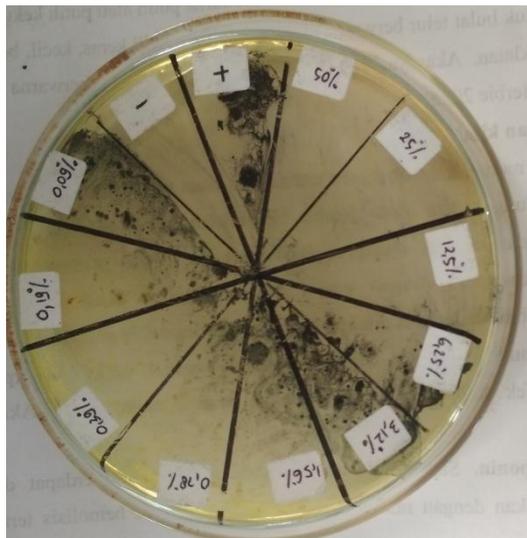
Koagulase

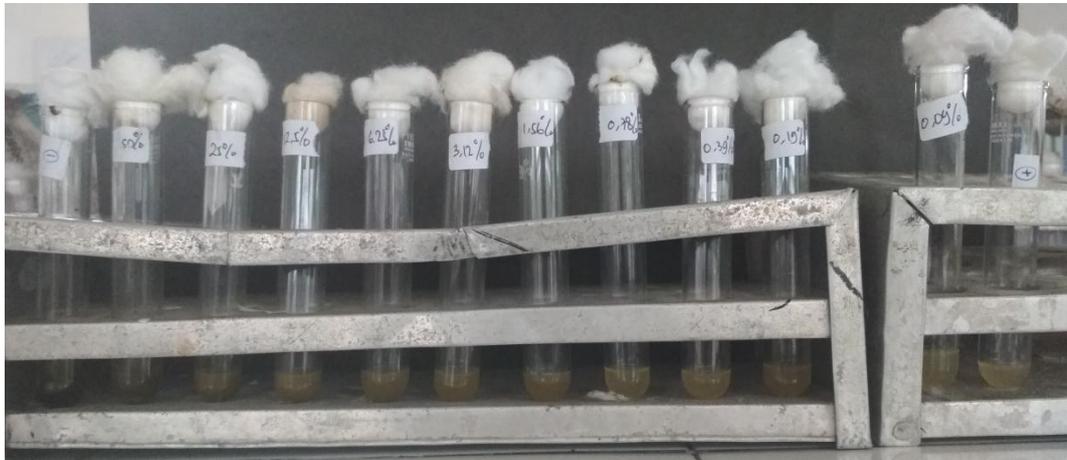
Lampiran 9. Gambar uji antibakteri ekstrak daun jambu biji dan inokulasi pada media VJA

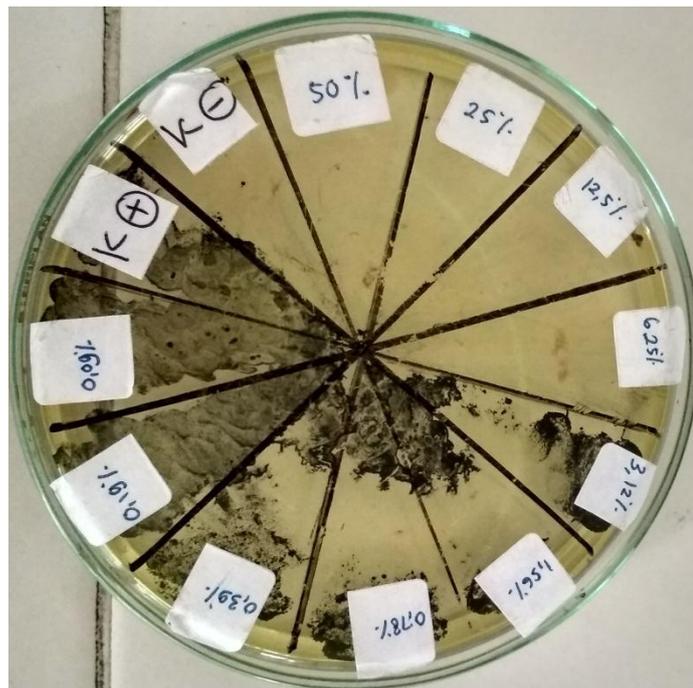


Lampiran 10. Gambar uji antibakteri ekstrak daun binahong



Lampiran 11. Gambar uji antibakteri kombinasi ekstrak 1:1; 1:3; 3:1**a. Kombinasi 1:1**

b. Kombinasi 1:3

c. Kombinasi 3:1

**Lampiran 12. Perhitungan presentase bobot kering terhadap bobot bawah
daun jambu biji daun binahong dan binahong**

1. Sampel daun jambu biji

| No. | Bobot basah (gram) | Bobot kering (gram) | Rendeman b/b | % |
|-----|--------------------|---------------------|-----------------|---|
| 1 | 5000,00 | 3000,00 | 60% | |

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendeman} &= \frac{\text{bobot kering}}{\text{bobot basah}} \times 100 \% \\ &= \frac{3000,00}{5000,00} \times 100 \% \\ &= 60\% \end{aligned}$$

Jadi, prosentasi bobot kering terhadap bobot basah daun jambu biji adalah 60%.

2. Sampel daun binahong

| No. | Bobot basah (gram) | Bobot kering (gram) | Rendeman b/b | % |
|-----|--------------------|---------------------|-----------------|---|
| 1 | 7000,00 | 2550,00 | 36,43% | |

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendeman} &= \frac{\text{bobot kering}}{\text{bobot basah}} \times 100 \% \\ &= \frac{2550,00}{7000,00} \times 100 \% \\ &= 36,43\% \end{aligned}$$

Jadi, prosentasi bobot kering terhadap bobot basah daun jambu biji adalah 36,43%

Lampiran 13. Perhitungan penetapan kadar lembab serbuk daun jambu biji dan daun binahong

a. Hasil penetapan kadar lembab daun jambu biji

| Replikasi | Berat awal (gram) | Bobot akhir (gram) | Kadar lembab % b/b |
|------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1 | 2,000 | 1,81 | 9,00 |
| 2 | 2,000 | 1,81 | 9,40 |
| 3 | 2,000 | 1,81 | 9,40 |
| Rata- rata | | | 9,27% |

Jadi, prosentasi rata- rata kadar lembab daun Jambu biji 9,27%

b. Hasil penetapan kadar lembab daun binahong

| Replikasi | Berat awal (gram) | Berat akhir (gram) | Kadar lembab % b/b |
|------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1 | 2,000 | 1,83 | 8,30 |
| 2 | 2,000 | 1,83 | 8,20 |
| 3 | 2,000 | 1,83 | 8,30 |
| Rata- rata | | | 8,26% |

Jadi, prosentasi rata- rata kadar lembab daun Jambu biji 8,26%

Lampiran 14. Pembuatan larutan stok sediaan uji

- a. Pembuatan larutan stok konsentrasi 50%. Ditimbang 0,5 gram ekstrak daun jambu biji kemudian dilarutkan dalam DMSO 1% yang sebelumnya sudah dicampur dengan 10 ml aquadest. Ditimbang 0,5 gram ekstrak daun binahong kemudian dilarutkan dalam DMSO 1% yang sebelumnya sudah dicampur dengan 10 ml aquadestilata.
- b. Pembuatan larutan stok konsentrasi 50%. Ditimbang 0,5 gram kombinasi ekstrak 1:1 kemudian dilarutkan dalam DMSO 1% yang sebelumnya sudah dicampur dengan 10 ml aquadestilata. Ditimbang 0,5 gram kombinasi ekstrak 1:3 kemudian dilarutkan dalam DMSO 1% yang sebelumnya sudah dicampur dengan 10 ml aquadestilata. Ditimbang 0,5 gram kombinasi ekstrak 3:1 kemudian dilarutkan dalam DMSO 1% yang sebelumnya sudah dicampur dengan 10 ml aquadestilata.

c. Larutan stok 50% = %^{b/v} = 50 gram/100 ml

Konsentrasi 50% = 0,5gram/ ml

Konsentrasi 25% = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$0,5 \cdot 50\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 25\%$$

Konsentrasi 12,5% = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$0,5 \cdot 25\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 12,5\%$$

Konsentrasi 6,25% = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$0,5 \cdot 12,5\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 6,25\%$$

Konsentrasi 3,12% = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$0,5 \cdot 6,25\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 3,12\%$$

Konsentrasi 1,56% = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$0,5 \cdot 3,12\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 1,56\%$$

$$\text{Konsentrasi } 0,78\% = V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$0,5 \cdot 1,56\% = 1 \cdot C2$$

$$C2 = 0,78\%$$

$$\text{Konsentrasi } 0,39\% = V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$0,5 \cdot 0,78\% = 1 \cdot C2$$

$$C2 = 0,39\%$$

$$\text{Konsentrasi } 0,19\% = V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$0,5 \cdot 0,39\% = 1 \cdot C2$$

$$C2 = 0,19\%$$

$$\text{Konsentrasi } 0,09\% = V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$0,5 \cdot 0,19\% = 1 \cdot C2$$

$$C2 = 0,09\%$$

Lampiran 15. Formulasi dan pembuatan media

A. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

| | |
|------------------------------|-----------|
| Brain infusion | 12,5 gram |
| Heart infusion | 5,0 gram |
| Proteose peptone | 10,0 gram |
| Glucose | 2,0 gram |
| Sodium chloride | 5,0 gram |
| di-sodium hydrogen phosphate | 2,5 gram |
| Aquadest ad | 1000 ml |

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam Aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4 (Bridson 1998).

B. Formulasi dan pembuatan *Vogel Jhonson Agar* (VJA)

| | |
|-----------------------------|-------------|
| Tryptone | 10.000 gram |
| Yeast extract | 5.000 gram |
| Mannitol | 10.000gram |
| Dibasic potassium phosphate | 5.000 gram |
| Lithium chloride | 5.000 gram |
| Glycine | 10.000 gram |
| Phenol red | 0.025 gram |
| Agar | 16.000 gram |

pH after sterilization (at 25°C) 7.2±0.2

Panaskan sampai mendidih untuk melarutkan media secara sempurna. Sterilkan oleh diautoklaf dengan tekanan 15 lbs (121 ° C) selama 15 menit. Dinginkan sampai 45-50 ° C dan tuangkan 10 ml media VJA ke dalam cawan petri steril yang sebelumnya ditambahkan larutan kalium Tellurite 1% steril.

Lampiran 16. Hasil analisis data dengan statistic menggunakan Kruskal-Wallis Test.

Descriptive Statistics

| | N | Mean | Std. Deviation | Minimum | Maximum |
|-------------|----|---------|----------------|---------|---------|
| konsentrasi | 15 | 13.3333 | 7.78716 | 6.25 | 25.00 |

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| | | konsentrasi |
|----------------------------------|----------------|-------------|
| N | | 15 |
| Normal Parameters ^{a,b} | Mean | 13.3333 |
| | Std. Deviation | 7.78716 |
| Most Extreme Differences | Absolute | .276 |
| | Positive | .276 |
| | Negative | -.200 |
| Kolmogorov-Smirnov Z | | 1.069 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | .203 |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Konsentrasi

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 16.000 | 4 | 10 | .000 |

Descriptive Statistics

| | N | Mean | Std. Deviation | Minimum | Maximum |
|-------------|----|---------|----------------|---------|---------|
| konsentrasi | 15 | 13.3333 | 7.78716 | 6.25 | 25.00 |
| kombinasi | 15 | 3.0000 | 1.46385 | 1.00 | 5.00 |

Kruskal-Wallis Test

Ranks

| kombinasi | | N | Mean Rank |
|-------------|------------|----|-----------|
| konsentrasi | jambu biji | 3 | 3.50 |
| | binahong | 3 | 10.50 |
| | 1:1 | 3 | 9.00 |
| | 1:3 | 3 | 13.50 |
| | 3:1 | 3 | 3.50 |
| | Total | 15 | |

Test Statistics^{a,b}

| | konsentrasi |
|-------------|-------------|
| Chi-square | 13.236 |
| df | 4 |
| Asymp. Sig. | .010 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

kombinasi