

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR
DARI EKSTRAK ETANOLIK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
DAN *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
SECARA *In Vitro*.**



Oleh:

**Serfia Ngobe
17113250A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR
DARI EKSTRAK ETANOLIK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* Tenore) Steen.)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
DAN *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
SECARA *In Vitro*.**

SKRIPSI

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

Oleh:

**Serfia Ngobe
17113250A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR
DARI EKSTRAK ETANOLIK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
DAN *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
SECARA *In Vitro*.**

Oleh :

**Serfia Ngobe
17113250A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 14 juni 2017

Mengetahui :
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,


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

Pembimbing



Supriyadi, M. Si, Drs., Dr.

Pembimbing Pendamping



Dra. Kartinah Wiryoendjojo, SU.

Penguji :

1. Nony Puspawati, Dra., M.Si.
2. Anita Nilawati, M.Farm., Apt.
3. Ghani Nurfiana, M.Farm., Apt.
4. Supriyadi, M. Si, Drs., Dr.

1. 

2. 

3. 

4. 

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, juni 2017



Serfia Ngobe

PERSEMBAHAN

***Rendahkanlah dirimu di bawa tangan Tuhan
yang kuat, supaya kamu ditinggikan-Nya
pada waktunya”.***

(1 Petrus 5:6)

Skripsi ini saya persembahkan kepada:

- 1. Tuhan Yesus Kristus*
- 2. Seluruh keluarga dan sahabat-
sahabatku yang akukasihi*
- 3. Almamater,
BangsadanNegarakutercinta*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah Bapa di surga yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOLIK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC25923 DAN *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 SECARA *In Vitro* ”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku rector Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM. M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Supriyadi, M. Si, Drs., Dr. selaku Dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat, dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dra. Kartinah.W. S, SU. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan koreksi pada penulis.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan dan saran yang membangun untuk memperbaiki skripsi ini.

6. Segenap Dosen, Karyawan Dan Staf Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas setia Budi yang telah banyak membantu bagi kelancaran pelaksanaan skripsi ini.
7. Perpustakaan Universitas Setia Budi, tempat mencari sumber buku untuk menyelesaikan dan menyempurnakan skripsi ini.
8. Berbagai pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kelemahan dalam menyusun skripsi ini. Kritik dan saran dari siapapun yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Akhir kata semoga skripsi ini dapata bermanfaat bagi penulis dan pembaca supaya bisa menambah pengetahuan.

Surakarta, Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. LatarBelakang	1
B. PerumusanMasalah	3
C. TujuanPenelitian	4
D. KegunaanPenelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Binahong	5
1. Klasifikasi tanaman Binahong	5
2. Nama lain	6
3. Morfologi tanaman.....	6
4. Manfaat tanaman.....	6
5. Kandungan kimia	6
5.1. Flavonoid.	6
5.2. Alkaloid.	7
5.3. Saponin.	7
5.4. Triterpenoid/Steroid.	8
B. Simplisia.....	8
1. Pengertian simplisia	8
2. Pengeringan simplisia	9
C. Metode Ekstraksi.....	9

1. Ekstraksi	9
2. Maserasi	9
3. Fraksinasi	10
D. Pelarut.....	10
1. Etanol.....	10
2. <i>n</i> -Heksan	10
3. Etilasetat	11
4. Air.....	11
E. Tinjauan <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	11
1. Sistematika bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	11
2. Morfologi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25293	12
3. Toksin bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25293	12
4. Sistematika bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	13
5. Morfologi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	13
6. Toksin bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	13
F. Mekanisme Kerja Antibakteri	14
G. Media.....	14
H. Sterilisasi	15
I. Uji Aktivitas Antibakteri.....	15
J. Siprofloksasin.....	15
K. LandasanTeori	16
L. Hipotesis.....	19
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	20
A. Populasi dan Sampel	20
B. Variabel Penelitian	20
1. Identifikasi variabel utama.....	20
2. Klasifikasi variabel utama.....	20
3. Defenisi operasional variabel utama	21
C. Alat dan Bahan.....	22
1. Alat.....	22
2. Bahan.....	22
D. Jalannya Penelitian.....	23
1. Determinasi tanaman.....	23
2. Pembuatan serbuk daun binahong.....	23
3. Penetapan susut pengeringan dari serbuk daun binahong.....	23
4. Pembuatan ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Tenore) Steen.).....	23
5. Tes bebas etanol daun binahong	24
6. Fraksinasi ekstrak daun binahong	24
7. Identifikasi senyawa dari ekstrak daun binahong	24

7.1. Identifikasi Flavonoid.....	24
7.2. Identifikasi alkaloid.....	25
7.3. Identifikasi Saponin.	25
7.4. Identifikasi steroid.....	25
8. Sterilisasi	25
9. Pembuatan suspense bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
10. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	26
10.1. Uji <i>Staphylococcus aureus</i> secara goresan.....	26
10.2. Identifikasi biokimia bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	26
11. Identifikasi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
11.1. Uji bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> secara goresan.	26
11.2. Ujiidentifikasi biokimia bakteri <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	27
12. Pengujian aktivitas antibakteri	28
E. Analisis Data	28
F. Skema Jalannya Penelitian.....	29
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	31
1. Determinasi dan deskripsi tanaman binahong(<i>Anredera cordifolia</i> (Tenore) Steen.	31
1.1. Determinasi tanaman.	31
1.2. Deskripsi tanaman binahong(<i>Anredera cordifolia</i> (Tenore) Steen.).	31
2. Hasil Pengeringan dan Pembuatan Serbuk	31
3. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Daun Binahong	32
4. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanolik Daun Binahong.....	33
5. Hasil Tes Bebas Etanol Ekstrak Daun Binahong.....	33
6. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Daun Binahong.....	34
7. Fraksinasi	34
8. Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	35
8.1. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	35
8.2. Bakteri <i>Pseudomonas eruginosa</i> ATCC 25873.	36
9. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Secara difusi.....	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	44
A. Kesimpulan	44
B. Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN.....	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Tenore) Steen.).....	5
Gambar 2. <i>Staphylococcus aureus</i>	11
Gambar 3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak etanolik dan fraksinasi daun Binahong.	29
Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri.....	30

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun binahong.....	32
Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun binahong.....	32
Tabel 3. Rendaman ekstrak kental daun binahong.....	33
Tabel 4. Hasil tes bebas etanol ekstrak etanol daun binahong.....	33
Tabel 5. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun binahong.....	34
Tabel 6. Persentase fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan fraksi air dari daun binahong.....	35
Tabel 7 Hasil identifikasi uji biokimia pada bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	36
Tabel 8. Diameter hambat uji aktivitas secara difusi terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	39
Tabel 9. Diameter hambat uji aktivitas secara difusi terhadap bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	40

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Hasil determinasi daun Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen).....
- Lampiran 2. Gambar daun,serbuk dan ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen).....
- Lampiran 3. Foto botol maserasi, corong pisah, dan evaporator
- Lampiran 4. Foto timbangan dan incubator
- Lampiran 5. Foto Moisture balance
- Lampiran 6. Foto Inkas dan alat Vortex
- Lampiran 7. Foto identifikasi senyawa kimia daun binahong
(*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.).....
- Lampiran 8. Foto bakteri uji *Stahylococcus aureus* ATCC 25923
- Lampiran 10. Foto hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.....
- Lampiran 11. Foto hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- Lampiran 12. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun binahong
- Lampiran 13. Hasil penetapan kadar air dalam serbuk daun binahong.
- Lampiran 14. Hasil perhitungan rendemen fraksi *n*-heksan dari ekstrak etanolik daun binahong
- Lampiran 15. Hasil perhitungan rendemen etil asetat dari ekstrak etanolik daun binahong
- Lampiran 16. Hasil perhitungan rendemen air dari ekstrak etanolik daun binahong

- Lampiran 17. Perhitungan diameter hambat pada uji antibakteri pada daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 secara difusi.
- Lampiran 18. Perhitungan diameter hambat pada uji antibakteri pada daun binahong terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara difusi.
- Lampiran 19. Pembuatan larutan dengan berbagai konsentrasi.....
- Lampiran 20. Perhitungan Siprofloksasin
- Lampiran 21. Formulasi dan pembuatan media.....
- Lampiran 22. Analisa hasil

INTISARI

NGOBE SERFIA., 2017 UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DARI EKSTRAK ETANOLIK DARI DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 DAN *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) mempunyai kandungan kimia flavonoid dan saponin yang diduga memiliki aktivitas antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek aktivitas ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Serbuk daun binahong diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% kemudian difraksinasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air. Ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air di uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi, dengan konsentrasi 50%, 25% dan 12,5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanolik daun binahong mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada konsentrasi tertentu. Rata-rata diameter hambat ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi 50% rata-rata diameter daya hambat berturut-turut adalah 12 mm, 12.33 mm, 15.33 mm, dan 14 mm. Rata-rata diameter hambat pada *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada konsentrasi 50% diameter hambat berturut-turut adalah 12.33 mm, 13.33 mm, 16.67 mm, dan 14.33 mm. Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun binahong memiliki aktivitas antibakteri paling aktif terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata kunci : daun binahong, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, metode difusi.

ABSTRACT

NGOBE, SERFIA.,2017, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF n-HEXANE, ETHYL ACETATE AND WATER FRACTIONS FROM LEAF ETHANOLIC EXTRACT OF BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Tenore)Steen.) AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 AND *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 SKRIPSI, FACULTY OFPHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) leaf have chemical contents of flavonoid and saponin are thought to have antibacterial activity. The purpose of this study was to determine the activity of ethanolic extract, n-hexane, ethyl acetate and water fractions from Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) as antibacterial of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Binahong leaf extracted by maceration using 70% ethanol then fractionated using n-hexane, ethyl acetate and water solvents. Ethanolic extract, n-hexane, ethyl acetate and water fractions were tested the antibacterial activity using diffusion method, with concentration of 50%, 25%, 12,5%.

The results showed that the n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction binahong leaf has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 at a certain concentration. Inhibitory average diameter extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction with the concentration 50% at *Staphylococcus aureus* respectively, 12 mm, 12.33 mm, 15.33 mm, dan 14 mm.. Inhibitory average diameter with the concentration 50% at *Pseudomonas aeruginosa* respectively 12.33 mm, 13.33 mm, 16.67 mm, dan 14.33 mm. The most active fraction against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is the ethyl acetate fraction.

Keywords: binahong leaf, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ,diffusion method.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia dikenal dengan kekayaan tumbuhan obat. Jenis tumbuhan obat tersebut mulai dari tanaman perdu hingga tanaman keras, merupakan tumbuhan yang masih liar dan hanya terdapat di hutan belantara atau tanaman yang sudah dibudidayakan. Tumbuhan tersebut tersebar di seluruh wilayah Indonesia dan setiap provinsi mempunyai keanekaragaman hayati yang biasa digunakan sebagai obat alternatif (Wijayakusuma 1992).

Penggunaan obat tradisional biasanya hanya berdasarkan data empiris bukan berdasar data klinis seperti obat modern. Data empiris ini sebagian besar diperoleh dari pengalaman masyarakat terdahulu dalam menggunakan bahan alam tersebut. Penggunaan bahan alam berupa tumbuh-tumbuhan untuk pengobatan semakin meningkat, hal ini sebaiknya diimbangi dengan perbaikan mutu, serta perlu dikembangkan sesuai dengan perkembangan ilmu pengetahuan, sehingga nantinya dapat diharapkan sebagai fitofarmaka. Fitofarmaka itu sendiri adalah sediaan obat yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya, bahan bakunya terdiri dari simplisia atau sediaan galenik yang telah memenuhi persyaratan yang berlaku (Anonim 1993), oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian lebih mendalam mengenai tanaman yang banyak digunakan sebagai obat tradisional tersebut, sehingga dapat diolah dan dikembangkan menjadi sediaan yang berguna.

Penyakit infeksi bakteri kulit cukup banyak ditemukan di Indonesia, yang merupakan negara tropis beriklim panas dan lembab, apalagi bila kebersihan juga kurang sempurna, sehingga dapat dipahami bahwa pertumbuhan bakteri sangat mudah terjadi dan dapat menimbulkan penyakit serius pada manusia. Luka bernanah timbul karena luka terinfeksi ringan oleh bakteri. Penyakit ini biasanya disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (Jawetz *et al* 2007).

Pseudomonas aeruginosa merupakan salah satu bakteri yang dapat menimbulkan penyakit pada manusia. *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri gram negative termasuk dalam family Pseudomonaceae, merupakan pathogen

oportunistik, yaitu memanfaatkan kerusakan pada mekanisme pertahanan inang untuk memulai suatu infeksi pada manusia. *Pseudomonas aeruginosa* terdapat di tanah dan air, pada beberapa orang merupakan flora normal di kolon (usus besar) juga dapat dijumpai pada daerah lembab di kulit dan dapat membentuk koloni pada saluran pernapasan bagian atas bagi pasien-pasien rumah sakit (Mayasari. 2005). Bakteri ini menjadi penyebab diare pada bayi, infeksi saluran kemih dan menyebabkan infeksi sekunder pada luka (Gupte. 1990)

Salah satu tanaman tradisional yang memiliki efek antibakteri adalah tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) Bagian dari tanaman yang dapat dimanfaatkan adalah daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) . Di dalam daun binahong terdapat berbagai macam senyawa kimia yaitu flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan saponin. Senyawa yang berperan langsung sebagai antibakteri adalah flavonoid dan alkaloid. Mekanisme kerja senyawa flavonoid dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membrane sel, sedangkan mekanisme kerja alkaloid mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Tanaman binahong juga mengandung antimikroba yang aktif sehingga dapat digunakan dalam mencegah pertumbuhan bakteri.

Penelitian terhadap tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) yang diteliti oleh Siagian (2015) untuk mengetahui efek antibakteri dari ekstrak daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilakukan dengan cara membiakkan bakteri *Staphylococcus aureus* dalam media *Muller-Hinton Agar* selanjutnya diberi perlakuan dengan kertas saring yang direndam dalam ekstrak daun binahong, doksisisiklin sebagai kontrol positif dan akuades sebagai kontrol negatif lalu diinkubasi dengan suhu 37⁰C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas saring pada kelompok intervensi dan kontrol positif menunjukkan tidak adanya pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, sedangkan pada kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat. Hal ini membuktikan bahwa aquades tidak dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Zona hambat yang terbentuk pada kertas saring yang

berisi ekstrak etanol daun binahong menunjukkan bahwa efek antibakteri dari ekstrak etanol daun binahong memiliki daya hambat yang sedang dengan zona hambat sebesar 8,32 mm.

Penilaian zona hambat dilihat dari hasil pengukuran diameter dan digolongkan menjadi (1) tidak ada zona hambat, (2) lemah yaitu zona hambat kurang dari 5 mm, (3) sedang yaitu zona hambat 5–10 mm, (4) kuat yaitu zona hambat 11–20 mm, dan (5) sangat kuat yaitu zona hambat 21–30 mm.

Penyarian ekstrak daun binahong dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan etanol 70%. Fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air yang sifat polaritasnya berbeda. Tujuan fraksinasi adalah pemisahan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain. *n*-heksan dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar, misalnya golongan kandungan kimia minyak atsiri, lemak dan asam lemak tinggi, steroid dan triterpenoid dan karotenoid (Kristijono 2008). Etil asetat dapat melarutkan senyawa-senyawa semipolar, seperti flavonoid (Harborne 1987). Air digunakan sebagai cairan penyari karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air melarutkan senyawa-senyawa polar seperti saponin, glikosida, flavonoid, garam, alkaloid, tanin dan gula (Depkes 1986).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat dirumuskan suatu masalah sebagai berikut:

Pertama, apakah fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanolik daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?

Kedua, manakah dari ketiga fraksi tersebut yang mempunyai aktivitas antibakteri yang paling efektif menghambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanolik daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, untuk mengetahui manakah dari ketiga fraksi tersebut yang mempunyai aktivitas antibakteri yang paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat dari daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) sebagai alternative pengobatan antibakteri dan memberikan sumbangan informasi pada pengembangan dan penelitian obat khususnya obat tradisional untuk pengobatan berbagai macam penyakit terutama sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Binahong

1. Klasifikasi tanaman Binahong

Berdasarkan penggolongan dan tata nama tumbuhan, tanaman binahong termasuk dalam klasifikasi sebagai berikut (Wunderlin dan Hansen 2008):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Hamamelidae
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Basellaceae
Genus	: <i>Anredera</i>
Spesies	: (<i>Anredera cordifolia</i> (Tenore) Steen.)



Gambar 1. Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.).

2. Nama lain

Gandola (Sunda); Gendola (Bali); Lembayung (Minangkabau); Genjerot, Gedrek, Uci-uci (Jawa); Kandula (Madura) ; Tatabuwe (Sulawesi utara); Poiloo (Gorontalo); Kandola (Timor) (Hariana 2013).

3. Morfologi tanaman

Tanaman binahong merupakan tumbuhan menjalar, berumur panjangperennial, panjang dari tanaman ini mencapai kurang lebih 5 m. Akar dari tanaman ini berbentuk rimpang, berdaging lunak, batang lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar. Tanaman binahong berupa daun tunggal, bertangkai sangat pendek, tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung, panjang 5-10 cm, lebar 3-7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk, tepi merata dan permukaan licin. Bunga dari tanaman binahong berupa bunga majemuk berbentuk tandan, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna krem keputih-putihan berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai 0,5-1 cm berbau harum. Binahong merupakan perbanyakan generatif (biji), namun lebih sering berkembang atau dikembangbiakan secara vegetative melalui akar rimpangnya (Mus, 2009).

4. Manfaat tanaman

Manfaat tanaman ini sangat besar dalam dunia pengobatan, secara empiris binahong dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Beberapa penyakit yang dapat disembuhkan dengan menggunakan tanaman ini adalah kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, stroke, wasir, menyembuhkan luka, radang usus, melancarkan dan menormalkan peredaran dan tekanan darah, meningkatkan vitalitas dan daya tahan tubuh (Manoi, 2009)

5. Kandungan kimia

Daun binahong mengandung zat kimia seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan steroid/triterpenoid Sutrisno *et. al.* (2014).

5.1. Flavonoid. Senyawa flavonoid termasuk kedalam senyawa fenol yang merupakan benzena tersubstitusi dengan gugus -OH, senyawa flavonoid ini

banyak diperoleh dari tumbuhan, zat ini biasanya berwarna merah, ungu, biru, dan kuning.

Flavonoid disintesis di dalam tumbuhan (Solistiono 2012). Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air. Flavonoid dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid berupa senyawa fenol karena warnanya berubah bila ditambah basa atau ammonia. Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran, jarang sekali dijumpai hanya flavonoid tunggal dalam jaringan tumbuhan (Harborne 2007). Menurut Sabir (2005) disebutkan bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Adapun menurut Naim (2004), flavonoid memiliki sifat lipofilik sehingga dimungkinkan akan merusak membran sel bakteri.

5.2. Alkaloid. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloida berasal dari tumbuh – tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Darsana 2012).

5.3. Saponin. Saponin adalah suatu glikosida yang ada pada banyak tanaman. Saponin berada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi di bagian-bagian tertentu yang dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap pertumbuhan. Fungsi dalam tumbuh-tumbuhan sebagai bentuk penyimpanan karbohidrat atau merupakan *wasteproduct* dari metabolisme tumbuh-tumbuhan. Kemungkinan lain adalah sebagai pelindung terhadap serangga. Sifat-sifat saponin adalah mempunyai rasa pahit, dalam larutan air membentuk busa yang stabil, menghemolisa eritrosit, membentuk persenyawaan dengan kolesterol dan hidroksi steroid lainnya, sulit untuk dimurnikan dan diidentifikasi, berat molekul relatif tinggi (Lenny 2006). Saponin sering disebut “deterjen alam”, senyawa ini juga bersifat antibakteri dan antivirus. Meningkatkan sistem kekebalan tubuh,

meningkatkan daya tahan, mengurangi kadar gula darah, mengurangi penggumpalan darah. Saponin dapat menghambat kerja enzim proteolitik pada sistem pencernaan manusia (Beatrice 2010).

5.4. Triterpenoid/Steroid. Triterpenoid merupakan senyawa kerangka karbon dari enam satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon asiklik yaitu skualena. Triterpenoid dibagi menjadi empat golongan senyawa yaitu triterpena, steroid, saponin, dan glikosida jantung. Umumnya terpenoid larut lemak dan berada di dalam sitoplasma sel tumbuhan. Penggolongan terpenoid, berdasarkan kemudahannya dalam menguap dibagi menjadi tiga golongan, yaitu: mudah menguap (monoterpen dan sesuiterpen sebagai minyak atsiri), sulit menguap (diterpenoid), dan tidak menguap (triterpenoid dan steroid). Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membrane lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom (Madduluri 2013). Steroid dapat berinteraksi dengan membrane fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa - senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed 2007).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Pengeringan simplisia

Proses pengeringan simplisia bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang atau bakteri. Menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif. Memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya. Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan alat pengering. Saat pengeringan, yang perlu diperhatikan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan. Pengeringan panas sinar matahari paling banyak digunakan di Indonesia karena lebih mudah dan murah (Gunawan & Mulyani 2004).

C. Metode Ekstraksi

1. Ekstraksi

Terdapat sejumlah metode ekstraksi, yang paling sederhana adalah ekstraksi dingin (dalam labu besar berisi biomasa yang diagitasi menggunakan stirrer), dengan cara ini bahan kering hasil gilingan diekstraksi pada suhu kamar secara berturut-turut dengan pelarut yang kepolarannya makin tinggi. Keuntungan cara ini merupakan metode ekstraksi yang mudah karena ekstrak tidak dipanaskan sehingga kemungkinan kecil bahan alam menjadi terurai. Penggunaan pelarut dengan peningkatan kepolaran bahan alam secara berurutan memungkinkan pemisahan bahan-bahan alam berdasarkan kelarutannya dan polaritasnya dalam pelarut ekstraksi. Hal ini sangat mempermudah proses isolasi. Ekstraksi dingin memungkinkan banyak senyawa terekstraksi, meskipun beberapa senyawa memiliki pelarut ekstraksi pada suhu kamar (Heinrich *et al* 2004).

2. Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan, disatukan dengan bahan pengekstraksi. Rendemen selanjutnya disimpan terlindung dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok kembali. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, dan mudah diusahakan (List 2000).

3. Fraksinasi

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dengan yang lain, merupakan suatu pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam satu herba. Mula-mula ekstrak kental difraksinasi berturut-turut dengan larutan penyari yang berbeda-beda polaritasnya. Masing-masing pelarut secara selektif memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut, mula-mula disari dengan pelarut, kemudian disari dengan pelarut semi polar dan yang terakhir dengan pelarut polar (Harborne 2007).

D. Pelarut

1. Etanol

Etanol merupakan larutan serba guna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan agar diperoleh hasil yang baik, penyarian biasanya digunakan campuran antara etanol dan air. Etanol 70% dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih efektif dalam menghasilkan jumlah bahan yang optimal dan bahan yang diperlukan hanya sedikit yang turut ke dalam pengestraksi. Keuntungan etanol 70% antara lain tidak beracun, absorbsinya baik, sulit ditumbuhi mikroorganisme, efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil ikut dalam pengestraksi, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, dan dapat melarutkan alkaloid basah, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antraknon, flavonoid, steroid, damar, klorofil, tannin, dan saponin. Lemak hanya sedikit yang larut (List 2000).

2. *n*-Heksan

n-heksan merupakan pelarut nonpolar berupa cairan jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar dan mempunyai bau seperti eter lemah atau bau seperti petroleum, praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol. *n*-heksan dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar, misalnya golongan kandungan kimia minyak atsiri, lemak dan asam lemak tinggi, triterpenoid dan karotenoid (Kristijono 2008).

3. Etil asetat

Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap, maka penyimpanannya dalam wadah tertutup dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dalam eter, etanol dan kloroform. Senyawa yang larut dalam pelarut ini adalah flavonoid, alkaloid, polifenol, (Harborne 2007).

4. Air

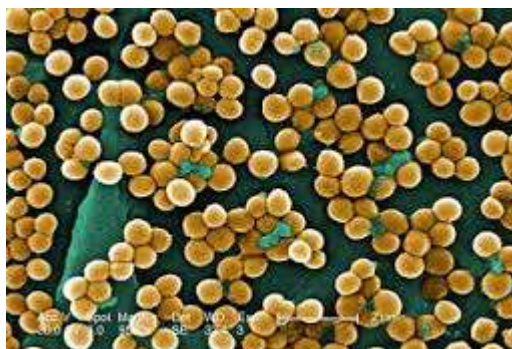
Air digunakan sebagai pelarut karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air melarutkan garam, alkaloid, minyak menguap, glikosida, tanin, gula, gom, pati, protein, enzim, lilin, pectin, zat warna, dan asam organik (List 2000).

E. Tinjauan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

1. Sistematika bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Menurut Bergey *et al.* 1994 sebagai berikut :

Divisi	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 2. *Staphylococcus aureus*

2. Morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25293

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif, berbentuk sferis, bila bergerombol dalam susunan yang tidak teratur mungkin sisinya agak rata karena tertekan. Diameter kuman antara 0,8 – 1,0 mikron. Sediaan langsung yang berasal dari nanah dapat terlihat sendiri, berpasangan, menggerombol dan bahkan dapat tersusun seperti rantai pendek. Kuman ini tidak bergerak, tidak berspora dan gram positif. Batas – batas pertumbuhannya pada suhu 15⁰C - 40⁰C. sedangkan pertumbuhan optimum untuk pertumbuhan terbaik ialah pada pH 7,4. *Staphylococcus aureus* termasuk jenis kuman yang paling kuat daya tahannya. Tetap hidup sampai berbulan bulan pada agar miring, dan dalam lemari es atau temperature kamar. Kuman ini sering ditemukan sebagai kuman flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia. Penyebab infeksi baik pada manusia maupun pada hewan (Karsinahet *al.* 1994).

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan penyakit seperti: infeksi pada folikel rambut dan kelenjar keringat, bisul infeksi pada luka bakar, diare. Pasien luka bakar atau pasien bedah yang sebagian besar disebabkan kontaminasi oleh personil rumahsakit (medis dan paramedis). Pembenuhan bakteri biasanya dilakukan pada lempeng agar darah dan pembenuhan lainnya untuk identifikasi bakteri (Entjang. 2003).

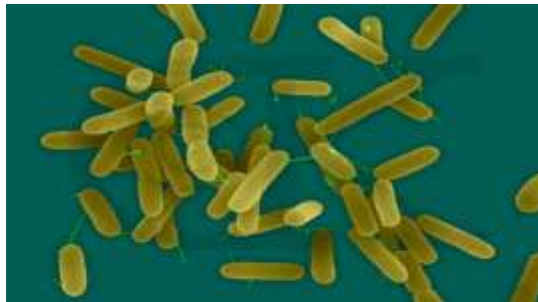
3. Toksin bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25293

Keracunan makanan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* terjadi karena termakannya toksin yang dihasilkan oleh toksigenik *Staphylococcus aureus* yang ada pada makanan tercemar (Pelczar. 1988). Jumlah enterotoksin yang termakan menentukan waktu timbulnya gejala serta parah tidaknya infeksi tersebut. Pada umumnya gejala- gejala mual, muntah, dan diare muncul dua sampai enam jam setelah makan makanan yang telah terkontaminasi oleh *Staphylococcus aureus* (Pelczar. 1988).

4. Sistematika bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Sistematika *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut:

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Pseudomonadales
Suku bangsa	: Pseudomonadaceae
Marga	: <i>Pseudomonas</i>
Jenis	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Dwijoseputro. 1990).



Gambar 3. *Pseudomonas aeruginosa*.

5. Morfologi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri gram negative berbentuk batang lurus atau lengkung, berukuran 0,2 x 2 mikron. Dapat ditemukan satu – satu, berpasangan, dan kadang-kadang membentuk rantai pendek, tidak mempunyai spora, tidak mempunyai selubung, serta mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak (Mayasari. 2005).

6. Toksin bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Pseudomonas aeruginosa bersifat pathogen yang hanya biasa memasuki daerah dengan system pertahanan tubuh yang tidak normal, misalnya saat membrane mukosa dan kulit robek karena kerusakan jaringan. *Pseudomonas aeruginosa* menimbulkan berbagai penyakit diantaranya yaitu infeksi pada luka

dan luka bakar yang menimbulkan nanah hijau kebiruan, infeksi saluran kemih, infeksi pada saluran napas yang disertai nekrosis (Mayasari. 2005).

F. Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri adalah suatu bahan yang dapat membasmi bakteri pada umumnya, khususnya yang bersifat patogen bagi manusia berdasarkan sifat toksisitas selektif. Antibakteri ada yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik dan ada yang membunuh bakteri dikenal sebagai aktivitas bakterisid (Ganiswarna. 1995).

Peristiwa penghambatan pertumbuhan bakteri adalah melalui mekanisme tertentu sesuai sifat bahan obat dan mikroba yang digunakan. Mekanisme antibakteri dibagi menjadi lima kelompok yaitu mengganggu metabolisme sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri, menghambat sintesis dinding bakteri dan menyebabkan kerusakan dinding sel sehingga permeabilitas terhadap beberapa zat intersel meningkat (Ganiswarna. 1995).

G. Media

Media ialah bahan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di atas atau di bawahnya. Persyaratan nutrient mikroorganisme sangat beragam, namun sebagai makhluk hidup mereka mempunyai kebutuhan dasar yang sama, yaitu meliputi air, karbon, nitrogen, dan faktor tumbuh, air yang digunakan sebaiknya air suling, karena jika air sadah umumnya mengandung kadar ion kalsium dan magnesium yang tinggi. Faktor tumbuh ialah komponen seluler esensial yang tidak dapat disintesis sendiri oleh suatu mikroorganisme dari sumber dasar karbon dan nitrogennya (Hadioetomo. 1985).

Menurut konsistensinya medium dapat dibedakan medium cair, medium padat, dan medium setengah padat. Pertama medium cair seperti kaldu nutrient dan kaldu glukosa dapat digunakan untuk berbagai keperluan seperti perbiakan organisme dalam jumlah besar, penelahan fermentasi dan berbagai macam uji. Kedua, medium padat, dapat ditambahkan bahan pematat kedalam media kaldu. Biasanya digunakan untuk mengamati penampilan atau morfologi koloni dan

mengisolasi biakan murni. Ketiga, medium setengah padat, digunakan untuk menguji ada tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi. Medium setengah padat mengandung gelatin ataupun agar-agar namun dalam konsentrasi lebih kecil dari pada medium padat (Hadioetomo. 1985).

Fungsi media antara lain untuk menumbuhkan mikroba, untuk mengisolasi mikroba, untuk memperbanyak mikroba, untuk menguji sifat-sifat mikroba, untuk menghitung jumlah mikroba dan untuk menyimpan mikroba (Partiwi. 2008)

H. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar x, sinar alfa, dan sinar UV untuk bahan yang tidak berubah akibat temperature tinggi atau tekanan tinggi, sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alcohol, larutan formalin, dan sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akibat pemanasan tinggi atau tekanan mengalami perubahan atau penguraian (Darmandi. 2008)

I. Uji Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi, metode difusi dapat dilakukan menggunakan cakram (*disk*) kertas saring, sumuran, atau silinder tidak beralas. Metode dengan sumuran atau silinder dilakukan dengan memasukkan larutan uji dengan konsentrasi tertentu dalam sumuran. Diameter zona hambat sekitar sumuran yang digunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat (Jawetz *et al.* 1986).

J. Siprofloksasin

Antibiotik golongan fluorokuinolon merupakan obat bakterisidal yang kuat terhadap bermacam-macam mikroorganisme. Target antibiotic siprofloksasin adalah DNA girase bakteri dan topoisimerase IV. Topoisimerase IV adalah target primer untuk sejumlah bakteri gram positif. DNA girase adalah

target primer untuk sejumlah bakteri gram negative. Siprofloksasin menghambat gulunan DNA yang diperantai oleh girase pada konsentrasi yang berhubungan dengan kerja antibakteri efektifnya. Topoisomerase IV memisahkan molekul DNA tertaut silang yang dihasilkan dari replikasi DNA dan juga merupakan target dari siprofloksasin. (Goodman & Gilman 2008).

Efek samping siprofloksasin Mual ringan, muntah, gangguan abdominal, diare dan colitis jarang terjadi, sakit kepala ringan, pening, halusinasi, delirium, dan seizure sangat jarang terjadi, ruam, reaksi fotosensitivitas, leucopenia, eosinifilia, (Goodman & Gilman 2008).

Resistensi terhadap kuinolon dapat berkembang melalui mutasi dalam gen kromosom bakteri yang mengkode DNA girase atau melalui transport aktif obat keluar dari bakteri. Tidak ada mekanisme penginaktivasi yang telah teridentifikasi. Sensitivitas telah menurun, khususnya pada *Pseudomonas* dan *Staphylococcus*. Sensitivitas fluorokuinolon juga menurun pada *Salmonella*, *Neisseria gonorrhoeae*, dan *Streptococcus pneumonia* (Goodman & Gilman 2008).

K. Landasan Teori

Salah satu tanaman tradisional yang memiliki efek antibakteri adalah tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) Bagian dari tanaman yang dapat dimanfaatkan adalah daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) . Di dalam daun binahong terdapat berbagai macam senyawa kimia yang berfungsi sebagai anti bakteri yaitu flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan saponin. Senyawa aktif flavonoid dapat berperan langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri dan virus.

Menurut Sabir (2005) disebutkan bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah mengganggu komponen penyusun

peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Darsana 2012). Saponin merupakan senyawa aktif yang menimbulkan busa jika dikocok dengan air. Senyawa ini juga bekerja sebagai antibakteri (Robinson. 1995). Triterpenoid merupakan senyawa kerangka karbon dari enam satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon asiklik yaitu skualena. Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membrane lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom (Madduluri 2013).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan, disatukan dengan bahan pengestraksi. Rendemen selanjutnya disimpan terlindung dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok kembali. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, dan mudah diusahakan (List 2000).

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dengan yang lain, merupakan suatu pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam suatu herba. Mula-mula ekstrak kental difraksinasi berturut-turut dengan larutan penyari yang berbeda-beda polaritasnya. Masing-masing pelarut secara selektif memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut, mula-mula disari dengan pelarut, kemudian disari dengan pelarut semi polar dan yang terakhir dengan pelarut polar (Harborne 2007). Hasil dari metode Maserasi kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi guna mendapatkan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air. Tujuannya adalah untuk mengetahui perbedaan pengaruh antibakteri ekstrak etanolik, fraksin-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Etanol merupakan larutan serba guna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan agar diperoleh hasil yang baik, penyarian biasanya digunakan campuran antara etanol dan air. Etanol 70% dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih efektif dalam menghasilkan jumlah bahan yang optimal dan bahan

yang diperlukan hanya sedikit yang turut ke dalam pengestraksi. Keuntungan etanol 70% antara lain tidak beracun, absorpsinya baik, sulit ditumbuhi mikroorganisme, efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil ikut dalam pengestraksi, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, dan dapat melarutkan alkaloid basah, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antraknon, flavonoid, steroid, damar, klorofil, tannin, dan saponin. Lemak hanya sedikit yang larut (List 2000).

n-heksan merupakan pelarut nonpolar berupa cairan jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar dan mempunyai bau seperti eter lemah atau bau seperti petroleum, praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol. *n*-heksan dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar, misalnya golongan kandungan kimia minyak atsiri, lemak dan asam lemak tinggi, s, triterpenoid dan karotenoid (Kristijono 2008).

Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap, maka penyimpanannya dalam wadah tertutup dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dalam eter, etanol dan kloroform. Senyawa yang larut dalam pelarut ini adalah flavonoid, alkaloid, polifenol, (Harborne 2007).

Air digunakan sebagai pelarut karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air melarutkan garam, alkaloid, minyak menguap, glikosida, tanin, gula, gom, pati, protein, enzim, lilin, pectin, zat warna, dan asam organik (List 2000).

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan penyakit seperti: infeksi pada folikel rambut dan kelenjar keringat, bisul infeksi pada luka bakar, diare. Pasien luka bakar atau pasien bedah yang sebagian besar disebabkan kontaminasi oleh personil rumah sakit (medis dan paramedis). Pembenuhan bakteri biasanya dilakukan pada lempeng agar darah dan pembenuhan lainnya untuk identifikasi bakteri (Entjang. 2003).

Pseudomonas aeruginosa menimbulkan berbagai penyakit diantaranya yaitu infeksi pada luka dan luka bakar yang menimbulkan nanah hijau kebiruan,

infeksi saluran kemih, infeksi pada saluran napas yang disertai nekrosis (Mayasari. 2005).

Metode difusi merupakan metode yang sederhana, mudah dilakukan dan diamati aktivitas antibakteri. Metode difusi bertujuan untuk melihat ada atau tidaknya daya hambat ekstrak daun binahong, aktivitas antibakteri terlihat dengan ada tidaknya daya hambat dengan adanya daerah jernih disekitar sumuran.

L. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang ada, disusun hipotesis dalam penelitian ini adalah:

Pertama, ekstrak etanol,fraksin-heksana, etil asetat, dan air dari daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Kedua, fraksi etil asetat paling efektif mempunyai aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

G. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong yang diambil pada bulan Agustus 2016 dari Tawang Mangu, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun binahong yang diambil dari Tawang Mangu, Jawa Tengah, dengan ciri-ciri berwarna hijau tua dan bebas dari penyakit diambil pada bulan Agustus 2016.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.).

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksin-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore)Steen.).

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel tergantung adalah variabel yang berubah karena variabel bebas. Variabel terkontrol adalah variabel yang dianggap berpengaruh selain variabel bebas.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi dari fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.).

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah adanya aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun binahong

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) uji bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa*, steril ruangan, kondisi peneliti, kondisi laboratorium, media dan metode penelitian

3. Defenisi operasional variabel utama

Pertama, daun binahong adalah daun dari tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) yang diambil dari Tawang mangu, Jawa Tengah yang dengan ciri-ciri berwarna hijau tua dan bebas dari penyakit.

Kedua, serbuk daun binahong adalah daun binahong yang di ambil kemudian dicuci dengan air mengalir untuk membersihkan kotoran yang masih menempel lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 40⁰C, kemudian diblender dan diayak dengan ayakan no 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun binahong adalah hasil ekstraksi dari serbuk daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) yang diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.

Keempat, fraksi *n*-heksan adalah fraksi dari ekstrak etanol 70% daun binahong yang difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan sebagai pelarut non polar, kemudian dipekatkan dengan oven sehingga didapat fraksi *n*-heksan.

Kelima, fraksi etil asetat fraksinasi dari residu *n*-heksan dengan menggunakan etil asetat sebagai pelarut semi polar, kemudian dipekatkan dengan oven sehingga didapat fraksi etil asetat.

Keenam, fraksi air dari daun binahong adalah hasil fraksinasi dari ekstrak daun binahong dengan menggunakan air sebagai pelarut polar, kemudian dipekatkan dalam waterbath.

Ketujuh, bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* yang diambil dari laboratorium mikrobiologi Universitas Setia Budi dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diambil dari Rumah Sakit.

Kedelapan, uji aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* ditunjukkan dengan mengukur diameter zona hambat dengan metode difusi yaitu antibakteri tidak dapat kontak langsung dengan bakteri maka harus menembus media agar, sehingga dapat kontak langsung dengan agar. Luas daerah hambat adalah daerah jernih disekeliling sumuran yang tidak ditumbuhi bakteri.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah meliputi autoklaf, blender, boor prop, cawan petri, erlenmayer, gelas ukur, tabung reaksi, kapas lidi steril pipet ukur 1 ml, obyek glass, oven, incubator, jarum ose, vortex, moisture balance, rak tabung, lampu spiritus, penangas air, timbangan analitik, mikroskop, kaca kaki tiga, evaporator, corong pisah, inkas

2. Bahan

Pertama, Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) yang diambil dari Tawang Mangu, Jawa Tengah, dengan ciri-ciri berwarna hijau tua dan bebas dari penyakit

Kedua, bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* yang diambil dari laboratorium mikrobiologi Universitas Setia Budi dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diambil dari Rumah Sakit.

Ketiga, Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium *Brain Heart Infusion* (BHI), *Vogel Johnson Agar* (VJA), dan *Muller Hilton Agar* (MHA), *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA), *Sulfide Indol Motility* (SIM), *Kliger Iron Agar* (KIA), *Lysine Iron Agar* (LIA), *Media Citrat*, *Nutrien Agar* (NA).

Keempat, bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut etanol 70%, *n*-heksan. Etil asetat.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama penelitian ini adalah determinasi dan deskripsi daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) Determinasi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi dan deskripsi ini bertujuan untuk menetapkan keberadaan yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi tanaman binahong terhadap kepustakaan yang dibuktikan di Laboratorium.

2. Pembuatan serbuk daun binahong.

Pembuatan serbuk daun binahong dengan cara daun dikeringkan dengan oven pada suhu 40⁰C, setelah kering serbuk dengan blender kemudian diayak dengan ayakan no 40 sehingga didapatkan serbuk daun binahong yang mempunyai derajat kehalusan yang homogen. Tujuan penyerbukan ini, agar luas permukaan partikel bahan yang kontak dengan larutan penyaring dapat diperluas sehingga penyaringannya efektif.

3. Penetapan susut pengeringan dari serbuk daun binahong

Penetapan kadar air daun binahong dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Caranya temperature diatur yaitu pada suhu 95⁰C serta waktu pengeringan secara manual yaitu selama 15 menit kemudian dimasukkan pada neraca timbang dengan skala 0,00 maka sampel serbuk daun binahong 2 gram dimasukkan. Kemudian ditunggu sampai alat *Moisture Balance* berbobot konstan yang dimana menandakan hasil analisa telah selesai. Kadar air akan memenuhi syarat apabila kadar air suatu serbuk simplisia tidak lebih dari 10%.

4. Pembuatan ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.)

Serbuk daun binahong ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam bejana lalu ditambahkan etanol 70% dengan perbandingan 1:7,5. Campuran tersebut didiamkan selama 5 hari dengan sesekali digojog, setelah itu dipisahkan antara filtrate dengan ampas dengan menggunakan corong Buchner. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan evaporator pada suhu 40⁰C sehingga menjadi ekstrak etanol daun binahong. Hasil yang diperoleh ditimbang dengan neraca elektrik.

5. Tes bebas etanol daun binahong

Ekstrak yang telah pekat diuji sudah bebas etanol atau belum dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah asan asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, uji positif bebas etanol jika tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Praeparandi 1978).

6. Fraksinasi ekstrak daun binahong

Fraksinasi dengan *n*-heksan Fraksinasi dari ekstrak etanol daun binahong dibuat dengan menimbang ekstrak hasil maserasi didalam beaker glass sebanyak 10 gram. Ekstrak etanol yang sudah ditimbang dilarutkan dengan air sebanyak 75 ml kemudian dipisahkan dicorong pisah dengan menambahkan *n*-heksan 75 ml sebanyak tiga kali, sehingga didapat fraksi *n*-heksan. Hasil fraksinasi yang diperoleh ditampung dalam evaporator pada suhu 40⁰C sampai pekat lalu ditimbang.

Fraksinasi etil asetat dan air, residu dari fraksinasi *n*-heksan dipisahkan dicorong pisah dengan menambahkan etil asetat 75 ml sebanyak tiga kali, sehingga didapat fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat merupakan filtrate yang terletak diatas, sedangkan fraksi air merupakan filtrate yang terletak dibawah. Hasil fraksinasi etil asetat yang diperoleh ditampung dalam evaporator pada suhu 40⁰C sampai pekat lalu ditimbang. Fraksi air yang didapat dipekatkan dengan evaporator pada suhu 40⁰C kemudian ditampung dalam *water bath* lalu ditimbang

7. Identifikasi senyawa dari ekstrak daun binahong

Identifikasi kandungan kimia untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam daun binahong. Identifikasi senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan steroid/triterpenoid dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

7.1. Identifikasi Flavonoid. 50 mg ekstrak ditambah 5 ml aquadest dipanaskan selama 1 menit, disaring dan diambil filtratnya. Filtrat ditambah 0,1 gram serbuk Mg, 1 ml HCl pekat dan 1 ml amil alkohol. Campuran ini dikocok kuat- kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah/ kuning/ jingga pada amil alkohol (Depkes 1989).

7.2. Identifikasi alkaloid. 50 mg ekstrak ditambah dengan sedikit larutan HCl 2N dengan dipanaskan, kemudian ditambahkan larutan Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning dan dengan reagen dragendrof terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, maka ada kemungkinan terdapat alkaloid (Depkes 1977).

7.3. Identifikasi Saponin. 50 mg ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan air panas 10 ml, ditunggu sampai dingin lalu dikocok kuat – kuat selama 10 detik. Uji positif bila terbentuk buih yang mantap setinggi 1 – 10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Depkes 1989).

7.4. Identifikasi steroid. 50 mg ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi kecil, kemudian dimasukkan asam asetat anhidrat, dan 2 tetes HCl pekat digojok dengan sedikit ester. Adanya steroid ditunjukkan dengan adanya warna biru (Ngajow 2013).

8. Sterilisasi

Sterilisasi inkas menggunakan formalin. Media agar yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121⁰ C selama 15 menit. Alat-alat dari gelas disterilkan dengan oven pada suhu 170-180⁰C selama 2 jam, sedangkan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung (Suriawira 2005).

9. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* diambil dari suatu biakan murni pada media *Nutrien Agar* (NA) diambil kurang lebih 2 ose dan dibuat suspensi dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) 10 ml yang kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan McFarlan 0,5 yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan 10⁸ CFU/ml, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24. Selanjutnya digunakan untuk identifikasi (Bonang & Koeswardono 1982).

10. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

10.1. Uji *Staphylococcus aureus* secara goresan. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang sudah siap, digoreskan pada media

Vogel Johnson Agar (VJA) dan penambahan kalium tellurit 1% (3 tetes). Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna medium disekitar koloni kuning. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasi manitol menjadi suasana asam dan mereduksi tellurit sehingga membentuk koloni warna hitam. Adanya fenol red maka medium disekitar koloni berwarna kuning karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mereduksi manitol (Hadioetomo 1985).

10.2. Identifikasi biokimia bakteri *Staphylococcus aureus*. Identifikasi secara biokimia yaitu uji koagulase dan uji katalase. Uji koagulase Plasma darah kelinci yang diberi sitrat, diencerkan (1:5) dicampur dengan biakan kaldu yang sama banyaknya dan dieramkan pada suhu 37°C. Suatu tabung plasma dicampur dengan kaldu steril dieramkan sebagai kontrol. Tabung-tabung sering diperiksa dengan melihat pembentukan setiap masa 1-4 jam. Hasilnya positif kuat jika tabung tes dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung.

Uji katalase Suspensi bakteri uji ditanam pada medium Nutrien cair dengan volume 0,5 ml lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C ditambahkan 2-3 tetes bakteri uji ditanam pada medium Nutrien Cair dengan volume 0,5 ml lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C ditambahkan 2-3 tetes H₂O₂ 3%. Hasil positif ditandai adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi H₂ dan O₂. Hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara.

11. Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

11.1. Uji bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara goresan. Bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* diinokulasi pada media *Pseudomonas Selektif Agar* termasuk media selektif dan diferensial. Umumnya identifikasi bakteri dilakukan karena mempunyai kemampuan yang menghasilkan pigmen pyocianin yang berwarna biru dan bersifat larut dalam air, kloroform, pigmen ini non berflourensi dan terbentuk disekeliling koloni dan media selektif *Pseudomonas Agar* diinkubasi selama 24 jam, Pada suhu 37°C.

11.2. Uji identifikasi biokimia bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Identifikasi bakteri berdasarkan uji biokimia dilakukan pada media SIM, KIA, LIA, dan Citrat.

Media *Sulfide Indol Motility* (SIM), biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dengan cara goresan, kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Identifikasi ini bertujuan untuk menguji adanya sulfide, indol, dan motilitas. Uji sulfide positif bila media berwarna hitam. Uji indol positif bila terbentuk warna merah setelah ditambah reagen Erlich A dan B. Uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada media SIM.

Media *Kliger Iron Agar* (KIA), biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dengan cara goresan, kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya fermentasi karbohidrat dan sulfide. Selanjutnya diamati pada bagian lereng dasar terdapat gas serta terbentuknya warna hitam pada media. Uji positif bila pada bagian lereng akan berwarna merah (ditulis K), bagian dasar kuning (ditulis A), terbentuknya gas ditandai pecahnya media (ditulis G+).

Media *Lysin Iron Agar* (LIA), biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dengan cara goresan, kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya deaminasi lisin dan sulfide. Selanjutnya diamati pada bagian lereng serta terbentuknya warna hitam pada media. Bila uji positif maka lereng akan berwarna coklat (ditulis R), berwarna ungu (ditulis K), berwarna kuning (ditulis A), disertai terbentuknya warna hitam pada media (ditulis S+).

Media *Citrat*, biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dengan cara goresan, kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrate sebagai sumber karbon. Uji positif bila media berwarna biru.

12. Pengujian aktivitas antibakteri

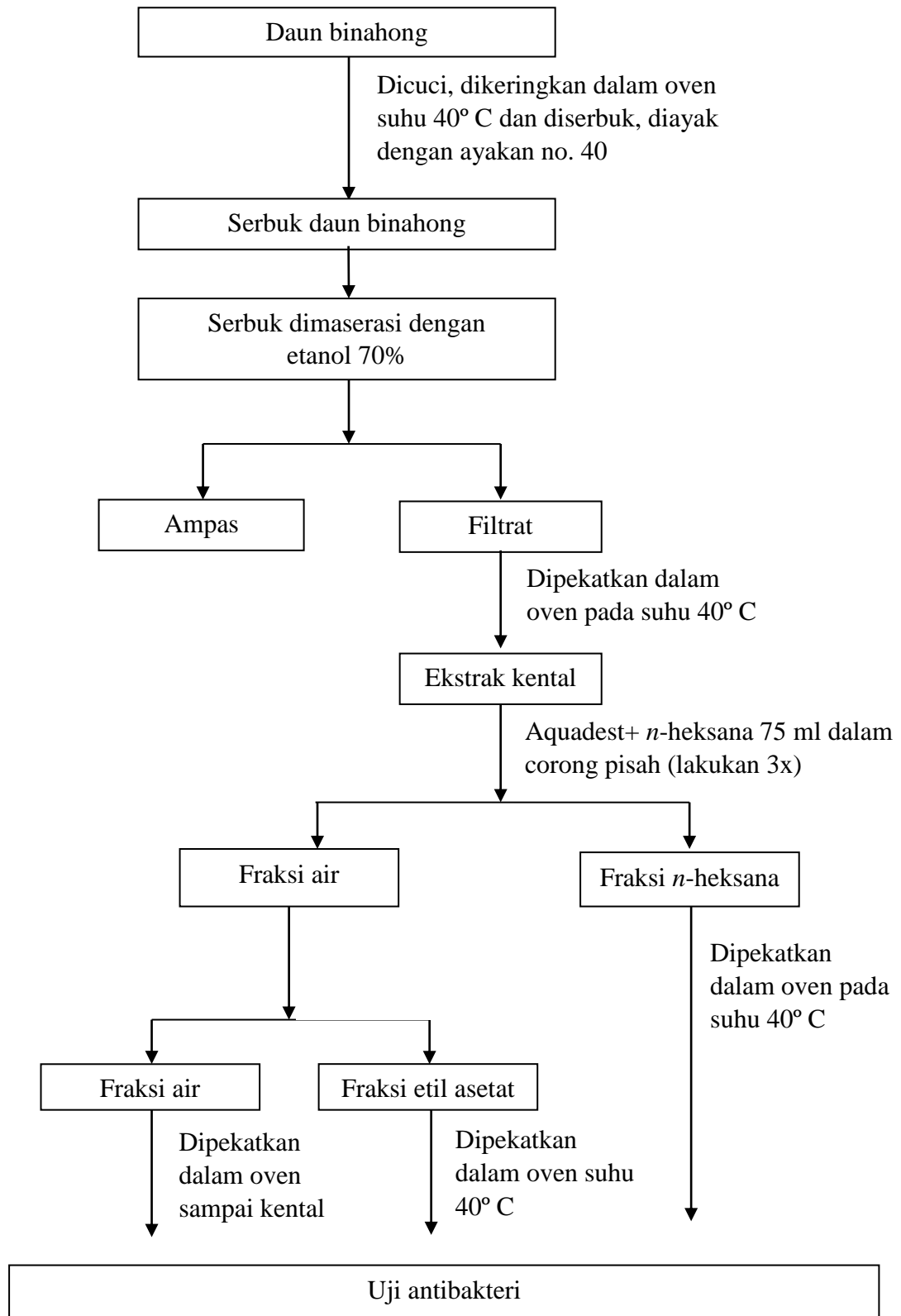
Fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun binahong secara maserasi diuji secara mikrobiologi dengan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Metode yang digunakan adalah metode difusi.

Medium (MHA) pada cawan petri yang diinkubasi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada permukaan dengan cara dioleskan pada medium (MHA) sampai rata dan di diamkan 10 menit pada suhu kamar agar suspense biakan terdifusi kedalam media, kemudian dibuat sumuran dengan menggunakan boor prop sebanyak 5 sumuran dengan jarak yang sama. Masing-masing sumuran diisi dengan fraksi *n*-heksan, etil asetat, air, control positif dan control negative dengan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu 50%, 25%, dan 12,5%. Jumlah bakteri yang digunakan disesuaikan dengan Standart MC Farland 0,5, kemudian diinkubasi padasuhu 37⁰C selama 24 jam untuk pertumbuhan mikroba. Pengukuran diameter zona hambat yang ada disekitar sumuran dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri sekitar sumuran menandakan bahwa kandungan kimia daun binahong memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali.

E. Analisis Data

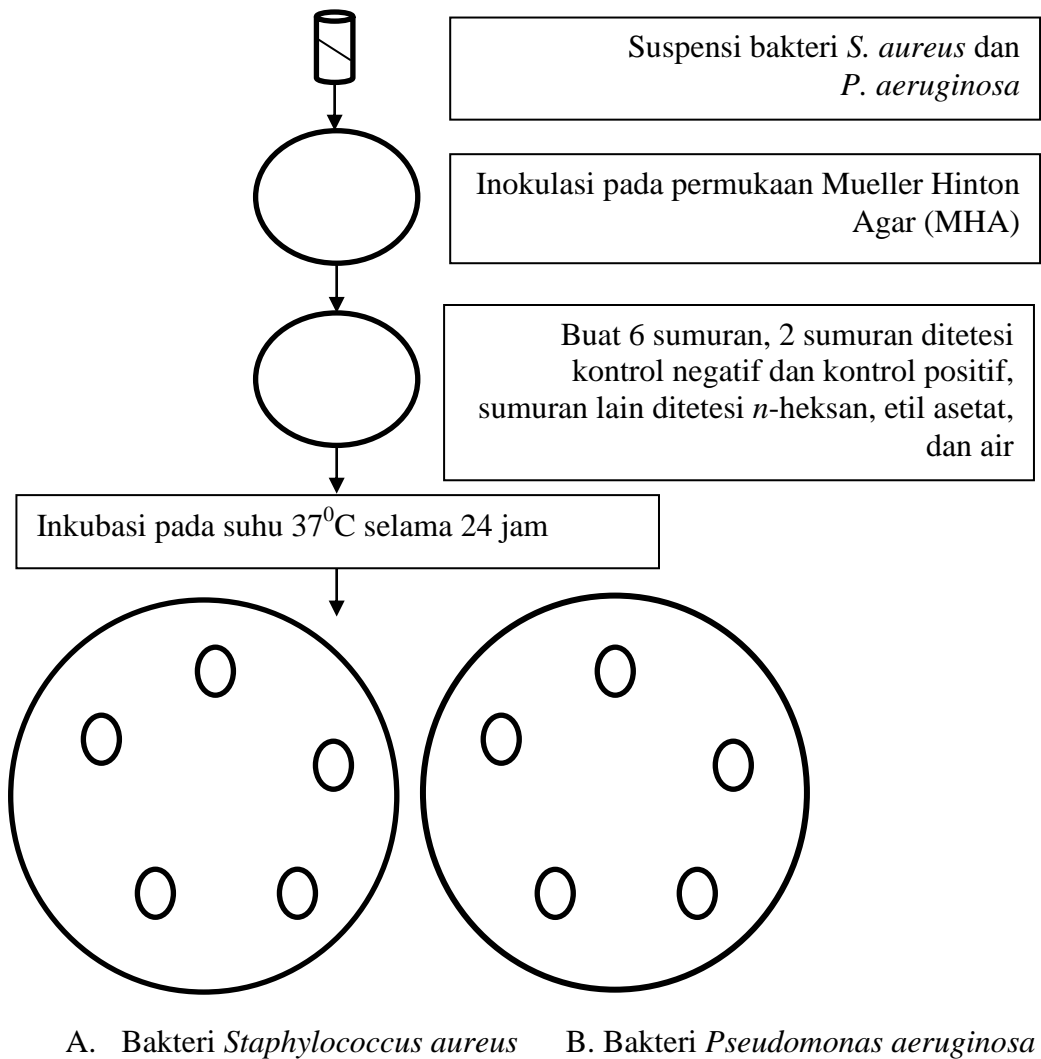
Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan metode difusi sumuran yang dinyatakan dengan nilai zona hambat (zona bening) yang terbentuk disekeliling sumuran. Hasil data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode statistik yang sesuai.

F. Skema Jalannya Penelitian



Gambar 4. Skema pembuatan ekstrak etanolik dan fraksinasi daun Binahong.

Biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*



Keterangan:

A = Ekstrak

B = larutan uji *n*-heksan

C = larutan uji etil asetat

D = larutan uji air

E = kontrol positif (+)

F = kontrol negatif (-)

Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri

BAB 1V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

10. Determinasi dan Deskripsi Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.)

1.1.Determinasi tanaman. Pada penelitian ini dilakukan determinasi dengan tujuan untuk menetapkan kebenaran tanaman binahong yang diambil, hal ini dilakukan untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan serta kemungkinan tercampurnya dengan bahan tanaman lain. Determinasi tanaman binahong dilakukan di unit laboratorium Morfologis Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi. Hasil determinasi tanaman binahong berdasarkan : Backer Flora of Java 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. Familia 49. Basellaceae. 1b. Anredera. 2. *Anredera cordifolia*(Tenore) Steen.)

1.2.Deskripsi tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.). Tanaman binahong berupa tumbuhan menjalar, berumur panjang (perennial), dan bias mencapai panjang + 5 m. Batangnya lunak, berbentuk silindris, saling membelit, dan berwarna merah. Daun dari tanaman ini bertangkai sangat pendek , susunannya berseling, berwarna hijau, dan berbentuk jantung (cordata). Bunganya majemuk berbentuk tandan, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun. Akarnya berbentuk rimpang, berdaging lunak.

11. Hasil Pengeringan dan Pembuatan Serbuk

Persiapan bahan untuk membuat serbuk daun binahong diawali dengan pengumpulan bahan dan kemudian dilakukan pengeringan. Pengambilan bahan diambil secara acak pada bulan November 2016 dari Mojosoongo, Surakarta, Jawa Tengah.

Pengeringan bahan, daun binahong yang telah terkumpul kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari lalu dimasukan kedalam oven pada suhu 25-30⁰C. Pengeringan ini dilakukan dengan tujuan untuk mengurangi kadar air yang

bisa mengakibatkan pertumbuhan jamur dan bakteri atau mikroorganisme lain yang dapat mengakibatkan menurunnya mutu serbuk serta perubahan kimia.

Tabel 1. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun binahong

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Prosentase %
5000	1500	30

Berdasarkan tabel 1 diatas dapat dilihat bahwa prosentase rata-rata hasil pengeringan daun binahong didapat 30% b/b. Hasil dapat dilihat pada lampiran 12 Hasil pembuatan serbuk daun binahong yang telah dieringkan kemudian diserbuk dengan cara di giling dengan alat penggiling kemudian diayak dengan menggunakan pengayak no. 40. Penyerbukan yang dilakukan bertujuan untuk memperluas partikel bahan yang kontak dengan pelarut penyarian dapat berlangsung efektif.

12. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Daun Binahong

Penetapan susut pengeringan dilakukan untuk memperoleh prosentase kadar air yang terdapat dalam serbuk yang diekstraksi.

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun binahong

X	\bar{x}	$d = x - \bar{x} $	d^2
7,0	7	0	0
7,0		0	0
7,5		0,5	0,25
Rata-rata			0,25

Susut pengeringan serbuk daun binahong memenuhi syarat dimana susut pengeringan suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%. Berdasarkan tabel 2 dapat dilihat bahwa prosentase rata-rata susut pengeringan serbuk daun binahong yang dilakukan dengan alat *Moisture Balance* yaitu 0,25 . Data dapat diterima karena $|x - \bar{x}| < 2SD$. Susut pengeringan yang terlalu tinggi yang terdapat dalam serbuk dapat mengaktifkan enzim-enzim dalam simplisia yang dapat berakibat rusak atau berubah komposisi kimia pada simplisia tersebut sehingga menurunkan kualitas.

13. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanolik Daun Binahong

Serbuk daun binahong ditimbang 800 gram kemudian masukkan ke dalam botol coklat, ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 6000 ml dan didiamkan selama 3 hari dengan sesekali digojog. Hasil maserasi disaring menggunakan kain flannel kemudian dipekatkan dalam oven.

Tabel 3. Rendaman ekstrak kental daun binahong

Bobot sampel (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendeman ekstrak (% b/v)
800	161,5	16,15

Ekstrak kental yang diperoleh dari proses maserasi menghasilkan 161,5 gram. Prosentase ekstrak maserasi daun binahong yang didapat sebanyak 16,15 %. Ekstrak kental maserasi tersebut selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan pelarut berturut-turut yaitu *n*-heksan, etil asetat dan air.

14. Hasil Tes Bebas Etanol Ekstrak Daun Binahong

Ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) dilakukan tes bebas etanol dengan melakukan uji esterifikasi alkohol.

Tabel 4. Hasil tes bebas etanol ekstrak etanol daun binahong

Tes bebas alcohol	Pustaka (Voight 1994)	Hasil uji
Ekstrak daun binahong + H ₂ SO _{4conc} + CH ₃ COOH, dipanaskan	Tidak terbentuk bau ester yang Khas dari etanol harum ester	tidak tercium bau

Berdasarkan tabel 4 dapat dilihat bahwa uji ekstrak daun binahong sudah bebas dari pelarutnya yaitu etanol 70% yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol.

15. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Daun Binahong

Kandungan senyawa kimia ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan steroid/triterpenoid. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun binahong dapat dilihat pada tabel 5

Tabel 5. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun binahong

Kandungan Kimia	Pustaka (DepKes 1977; 1989, Robinson 1995, & Ngajow 2013)	Hasil
Alkaloid	terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam	terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam
Saponin	Terbentuk buih yang mantap tinggi 1 – 10 cm + HCl 2N buih tidak hilang	Terbentuk buih yang mantap selama \pm 10 menit setinggi 1-10 cm + HCl 2N buih tidak hilang
Flavonoid	Warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alcohol	Warna kuning pada lapisan amil alcohol
Steroid	Timbul warna ungu atau merah kemudian berubah menjadi hijau	Timbul warna merah kecoklatan kemudian berubah menjadi hijau.

Berdasarkan identifikasi yang telah dilakukan di atas menunjukkan bahwa daun binahong mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, steroid/triterpenoid dan saponin. Gambar dapat dilihat pada lampiran 7.

16. Fraksinasi

Penyarian awal yang telah dilakukan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Pelarut etanol 70% menyari hampir keseluruhan kandungan simplisia, baik nonpolar, semipolar, maupun polar, kemudian dilakukan fraksinasi. Senyawa nonpolar akan terekstraksi dalam pelarut *n*-heksan, senyawa semipolar akan terekstraksi dalam pelarut etil asetat dan senyawa polar akan terekstraksi dalam pelarut air. Dalam pelarut masing-masing maka akan mudah diperkirakan bahan aktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri (Harborne 1987).

Tabel 6. Persentase fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan fraksi air dari daun binahong

Fraksi	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksana	30	0,8	1,33
Etil asetat	30	4,3	7,17
Air	30	8,1	13,5

Tabel 6 menunjukkan fraksinasi ekstrak etanolik daun binahong sebanyak 10 g dalam tiga kali pengulangan lalu difraksinasi dengan *n*-heksan, etil asetat, dan air dengan volume 75 ml kemudian hasil fraksinasi dipekatkan dengan oven pada suhu 40⁰C menghasilkan rendemen fraksi yang berbeda. Semakin tinggi nilai rendemen menandakan bahwa bahan baku tersebut memiliki peluang untuk dimanfaatkan lebih besar. Rendemen merupakan persentase sampel sebelum dan setelah perlakuan. Rendemen setelah pengeringan yaitu sebesar 30%. Artinya setelah melalui proses pengeringan, daun binahong kehilangan berat sebesar 70%. Pada tahap kedua (proses ekstraksi), dari 800 gr daun binahong menghasilkan rendemen ekstrak kental sebesar 16,15%. Hasil fraksinasi yang diperoleh, fraksi air memiliki rendemen yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi *n*-heksan dan etil asetat. Rendemen fraksi air yaitu 13,5%, fraksi *n*-heksan 1,33% dan fraksi etil asetat 7,17%.

17. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

17.1. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

8.1.1 Hasil identifikasi bakteri secara goresan. Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinokulasi pada medium *Vogel Jhonson Agar* (VJA) dalam cawan petri yang berisi 3 tetes kalium tellurit 1% kemudian diinkubasi selama kurang lebih 24-48 jam pada suhu 37⁰C. Hasil goresan yang positif ditunjukkan dengan adanya koloni yang berwarna hitam akibat dari kemampuan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mereduksi kalium tellurit, warna sekitar koloni berwarna kuning akibat dari *Staphylococcus aureus* ATCC

25923 dapat memfermentasi manitol menjadi asam. Gambar dapat dilihat pada lampiran 8

8.1.2 Tes koagulase. Hasil dari koagulase bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan menggunakan plasma atau darah kelinci yang telah ditambahkan dengan sitrat, diencerkan 1:5 kemudian diinkubasi selama 1-4 jam pada suhu 37⁰C. Hasil positif dari percobaan tersebut yaitu terdapat gumpalan putih. Hal ini disebabkan karena bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mengkoagulasi plasma. Gambar dapat dilihat pada lampiran 8.

8.1.3. Tes katalase. Hasil uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 setelah ditambah 2 tetes H₂O₂ 3% akan terbentuk gelembung udara disekitar koloni. Hal ini merupakan uji positif yang disebabkan karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase yang jika ditambah dengan hydrogen peroksida akan terurai menjadi H₂ dan O₂. Uji katalase diuji untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan Streptococcus Karena Streptococcus tidak dapat menghasilkan enzim katalase (Hadioetomo. 1985). Gambar dapat dilihat pada lampiran 8.

8.2. Bakteri *Pseudomonas eruginosa* ATCC 25873.

8.2.1. Identifikasi Bakteri *Pseudomonas eruginosa* ATCC 25873. Identifikasi *Pseudomonas eruginosa* ATCC 25873 diinokulasi pada medium *Pseudomonas Selektif Agar* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. *Pseudomonas eruginosa* ATCC 25873 dengan penampakan koloni hijau yang dihasilkan dari pigmen *pyocyanine*, koloni berbentuk bulat dan halus. Gambar dapat dilihat pada lampiran 9.

8.2.2 Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25873 secara biokimia.

Tabel 7 Hasil identifikasi uji biokimia pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Pengujian	Hasil	Pustaka (Volk & Wheller 1990)
SIM	(-) (-) (+)	(-) (-) (+)
KIA	K/K S-	K/K S-
LIA	K/K S-	K/K S-
Citrat	(+)	(+)

Keterangan :

SIM : Sulfida Indol Motility	A	: Kuning
KIA : Kligler Iron Agar	K	: Merah atau ungu
LIA : Lysin Iron Agar	S	: Sulfida
+ : Reaksi Positif	G	: Gas
- : Reaksi Negatif		

Hasil pengujian pada Media *Sulfida Indol Motilitas* (SIM) untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas. Pengujian dilakukan setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Hasil yang didapat adalah --+ , yang artinya pada uji sulfida *Pseudomonas aeruginosa* tidak dapat mereduksi thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hydrogen sulfide sehingga media tidak berwarna hitam. Uji indol dibuktikan dengan menambahkan tiga tetes reagen Erlich A dan B, permukaan media tidak berwarna merah muda ini berarti uji indol negatif, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak membentuk cincin indol karena tidak terjadi pemecahan asam amino triptopan oleh enzim triptopanase menjadi indol dan asam pyruvat. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak memakai triptopan sebagai salah satu sumber karbon sehingga tidak terjadi reaksi antara indol dan paradimetil amino bensaldehid yang akan membentuk rosindol yang berwarna merah. Uji motilitas positif ditunjukkan dengan penyebaran di media Sulfida Indol Motilitas (SIM) karena terlihat adanya penyebaran disekitar daerah

inokulasi, hal ini menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, yang berarti bahwa bakteri ini memiliki flagel.

Hasil pengujian pada Media *Klinger Iron Agar* (KIA) untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas dan pembentukan sulfida. Pengujian dengan media KIA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C menunjukkan hasil K/K S-. Hasil K/K artinya pada lereng dan dasar media berwarna merah, yang menunjukkan bahwa bakteri tidak memfermentasi glukosa dan laktosa. Hasil S- artinya H₂S negatif ditunjukkan dengan tidak terbentuknya warna hitam pada media, karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H₂S. H₂S akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media sehingga tidak terbentuk warna hitam. Medium KIA mengandung 1% laktosa, 0,1% glukosa, dan phenol red sebagai indikator yang menyebabkan perubahan warna dari merah menjadi kuning dalam suasana asam.

Medium *Lysin Iron Agar* (LIA) untuk mengetahui deaminasi lisin dan sulfida. Pengujian dengan LIA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C menunjukkan hasil K/K S-. Hasil K/K artinya pada lereng dan dasar media berwarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mendeaminasi lisin tetapi mendeakarboksilasi lisin yang menyebabkan reaksi bassas sehingga berwarna ungu diseluruh media, karena warna pembenihan ini mengandung bromkresol ungu dari warna coklat menjadi warna ungu. Hasil S- artinya H₂S negatif ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media LIA karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H₂S. H₂S akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media terbentuk warna hitam.

Hasil pengujian pada media *Citrat* untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Pengujian dengan medium citrat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya warna biru pada media citrat. Hal ini karena *Pseudomonas aeruginosa* mampu menggunakan citrat sebagai sumber karbon maka menyebabkan suasana menjadi basa sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru karena pada medium citrat terdapat indikator BTB (Bromo thymol blue) yang merupakan indikator pH. Hasil uji identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada lampiran 9

18. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Secara difusi

Pengujian antibakteri secara difusi. Pengujian aktivitas dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi menggunakan metode difusi yaitu dengan mengetahui hambatan pertumbuhan dari biakan bakteri uji. Hasil dari fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun binahong dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* untuk mengetahui fraksi yang paling aktif.

Pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi ekstrak daun binahong terhadap bakteri uji dengan konsentrasi larutan 50%, 25%, 12,5% dan pembanding control positif Siprofloksasin, control negative DMSO 1%. Pembuatan suspensi bakteri uji disesuaikan dengan kekeruhan modifikasi standart Mc. Farland. Masa inkubasi 24 jam pada suhu 37⁰C, ada tidaknya daya hambat yang teramati dalam ukuran mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar sumuran yang menandakan bahwa kandungan ekstrak daun binahong memiliki daya hambat terhadap bakteri uji. Pengujian aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air terhadap bakteri uji menunjukkan daya hambat, ini dibuktikan dengan adanya daerah jernih disekitar sumuran yang tidak ditumbuhi bakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi dapat dilihat pada lampiran 10 dan 11.

Tabel 8. Diameter hambat uji aktivitas secara difusi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Sediaan uji	Konsentrasi	Diameter			Rata-rata
		Replikasi			
		1	2	3	
Ekstrak	50%	12	14	10	12
<i>n</i> -heksan	50%	13	12	12	12,33
Etil asetat	50%	16	15	15	15,67
Air	50%	14	14	14	14
Ekstrak	25%	12	12	13	12,33
<i>n</i> -heksan	25%	12	11	12	11,67
Etil asetat	25%	14	13	13	13,33
Air	25%	13	12	13	12,67
Ekstrak	12,50%	10	10	10	10
<i>n</i> -heksan	12,50%	10	11	11	10,67
Etil asetat	12,50%	13	12	13	12,67
Air	12,50%	12	12	11	11,67
Kontrol (+)	20	20	20		20
Kontrol (-)	0	0	0		0

Tabel 9. Diameter hambat uji aktivitas secara difusi terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Sediaan uji	Konsentrasi	Diameter			Rata-rata
		Replikasi			
		1	2	3	
Ekstrak	50%	13	12	12	12,33
<i>n</i> -heksan	50%	14	13	13	13,33
Etil asetat	50%	17	16	17	16,67
Air	50%	15	14	14	14,33
Ekstrak	25%	12	11	12	11,67
<i>n</i> -heksan	25%	12	13	12	12,33
Etil asetat	25%	15	14	14	14,33
Air	25%	14	12	12	12,67
Ekstrak	12,50%	10	10	10	10
<i>n</i> -heksan	12,50%	11	12	12	11,67
Etil asetat	12,50%	13	13	13	13
Air	12,50%	13	11	11	11,67
Kontrol (+)	20	20	20		20
Kontrol (-)	0	0	0		0

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai uji aktifitas antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode sumuran pada konsentrasi 50%, 25%, dan 12.5% diperoleh rata-rata diameter zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* untuk ekstrak etanol pada konsentrasi 50% adalah 12.33 mm, konsentrasi 25% adalah 11.67 mm dan konsentrasi 12.5% adalah 10 mm. Untuk fraksi *n*-heksana pada konsentrasi 50% adalah 13.33 mm, konsentrasi 25% adalah 12.33 mm dan konsentrasi 12.5% adalah 11.67. Untuk fraksi etil asetat pada konsentrasi 50% adalah 16.67 mm, konsentrasi 25% adalah 14.33 mm dan konsentrasi 12.5% adalah 13 mm. Untuk fraksi air pada konsentrasi pada konsentrasi 50% adalah 14.33 mm, konsentrasi 25% adalah 12.67 mm dan konsentrasi 12.5% adalah 11.67 mm. Rata-rata zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* untuk ekstrak etanol pada konsentrasi 50% adalah 12 mm, konsentrasi 25% adalah 12 mm dan konsentrasi 12.5% adalah 10 mm. Untuk fraksi *n*-heksana pada konsentrasi 50% adalah 12.33 mm, konsentrasi 25% adalah 11.67 mm dan konsentrasi 12.5% adalah 10.667. Untuk fraksi etil asetat pada konsentrasi 50% adalah 15.33 mm, konsentrasi 25% adalah 13.33 mm dan konsentrasi 12.5% adalah 12.67 mm. Untuk fraksi air pada konsentrasi pada konsentrasi 50% adalah 14 mm, konsentrasi 25% adalah 12.67 mm dan konsentrasi 12.5% adalah 11.67 mm.

Selisih antara diameter zona hambat membuktikan bahwa efek antibakteri siprofloksasin masih lebih besar dibandingkan dengan antibakteri yang ada pada ekstrak daun binahong dan fraksi pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Analisis data yang diperoleh dari hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi secara statistik Analisis Of Varians (ANOVA) *oneway*. Anova *oneway* untuk membandingkan ekstrak dan fraksi pada setiap konsentrasi.

Data uji One - Sample Kolmogorov-Sminor untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh signifikansi = $901 > 0,05$ dan maka H_0 diterima. Berdasarkan data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan analisis of variansi (ANOVA).

Hasil uji anova *oneway* pada tabel diameter hambat didapatkan hasil $F = 72,630$ dan 144.423 dengan probabilitas $0,000 < 0,05$ berarti kesembilan sediaan uji tersebut menunjukkan adanya perbedaan nyata pada penghambatan aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan tabel *tukey test* dan dapat dijelaskan bahwa ada tanda* pada *Mean Difference*, maka perbedaan tersebut signifikan dengan maksud memiliki perbedaan diameter penghambatan aktivitas antibakteri, sedangkan tidak ada tanda * maka perbedaan signifikan dengan maksud tidak memiliki perbedaan diameter penghambatan aktivitas antibakteri. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa fraksi etil asetat yang memiliki aktivitas antibakteri lebih optimal dalam membunuh *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* jika dibandingkan dengan fraksi *n*-heksan dan fraksi air. Fraksi etil asetat memiliki zona hambat yang paling besar dibandingkan fraksi *n*-heksan dan fraksi air. Karena fraksi etil asetat dengan konsentrasi 50% lebih menarik senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun binahong yaitu flavonoid dan alkaloid. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi ini menggunakan control negative DMSO 1% yang dalam pengujian ini tidak aktif dalam menghambat bakteri uji.

Namun demikian penggunaan antibiotik Siprofloksasin sebagai control positif masih lebih efektif digunakan di masyarakat dibanding hasil fraksi daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Kemampuan ekstrak daun binahong dalam menghambat pertumbuhan bakteri dikarenakan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin dan triterpenoid. Mekanisme penghambatan pertumbuhan mikroorganisme dapat dilakukan melalui penghambatan sintesis dinding sel, penghambatan fungsi membran sel, penghambatan sintesis protein dan penghambatan pertumbuhan sel bakteri. Cara penghambatan struktur dinding sel dan membran sel bakteri, yaitu dengan menggunakan gugus $-OH$ senyawa fenol yang dapat mendenaturasi protein dan dapat melarutkan lemak dengan cara berikatan dengan membran sel sehingga dengan adanya senyawa ini rantai karbon menjadi terputus sehingga terbentuk celah pada membran sel. Senyawa flavonoid memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein sel bakteri melalui

ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen dan flavonoid menyebabkan struktur dinding sel dan membran sel bakteri menjadi tidak stabil dan mengakibatkan sel lisis. Alkaloid juga memiliki aktivitas yang sama, yakni merusak dinding sel melalui komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Perusakan peptidoglikan dapat melalui perusakan ikatan hidrogen antara peptida yang menyusunnya sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian. Komponen sel lain yang menjadi target setelah dinding sel adalah membran sel. Senyawa saponin dapat merusak membran sel bakteri dengan cara berinteraksi dengan membran sel. Hal tersebut dapat terjadi karena saponin mempunyai sisi aktif pada permukaan sel yang memungkinkan untuk berikatan dengan senyawa penyusun membran sel bakteri, yaitu lipid. Ikatan tersebut mengakibatkan terbentuknya senyawa kompleks yang sulit dipisahkan dan mengakibatkan ikatan normal fosfolipid dalam membran terlepas. Lepasnya ikatan normal menyebabkan aktivitas enzim pada membran menjadi terganggu dan akibatnya metabolisme sel juga terganggu. Perusakan membran sel tersebut mengakibatkan tegangan lapisan sel menjadi lemah sehingga senyawa akan masuk ke dalam sitoplasma dan merusak ribosom dengan cara mengganggu proses replikasi dan transkripsi. Akibat terganggunya proses tersebut maka sintesis protein serta proses metabolisme juga terganggu sehingga menyebabkan kerusakan dan kematian sel. Kerja zat antibakteri yang terdapat pada ekstrak daun binahong dapat dipengaruhi oleh banyak faktor. Faktor-faktor tersebut harus dipertimbangkan agar zat antibakteri dapat bekerja secara efektif. Beberapa hal yang dapat mempengaruhi kerja zat antibakteri adalah konsentrasi zat antibakteri, jumlah bakteri, jenis bakteri, dan suhu.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

C. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, fraksi etil asetat merupakan fraksi yang mempunyai aktivitas antibakteri paling besar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

D. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut aktivitas antibakteri daun binahong terhadap bakteri yang lain.

Kedua, perlu dilakukan identifikasi fraksi teraktif dengan metode kromatografi lapis tipis

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, Bahar. 2007. *Chemistry Of Natural Products*. New Delhi: Department of Pharmaceutical Chemistry Faculty of Science JamiaHamdard
- Al Rubiy, K.K, N.N. Jaber, B.H. Al Mhaawe& L.K. Alrubaay. 2008. *Antimicrobial of Henna Extract*. Oman Medical Journal.
- Anonim. 1993. *Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*, PengembanganObatBahanAlam. KelompokKerjallmiah. Jakarta, hlm 143.
- Ardiyanto, D. 2009. *Uji Aktifitas Krim Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia) sebagai Penyembuh Luka Bakar pada Kulit Punggung Kelinci*. Skripsi. Surakarta: FakultasFarmasiUniversitasMuhammadiyah Surakarta.
- Beatrice, L. 2010. *Daya Antibakteri Ekstrak Buah Mahkota Dewa (Phaleria Macrocarpa .Scheff (Boerl.)) Terhadap Enterococcus Faecalis Sebagai Bahan Medikamen Saluran Akar Secara In Vitro*. Skripsi. Universitas Sumatera Utara: Medan.
- Bergey NR, Kreig JG, Holt PH. 1994. *Determinative Bacteriology*. IX edition. USA : Baltimore Maryland
- Bridson EY. 1998. *The Oxoid Manual*. 8th Edition. England: Oxoid Limited Hampsire.
- Bonang G.,KoeswardonoE.S.1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik*. Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Katolik Indonesia, Atmajaya. PT. Gramedia. Jakarta
- Darmandi, 2008, *Infeksi Nokomial: problematika dan pengendaliannya*. Jakarta: salemba medika
- Darsana I, Besug I, Mahatmi H. 2012. *Potensi daun binahong (Anredera cordifolia Steenis) dalam menghambat pertumbuhan bakteri Escherichia colis ecara in vitro*. *Indonesia Medicus Veterinus* 1(3): 337-351.
- Denyer Stephen P. Norman A. Hodges and Sean P. Gorman. 2004. *Pharmaceutical Microbiology*. 7th. Victoria, Australia: Blachwell Science
- [DepKes RI]. 1977. *Sediaan Galenik*. Jakarta: DepartemenKesehatanRepublik Indonesia
- [DEPKES]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: DepartemenKesehatanRepublik Indonesia

- [DepKes RI]. 1989. *Materia Medika*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- DEPKES]. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
- [DEPKES], 1985. *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Dwidjoseputro. 1990. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Surabaya. Hlm 111-124. *Luka Bakar*. Jakarta: EGC
- Entjang I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Bandung: Penerbit PT Citra Aditya Bakti.
- Ganiswarna, S.E., 1995. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 1V. Bagian Farmakologi, Universitas Indonesia, Jakarta
- Goodman & Gilman. 2008. *Dasar Farmakologi Terapi*. Volume 2. Jakarta; Buku Kedokteran EGC
- Gunawan, D. dan Mulyani, S. 2004. *Farmakognosi*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Gupte, S. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Alih bahasa ; Suryawidajaja J.E; Penerbit bina Rupa Aksara, Jakarta Hal ; 20-24, 55, 82-85, 179-185, 262-265, 286-288.
- Hadioetomo, S.G. 1985. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Institut Pertanian. Bogor
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB
- Harborne, J, B. 2007. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. 4th. Alih Bahasa: K. Padmawinata. Bandung: ITB Press.
- Hariana, Arief. 2013. *262 Tumbuhan Obat Dan Khasiatnya*, Jakarta: Penebar Swadaya, 2013.
- Heinrich, Michael., Barnes, Joanne., Gibbons, Simon., Williamso, Elizabeth M. 2004. *Fundamental of Pharmacognosy and Phtotherapy*. Hungary: Elsevier
- Iskamto B. 2009. *Bakteriologi Kesehatan*. Editor: Harti AS. Sebelas Maret University Press. Surakarta.

- Jawetz, E, Melnick, J.L. Adelberg, E.A, editor. 1986. *Review of Medical Microbiology*, ed. 16th, California; Lange medical publication. Hlm 256-262.
- Jawetz, J.L., and Edelberg, E.A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya: Selemba Medika
- Jawetz, E., Melnick, J.L., and Edelberg, E.A., 2007. *Medical Microbiology*. 23rd Ed. Elferia NR, penerjemah: Jakarta. Hal 170, 225-228, 266-270.
- Karsinah, Lucky HM, Suharto, Mardiasuti HW. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Jakarta : Bina Rupa Aksara
- Kristijono A. 2008. *Obat Tradisional dan Fitofarmaka*. Kediri: Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri
- Kusdarwati R, Sari L, Taufiq AM. 2010. *Antibacterial effort of adas fruits (Feonikumvulgare) extract on Micrococcus Luteus bacterial by in vitro*. *Jurnal Imiah perikanan dan kelautan*. 2 (1) : 31-35.
- Lenny S. 2006. *Senyawa Flavonoid, Fenil propanoida dan Alkaloida*. Medan .Fakultas MIPA. USU
- List P. H., P. C. Schmidt. 2000. *Phytopharmaceuticals Technology*. Alih Bahasa: David Ellaby. Florida: CRC. Press.
- Madduluri, Suresh. Rao, K.Babu. Sitaram, B. 2013. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.:5(4): 679-684.
- Martini, F.H. 2001. *Fundamental of Anatomy & Physiology. Fifth Edition*. San Francisco: Pearson
- Manoi, F. 2009. Binahong *Anredera cordifolia* Ten.) Steenis sebagai obat. *Jurnal Warta Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Industri*. Volume 15 Nomor 1:3
- Moenadjat Y. 2009. *Luka bakar masalah dan tata laksana*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Mus. 2008, Informasi spesies Binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.
- Naim, R. (2004). *Senyawa Antimikroba dari Tanaman*
- Ngajow M, Abidjulu J, Vanda SK. 2013. *Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (Pometiapiinnata) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus secara In Vitro*. *Jurnal MIPA Unsrat Online*.

- Pelzcar, M. J. dan Chan, G. C. S. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Hadioetomo Praeparandi. 1978. *Card System Analisa Kimia Farmasi Kualitatif*. Bandung: Seksi Diktat Stenhl.
- Pratiwi S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Airlangga.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-4 Terjemahan Kosasih Padmawinata. ITB Press. Bandung.
- Sabir, A. 2005. *Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propoli sTrigonasp terhadap bakteri Streptococcus mutans (in vitro)*. Majalah Kedokteran Gigi.
- Siagian 2015. Uji efektivitas ekstrak daun binahong (*Anredera Cordifolia Steenis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* secara in vitro.
- Syamsuhidayat, R, Wim de Jong. 1997. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jakarta:EGC
- Silvana Rimpoporok¹), Billy J. Kepel²), Krista V. Siagian) 2015. Uji efektivita sektrak daun binahong (*Anredera Cordifolia Steenis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* secara in vitro.
- Simanjuntak, M.R. 2008. *Ekstraksi dan Fraksinasi Komponen Ekstrak Daun Tumbuhan Senduduk (Melastoma malabathricum) serta Pengujian Efek Sediaan Krim Terhadap Penyembuhan Luka Bakar*. Skripsi. Medan: Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara..
- Sulistiono D. A. 2012. *Flavonoid*. Fakultas MIPA. Universitas Mataram
- Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Tapas Sinar Sinarti.
- Todar's K., Medison P., Wisconsin. 2004. *Online Texbook of Bacteriology, Science Megazine, Vol. 304*.
- Voigt, R., 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Noerono S, penerjemah; Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Volk dan Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi Kelima. Jilid I. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Volk WA, Wheeler MF. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Markham, penerjemah; Adisoemarti S, editor. Jakarta: Erlangga. Terjemahan dari: *Basic Microbiology*. Hlm 97, 331-335

Wijayakusuma HMH. 1992. *Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia*. Jilid 1.
Jakarta: PustakaRini.

Wunderlin, R.P. dan Hansen, B. F. 2008. *Atlas of florida Vascular Plants*.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil determinasi daun Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen)



No : 177/DET/UPT-LAB/07/IV/2017

Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Serfia Ngobe

NIM : 17113250 A

Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.)**

Determinasi berdasarkan : **Backer Flora of Java**

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

Deskripsi :

Habitus : Herba, menahun, tumbuh menjalar.

Akar : Rimpang.

Batang : Lunak, silindris, berwarna merah, saling membelit, masif, permukaan halus, dapat membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan permukaan kasar dan tidak beraturan.

Daun : Tunggal, bulat telur, tangkai pendek, berseling, pangkal berlekuk, ujung runcing atau tumpul, tepi rata, permukaan daun licin, panjang 6,5 – 9,5 cm, lebar 4,4 – 7,6 cm, tulang daun menyirip, tebal, berdaging, hijau tua.

Bunga : Majemuk, tandan, bertangkai panjang, muncul dari ketiak daun, daun mahkota 5, berwarna krem keputihan, tidak berlekatan, berbau harum.

Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands.

Surabaya, 07 April 2017

Tentu determinasi

Dra. Kasmah Wirjosandjojo, SU.

Lampiran 2. Gambar daun, serbuk dan ekstrak etanol Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen)



Daun binahong



Serbuk



Ekstrak daun binahong

Lampiran 3. .foto botol maserasi, fraksinasi daun binahong, dan evaporator



Botol maserasi



Evaporator



Fraksinasi

Lampiran 4. Foto timbangan dan incubator



Timbangan



Incubator

Lampiran 5. Foto Moisture balance



Moisture balance

Lampiran 6. Foto Inkas dan alat Vortex**Inkas****Vortex.****Lampiran 7. Foto identifikasi senyawa kimia dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen)****Alkaloid****Saponin****Flavonoid****Triterpenoid**

Lampiran 8. Foto identifikasi senyawa fraksi n-heksan dari ekstrak etanol daun binahong



Triterpenoid

Lampiran 9. Foto identifikasi senyawa fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun binahong



Flavonoid



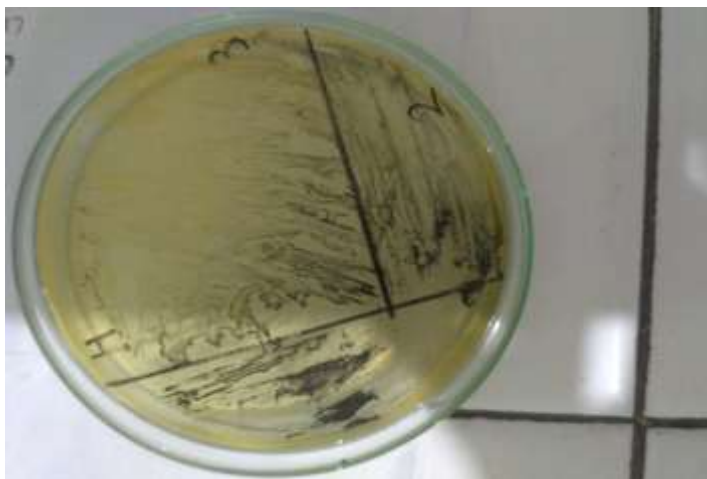
Alkaloid

Lampiran 10. Foto identifikasi senyawa fraksi air dari ekstrak etanol daun binahong



Saponin

Lampiran 11. Foto identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara goresan pada media VJA



Koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 25932 pada media VJA

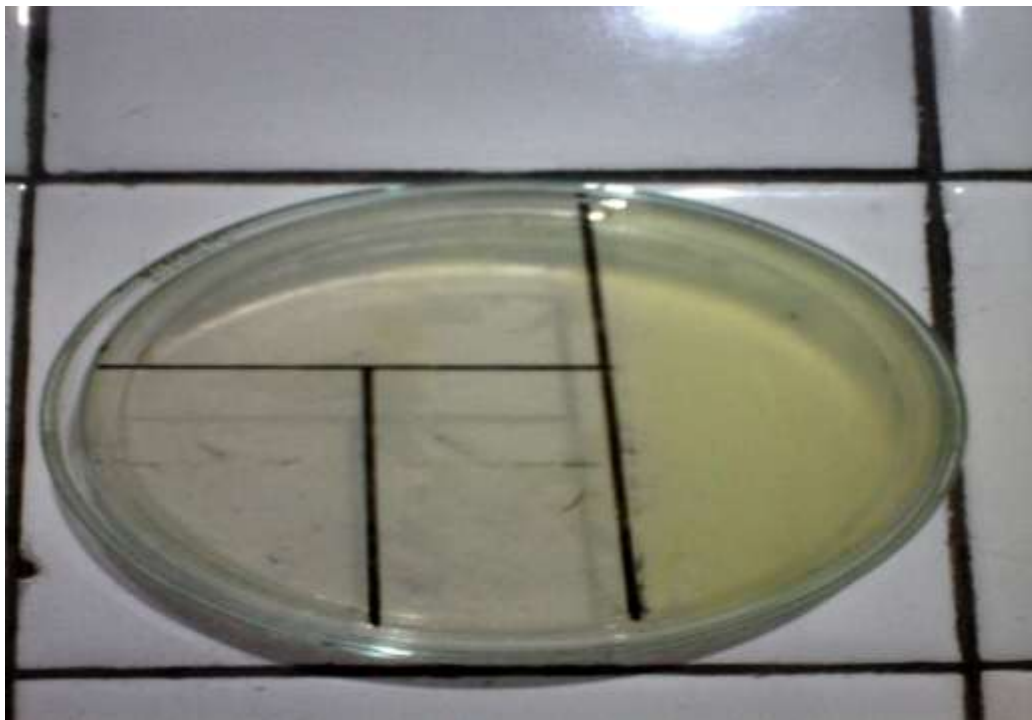


uji koagulase



uji katalase

Lampiran 12. Foto identifikasi bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara goresan pada media PSA



Koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media PSA



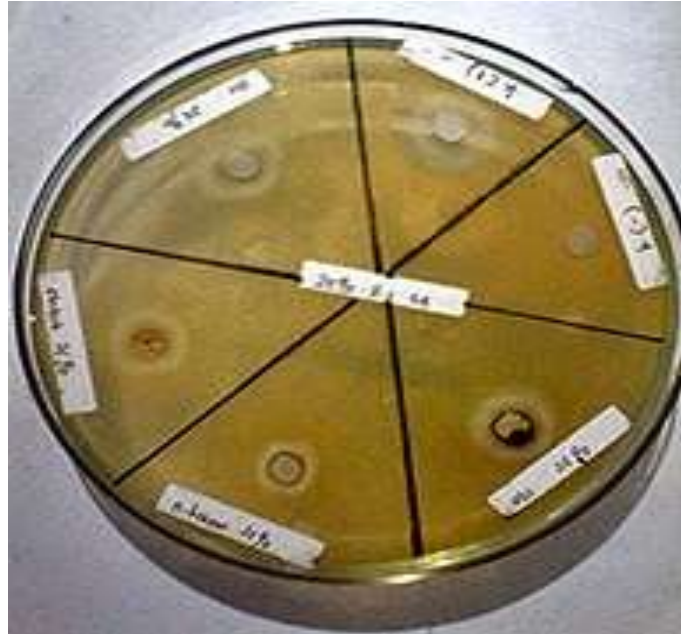
Uji biokimia *Pseudomonas aeruginosa*

Lampiran 13. Foto hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi 50 %.



Uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi 25%.



Uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi 12.5%

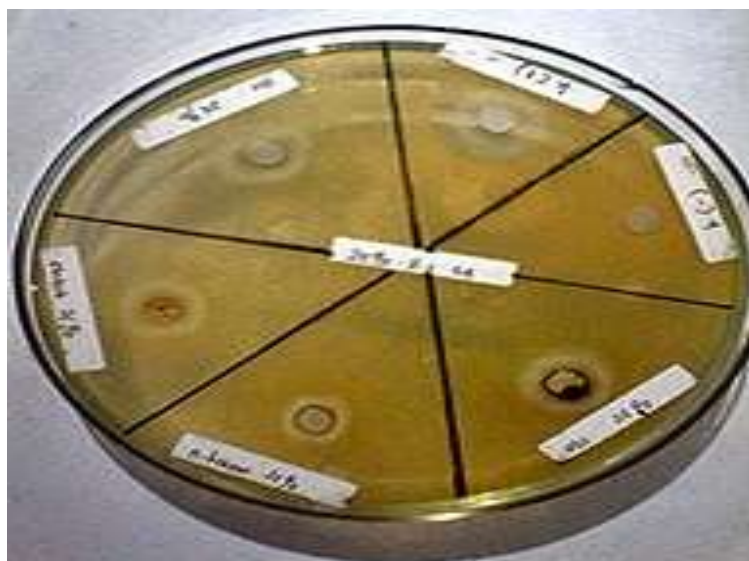


Lampiran 14. Foto hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

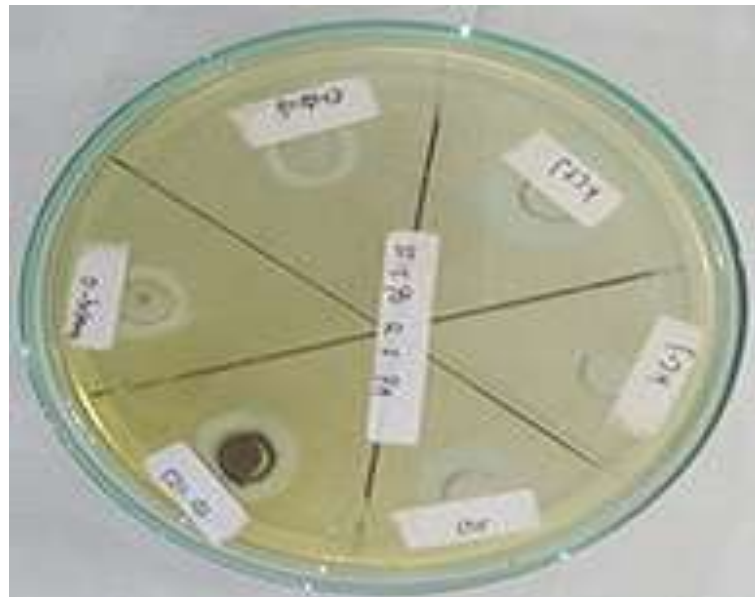
Uji aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan konsentrasi 50 %.



Uji aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan konsentrasi 25 %.



Uji aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan konsentrasi 12.5 %.



Lampiran 16. Hasil penetapan kadar air dalam serbuk daun binahong.

Kriteria penolakan data $> 2SD$. Data dicurigai 7,5%

 \bar{x} \bar{x}

$$SD = \frac{\sqrt{0,25}}{3 - 1}$$

$$= \sqrt{0,125}$$

$$SD = 0,354$$

$$2SD = 0,708$$

$$\text{Rata - rata} = \frac{7,0 + 7,0}{2} = 7$$

Data ditolak apabila $|x - \bar{x}| > SD$ dimana dicurigai $|7,5 - 7| = 0,5 < 2SD$, maka data dapat diterima.

Lampiran 17. Hasil perhitungan rendemen fraksi *n*-heksan dari ekstrak etanolik daun binahong

--	--	--	--	--

$$\text{Rumus} = \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen} = \frac{0,8}{60} \times 100\% = 1,33\% (b/b)$$

Lampiran 18. Hasil perhitungan rendemen etil asetat dari ekstrak etanolik daun binahong

--	--	--	--	--

$$\text{Rumus} = \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen} = \frac{4,3}{60} \times 100\% = 7,17\% \text{ (b/b)}$$

Lampiran 19. Hasil perhitungan rendemen air dari ekstrak etanolik daun binahong

$$\text{Rumus} = \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen} = \frac{8,1}{60} \times 100\% = 13,5\% (b/b)$$

Lampiran 20. Pembuatan larutan dengan berbagai konsentrasi.

1. Pembuatan konsentrasi 50 %

$$50\% = \frac{50 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{1 \text{ gram}}{2 \text{ ml}}$$

Menimbang ± 1 g hasil ekstrak etanolik atau fraksi kemudian masing-masing ditambah DMSO 1% sampai volume 2 ml, kecuali fraksi air menggunakan aquadest steril.

2. Pembuatan konsentrasi 25%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 50\% = 1 \text{ ml} \times 25\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 25\%}{50\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (50%) kemudian ditambah DMSO sampai volume 1 ml.

3. Pembuatan konsentrasi 12,5 %

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 25\% = 1 \text{ ml} \times 12,5\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 12,5\%}{25\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (25%) kemudian ditambah DMSO sampai volume 1 ml.

Lampiran 21.Perhitungan Sipprofloksasin

Dosis 250 mg/100ml

250 mg dilarutkan dalam 100 ml aquadest steril

Lampiran 22. Formulasi dan pembuatan media

1. Formulasi dan pembuatan N.A (Nutrien Agar).

Ekstrak daging	3,0 gram
Peptone from meat	5,0 gram
Agar.....	15 gram
pH.....	6,8 ± 0,2

Cara : Reagen tersebut diatas ditimbang 23 gram dan dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml kemudian dipanaskan sampai larut sempurna, dituangkan dalam tabung steril, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. Formulasi *Vogel Jhonson Agar* (VJA)

Peptone dari kasein	10 gram
Ekstrak ragi	5 gram
Di-potasium fosfat	5 gram
(-) Manitol	10 gram
Klorida lithium.....	5 gram
Glisine	10 gram
Fenol red	0,025 gram
Agar	16 gram
pH.....	7,2 ± 0,2

Cara : Reagen tersebut diatas di timbang 61 gram dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, dituang dalam tabung reaksi steril, kemudian disterilkan dalam autoclave 121°C selama 15 menit. Dan tambahkan kalium telurit 3 tetes dicawan petri dan setelah itu tambahkan media VJA yang sudah di autoclaf.

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

Infus dari otak sapi	12,5 gram
Infus dari hati sapi	5 gram

Protease peptone	10 gram
Glukosa	2 gram
Sodium chloride	5 gram
Di-sodium fosfat	2,5 gram
pH.....	7,4 ±0,2

Cara : Reagen tersebut diatas d timbang 37 gram dilarutkandalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, dituang dalam tabung reaksi steril kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

4. Formulasi dan pembuatan *Muller Hinton Agar* (MHA)

Meat infusion	300 gram
Amilum	1,5 gram
Kasein hydrolysate	17,5 gram
Agar.....	17 gram
pH.....	7,3 ± 0,1

Cara : Reagen-reagen diatas di timbang 38 gram dan di larutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

5. Formulasi dan pembuatan Media *Sulfida Indol Motility* (SIM).

Peptone from casein.....	20 gram
Peptone from meat	6,6gram
Ammonium iron (II) citrate	0,2 gram
Sodium thiosulfate	0,2 gram
Agar-agar	3,2 gram
pH.....	7,3 ± 0,2

Cara : Reagen tersebut diatas timbang 26 gram dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, dituang dalam tabung reaksi steril kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

6. Formulasi dan pembuatan *Kliger Iron Agar* (KIA)

Lab. Lemco powder	3 gram
Peptone	20 gram
Yeast extract.....	3 gram
Sodium chloride	5 gram
Laktosa.....	10 gram
Glukosa	1 gram
Sodiumthiosulfat	0,3 gram
Phenol red	0,5 gram
Ferisitrat	0,3 gram
pH.....	7,4 ± 0,2

Cara : Reagen tersebut diatas timbang 56 gram dilarutkandalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, dituang dalam tabung reaksi steril kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

7. Formulasi dan pembuatan *Lysine Iron Agar* (LIA)

Pancreatic dan digest of gelatin	5 gram
Yeast extract.....	3 gram
Dextrose	1 gram
Lysine monohydrochloride	10 gram
Ammonium Iron (II) citrat	0,5 gram
Sodium thiosulfat	0,04 gram
Bromo cresol Purple	0,02 gram
Agar-agar	13,5 gram
pH.....	6,7 ± 0,2

Cara : Reagen tersebut diatas di timbang 33 gram dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, dituang dalam tabung reaksi steril kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

8. Formulasi dan pembuatan Citrat

Ammonium hydrogen fosfat	1 g
Di-potassium hydrogen fosfat	1 g
Sodium chloride	5 g
Sodium citrate	2g
Magnesium sulfat	0,2 g
Bromo thymol blue	0,08 g
Agar-agar	15 g
pH.....	6,9 ± 0,2

Cara : Reagen tersebut diatas di timbang 24 gram dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, dituang dalam tabung reaksi steril kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

9. Formulasi dan pembuatan *Pseudomonas Selektif Agar*(PSA).

Peptone from gelatin	20 gram
Magnesium chloride.....	1,4 gram
Potassium sulfat	10 gram
Irgasan	25 mg
Gliserol	20 ml
Agar	13,6 gram
pH.....	7,2

Cara : timbanglah semua bahan diatas 76 gram dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, biarkan mendidih selama 3 menit dituang dalam tabung reaksi secara aseptis tiap tabung 10 ml.

Lampiran 23. Analisis data uji Anova antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dengan konsentrasi 50%, 25%, 12.5% pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Diameter	27	11.22	4.619	0	18
Fraksi N-heksana, Fraksi etil asetat, dan Fraksi air	27	5.00	2.631	1	9

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter	Fraksi N-heksana, Fraksi etil asetat, dan Fraksi air
N		27	27
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	11.22	5.00
	Std. Deviation	4.619	2.631
Most Extreme Differences	Absolute	.285	.110
	Positive	.165	.110
	Negative	-.285	-.110
Kolmogorov-Smirnov Z		1.479	.570
Asymptotic Significance (2-tailed)		.025	.901

a. Test Distribution is Normal

b. Calculated from data

Oneway**Test of Homogeneity of Variances**

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Significance
2.082	8	18	.094

ONEWAY ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
Between Groups	538.000	8	67.250	72.630	.000
Within Groups	16.667	18	.926		
Total	554.667	26			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Diameter
Tukey HSD

(I) Fraksi N-heksana, Fraksi etil asetat, dan Fraksi air	(J) Fraksi N-heksana, Fraksi etil asetat, dan Fraksi air	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Fraksi N-heksana 50%	Fraksi etil asetat 50%	-6.000 [*]	.786	.000	-8.75	-3.25
	Fraksi air 50%	.000	.786	1.000	-2.75	2.75
	Fraksi N-heksana 25%	-.333	.786	1.000	-3.09	2.42
	Fraksi etil asetat 25%	-1.333	.786	.741	-4.09	1.42
	Fraksi air 25%	1.333	.786	.741	-1.42	4.09
	Fraksi N-heksana 12.5%	12.000 [*]	.786	.000	9.25	14.75
	Fraksi etil asetat 12.5%	.333	.786	1.000	-2.42	3.09
Fraksi air 12.5%	1.000	.786	.927	-1.75	3.75	
Fraksi etil asetat 50%	Fraksi N-heksana 50%	6.000 [*]	.786	.000	3.25	8.75
	Fraksi air 50%	6.000 [*]	.786	.000	3.25	8.75
	Fraksi N-heksana 25%	5.667 [*]	.786	.000	2.91	8.42
	Fraksi etil asetat 25%	4.667 [*]	.786	.000	1.91	7.42
	Fraksi air 25%	7.333 [*]	.786	.000	4.58	10.09
	Fraksi N-heksana 12.5%	18.000 [*]	.786	.000	15.25	20.75
	Fraksi etil asetat 12.5%	6.333 [*]	.786	.000	3.58	9.09
Fraksi air 12.5%	7.000 [*]	.786	.000	4.25	9.75	
Fraksi air 50%	Fraksi N-heksana 50%	.000	.786	1.000	-2.75	2.75
	Fraksi etil asetat 50%	-6.000 [*]	.786	.000	-8.75	-3.25
	Fraksi N-heksana 25%	-.333	.786	1.000	-3.09	2.42
	Fraksi etil asetat 25%	-1.333	.786	.741	-4.09	1.42
	Fraksi air 25%	1.333	.786	.741	-1.42	4.09
	Fraksi N-heksana 12.5%	12.000 [*]	.786	.000	9.25	14.75
	Fraksi etil asetat 12.5%	.333	.786	1.000	-2.42	3.09
Fraksi air 12.5%	1.000	.786	.927	-1.75	3.75	
Fraksi N-heksana 25%	Fraksi N-heksana 50%	.333	.786	1.000	-2.42	3.09
	Fraksi etil asetat 50%	-5.667 [*]	.786	.000	-8.42	-2.91
	Fraksi air 50%	.333	.786	1.000	-2.42	3.09
	Fraksi etil asetat 25%	-1.000	.786	.927	-3.75	1.75
	Fraksi air 25%	1.667	.786	.490	-1.09	4.42
	Fraksi N-heksana 12.5%	12.333 [*]	.786	.000	9.58	15.09
	Fraksi etil asetat 12.5%	.667	.786	.993	-2.09	3.42
Fraksi air 12.5%	1.333	.786	.741	-1.42	4.09	

Fraksi etil asetat 25%	Fraksi N-heksana 50%	1.333	.786	.741	-1.42	4.09
	Fraksi etil asetat 50%	-4.667*	.786	.000	-7.42	-1.91
	Fraksi air 50%	1.333	.786	.741	-1.42	4.09
	Fraksi N-heksana 25%	1.000	.786	.927	-1.75	3.75
	Fraksi air 25%	2.667	.786	.062	-.09	5.42
	Fraksi N-heksana 12.5%	13.333*	.786	.000	10.58	16.09
	Fraksi etil asetat 12.5%	1.667	.786	.490	-1.09	4.42
	Fraksi air 12.5%	2.333	.786	.136	-.42	5.09
Fraksi air 25%	Fraksi N-heksana 50%	-1.333	.786	.741	-4.09	1.42
	Fraksi etil asetat 50%	-7.333*	.786	.000	-10.09	-4.58
	Fraksi air 50%	-1.333	.786	.741	-4.09	1.42
	Fraksi N-heksana 25%	-1.667	.786	.490	-4.42	1.09
	Fraksi etil asetat 25%	-2.667	.786	.062	-5.42	.09
	Fraksi N-heksana 12.5%	10.667*	.786	.000	7.91	13.42
	Fraksi etil asetat 12.5%	-1.000	.786	.927	-3.75	1.75
	Fraksi air 12.5%	-.333	.786	1.000	-3.09	2.42
Fraksi N-heksana 12.5%	Fraksi N-heksana 50%	-12.000*	.786	.000	-14.75	-9.25
	Fraksi etil asetat 50%	-18.000*	.786	.000	-20.75	-15.25
	Fraksi air 50%	-12.000*	.786	.000	-14.75	-9.25
	Fraksi N-heksana 25%	-12.333*	.786	.000	-15.09	-9.58
	Fraksi etil asetat 25%	-13.333*	.786	.000	-16.09	-10.58
	Fraksi air 25%	-10.667*	.786	.000	-13.42	-7.91
	Fraksi etil asetat 12.5%	-11.667*	.786	.000	-14.42	-8.91
	Fraksi air 12.5%	-11.000*	.786	.000	-13.75	-8.25
Fraksi etil asetat 12.5%	Fraksi N-heksana 50%	-.333	.786	1.000	-3.09	2.42
	Fraksi etil asetat 50%	-6.333*	.786	.000	-9.09	-3.58
	Fraksi air 50%	-.333	.786	1.000	-3.09	2.42
	Fraksi N-heksana 25%	-.667	.786	.993	-3.42	2.09
	Fraksi etil asetat 25%	-1.667	.786	.490	-4.42	1.09
	Fraksi air 25%	1.000	.786	.927	-1.75	3.75
	Fraksi N-heksana 12.5%	11.667*	.786	.000	8.91	14.42
	Fraksi air 12.5%	.667	.786	.993	-2.09	3.42
Fraksi air 12.5%	Fraksi N-heksana 50%	-1.000	.786	.927	-3.75	1.75
	Fraksi etil asetat 50%	-7.000*	.786	.000	-9.75	-4.25
	Fraksi air 50%	-1.000	.786	.927	-3.75	1.75
	Fraksi N-heksana 25%	-1.333	.786	.741	-4.09	1.42
	Fraksi etil asetat 25%	-2.333	.786	.136	-5.09	.42
	Fraksi air 25%	.333	.786	1.000	-2.42	3.09
	Fraksi N-heksana 12.5%	11.000*	.786	.000	8.25	13.75
	Fraksi etil asetat 12.5%	-.667	.786	.993	-3.42	2.09

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets**Diameter****Tukey HSD^a**

Fraksi N-heksana,Fraksi etil asetat, dan Fraksi air	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Fraksi N-heksana 12.5%	3	.00		
Fraksi air 25%	3		10.67	
Fraksi air 12.5%	3		11.00	
Fraksi etil asetat 12.5%	3		11.67	
Fraksi N-heksana 50%	3		12.00	
Fraksi air 50%	3		12.00	
Fraksi N-heksana 25%	3		12.33	
Fraksi etil asetat 25%	3		13.33	
Fraksi etil asetat 50%	3			18.00
Significance		1.000	.062	1.000

Means are displayed ...

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

Lampiran 24. Analisis data uji Anova antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dengan konsentrasi 50%, 25%, 12.5% pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Diameter	27	11.04	4.661	0	19
Fraksi N-heksana,Fraksi etil asetat, dan Fraksi air	27	5.00	2.631	1	9

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter	Fraksi N-heksana,Fraksi etil asetat, dan Fraksi air
N		27	27
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	11.04	5.00
	Std. Deviation	4.661	2.631
Most Extreme Differences	Absolute	.301	.110
	Positive	.152	.110
	Negative	-.301	-.110
Kolmogorov-Smirnov Z		1.563	.570
Asymptotic Significance (2-tailed)		.015	.901

a. Test Distribution is Normal

b. Calculated from data

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Significance
1.581	8	18	.199

ONEWAY ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
Between Groups	556.296	8	69.537	144.423	.000
Within Groups	8.667	18	.481		
Total	564.963	26			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Diameter

Tukey HSD

(I) Fraksi N-heksana, Fraksi etil asetat, dan Fraksi air	(J) Fraksi N-heksana, Fraksi etil asetat, dan Fraksi air	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Fraksi N-heksana 50%	Fraksi etil asetat 50%	-6.333*	.567	.000	-8.32	-4.35
	Fraksi air 50%	.000	.567	1.000	-1.99	1.99
	Fraksi N-heksana 25%	2.000*	.567	.047	.01	3.99
	Fraksi etil asetat 25%	-1.667	.567	.143	-3.65	.32
	Fraksi air 25%	1.000	.567	.702	-.99	2.99
	Fraksi N-heksana 12.5%	12.000*	.567	.000	10.01	13.99
	Fraksi etil asetat 12.5%	.333	.567	.999	-1.65	2.32
Fraksi etil asetat 50%	Fraksi N-heksana 50%	6.333*	.567	.000	4.35	8.32
	Fraksi air 50%	6.333*	.567	.000	4.35	8.32
	Fraksi N-heksana 25%	8.333*	.567	.000	6.35	10.32
	Fraksi etil asetat 25%	4.667*	.567	.000	2.68	6.65
	Fraksi air 25%	7.333*	.567	.000	5.35	9.32
	Fraksi N-heksana 12.5%	18.333*	.567	.000	16.35	20.32
	Fraksi etil asetat 12.5%	6.667*	.567	.000	4.68	8.65
Fraksi air 50%	Fraksi N-heksana 50%	.000	.567	1.000	-1.99	1.99

	Fraksi etil asetat 50%	-6.333*	.567	.000	-8.32	-4.35
	Fraksi N-heksana 25%	2.000*	.567	.047	.01	3.99
	Fraksi etil asetat 25%	-1.667	.567	.143	-3.65	.32
	Fraksi air 25%	1.000	.567	.702	-.99	2.99
	Fraksi N-heksana 12.5%	12.000*	.567	.000	10.01	13.99
	Fraksi etil asetat 12.5%	.333	.567	.999	-1.65	2.32
	Fraksi air 12.5%	1.333	.567	.363	-.65	3.32
Fraksi N-heksana 25%	Fraksi N-heksana 50%	-2.000*	.567	.047	-3.99	-.01
	Fraksi etil asetat 50%	-8.333*	.567	.000	-10.32	-6.35
	Fraksi air 50%	-2.000*	.567	.047	-3.99	-.01
	Fraksi etil asetat 25%	-3.667*	.567	.000	-5.65	-1.68
	Fraksi air 25%	-1.000	.567	.702	-2.99	.99
	Fraksi N-heksana 12.5%	10.000*	.567	.000	8.01	11.99
	Fraksi etil asetat 12.5%	-1.667	.567	.143	-3.65	.32
	Fraksi air 12.5%	-.667	.567	.952	-2.65	1.32
Fraksi etil asetat 25%	Fraksi N-heksana 50%	1.667	.567	.143	-.32	3.65
	Fraksi etil asetat 50%	-4.667*	.567	.000	-6.65	-2.68
	Fraksi air 50%	1.667	.567	.143	-.32	3.65
	Fraksi N-heksana 25%	3.667*	.567	.000	1.68	5.65
	Fraksi air 25%	2.667*	.567	.004	.68	4.65
	Fraksi N-heksana 12.5%	13.667*	.567	.000	11.68	15.65
	Fraksi etil asetat 12.5%	2.000*	.567	.047	.01	3.99
	Fraksi air 12.5%	3.000*	.567	.001	1.01	4.99
Fraksi air 25%	Fraksi N-heksana 50%	-1.000	.567	.702	-2.99	.99
	Fraksi etil asetat 50%	-7.333*	.567	.000	-9.32	-5.35
	Fraksi air 50%	-1.000	.567	.702	-2.99	.99
	Fraksi N-heksana 25%	1.000	.567	.702	-.99	2.99
	Fraksi etil asetat 25%	-2.667*	.567	.004	-4.65	-.68
	Fraksi N-heksana 12.5%	11.000*	.567	.000	9.01	12.99
	Fraksi etil asetat 12.5%	-.667	.567	.952	-2.65	1.32
	Fraksi air 12.5%	.333	.567	.999	-1.65	2.32

Fraksi N-heksana 12.5%	Fraksi N-heksana 50%	-12.000*	.567	.000	-13.99	-10.01
	Fraksi etil asetat 50%	-18.333*	.567	.000	-20.32	-16.35
	Fraksi air 50%	-12.000*	.567	.000	-13.99	-10.01
	Fraksi N-heksana 25%	-10.000*	.567	.000	-11.99	-8.01
	Fraksi etil asetat 25%	-13.667*	.567	.000	-15.65	-11.68
	Fraksi air 25%	-11.000*	.567	.000	-12.99	-9.01
	Fraksi etil asetat 12.5%	-11.667*	.567	.000	-13.65	-9.68
	Fraksi air 12.5%	-10.667*	.567	.000	-12.65	-8.68
Fraksi etil asetat 12.5%	Fraksi N-heksana 50%	-.333	.567	.999	-2.32	1.65
	Fraksi etil asetat 50%	-6.667*	.567	.000	-8.65	-4.68
	Fraksi air 50%	-.333	.567	.999	-2.32	1.65
	Fraksi N-heksana 25%	1.667	.567	.143	-.32	3.65
	Fraksi etil asetat 25%	-2.000*	.567	.047	-3.99	-.01
	Fraksi air 25%	.667	.567	.952	-1.32	2.65
	Fraksi N-heksana 12.5%	11.667*	.567	.000	9.68	13.65
	Fraksi air 12.5%	1.000	.567	.702	-.99	2.99
Fraksi air 12.5%	Fraksi N-heksana 50%	-1.333	.567	.363	-3.32	.65
	Fraksi etil asetat 50%	-7.667*	.567	.000	-9.65	-5.68
	Fraksi air 50%	-1.333	.567	.363	-3.32	.65
	Fraksi N-heksana 25%	.667	.567	.952	-1.32	2.65
	Fraksi etil asetat 25%	-3.000*	.567	.001	-4.99	-1.01
	Fraksi air 25%	-.333	.567	.999	-2.32	1.65
	Fraksi N-heksana 12.5%	10.667*	.567	.000	8.68	12.65
	Fraksi etil asetat 12.5%	-1.000	.567	.702	-2.99	.99

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Diameter

Tukey HSD^a

Fraksi N-heksana,Fraksi etil asetat, dan Fraksi air	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Fraksi N-heksana 12.5%	3	.00				
Fraksi N-heksana 25%	3		10.00			
Fraksi air 12.5%	3		10.67	10.67		
Fraksi air 25%	3		11.00	11.00		
Fraksi etil asetat 12.5%	3		11.67	11.67		
Fraksi N-heksana 50%	3			12.00	12.00	
Fraksi air 50%	3			12.00	12.00	
Fraksi etil asetat 25%	3				13.67	
Fraksi etil asetat 50%	3					18.33
Significance		1.000	.143	.363	.143	1.000

Means are displayed ...

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000