

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR  
DARI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.)  
Steenis) TERHADAP *Streptococcus mutans* ATCC 25175**



Oleh :

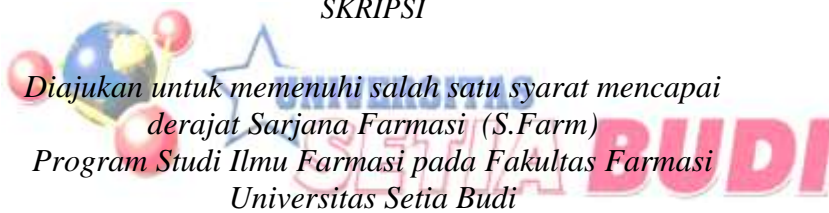
**Silviana Indriyani  
19133980A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR  
DARI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.)  
Steenis) TERHADAP *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

*SKRIPSI*

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



**Oleh :**

**Silviana Indriyani  
19133980A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

**berjudul**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

Oleh :

Silviana Indriyani  
19133980 A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 13 Juni 2017

Mengetahui ,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi  
Dekan,



Prof. Dr. A. Oetari, S.U., M.M., M.Sc., Apt

Pembimbing,

Reslely Harjanti, S.Farm, M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,

D. Andang Arif Wibawa, SP., M.Si

Penguji:

1. Dr. Ana Indrayati, M.Si
2. Ghani Nurfiana Fadmasari, M.Farm., Apt
3. Anita Nilawati, M.Farm., Apt
4. Reslely Harjanti, S.Farm., M.Sc., Apt

## HALAMAN PERSEMBAHAN

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

(Q.S Al-Baqarah 216)

“Jika kita ingin melihat pelangi yang indah, kita harus bersabar menanti redanya hujan” (Promod Brata)

### **Skripsi ini saya persembahkan untuk :**

Allah SWT terima kasih untuk semua, atas nikmat dan rahmat serta kuasa-Mu saya dapat menyelesaikan kewajiban saya

Ayah saya (Tukidi) dan Ibu saya (Boiyem) terima kasih untuk semuanya atas dekapan doa yang selalu menemaniku dalam suka dan duka, dukungan, cinta dan kasih sayangnya tanpa batas yang tidak akan pernah bisa membalasnya

Kakakku (Eko Budiyanto) dan Kakak Iparku (Titik Saharani Rosna) terima kasih atas semua doa, dukungan, dan semangatnya yang telah kalian berikan selama ini

Pacarku (David Febrianto) terima kasih sudah mendampingi saya dari titik nol, doa, dukungan, saran dan semangatnya sangat berarti untuk saya

Tim Upak Upuk (Nisa Fitri Andhini, Setianingsih, Dwi Yuli Wulandari) terima kasih sudah mau berjuang bersama, selalu memberi motivasi, saling memberi semangat, saling mengajari satu sama lain saat dalam kesulitan


Teman-Teman Grup Luar Biasa, serta keluarga besarku

## **PERNYATAAN**

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

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

Surakarta, 13 Juni 2017



Silviana Indriyani

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah SWT atas semua berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP *Streptococcus mutans* ATCC 25175”** ini guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) dalam Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Sebuah pembelajaran yang luar biasa bagi penulis selama proses penyelesaian skripsi dan studi S1 Farmasi, oleh sebab itu penulis sampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., M.Sc., Apt. selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Reslely Harjanti., S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Pembimbing Utama dan D. Andang Arif Wibawa., SP., M.Si., selaku Pembimbing Pendamping terima kasih telah memberikan bimbingan dan pengarahan serta nasihat dalam penyusunan skripsi ini.
4. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.
5. Semua asisten Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta yang telah membantu.
6. Kedua orang tuaku, serta kakak-kakakku dan keluarga besarku terima kasih telah memberikan dukungan doa, kasih sayang, perhatian dan semua hal yang tidak dapat penulis ungkapkan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

7. David Febrianto, pria kesayanganku terima kasih telah memberikan semangat, motivasi, dukungan, doa, kepercayaan dan pengertiannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. The best partner (Nisa Fitri Andhini) terima kasih sudah bersama-sama berjuang, susah senang selalu kita hadapi bersama demi menyelesaikan kewajiban ini.
9. Tim seperjuangan Upak-upuk Setianingsih dan Dwi Yuli Wulandari terima kasih telah menjadi tim yang solid berjuang bersama-sama dalam menyelesaikan kewajiban ini.
10. Grup luar biasa: Nisa, Yuli, Purwanita, Imam, Abi, Wisnu, Dono, Irsyad terima kasih kalian selalu memberi semangat serta dukungannya.
11. Teman-teman rasa saudara bagi saya: Nita, Arum, Rina, Wulan, Meme, Dhini, Ody, Risma, Widuri, terima kasih kalian selalu memberi doa, semangat serta dukungannya.
12. Teman-teman Farmasi 5, mantan kos Kitty Elite, FKK4, dan FSTOA S1 Farmasi Universitas Setia Budi serta Alumni Man Gumawang Angkatan 2013.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari pihak terkait maka skripsi ini tidak selesai dengan baik. Penulis juga menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat berharap kritik dan saran. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, Juni 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

Halaman	
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Daun Binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis).....	5
1. Sistematika tanaman.....	5
2. Nama lain .....	5
3. Morfologi tanaman .....	6
4. Kandungan kimia tanaman.....	6
4.1 Alkaloid.....	7
4.2 Flavonoid .....	7
4.3 Saponin .....	7
4.4 Terpenoid .....	8
5. Khasiat dan kegunaan tanaman .....	8
6. Bagian tanaman yang digunakan.....	8
B. Simplisia .....	9
1. Pengertian Simplisia.....	9



2.	Pengumpulan simplisia.....	9
3.	Sortasi basah.....	9
4.	Pencucian.....	10
5.	Pengeringan simplisia.....	10
C.	Metode Penyarian.....	10
1.	Ekstraksi.....	10
2.	Maserasi.....	10
3.	Fraksinasi.....	11
4.	Pelarut.....	11
4.1	Etanol.....	11
4.2	<i>n</i> -heksana.....	12
4.3	Etil asetat.....	12
4.4	Air.....	12
D.	Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> .....	13
1.	Sistematika bakteri.....	13
2.	Morfologi dan fisiologi.....	13
3.	Patogenesis.....	14
E.	Antibakteri.....	14
1.	Pengertian antibakteri.....	14
2.	Mekanisme kerja antibakteri.....	15
2.1	Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel.....	15
2.2	Antibakteri yang merusak membran plasma.....	15
2.3	Antibakteri yang menghambat sintesis protein.....	15
2.4	Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA).....	16
2.5	Antibakteri yang menghambat sintesis metabolit esensial.....	16
F.	Metode Aktivitas Antibakteri.....	16
1.	Metode difusi.....	16
2.	Metode dilusi.....	17
G.	Amoxicillin.....	18
H.	Media.....	18
1.	Pengertian media.....	18
2.	Macam-macam bentuk media.....	19
2.1	Media padat.....	19
2.2	Media cair.....	19
2.3	Media semi cair atau padat.....	19
3.	Klasifikasi media.....	19
3.1	Media sintetik.....	19
3.2	Media kompleks.....	19
3.3	Media anaerob.....	19
3.4	Media biakan khusus.....	20
3.5	Media selektif dan diferensial.....	20
3.6	Media pengayaan.....	20
I.	Sterilisasi.....	20
J.	Landasan Teori.....	21

K. Hipotesis .....	23
BAB III METODE PENELITIAN .....	24
A. Populasi dan Sampel.....	24
1. Populasi .....	24
2. Sampel .....	24
B. Variabel Penelitian .....	24
1. Identifikasi variabel utama .....	24
2. Klasifikasi variabel utama .....	24
3. Definisi operasional variabel utama .....	25
C. Bahan dan Alat .....	26
1. Bahan.....	26
2. Alat .....	26
D. Jalannya Penelitian .....	27
1. Determinasi tanaman.....	27
2. Pengumpulan simplisia, pengeringan simplisia dan pembuatan serbuk daun binahong .....	27
3. Penetapan kadar lembab serbuk daun binahong.....	27
4. Pembuatan ekstrak etanol maserasi.....	28
5. Penetapan % rendemen .....	28
6. Uji bebas etanol .....	28
7. Fraksinasi.....	28
8. Identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak dan fraksi daun binahong .....	29
8.1 Identifikasi alkaloid .....	29
8.2 Identifikasi flavonoid.....	29
8.3 Identifikasi saponin.....	29
8.4 Identifikasi terpenoid .....	29
9. Identifikasi bakteri uji <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	29
9.1 Identifikasi mikroskopis.....	29
9.2 Uji biokimia .....	30
9.3 Uji katalase.....	30
9.4 Uji koagulase. ....	30
10. Pembuatan suspensi bakteri.....	30
11. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong .....	30
11.1 Sterilisasi alat dan bahan.....	30
11.2 Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> - heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun binahong.....	31
E. Analisis Data .....	32
F. Skema Jalannya Penelitian .....	33
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	36
A. Hasil Penelitian.....	36

1. Identifikasi tanaman binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis) .....	36
1.1. Determinasi tanaman. ....	36
1.2. Deskripsi tanaman.....	36
2. Pengumpulan simplisia, pengeringan simplisia dan pembuatan serbuk daun binahong .....	37
3. Penetapan kadar lembab serbuk daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Stennis).....	37
4. Pembuatan ekstrak etanol daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Stennis) .....	38
5. Uji bebas etanol .....	39
6. Fraksinasi.....	39
7. Identifikasi kandungan kimia daun binahong .....	40
8. Identifikasi bakteri <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	41
8.1 Uji identifikasi mikroskopis.....	41
8.2 Uji biokimia. ....	42
8.3 Uji katalase.....	42
8.4 Uji koagulase. ....	43
9. Pembuatan suspensi bakteri.....	43
10. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong secara difusi.....	43
11. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong secara dilusi .....	47
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	50
A. Kesimpulan.....	50
B. Saran .....	50
 DAFTAR PUSTAKA .....	51
 LAMPIRAN.....	56

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis) .....	5
Gambar 2. <i>Streptococcus mutans</i> (Sumber : Jayanti 2011) .....	13
Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksinasi daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis).....	33
Gambar 4. Skema uji <i>Streptococcus mutans</i> dengan metode difusi .....	34
Gambar 5. Skema uji <i>Streptococcus mutans</i> dengan metode dilusi.....	35

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun binahong .....	37
Tabel 2. Hasil penetapan kadar air serbuk daun binahong .....	38
Tabel 3. Rendemen ekstrak etanol daun binahong.....	39
Tabel 4. Uji bebas etanol dari ekstrak kental daun binahong.....	39
Tabel 5. Rendemen hasil fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun binahong.....	40
Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat dan air daun binahong .....	41
Tabel 7. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong terhadap <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 dengan metode difusi .....	44
Tabel 8. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong secara dilusi .....	48

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman binahong.....	57
Lampiran 2. Gambar tanaman dan serbuk daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis).....	58
Lampiran 3. Gambar proses pengeringan, dan pembuatan serbuk daun binahong .....	59
Lampiran 4. Penetapan kadar lembab serbuk daun binahong dan uji bebas alkohol ekstrak binahong.....	61
Lampiran 5. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi teraktif daun binahong .....	62
Lampiran 6. Fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air .....	64
Lampiran 7. Ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air .....	65
Lampiran 8. Hasil identifikasi <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	66
Lampiran 9. Gambar hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi .....	68
Lampiran 10. Gambar hasil uji aktivitas antibakteri fraksi air dengan metode dilusi .....	71
Lampiran 11. Gambar hasil uji aktivitas antibakteri amokisisilin dengan metode dilusi .....	73
Lampiran 12. Hasil Persentase bobot kering terhadap bobot basah .....	75
Lampiran 13. Hasil perhitungan rendemen ekstrak etanol daun binahong.....	76
Lampiran 14. Perhitungan rendemen fraksinasi .....	77
Lampiran 15. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air dengan metode difusi.....	79
Lampiran 16. Pembuatan larutan stok dilusi.....	81
Lampiran 17. Perhitungan konsentrasi amoksisilin .....	83
Lampiran 18. Formulasi dan pembuatan media.....	85

Lampiran 19. Hasil analisis data uji ANOVA antara fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, ekstrak etanolik dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, kontrol (+), dan kontrol (-) .....86

## INTISARI

**SILVIANA INDRIYANI, 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP *Streptococcus mutans* ATCC 25175. SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) secara tradisional dimanfaatkan sebagai obat diabetes, sembelit, dan sariawan berat. Daun binahong mengandung senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak daun binahong terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Serbuk daun binahong diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Hasil fraksinasi diuji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 menggunakan metode difusi dengan konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% untuk mengetahui fraksi teraktif. Fraksi teraktif dilanjutkan menggunakan metode dilusi untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,20%; 0,10%. Analisis statistik menggunakan ANOVA *oneway* guna mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antar sediaan uji.

Hasil penelitian menunjukkan fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun binahong memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Fraksi air merupakan fraksi teraktif dengan diameter hambat 20,4 mm pada konsentrasi 50%, 16,26 mm konsentrasi 25% dan 11,16 mm konsentrasi 12,5%. Hasil uji dilusi fraksi air menunjukkan aktivitas antibakteri dengan KBM 12,5%.

---

Kata kunci : Daun binahong, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, *Streptococcus mutans*.



## ABSTRACT

**SILVIANA INDRIYANI, 2017, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF FRACTION *n*-HEXANE, ETHYL ACETATE AND WATER OF ETHANOL EXTRACT FROM BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) LEAVES TO *Streptococcus mutans* ATCC 25175. THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Binahong leaves (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) is traditionally used as a drug diabetes, constipation, and severe thrush. Binahong leaves contains chemical compounds such as alkaloids, flavonoids, saponins, and terpenoids. This study aims to determine the antibacterial activity of the fraction of *n*-hexane, ethyl acetate and water from binahong leaves extract against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Binahong leaves powder was extracted by maceration method by ethanol 70%. That obtained extract was fractionated by solvent *n*-hexane, ethyl acetate and water. The result of fractionation tested antibacterial activity against the bacteria *Streptococcus mutans* ATCC 25175 used diffusion method with concentration of 50%, 25%, and 12,5% to determine the most active fraction. The most-active fraction is continued dilution method to determine the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) with concentration of 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,20%; 0,10%. Statistical analysis using oneway ANOVA to determine whether there is a significant difference between the test preparation.

The result shows the fraction of *n*-hexane, ethyl acetate and water from the extraction of binahong leaves has antibacterial activity against *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Water fraction is most active fraction with 20,4 mm concentration of 50%, 16,26 mm concentration of 25% and 11,16 mm concentration of 12,5%. Dilution test results water fraction showed antibacterial activity with MBC 12,5%.

---

Keywords : Binahong leaves, fraction of *n*-hexane, ethyl acetate fraction, fraction of water, *Streptococcus mutans*.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

*Streptococcus mutans* merupakan salah satu bakteri gram positif patogen penyebab karies yang menyebabkan korosi pada email gigi. Pertumbuhan *Streptococcus mutans* harus dihambat dengan pemberian bahan antibakteri agar tidak menjadi patogen dan menyebabkan karies. Salah satu cara pencegahan karies adalah mengusahakan agar pembentukan plak pada permukaan gigi dapat dibatasi baik dengan cara mencegah pembentukannya atau dengan pembersihan plak secara teratur. Pengendalian plak dapat dilakukan dengan cara pembersihan plak secara mekanis dan kimia yang mengandung bahan antikuman dan dapat menekan pertumbuhan *Streptococcus mutans* (Achmad *et al.* 2014).

Karakteristik dari bakteri *Streptococcus mutans* yaitu mampu mensintesis polisakarida ekstraseluler glukon ikatan  $\alpha$  (1-3) yang tidak larut dari sukrosa, dapat memproduksi asam laktat melalui proses homofermentasi, membentuk koloni yang melekat dengan erat pada permukaan gigi dan lebih bersifat asidogenik dibanding spesies *Streptococcus* lainnya. Bakteri ini telah menjadi target utama dalam upaya mencegah terjadinya karies gigi (Sabir 2005).

Beberapa negara maju kini telah memulai menekuni gaya hidup untuk kembali ke alam (*back to nature*). Para peneliti di Indonesia pun giat menggalakkan program dalam pemanfaatan tanaman obat asli Indonesia dalam upaya menghapus konotasi ramuan obat tradisional sebagai obat alternatif ataupun obat kelas dua. Obat tradisional asli Indonesia dapat berperan aktif dalam peningkatan derajat kesehatan masyarakat. Obat tradisional murah dan mudah didapat, obat tradisional yang berasal dari tumbuhan relatif tidak banyak menimbulkan efek samping (Kusuma 2010).

Tanaman banyak digunakan sebagai bahan obat, salah satu tanaman yang memiliki khasiat mengobati banyak penyakit adalah binahong (*Anredera cordifolia*) (Umar *et al.* 2012). Tanaman binahong dipercaya memiliki beragam khasiat pengobatan, termasuk penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri.

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri daun binahong dan kandungan metabolit sekundernya pernah dilakukan Paju *et al* (2013), bahwa dalam simplisia daun binahong mengandung senyawa alkaloid dan saponin. Baskoro dan Purwoko (2011) menyebutkan bahwa dalam daun binahong mengandung metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan saponin. Penelitian lain yang dilakukan oleh Selawa (2013) juga menyatakan bahwa senyawa aktif dalam daun binahong adalah asam askorbat dan fenol yang tinggi.

Daun binahong dapat digunakan sebagai obat infeksi bakteri pada kulit. Berdasarkan hasil penelitian Sutrisno *et al* (2014), membuktikan bahwa ekstrak etanol daun binahong mempunyai aktivitas antibakteriostatik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diisolasi dari luka diabetes. Menurut Klaudya *et al.* (2016) ekstrak daun binahong mampu membunuh *Streptococcus mutans* dengan konsentrasi 6,25%.

Metode maserasi dipilih karena tidak memakai pemanasan serta merupakan ekstraksi yang sederhana. Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan golongan utama yang lain berdasarkan sifat kepolarannya. Etanol 70% digunakan sebagai pelarut karena tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan tiga pelarut dengan polaritas yang berbeda-beda, pelarut yang digunakan *n*-heksana, etil asetat dan air (Depkes 2005).

Metode yang digunakan dalam uji bakteri ini dilakukan dengan metode dilusi dan difusi. Kegunaan dari metode dilusi adalah untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yaitu kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh bakteri (Jawetz *et al.* 1986; Bonang & Koeswardono 1982). Metode difusi adalah metode yang paling banyak digunakan, metode ini menggunakan filter cakram kertas yang berisi obat yang jumlahnya telah diukur kemudian ditempatkan pada permukaan media padat yang telah diinokulasi organisme uji pada permukaannya, selanjutnya diinkubasi. Diameter zona hambat yang terbentuk jelas pada sekitar disk digunakan sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM) suatu obat terhadap organisme uji tertentu (Jawetz *et al.* 2007).

Berdasarkan latar belakang perlu dilakukan penelitian untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak daun binahong terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk mengetahui golongan senyawa yang paling aktif dalam menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

## **B. Perumusan Masalah**

Perumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

Pertama, apakah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

Kedua, manakah di antara ketiga fraksi yaitu fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang memiliki efek antibakteri paling efektif terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

Ketiga, berapakah nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Kedua, untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang paling efektif dari ekstrak etanol fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Ketiga, untuk mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

#### **D. Kegunaan Penelitian**

Hasil penelitian diharapkan dapat memberi informasi kepada masyarakat bahwa daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dapat berkhasiat sebagai antibakteri yang disebabkan oleh infeksi *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Daun binahong juga dapat memberi sumbangan untuk mengembangkan ilmu pengetahuan khususnya di bidang obat tradisional dan pengembangan obat-obat fitofarmaka serta dapat memberi landasan bagi penelitian selanjutnya.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Tanaman Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)



**Gambar 1. Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)**  
(Sumber : dokumentasi pribadi 2016)

#### 1. Sistematika tanaman

Klasifikasi ilmiah dari tanaman binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis menurut (Tandi 2015) sebagai berikut :

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)  
Subkingdom : Tracheobionta  
Super Divisi : Spermatophyta  
Divisi : Magnoliophyta  
Class : Magnoliopsida  
Sub Class : Hamamelidae  
Ordo : Caryophyllales  
Familia : Basellaceae  
Genus : *Anredera*  
Spesies : (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

#### 2. Nama lain

Tanaman binahong memiliki nama lain: gendola (Indonesia), *dheng san chi* (Tiongkok), *heartleaf madeiravine* atau *madeira vine* (Inggris), *oussingaultia gracilis*, *miers boussingaultia cordifolia*, dan *boussingaultia basselloides* (Manoi 2009).

### 3. Morfologi tanaman

Tumbuhan menjalar, berumur panjang, bisa mencapai panjang lebih dari 6 m. 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. 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 rata, permukaan licin, bisa dimakan. Bunga majemuk berbentuk tandan, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna krem keputih-putihan berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota 0,5-1 cm, berbau harum. Akar berbentuk rimpang, berdaging lunak (Tandi 2015).

### 4. Kandungan kimia tanaman

Rachmawati (2007) telah melakukan skrining fitokimia daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dengan melakukan maserasi terhadap serbuk kering daun dengan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol didapatkan kandungan kimia berupa Saponin triterpenoid, flavonoid dan minyak atsiri. Rimporok *et al.* (2015), melakukan uji efektivitas daun binahong terhadap *Streptococcus mutans* didapatkan ekstrak daun binahong memiliki efek antibakteri dalam memperlambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Rochani (2009), melakukan ekstraksi dengan cara maserasi daun binahong dengan menggunakan pelarut petroleum eter, etil asetat dan etanol, setelah dilakukan uji tabung ditemukan kandungan alkaloid, saponin dan flavonoid, sedangkan pada analisis secara KLT ditemukan senyawa alkaloid, saponin dan flavonoid. Skrining fitokimia terhadap daun binahong telah dilaporkan oleh Astuti (2012), bahwa pada daun binahong memiliki senyawa fitokimia, terpenoid, steroid, fenol, flavonoid dan alkaloid.

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mengandung alkaloid, saponin dan polifenol, sedangkan umbinya mengandung alkaloid dan antrakuinon (Depkes RI 2006). Didalam tanaman binahong terkandung senyawa kuersentin (Yang *et al.* 2008). Kuersentin merupakan salah satu zat aktif kelas flavonoid dari kelompok flavonol (Waji & Sugrani 2009).

**4.1 Alkaloid.** Alkaloid merupakan bahan alam heterosiklik yang mengandung nitrogen, senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen dalam rantai alifatik (misalnya fenilalkilamin). Secara biosintesis, alkaloid dihasilkan dari beberapa asam amino yang berbeda sehingga menghasilkan kelompok struktur dasar yang beragam. Alkaloid banyak yang bersifat alkali karena senyawa tersebut memiliki gugus fungsional amin primer, sekunder, atau tersier dan sifat alkali (basa) kelompok ini dapat dimanfaatkan untuk membantu ekstraksi dan pemurniannya. Asam atau basa alkaloid beberapa di antaranya bersifat netral, terutama amida dan beberapa alkaloid memiliki gugus fenolik yang berperan dalam keasaman molekul (Michael *et al.* 2010). Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Darsana *et al.* 2012).

**4.2 Flavonoid.** Senyawa flavonoid diturunkan dari unit  $C_6-C_3$  (fenil propana) yang bersumber dari asam sikimat (via fenilalanin) dan unit  $C_6$  yang diturunkan dari jalur poliketida (Michael *et al.* 2010). Flavonoid juga disebut senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Pelarut polar seperti etanol, metanol, etil asetat, atau campuran dari pelarut tersebut dapat digunakan untuk mengekstrak flavonoid dari jaringan tumbuhan (Rijke 2005). Flavonoid mendenaturasi protein sel dan merusak membrane sel mikroorganisme dan bersifat *irreversible* atau tidak dapat diperbaiki lagi sehingga pertumbuhan mikroba terhambat (Gunawan & Mulyani 2004).

**4.3 Saponin.** Saponin adalah glikosida triterpen dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah (Harborne 2006). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel (Madduluri *et al.* 2013). Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas



membran. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsung hidup bakteri (Harborne 2006).

**4.4 Terpenoid.** Terpenoid adalah golongan hidrokarbon yang banyak ditemukan dalam tumbuhan terutama pada getah dan vakuola selnya. Semua senyawa golongan terpen atau terpenoid dan turunannya termasuk hasil metabolit sekunder. Terpen atau terpenoid mempunyai aktivitas antibakteri, antivirus dan antiprotozoa (Salni *et al.* 2011). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa terpenoid dapat menghambat pertumbuhan dengan mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel dan menyebabkan membran atau dinding sel tidak terbentuk sempurna (Ajizah 2004). Mekanisme antibakteri yang dimiliki oleh terpenoid adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) yang terdapat pada membran luar dinding sel bakteri sehingga membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga porin menjadi rusak. Porin adalah jalan keluar masuknya substansi sehingga rusaknya porin mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang membuat sel bakteri kekurangan nutrisi. Oleh karena itu, pertumbuhan bakteri menjadi terlambat atau mati (Salni *et al.* 2011).

## **5. Khasiat dan kegunaan tanaman**

Menurut Manoi (2009), secara empiris tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Beberapa penyakit yang dapat disembuhkan dengan menggunakan tanaman ini adalah: kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, muntah darah, stroke, tyfus, wasir, rematik, radang usus, sembelit, sesak napas, sariawan berat, pusing, sakit perut, asam urat, keputihan dan pembengkakan hati. Tanaman binahong juga dapat digunakan untuk pemulihan pasca operasi, pemulihan pasca melahirkan, menyembuhkan luka dalam, melancarkan dan menormalkan peredaran dan tekanan darah, menyuburkan kandungan, meningkatkan vitalitas dan daya tahan tubuh. Percobaan pada tikus yang disuntik dengan bahan ekstrak dari binahong dapat meningkatkan daya tahan tubuh dan meningkatkan agresivitas tikus.

## **6. Bagian tanaman yang digunakan**

Tanaman binahong yang digunakan dalam pengobatan berasal dari akar, batang, daun dan bunga maupun umbi yang menempel pada ketiak daun.

Penggunaan tanaman binahong untuk pengobatan secara empiris adalah 5 gram daun kering (Manoi, 2009).

## **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 nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau golongan 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 pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana belum berupa bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

Mutu simplisia dipengaruhi oleh derajat kematangan dan juga dipengaruhi oleh keragaman derajat kematangan. Derajat kematangan bukan sekedar mempengaruhi mutu, tetapi membawa konsekuensi terhadap biaya dan tenaga pada waktu pembersihan dan sortasi sehingga ketidakseragaman tingkat kematangan dapat menurunkan rendemen yang diperoleh (Siswanto 2004).

### **2. Pengumpulan simplisia**

Tahapan pengumpulan bahan baku sangat menentukan kualitas bahan baku. Faktor yang paling berperan dalam tahapan ini adalah masa panen. Panen daun atau herba dilakukan pada saat proses fotosintesis berlangsung maksimal, yaitu ditandai dengan saat-saat tanaman mulai berbunga atau buah mulai masak (Gunawan & Mulyani 2004).

### **3. Sortasi basah**

Sortasi basah adalah pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar. Sortasi dilakukan terhadap tanah dan kerikil, rumput-rumputan, bahan tanaman lain atau bagian lain dari tanaman yang tidak digunakan, dan bagian tanaman yang rusak (Gunawan & Mulyani 2004).

#### **4. Pencucian**

Pencucian simplisia dilakukan untuk membersihkan kotoran yang melekat, terutama bahan yang berasal dari dalam tanah dan juga bahan-bahan yang tercemar peptisida (Gunawan & Mulyani 2004).

#### **5. Pengeringan simplisia**

Proses pengeringan simplisia bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif. Selama proses pengeringan, hal yang perlu diperhatikan adalah waktu pengeringan, suhu pengeringan, kelembaban udara, ketebalan bahan yang dikeringkan, sirkulasi udara dan luas permukaan bahan (Gunawan & Mulyani 2004). Pengeringan bahan simplisia dapat dilakukan dengan menggunakan suatu alat pengering dan juga dapat dengan pengeringan teduh atau pengeringan di bawah sinar matahari. Pengeringan di bawah sinar matahari paling banyak digunakan di Indonesia karena mudah dan murah (Depkes 2008).

### **C. Metode Penyarian**

#### **1. Ekstraksi**

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

#### **2. Maserasi**

Secara etimologi maserasi berasal dari kata *macerare* = mengairi, melunakkan yang merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana (Handa *et*

*al.* 2008). Maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai, kemudian dilakukan penyarian untuk memisahkan menstrum dan ampasnya. Maserasi dilakukan pada suhu 15-20°C dalam waktu 3 hari sampai bahan-bahan yang larut dapat melarut (Ansel 2005).

Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat terdorong keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi kesinambungan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Kepmenkes RI 2010).

Maserasi biasanya menggunakan pelarut etanol 70%, karena keuntungan etanol 70% adalah tidak menyebabkan pembengkakan membran sel, memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, mampu mengendapkan albumin dan dapat menghambat kerja enzim. Penggunaan etanol 70% sering menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotor hanya ada dalam skala kecil yang ikut dalam pelarut (Voigt 1995).

### **3. Fraksinasi**

Fraksinasi adalah cara untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain berdasarkan kepolarannya. Jumlah dan jenis senyawanya yang telah dipisahkan akan menjadi fraksi yang berbeda. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat nonpolar akan masuk ke pelarut nonpolar (Tiwari *et al.* 2011).

### **4. Pelarut**

**4.1 Etanol.** Aktivitas tinggi ekstrak etanol dibandingkan dengan ekstrak air dapat dikaitkan dengan adanya jumlah yang lebih tinggi polifenol dibandingkan dengan ekstrak air. Hal ini berarti bahwa etanol lebih efisien dalam dinding sel dan biji degradasi yang memiliki unipolar karakter dan menyebabkan polifenol yang akan dirilis dari sel. Etanol lebih menembus membran sel dalam mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman. Hampir semua

mengidentifikasi komponen aktif dari tanaman terhadap mikroorganisme yang aromatik atau jenuh. Senyawa organik diperoleh melalui etanol awal atau ekstraksi metanol. Metanol lebih polar dibandingkan etanol. Sifat metanol lebih sitotoksik, sehingga tidak cocok untuk ekstraksi dalam beberapa jenis penelitian karena mengakibatkan salah hasil (Tiwari *et al.* 2011). Etanol dapat melarutkan alkaloida basa, kurkumin, antraknon, flavonoid, steroid, dan klorofil (Depkes RI 1986).

**4.2 *n*-heksana.** Pelarut *n*-heksana adalah hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih, terdiri dari suatu campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna, transparan, bersifat mudah terbakar, baunya khas, tidak dapat larut dengan air, dapat larut dengan alkohol, benzena, kloroform, dan eter. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut *n*-heksana yaitu senyawa yang bersifat nonpolar seperti terpenoid, triterpenoid, sterol, dan fenil propan (Tiwari *et al.* 2011). Pelarut ini bersifat nonpolar yang dapat melarutkan minyak lemak dan asam lemak tinggi, steroid, triterpenoid serta karotenoid (Kristijono 2008).

**4.3 Etil asetat.** Etil asetat merupakan pelarut semi polar yang berupa cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah. Etil asetat dapat bercampur dengan eter, air, etanol, kloroform, bersifat mudah menguap, mudah terbakar, maka penyimpanannya dalam wadah yang tertutup rapat serta terhindar dari panas. Senyawa yang larut dalam pelarut etil asetat yaitu flavonoid, alkaloid, senyawa-senyawa fenolik seperti fenol-fenol, asam fenolat, fenil propanoid, antarkinon dan xanton (Harborne 2006). Senyawa ini merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan tak berwarna dan memiliki aroma khas (Tiwari *et al.* 2011).

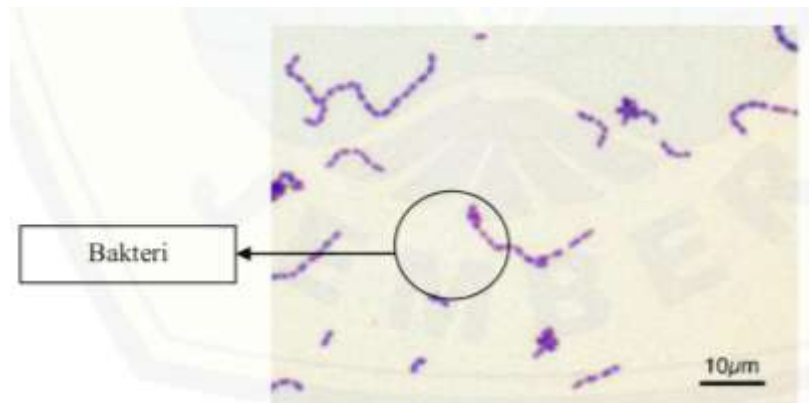
**4.4 Air.** Air bersifat polar yang dipertimbangkan sebagai pelarut karena stabil, tidak mudah menguap, murah, mudah didapat, tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan alamiah. Air dapat melarutkan gula, pati, gom, enzim, protein, minyak menguap, lemak peptida, zat pewarna, garam alkaloid, dan asam organik (List & Schamidt 2000).

## D. Bakteri *Streptococcus mutans*

### 1. Sistematika bakteri

Klasifikasi *Streptococcus mutans* menurut Nugraha (2008) sebagai berikut:

Kingdom : Monera  
 Divisio : Firmicutes  
 Class : Bacilli  
 Order : Lactobaciales  
 Family : Streptococcaceae  
 Genus : Streptococcus  
 Spesies : *Streptococcus mutans*



Gambar 2. *Streptococcus mutans* (Sumber : Jayanti 2011)

### 2. Morfologi dan fisiologi

*Streptococcus mutans* adalah bakteri Gram positif, bersifat nonmotil (tidak bergerak), bakteri anaerob fakultatif. Berbentuk kokus yang sendirian berbentuk bulat atau bulat telur dan tersusun dalam rantai. *Streptococcus mutans* tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18°C-40°C. Bakteri ini biasanya ditemukan pada rongga gigi manusia yang luka dan menjadi bakteri paling mendukung menyebabkan karies gigi (Nugraha 2008).

*Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis* dan lainnya termasuk dalam *streptococcus viridians*. Yang khas dari bakteri tersebut adalah  $\alpha$ -hemolitik tetapi mungkin juga nonhemolitik. *Streptococcus mutans* mensintesis polisakarida-polisakarida bermolekul besar

seperti dekstran dan levan dari sukrosa dan berperan penting dalam terjadinya karies gigi dan terkadang menyebabkan endokarditis (Jawetz *et al.* 2007)

*Streptococcus mutans* dapat memproduksi enzim ekstraseluler glukosiltransferase (GTF) dan fruktosil transferase (FTF). *Streptococcus mutans* dapat mensintesis polisakarida ekstraseluler yaitu glukukan dan fruktan oleh enzim GTF dan FTF. Polisakarida ini terutama glukukan sangat penting dalam pembentukan plak gigi dan patogenesis karies gigi. Umumnya *Streptococcus mutans* memproduksi cadangan *intraceluler iodine-straining polysaccharides* (IPS) dari beraneka gula dengan konsentrasi yang tinggi. Sifat patogenitas dari *Streptococcus mutans* salah satunya disebabkan oleh kemampuannya dalam membentuk IPS (Hamada dan Slade 1980).

### **3. Patogenesis**

Bakteri *Streptococcus mutans* bekerja patogen, pada demineralisasi email dari gigi hasil fermentasi asam dalam perkembangan karies gigi. Sehingga mengakibatkan invasi pada dentin oleh mikroorganisme dan pada organisme akhirnya menyebabkan infeksi pulpa (Nolte 1982). Demineralisasi enamel dan dentin oleh *Streptococcus mutans* menyebabkan inflamasi pada pulpa.

Karakteristik bakteri *Streptococcus mutans* yaitu mampu mensintesis polisakarida ekstraseluler glukukan ikatan  $\alpha$  (1-3) 2 yang tidak larut sukrosa, dapat memproduksi asam laktat melalui proses homofermentasi, membentuk koloni yang melekat dengan erat pada permukaan gigi, dan lebih bersifat asidogenik dibanding spesies *Streptococcus* lainnya (Sabir 2005). *Streptococcus mutans* mampu memproduksi enzim *fructosyltransferase* dan *glucosyltransferase* yang akan memetabolisme sisa makanan terutama berasal dari jenis karbohidrat yang dapat difermentasi, seperti sukrosa, glukosa, fruktosa, dan maltose (Lestari 2014).

## **E. Antibakteri**

### **1. Pengertian antibakteri**

Antibakteri merupakan suatu bahan atau senyawa yang pada umumnya dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan sekelompok bakteri, khususnya yang bersifat patogen pada manusia. Antibakteri berdasarkan sifat toksisitas

selektif dalam menghambat pertumbuhan tanpa merusak inang, berupa zat yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri (aktivitas bakteristatik) dan zat yang membunuh bakteri (aktivitas bakterisid) (Radji 2011). Proses pembasmian bakteri digunakan beberapa istilah diantaranya bakterisid, bakteristatik, germisid, antiseptik, dan desinfektan (Dianasari 2009).

Bakterisid merupakan suatu bahan yang digunakan dalam mematikan bentuk vegetatif dari bakteri. Bakteristatik merupakan suatu bahan yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri tanpa mematikan bakteri. Germisid merupakan bahan yang mampu membasmi mikroorganisme dengan mematikan sel vegetatif tetapi tidak selalu mematikan bentuk spora bakteri. Antiseptik merupakan suatu bahan yang mematikan mikroorganisme dengan menghambat aktivitas metabolisme pada bakteri tersebut. Desinfektan merupakan suatu bahan yang dapat membasmi bakteri patogen yang belum tentu dapat membasmi sporanya dan digunakan pada benda mati (Peleczar & Chan 2005).

## **2. Mekanisme kerja antibakteri**

Berdasarkan mekanisme aksinya, antibakteri dibedakan menjadi lima yaitu:

**2.1 Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel.** Antibakteri ini adalah antibakteri yang merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri gram positif maupun gram negatif (Pratiwi 2008).

**2.2 Antibakteri yang merusak membran plasma.** Membran plasma bersifat semipermeabel dan mengendalikan transport berbagai metabolit ke dalam dan ke luar sel. Adanya gangguan atau kerusakan struktur pada membran plasma dapat menghambat atau merusak kemampuan membran plasma sebagai penghalang (*barrier*) osmosis dan mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan dalam membran (Pratiwi 2008).

**2.3 Antibakteri yang menghambat sintesis protein.** Aminoglikosida merupakan kelompok antibakteri yang gula aminonya tergabung dalam ikatan glikosida. Antibakteri ini memiliki spektrum luas dan bersifat bakterisidal dengan mekanisme penghambatan pada sintesis protein (Pratiwi 2008).



#### **2.4 Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA).**

Penghambatan pada sintesis asam nukleat berupa penghambatan terhadap transkripsi dan replikasi mikroorganisme. Mekanismenya dengan menghambat sintesis mRNA dengan cara mengikat subunit  $\beta$ -RNA polymerase bakteri sehingga menghambat transkripsi mRNA. Selain itu, terdapat antibiotik yang beraksi dengan cara menghambat enzim DNA girase pada replikasi DNA, sehingga akan menghambat proses replikasi DNA dan transkripsi mRNA (Pratiwi 2008).

#### **2.5 Antibakteri yang menghambat sintesis metabolit esensial.**

Penghambatan terhadap sintesis metabolit esensial antara lain dengan adanya kompetitor berupa antimetabolit, yaitu substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme, karena memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme (Pratiwi 2008).

### **F. Metode Aktivitas Antibakteri**

#### **1. Metode difusi**

Difusi adalah metode yang paling banyak digunakan, metode ini menggunakan filter cakram kertas yang berisi obat yang jumlahnya telah diukur kemudian ditempatkan pada permukaan media padat yang telah diinokulasi organisme uji pada permukaannya, selanjutnya diinkubasi. Diameter zona hambat yang terbentuk jelas pada sekitar disk digunakan sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM) suatu obat terhadap organisme uji tertentu (Jawetz *et al.* 2007). Penetapan kepekaan antibiotik dilakukan untuk menyelidiki antimikroba yang sesuai untuk mengobati penyakit. Prosedur yang digunakan untuk menentukan kesensitifan mikroorganisme terhadap antibiotik yaitu Metode Cakram (Kirby-Bauer) dan Metode Konsentrasi Hambatan Minimum (KHM) (Harmita & Maksum 2005).

Metode cakram (Kirby-Bauer) dilakukan dengan cara menginokulasi plat agar dengan biakan dan membiarkan antibiotika berdifusi ke media agar. Kemudian cakram yang telah mengandung antibiotika diletakkan di permukaan pelat agar yang telah mengandung mikroorganisme uji. Masing-masing

antibiotika akan berdifusi sampai pada titik dimana antibiotika tidak lagi menghambat pertumbuhan bakteri. Efektivitas antibiotika ditunjukkan oleh zona hambatan (area jernih atau bersih yang mengelilingi cakram dimana zat dengan aktivitas anti mikroba terdifusi). Faktor yang mempengaruhi ukuran zona hambatan adalah kepadatan atau viskositas dari media biakan, kecepatan difusi antibiotika, konsistensi antibiotika dalam cakram filter, sensitivitas mikroorganisme terhadap antibiotika dan interaksi antibiotika dengan media (Harmita & Maksun 2005).

## **2. Metode dilusi**

Metode dilusi ada 2 macam yaitu dilusi cair dan dilusi padat, pada prinsipnya metode ini dilakukan dengan mengencerkan zat yang akan diuji menjadi beberapa konsentrasi. Perbedaan dilusi cair dan dilusi padat adalah dilusi cair masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri pada media, sedangkan dilusi padat tiap konsentrasi zat uji dicampur media agar, lalu ditanami bakteri, hasil yang didapat adalah Konsentrasi Hambatan Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Keuntungan dari metode ini adalah memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk membunuh bakteri, mudah dan cepat dilakukan. Kerugian dari metode ini adalah tidak praktis (Jawetz *et al.* 2007).

Konsentrasi Hambatan Minimum (KHM) adalah konsentrasi antibiotika terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme tertentu. KHM dapat ditentukan dengan metode tabung dilusi. Prosedur ini berguna untuk mencegah pertumbuhan pathogen dan mengindikasikan dosis antibiotika yang efektif dalam mengontrol infeksi pada pasien. KHM dilakukan dengan cara menginokulum mikroorganisme yang telah distandarisasi ke dalam tabung yang berisi seri dilusi dari suatu antibiotika. Pertumbuhan mikroorganisme akan termonitor dengan adanya perubahan kekeruhan (Harmita & Maksun 2005).

## **G. Amoxicillin**

Antibiotika adalah zat biokimia yang diproduksi oleh mikroorganisme yang dalam jumlah kecil dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lainnya (Harmita & Maksum 2005). Amoxicillin merupakan penisilin semisintetik yang rentan terhadap penisilinase dan secara kimia serta farmakologis berhubungan dekat dengan ampisilin. Antibiotik golongan penisilin bekerja dengan cara menghambat pembentukan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroorganisme (Goodman & Gilman 2008).

Amoxicillin merupakan antibiotik golongan penisilin berspektrum luas. Antibiotik ini stabil dalam suasana asam dan dirancang untuk penggunaan oral. Absorpsi amoxicillin dari gastrointestinal lebih cepat dan lebih sempurna daripada ampisilin karena absorpsi amoksisilin tidak terganggu dengan adanya makanan dalam lambung. Spektrum antimikroba amoxicillin pada dasarnya sama dengan ampisilin, tetapi amoksisilin tampaknya tidak begitu efektif untuk shigelosis dibandingkan ampisilin (Goodman & Gilman 2008).

## **H. Media**

### **1. Pengertian media**

Media adalah substrat yang diperlukan untuk mengembangbiakkan dan membunuh mikroba. Media untuk suatu penelitian harus dalam keadaan steril, artinya tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan. Media harus memenuhi suatu persyaratan tertentu agar mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan serta perkembangan mikroba, media harus mempunyai tekanan osmose, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba, media tidak ditumbuhi oleh mikroba jenis lain yang tidak diharapkan. Media ada beberapa macam menurut bentuk, sifat, dan susunannya yang ditentukan oleh senyawa penyusun media, prosentase campuran, dan tujuan penggunaan. Media juga digunakan untuk isolasi, identifikasi maupun diferensiasi (Suriawiria 2005).

## 2. Macam-macam bentuk media

**2.1 Media padat.** Bahan media padat ditambahkan antara 12-15 g tepung agar-agar per 1000 ml media. Media ini pada umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur, dan mikroalga (Suriawiria 2005).

**2.2 Media cair.** Media cair tidak ditambahkan zat pematat, biasanya media cair dipergunakan untuk pembiakan mikroalga tetapi juga mikroba lain, terutama bakteri dan ragi (Suriawiria 2005).

**2.3 Media semi cair atau padat.** Penambahan zat pematat dalam media ini hanya 50% atau kurang dari seharusnya. Media ini umumnya dipergunakan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup anaerob atau fakultatif (Suriawiria 2005).

## 3. Klasifikasi media

**3.1 Media sintetik.** Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri kemoheterotrof. Pada uji kadar vitamin secara mikrobiologis, media yang digunakan harus mengandung semua faktor pertumbuhan yang dibutuhkan oleh bakteri kecuali vitamin yang diuji. Media, bahan media, dan bakteri yang kemudian disatukan, lalu bakteri diamati. Pertumbuhan bakteri yang sebanding dengan kadar asam laktat yang dihasilkan bakteri akan sebanding dengan jumlah vitamin dalam bahan uji (Radji 2011).

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

**3.3 Media anaerob.** Penamaan bakteri anaerob harus menggunakan media spesial disebut *reducing media* yang mengandung natrium tioglikolat. Media ini sebelum digunakan dipanaskan perlahan-lahan untuk menghilangkan oksigen yang terserap. Bejana anaerob digunakan untuk menginkubasi bakteri anaerob yang diinokulasikan dalam media agar di dalam cawan petri (Radji 2011).

**3.4 Media biakan khusus.** Media ini digunakan untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya untuk mengadakan perubahan kimia tertentu. Bakteri aerob membutuhkan CO<sub>2</sub> dengan konsentrasi lebih tinggi ataupun lebih rendah dari pada konsentrasi CO<sub>2</sub> di udara, maka konsentrasi CO<sub>2</sub> pada media ini dinaikkan (Radji 2011).

**3.5 Media selektif dan diferensial.** Media ini digunakan untuk mendeteksi ada tidaknya bakteri spesifik yang berhubungan dengan penyakit atau sanitasi yang buruk. Media selektif dirancang untuk menekan pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan dan mendukung pertumbuhan bakteri yang diinginkan. Sebagai contoh, *bismuth sulfate agar* (BSA) digunakan untuk mengisolasi bakteri *salmonella typhi* dari tinja. Media diferensial memudahkan perbedaan koloni bakteri yang diinginkan dari koloni lain yang tumbuh pada lempeng media yang sama. Karakteristik selektif dan diferensial kadang-kadang di kombinasikan di dalam satu jenis media (Radji 2011).

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

## I. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu proses membuat alat, bahan dan media menjadi steril, dimana steril merupakan suatu keadaan zat bebas dari mikroba hidup, baik yang patogen maupun non patogen, baik dalam bentuk vegetatif maupun non vegetatif (bentuk spora). Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik, secara kimia, dan secara mekanik. Sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek, seperti sinar-X, sinar  $\alpha$ , sinar  $\gamma$ , dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia

yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, dan larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi (Darmandi 2008).

## J. Landasan Teori

Bakteri *Streptococcus mutans* merupakan bakteri penyebab utama terjadinya karies gigi diketahui sebagai bagian dari flora normal dalam rongga mulut yang berperan dalam proses fermentasi karbohidrat sehingga menghasilkan asam menyebabkan terjadinya demineralisasi gigi dan infeksi pada rongga mulut (Rimporok *et al.* 2015). Salah satu tanaman yang digunakan untuk obat antibakteri adalah binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Secara empiris tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit yaitu kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, muntah darah, stroke, tyfus, wasir, rematik, radang usus, sembelit, sesak napas (Manoi 2009).

Rimporok *et al.* (2015), melakukan uji efektivitas daun binahong terhadap *Streptococcus mutans* didapatkan ekstrak daun binahong memiliki efek antibakteri dalam memperlambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Rachmawati (2007), telah melakukan skrining fitokimia daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dengan melakukan maserasi terhadap serbuk kering daun dengan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol didapatkan kandungan kimia berupa saponin, triterpenoid, flavonoid dan minyak atsiri. Rochani (2009), melakukan ekstraksi dengan cara maserasi daun binahong dengan menggunakan pelarut petroleum eter, etil asetat dan etanol, setelah dilakukan uji tabung ditemukan kandungan alkaloid, saponin dan flavonoid, sedangkan pada analisis secara KLT ditemukan senyawa alkaloid, saponin dan flavonoid.

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Darsana *et al.* 2012). Flavonoid mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel

mikroorganisme dan bersifat *irreversible* atau tidak dapat diperbaiki lagi sehingga pertumbuhan mikroba terhambat (Gunawan & Mulyani 2004). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel (Madduluri *et al.* 2013). Mekanisme antibakteri yang dimiliki oleh terpenoid adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) yang terdapat pada membran luar dinding sel bakteri sehingga membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga porin menjadi rusak.

Maserasi digunakan untuk mengambil ekstrak daun binahong. Maserasi merupakan metode penyarian yang paling sederhana, waktu yang digunakan lebih cepat dibandingkan cara penyarian yang lain. Setelah dilakukan maserasi dilanjutkan ke tahap fraksinasi. Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lain berdasarkan kepolarannya. Jumlah dan jenis senyawanya yang telah dipisahkan akan menjadi fraksi yang berbeda. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan tiga pelarut dengan polaritas yang berbeda-beda, pelarut yang digunakan *n*-heksana, etil asetat dan air. Pelarut *n*-heksana bersifat nonpolar yang dapat melarutkan minyak lemak dan asam lemak tinggi, steroid, triterpenoid serta karotenoid (Kristijono 2008). Senyawa yang larut dalam pelarut etil asetat yaitu flavonoid, alkaloid, senyawa-senyawa fenolik seperti fenol-fenol, asam fenolat, fenil propanoid, antarkinon dan xanton (Harborne 2006). Air dapat melarutkan gula, pati, gom, enzim, protein, minyak menguap, lemak peptida, zat pewarna, garam alkaloid, dan asam organik (List & Schamidt 2000). Senyawa aktif dalam fraksi air yaitu saponin, alkaloid, dan flavonoid, sehingga dapat diperkirakan bahwa dari ketiga fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air yang paling efektif adalah fraksi air.

Hasil dari fraksinasi dan ekstrak etanol daun binahong kemudian dilakukan uji antibakteri. Metode difusi paling banyak digunakan, metode ini menggunakan filter cakram kertas yang berisi obat yang jumlahnya telah diukur kemudian ditempatkan pada permukaan media padat yang telah diinokulasi organisme uji pada permukaannya. Metode dilusi ini berdasarkan pengamatan kekeruhan larutan, dengan metode dilusi dapat ditentukan secara kuantitatif

konsentrasi terkecil suatu obat yang dapat menghambat dan membunuh kuman (Jawetz *et al.* 2007).

### **K. Hipotesis**

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

Pertama, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Kedua, dari ketiga fraksi atau ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang mempunyai aktivitas teraktif dalam menghambat *Streptococcus mutans* ATCC 25175 adalah air.

Ketiga, fraksi yang paling teraktif terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mempunyai nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi yang digunakan dalam penelitian adalah daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang diperoleh dari Palur, Karanganyar, Jawa Tengah.

##### **2. Sampel**

Sampel yang digunakan adalah daun binahong yang segar, berwarna hijau dan diambil secara acak pada bulan Januari 2017, yang diperoleh Palur, Karanganyar, Jawa Tengah.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 70% daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanolik daun binahong.

Variabel kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanolik daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah–ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun binahong dengan berbagai konsentrasi atau fraksi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) diuji antibakteri dengan berbagai konsentrasi.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas anti bakteri dari fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 di media uji.

Variabel terkontrol pada penelitian ini merupakan variabel yang mempengaruhi variabel terikat sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175, kondisi laboratorium (meliputi kondisi inkubasi, alat dan bahan yang digunakan harus steril) dan media yang digunakan harus steril.

### 3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, kulit daun binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang segar, berwarna hijau dan diambil secara acak, yang diperoleh dari Kecamatan Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah daun binahong yang diambil dan kemudian dicuci dengan air mengalir setelah itu diangin-anginkan dilanjutkan pengeringan dengan cara oven pada suhu 40°C. Setelah kering, dibuat serbuk dengan cara digiling dan diayak dengan ayakan no 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah hasil ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% yang kemudian dipekatkan.

Keempat, fraksi *n*-heksana daun binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah hasil fraksinasi dari ekstrak etanol daun binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) menggunakan pelarut *n*-heksana.

Kelima, fraksi etil asetat daun binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah hasil fraksinasi dari residu *n*-heksana menggunakan pelarut etil asetat.

Keenam, fraksi air daun binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah residu dari hasil fraksinasi ekstrak etil asetat menggunakan pelarut air.

Ketujuh, bakteri uji pada penelitian ini adalah *Streptococcus mutans* ATCC 25175 yang diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Setia Budi.

Kedelapan, metode difusi adalah membuat sumuran yang berisi larutan uji *n*-heksana, larutan uji etil asetat, larutan uji air, kontrol positif (amoksisilin 2,5%) dan kontrol negatif (DMSO 1%) dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%.

Kesembilan, metode dilusi adalah metode uji antibakteri dengan cara melihat tingkat kekeruhan dalam media, yang merupakan konsentrasi minimum yang diperlukan oleh ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air untuk menghambat (KHM adalah adanya kekeruhan pada seri pengenceran dari sejumlah tabung dengan larutan jernih setelah tabung keruh yang terakhir) dan membunuh (KBM adalah dengan menggoreskan larutan dari tabung yang hasilnya jernih pada medium selektif MHA (*Muller Hinton Agar*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Konsentrasi dalam satu seri pengenceran yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,20%; 0,10% kontrol negatif (media MHA, suspensi bakteri *Streptococcus mutans*, dan DMSO 1%); kontrol positif (media MHA, suspensi bakteri *Streptococcus mutans* dan amoksisilin 25%).

### C. Bahan dan Alat

#### 1. Bahan

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah daun binahong, bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Mueller Hinton Agar* (MHA).

Bahan lain yang digunakan adalah pelarut *n*-heksana, etil asetat, air, etanol 70%, aqua destilata steril, DMSO 1%, media BHI, pereaksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, plasma sitrat, media MSA, asam sulfat pekat, kloroform, HCl 2N, amil alkohol, serbuk Mg, asam klorida 2N, dragendrof, anhidrida asetat, cat Kristal violet, larutan lugol iodine, cat safranin dan amoxicillin.

#### 2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : oven, alat penggiling, pengayak nomor 40, alat *Rotary Evaporator*, timbangan analitik, *moisture balance* Ohaus, botol coklat, Erlenmeyer, tabung reaksi, corong pisah, corong kaca, kain flannel, pipet tetes, water bath, kertas saring, gelas ukur, autoklaf,

mikroskop, obyek glass, deck glass, inkubator, lampu spiritus, pipet tetes, pipet volume, siring, ose platina, cawan petri, pinset, mikroskop.

#### **D. Jalannya Penelitian**

##### **1. Determinasi tanaman**

Tahap pertama penelitian ini adalah determinasi tanaman daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang bertujuan untuk mendapatkan kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi baik secara makroskopi tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap kepustakaan dan dibuktikan di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

##### **2. Pengumpulan simplisia, pengeringan simplisia dan pembuatan serbuk daun binahong**

Pengumpulan simplisia segar daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) diambil secara acak dengan cara yaitu daun dipetik. Daun binahong dicuci bersih terlebih dahulu di bawah air mengalir, kemudian ditiriskan untuk membebaskan daun binahong dari sisa air cucian, selanjutnya dikeringkan dalam oven dengan suhu 40<sup>0</sup>C sampai didapatkan daun dengan kadar air tertentu.

Daun binahong yang telah kering dihaluskan dengan mesin penggiling kemudian diayak dengan ayakan nomer 40, kemudian dilakukan perhitungan persentase.

##### **3. Penetapan kadar lembab serbuk daun binahong**

Serbuk daun binahong dilakukan penetapan susut pengeringan dengan cara ditimbang serbuk daun binahong 2 gram dalam suhu ruang, kemudian diukur susut pengeringan serbuk dengan menggunakan alat *Moisture Balance*, ditunggu sampai berbunyi akan menunjukkan hasil dalam satuan persen (%). Caranya temperatur diatur yaitu pada suhu 110<sup>0</sup>C serta waktu pengeringan secara manual yaitu 15 menit kemudian dimasukkan pada neraca timbang dengan skala 0,00 maka sampel serbuk daun binahong 2 gram dimasukkan. Ditunggu sampai alat *Moisture Balance* sampai berbunyi yang akan menunjukkan hasil dalam satuan

persen (%). Konsentrasi kadar lembab akan memenuhi syarat apabila konsentrasi air suatu serbuk simplisia tidak lebih dari 10%.

#### **4. Pembuatan ekstrak etanol maserasi**

Pembuatan ekstrak maserasi daun binahong, serbuk simplisia binahong sebanyak 400 gram dimasukkan ke dalam botol gelap, kemudian dimasukkan pelarut etanol 70% sebanyak 3000 ml. Maserasi dilakukan selama 5 hari sambil sesekali digojok, kemudian disaring menggunakan kain flanel dan dipekatkan dengan menggunakan *Rotary Evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental (Depkes 1979).

#### **5. Penetapan % rendemen**

Penetapan persen rendemen diperoleh dari hasil ekstrak pekat kemudian hasil ekstrak pekat dibagi dengan berat serbuk daun binahong kemudian dikalikan 100%.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot sampel}} \times 100\%$$

#### **6. Uji bebas etanol**

Ekstrak pekat selanjutnya diuji bebas etanol dengan cara uji esterifikasi. Uji esterifikasi dilakukan dengan cara 5 tetes ekstrak pekat ditambah 5 tetes asam asetat dan 2 tetes asam sulfat pekat kemudian panaskan. Hasil uji dinyatakan bebas etanol jika tidak terbentuk bau ester yang khas.

#### **7. Fraksinasi**

Fraksinasi ekstrak etanol daun binahong dibuat dengan menimbang ekstrak etanol hasil maserasi dalam beaker glass sebanyak 10 gram. Ekstrak etanol kental dari hasil maserasi di dalam beaker glass kemudian dilarutkan dengan pelarut air 75 ml, di fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana sebanyak 3 kali dengan masing-masing 75 ml, fraksi *n*-heksana yang dapat dipekatkan. Residu yang didapat dari fraksi *n*-heksana dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut etil asetat masing-masing 75 ml. Hasil yang didapat adalah fraksi etil asetat yang dapat dipekatkan dengan *Rotary Evaporator*, dan fraksi air kemudian dipekatkan dengan *waterbath* sampai pekat lalu ditimbang (Depkes 1979).

## **8. Identifikasi kandungan kimia serbuk, ekstrak dan fraksi daun binahong**

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kandungan kimia yang terkandung dalam daun binahong identifikasi senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan terpenoid dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

**8.1 Identifikasi alkaloid.** Ekstrak, fraksi teraktif sebanyak 0,5 g ditambahkan sedikit larutan HCl 2 N, dipanaskan kemudian tambahkan reagen Dragendrof terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam (Depkes 1987).

**8.2 Identifikasi flavonoid.** Ekstrak, fraksi teraktif sebanyak 0,5 gram ditambah 10 ml aquadest dipanaskan selama satu menit, diambil filtratnya. Filtrat ditambah 0,1 gram larutan Mg, ditambahkan 1 ml pelarut amil alkohol. Campuran dikocok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1978).

**8.3 Identifikasi saponin.** Ekstrak, fraksi teraktif sebanyak 0,5 gram ditambah air panas lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Saponin positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, pada penambahan 1 tetes HCl 2 N buih tidak hilang (Depkes 1978).

**8.4 Identifikasi terpenoid.** Ekstrak, fraksi teraktif sebanyak 0,5 gram dilarutkan 0,5 ml kloroform, kemudian ditambah 0,5 ml anhidrida asetat dan ditambah dua ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat tetes demi tetes melalui dinding tabung. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuk warna cokelat kemerahan (Depkes 1978).

## **9. Identifikasi bakteri uji *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

**9.1 Identifikasi mikroskopis.** Identifikasi mikroskopis bakteri *Streptococcus mutans* dilakukan dengan cara pengecatan gram. Pertama dibuat apusan diatas obyek glass, kemudian difiksasi. Selanjutnya ditetesi pewarnaan gram A yang berisi Kristal violet selama 1 menit, lalu dicuci dilanjutkan ditetesi dengan pewarnaan gram B yang berisi larutan KI dan I<sub>2</sub> selama 1 menit. Setelah itu cuci kembali dan lanjutkan ditetesi dengan pewarnaan gram C sebagai peluntur selama 30 detik kemudian dicuci. Terakhir ditetesi dengan pewarnaan gram D yang berisi safranin selama 1 menit kemudian dicuci dan dikeringanginkan,

setelah kering amati dengan mikroskop. Jika didapat hasil berbentuk coccus dan berwarna violet maka hasil pewarnaan adalah Gram positif bakteri *Streptococcus mutans*.

**9.2 Uji biokimia.** Pengujian ini dilakukan dengan cara mengambil bakteri *Streptococcus mutans* dari kultur murni kemudian ditusukkan pada media MSA (*Manitol Salt Agar*) dan dikultur pada media agar darah. Pengamatan dilakukan setelah media diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C, kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Perubahan warna yang terjadi pada media MSA yaitu dari merah menjadi kuning dan perubahan yang terjadi pada media agar darah yaitu adanya hemolisis pada sel darah merah dengan adanya koloni berwarna putih dengan tepian koloni berwarna hijau.

**9.3 Uji katalase.** Pengujian ini dilakukan dengan cara mengoleskan bakteri biakan murni *Streptococcus mutans* pada obyek glass selanjutnya ditetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Jika tidak terbentuk gas berupa gelembung-gelembung udara pada H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> maka hasil uji katalase adalah positif bakteri *Streptococcus mutans*.

**9.4 Uji koagulase.** Pengujian ini dilakukan dengan memasukkan bakteri *Streptococcus mutans* dalam plasma sitrat, selanjutnya diamati ada tidaknya gumpalan yang terbentuk. Jika terbentuk gumpalan maka hasil uji koagulase adalah positif bakteri *Streptococcus mutans*.

## **10. Pembuatan suspensi bakteri**

Suspensi *Streptococcus mutans* dibuat dengan cara mengambil 1 ose bakteri dari biakan, kemudian dicampur dalam 2 ml media BHI (*Brain Heart Infusion*) steril. Setelah itu tabung reaksi ditutup dengan kapas dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-4 jam. Lalu dibandingkan dengan 0,5 Mc Farland yang dianggap setara dengan 1,5x10<sup>8</sup> CFU/mL bakteri *Streptococcus mutans* (Jannata *et al.* 2004).

## **11. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong**

**11.1 Sterilisasi alat dan bahan.** Sterilisasi alat dan bahan perlu dilakukan agar tidak terjadi kontaminasi yang dapat merusak hasil uji. Alat-alat gelas (tabung reaksi, pipet ukur, batang pengaduk, beaker glass, cawan petri dan ose) dicuci bersih. Alat-alat tersebut harus dalam keadaan kering dan tidak terdapat titik air

agar tidak timbul noda yang sulit hilang setelah disterilkan. Alat-alat dikeringkan, dibungkus kertas dan disterilkan dengan oven pada suhu 160°C-180°C selama 1-2 jam dan bahan yang akan digunakan seperti media, aquades, *blue tips*, *yellow tips*, disterilkan dengan autoklaf (pemanasan basah) pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat yang sudah disterilkan dapat langsung dipakai atau disimpan untuk digunakan lain waktu tetapi harus dalam keadaan tertutup rapat.

**11.2 Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun binahong.** Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi untuk mengetahui fraksi teraktif dari ekstrak etanol daun binahong. Metode cakram disk dilakukan dengan cara suspensi bakteri uji *Streptococcus mutans* dioleskan secara merata pada Media MHA (*Muller Hinton Agar*) dengan menggunakan kapas lidi steril, kemudian letakkan cakram disk dipermukaan cakram media. Cakram disk diberi larutan uji kemudian keringanginkan setelah kering dapat digunakan. Dua cakram disk diberi larutan DMSO 1% sebagai kontrol negatif (tidak terdapat daya hambat) dan larutan amoxicillin 2,5% sebagai kontrol positif (terdapat daya hambat). Empat cakram disk diberi larutan uji yaitu ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dengan konsentrasi masing-masing 50%, 25%, dan 12,5%, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Daya hambatan diukur dengan diameter daerah jernih yang teramati pada cakram disk. Pengujian dilakukan dengan pengulangan sebanyak tiga kali replikasi. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi selanjutnya dilakukan uji statistik untuk mengetahui konsentrasi diameter daya hambat terbesar antar fraksi, setelah didapatkan fraksi teraktif pengujian dilanjutkan dengan metode dilusi.

Pengujian antibakteri untuk fraksi teraktif dilakukan dengan metode dilusi. Metode dilusi ini digunakan untuk menentukan KHM dan KBM. Pengujian antibakteri ini dilakukan dengan cara menyiapkan 12 tabung steril. Pembuatan larutan stock fraksi teraktif menggunakan DMSO 1%. Konsentrasi pengenceran masing-masing tabung yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%, kontrol positif (media MHA, suspensi bakteri *Streptococcus mutans* dan amoksisilin 25%) dan kontrol negatif (media MHA, suspensi bakteri *Streptococcus mutans*, dan DMSO 1%). Metode ini dilakukan



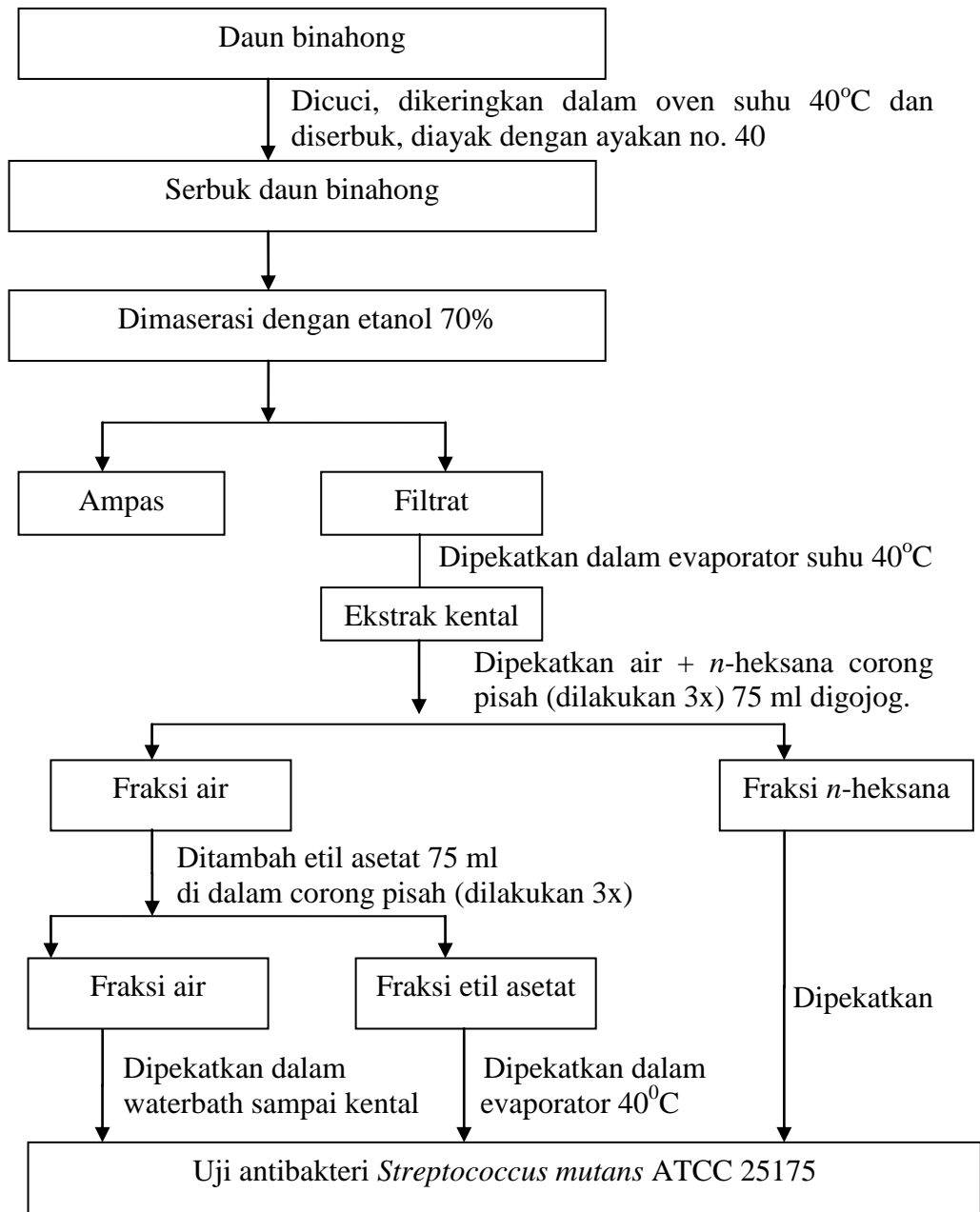
secara aseptis dengan cara menyiapkan 12 tabung steril kemudian diberi media BHI sebanyak 0,5 ml kecuali tabung pertama. Secara aseptik dalam tabung 1 ditambahkan 1,0 ml fraksi teraktif sebagai kontrol negatif, dari tabung pertama diambil 0,5 ml dimasukkan tabung kedua, dari tabung kedua diambil 0,5 ml dimasukkan tabung ketiga dan begitu seterusnya sampai tabung ke sebelas. Ambil 0,5 ml dari tabung sebelas kemudian dibuang. Suspensi bakteri uji yang telah disiapkan dimasukkan pada tabung 2 sampai tabung 12 sebanyak 0,5 ml kecuali tabung 1 sebagai kontrol negatif. Terakhir semua tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam dan diamati kekeruhannya sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum. Konsentrasi Bunuh minimum (KBM) ditentukan dari goresan bakteri yang sudah tidak terdapat pertumbuhan bakteri (Bonang & Koeswardono 1982).

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan mengamati adanya kekeruhan pada seri pengenceran dari sejumlah tabung, dimana tabung dengan lautan jernih setelah tabung keruh yang terakhir. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan dengan cara menggoreskan larutan dari tabung yang hasilnya jernih pada medium MHA (*Muller Hinton Agar*) dan diinkubasi selama 24-48 jam. Setelah 24-48 jam diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada daerah goresan.

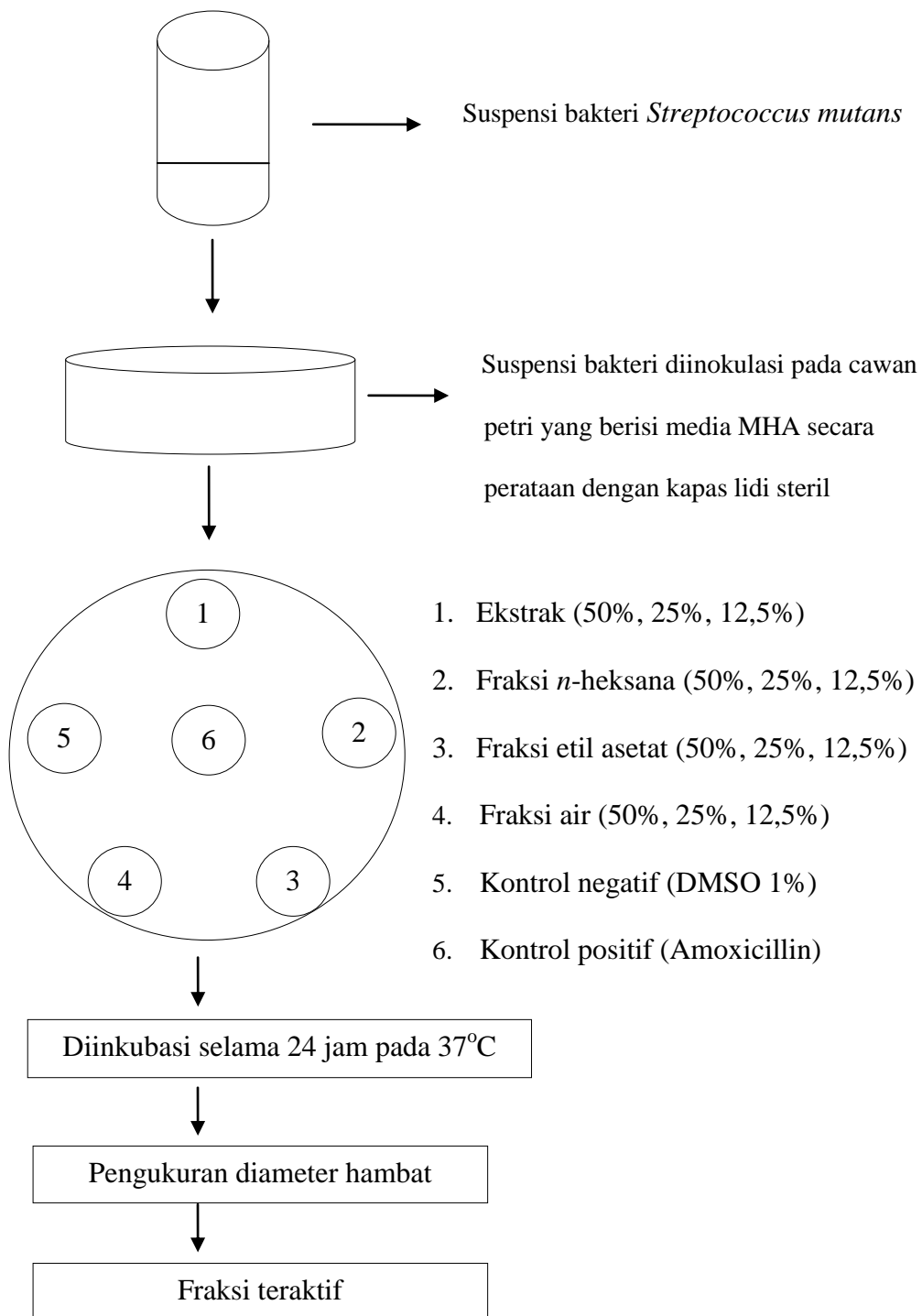
### **E. Analisis Data**

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175 menggunakan metode difusi yang dinyatakan dengan nilai zona hambat yang terbentuk. Hasil data yang diperoleh dianalisis menggunakan statistik metode Anova Satu Jalan.

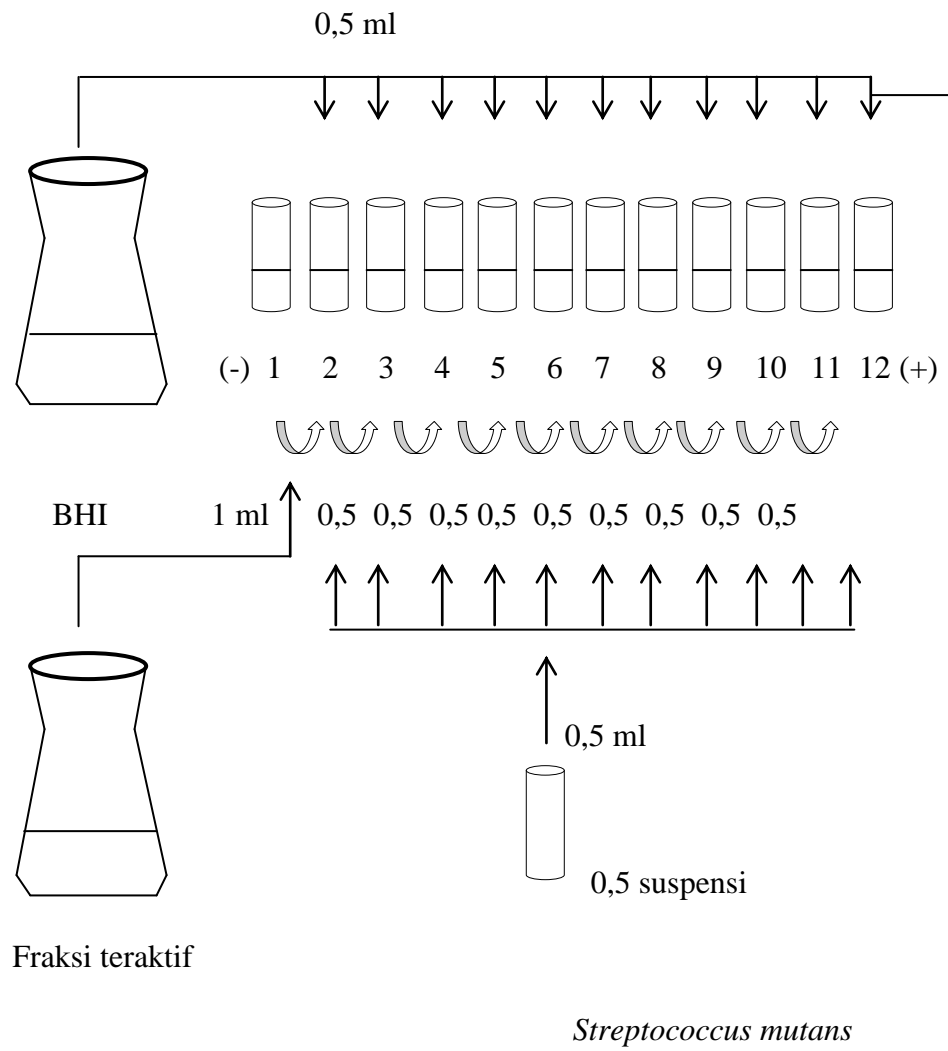
### F. Skema Jalannya Penelitian



Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksinasi daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)



**Gambar 4.** Skema uji *Streptococcus mutans* dengan metode difusi



Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam  
 ↓  
 Tidak dapat diamati ada tidaknya kekeruhan  
 ↓  
 KHM  
 ↓  
 Seluruh tabung ditanam pada media MHA  
 ↓  
 Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam  
 ↓  
 Diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*  
 pada media MHA  
 ↓  
 KBM

Gambar 5. Skema uji *Streptococcus mutans* dengan metode dilusi

**BAB IV**  
**HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

**A. Hasil Penelitian**

**1. Identifikasi tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)**

**1.1. Determinasi tanaman.** Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk menetapkan kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi daun binahong terhadap kepustakaan dan dibuktikan di Laboratorium MIPA Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Hasil determinasi tanaman binahong :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-404b-405b-414a-415b-451b-466b-467b-468b-469b-470e-

541a \_\_\_\_\_ **49.** **Basellaceae**

1b \_\_\_\_\_ **2. *Anredera***

1 \_\_\_\_\_ ***Anredera cordifolia* (Ten.)**

**Stennis**

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

brakteola paling atas putih kehijauan, lebih pendek daripada perhiasan bunga, perhiasan bunga dalam bentuk tepala (tidak bisa dibedakan kelopak bunga dan mahkota bunga), berjumlah 5, bulat telur, diameter 5.5-8 mm, ujungnya tumpul, berlepasan, berwarna krem keputih-putihan; tangkai sari putih, tangkai putik putih.

Hasil determinasi yang didapat menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini adalah benar tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis).

## **2. Pengumpulan simplisia, pengeringan simplisia dan pembuatan serbuk daun binahong**

Pengumpulan simplisia segar daun binahong dilakukan dengan cara yaitu daun dipetik. Daun binahong dicuci bersih terlebih dahulu di bawah air mengalir, kemudian ditiriskan untuk membebaskan daun binahong dari sisa air cucian, selanjutnya dikeringkan dalam oven dengan suhu 40°C selama 4 hari, pengeringan dilakukan agar mengurangi kadar air yang terkandung dalam simplisia sehingga mencegah terjadinya reaksi enzimatis yang dapat merusak senyawa kimia dalam simplisia dan mencegah tumbuhnya jamur dan mikroorganisme lain yang dapat merusak simplisia. Daun binahong yang telah kering dihaluskan dengan mesin penggiling kemudian serbuk yang didapat diayak dengan ayakan nomor 40 hingga semua serbuk terayak dan didapatkan serbuk halus. Pembuatan serbuk dilakukan dengan tujuan memperkecil ukuran partikel sehingga mempermudah kontak dengan pelarut pada saat penyarian sehingga hasil yang didapatkan optimal. Perhitungan pengeringan daun binahong dapat dilihat pada lampiran 12.

**Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun binahong**

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen simplisia (%)
4000	930	23,25

## **3. Penetapan kadar lembab serbuk daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis)**

Penetapan kadar lembab serbuk daun binahong bertujuan untuk mengetahui kandungan lembab dalam simplisia. Kadar lembab yang terlalu tinggi

(tidak boleh lebih dari 10%) dalam serbuk dapat mengaktifkan enzim-enzim dalam simplisia sehingga dapat merusak atau mengubah senyawa-senyawa kimia dan merusak kualitas simplisia selama penyimpanan. Penetapan kadar lembab pada daun binahong dilakukan dengan cara menggunakan alat *Moisture Balance*.

**Tabel 2. Hasil penetapan kadar air serbuk daun binahong**

No	Bobot serbuk daun Binahong (gram)	Kadar lembab (%)
1	2,00	7,0
2	2,00	7,2
3	2,00	7,3
Rata-rata		7,16

Berdasarkan tabel di atas diperoleh hasil rata-rata penetapan kadar lembab serbuk daun binahong adalah 7,16. Hasil ini menunjukkan bahwa kadar lembab serbuk daun binahong memenuhi syarat yaitu kurang dari 10%.

#### **4. Pembuatan ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis)**

Maserasi merupakan suatu penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari. Sebanyak 400 gram daun binahong direndam dalam pelarut etanol 70% sebanyak 3000 ml ke dalam botol coklat dengan tujuan mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna (Depkes 1979). Serbuk direndam selama 5 hari dengan sesekali digojog, kemudian disaring menggunakan kain flanel dan dipisahkan dengan menggunakan vakum *Rotary Evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental.

Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah etanol 70%. Etanol digunakan sebagai pelarut karena mampu menarik semua jenis zat aktif, baik yang bersifat polar, semipolar dan nonpolar, kadar toksiknya relatif rendah terhadap makhluk hidup dan merupakan pelarut serba guna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan. Hasil rendemen ekstrak etanol daun binahong dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3. Rendemen ekstrak etanol daun binahong**

Serbuk daun binahong (g)	Bobot ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
400	85,76	21,44

## 5. Uji bebas etanol

Ekstrak kental daun binahong dilakukan uji tes bebas etanol dengan melakukan esterifikasi alkohol.

**Tabel 4. Uji bebas etanol dari ekstrak kental daun binahong**

Hasil	Pustaka (Voigt 1995)
Tidak tercium bau ester yang khas etanol	Tidak tercium bau ester yang khas etanol

Hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong sudah bebas dari pelarutnya yaitu etanol 70% yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas etanol. Uji bebas etanol dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan pelarut etanol yang terdapat dalam ekstrak daun binahong. Sehingga jika pelarut etanol masih tertinggal pada ekstrak dapat mengakibatkan bakteri terbunuh bukan karena senyawa-senyawa dari ekstrak, tetapi oleh sisa pelarut etanol yang masih tertinggal.

## 6. Fraksinasi

Senyawa non polar akan terekstraksi dalam pelarut *n*-heksana, senyawa semipolar akan terekstraksi dalam pelarut etil asetat dan senyawa polar akan terekstraksi dengan pelarut air. Fraksinasi *n*-heksana dilakukan dengan cara ditimbang 10 gram ekstrak kental daun binahong kemudian dilarutkan dengan etanol:air (1:1) sebanyak 3 kali replikasi, dengan cara 7,5 ml etanol 70% terlebih dahulu di beaker glass kemudian ditambah air 67,5 ml lalu dimasukkan dalam corong pisah. Selanjutnya ditambahkan 75 ml *n*-heksana ke dalam corong pisah, kemudian difraksinasi dengan cara dilakukan penggojokan selama 10 menit, sesekali corong pisah dibuka untuk mengeluarkan gas. Fraksi *n*-heksana terletak di atas dan fraksi air terletak di bawah. Fraksinasi dengan *n*-heksana dilakukan sebanyak tiga kali hasil fraksinasi. Fraksinasi etil asetat dilakukan dengan cara hasil residu dari fraksinasi *n*-heksana dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian ditambahkan 75 ml etil asetat ke dalam corong pisah selanjutnya



difraksinasi. Fraksi etil asetat terletak di bagian atas dan fraksi air terletak di bagian bawah. Fraksinasi dengan etil asetat dilakukan sebanyak tiga kali hasil fraksinasi ditampung kemudian diuapkan pada suhu 50-60°C dengan vakum *rotary evaporator*. Fraksinasi air yang didapat ditampung dan diuapkan. Perhitungan rendemen fraksinasi dapat dilihat pada lampiran 14.

**Tabel 5. Rendemen hasil fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun binahong**

Fraksi	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksana	10	2,01	20,1
	10	2,03	20,3
	10	2,08	20,8
	Rata-rata	2,04	20,4
etil asetat	10	2,50	25,0
	10	2,42	24,2
	10	2,49	24,9
	Rata-rata	2,47	24,7
air	10	6,31	63,1
	10	6,35	63,5
	10	6,30	63,0
	Rata-rata	6,32	63,2

Berdasarkan tabel 5 perhitungan persentase rata-rata rendemen fraksi *n*-heksana dari ekstrak daun binahong didapat sebanyak 20,4%, persentase rendemen fraksi *n*-heksana sangat kecil disebabkan senyawa yang bersifat non polar pada daun binahong sedikit. Fraksi etil asetat dari ekstrak daun binahong didapat persentase rata-rata rendemen sebanyak 2,47% disebabkan senyawa semipolar pada daun binahong lebih banyak dari pada senyawa non polar. Fraksi air dari daun binahong didapat persentase rata-rata rendemen sebanyak 63,2%, rendemen fraksi air paling banyak dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat karena senyawa paling banyak yang terdapat dalam daun binahong adalah senyawa polar sehingga hasil fraksi air paling maksimal.

## 7. Identifikasi kandungan kimia daun binahong

Identifikasi kandungan kimia dilakukan dengan bertujuan untuk mengetahui kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam daun binahong.

Identifikasi kandungan kimia dilakukan dengan menggunakan ekstrak etanol daun binahong dapat dilihat pada tabel 6.

**Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air daun binahong**

Senyawa	Hasil		Keterangan			
	Pengamatan	Pustaka	Ekstrak	Fraksi air	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi etil asetat
Alkaloid	Terbentuk kekeruhan atau endapan warna coklat hitam dan ada endapan kuning	Kekeruhan atau endapan warna coklat (Depkes 1978)	(+)	(+)	(-)	(+)
Flavonoid	Larutan berwarna merah pada lapisan amil alkohol	Reaksi positif bila timbul + warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1978)	(+)	(+)	(-)	(-)
Terpenoid	Terbentuk warna cokelat kemerahan	Terbentuk warna cokelat kemerahan	(+)	(-)	(-)	(-)
Saponin	Terdapat busa yang mantap + HCl, busa tidak hilang selama 30 menit setinggi 2,5 cm	Terdapat busa yang mantap setinggi 1-5cm + HCl, busa tidak hilang selama 30 menit (Depkes 1978)	(+)	(+)	(+)	(-)

Keterangan : (+) = Terbentuk perubahan  
(-) = Tidak terbentuk perubahan

Berdasarkan tabel 6 kesesuaian hasil identifikasi kandungan kimia dari ekstrak etanol daun binahong mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan saponin. Gambar identifikasi kandungan kimia dapat dilihat pada lampiran 5.

## 8. Identifikasi bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175

**8.1 Uji identifikasi mikroskopis.** Identifikasi mikroskopis *Streptococcus mutans* dilakukan dengan cara pewarnaan Gram. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui pengelompokan bakteri yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Pada pewarnaan Gram ini, reagen yang digunakan ada 4 jenis, yaitu Gram A (Kristal violet), Gram B (Iodine), Gram C (Alkohol), dan Gram D (Safranin). Hasil pengecatan Gram yang dilakukan menunjukkan bahwa *Streptococcus mutans* termasuk bakteri Gram positif yang ditandai dengan dapat dipertahankannya warna ungu dari kristal violet sehingga ketika diamati dengan

mikroskop akan menunjukkan warna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol. Warna ungu pada bakteri Gram positif disebabkan karena dinding selnya terdiri dari satu lapisan peptidoglikan yang tebal dan permeabilitas dinding sel kurang, sehingga warna ungu dari Kristal violet dapat terikat kuat karena menyempitnya pori dinding sel akibat dekolorisasi oleh alkohol dan dinding sel tetap menahan warna ungu. Hasil dapat dilihat pada lampiran 8.

**8.2 Uji biokimia.** Hasil dari pengujian pada media MSA menunjukkan bahwa bakteri uji benar yaitu *Streptococcus mutans* dengan adanya perubahan warna merah menjadi warna kuning pada media MSA yang disebabkan karena bakteri *Streptococcus mutans* mampu memfermentasi manitol. Hal ini terjadi karena saat memfermentasi manitol bakteri *Streptococcus mutans* melepaskan asam sehingga mengubah pH disekitar media MSA, perubahan pH ditunjukkan dengan adanya perubahan indikator phenol red dari merah menjadi kuning. Hasil dari perubahan media MSA terdapat koloni hal ini diakibatkan karena terlalu banyak bakteri yang diambil sehingga mengakibatkan tusukkan pada media MSA terdapat koloni. Tujuan uji biokimia ini untuk mengetahui teknik-teknik cara tusuk yang benar sehingga mengetahui pembentukan yang terjadi pada bakteri. Hasil dapat dilihat pada lampiran 8.

Hasil dari pengujian media Agar darah menunjukkan bahwa bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 ditandai dengan adanya pertumbuhan bakteri dengan adanya koloni bakteri berwarna putih dengan tepian koloni berwarna hijau. Warna koloni pada media Agar darah menunjukkan bahwa *Streptococcus mutans* ATCC 25175 bersifat alfa hemolisis ( $\alpha$ -hemolisis), ini disebabkan karena lisisnya sel darah merah disebabkan terjadi reduksi hemoglobin menjadi methemoglobin. Hasil dapat dilihat pada lampiran 8.

**8.3 Uji katalase.** Hasil yang didapat dari pengujian katalase tidak berbentuk buih (gelembung-gelembung udara). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri uji benar *Streptococcus mutans* karena bakteri ini tidak memiliki enzim katalase sehingga hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) yang diberikan tidak diuraikan oleh bakteri, sehingga tidak menghasilkan oksigen dan air (Hart dan Shears, 1997). Hasil dapat dilihat pada lampiran 8.

**8.4 Uji koagulase.** Hasil pengujian koagulase menunjukkan terbentuknya gumpalan, ini menandakan bahwa bakteri uji benar *Streptococcus mutans*. Hal ini karena bakteri *Streptococcus mutans* dapat menghasilkan enzim koagulase yang dapat menyebabkan fibrin dalam plasma menjadi beku. Hasil dapat dilihat pada lampiran 8.

### **9. Pembuatan suspensi bakteri**

Hasil dari pembuatan suspensi dilihat kemudian dibandingkan dengan 0,5 Mc Farland yang dianggap setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL bakteri *Streptococcus mutans*. Uji aktivitas menggunakan metode difusi dan dilusi menggunakan suspensi perbandingan pengenceran 1:1000 (Jannata *et al.* 2004).

### **10. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong secara difusi**

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* menggunakan larutan uji yaitu ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong dengan konsentrasi masing-masing konsentrasi yaitu 50%, 25%, dan 12,5%. Kontrol positif (terdapat daya hambat) yang digunakan adalah Amoxicillin dengan konsentrasi 2,5% dan kontrol negatif (tidak terdapat daya hambat) yang digunakan adalah DMSO 1%.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi bertujuan untuk mengetahui daya hambat larutan uji terhadap pertumbuhan biakan bakteri *Streptococcus mutans* dan untuk mengetahui fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling efektif. Uji difusi dilakukan dengan menggunakan cakram disk kosong yang diberi larutan uji masing-masing 10  $\mu$ L dengan waktu inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Daya antibakteri dari tiap larutan uji dapat diketahui dari ada atau tidaknya zona hambat yang diukur dan dibandingkan dengan kontrol positif yaitu amoxicillin. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air terhadap bakteri uji menunjukkan daya hambat, ini dibuktikan dengan adanya daerah jernih di sekitar cakram yang tidak ditumbuhi bakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi dapat dilihat pada lampiran 9.

**Tabel 7. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dengan metode difusi**

Sampel (mm)	Konsentrasi	Diameter daya hambat			Rata-Rata (mm) ± SD
		Replikasi			
		1	2	3	
Fraksi <i>n</i> -heksana	50%	12	11,7	12,5	12,06 ± 0,40
Fraksi etil asetat	50%	16,2	15	15	15,4 ± 0,69
Fraksi air	50%	20,8	20	20,5	20,4 ± 0,57
Ekstrak	50%	10	9,5	10,2	10,1 ± 0,14
Fraksi <i>n</i> -heksana	25%	11	10,3	10,5	10,65 ± 0,49
Fraksi etil asetat	25%	13,5	13	13,7	13,4 ± 0,36
Fraksi air	25%	16,5	16,3	16	16,26 ± 0,25
Ekstrak	25%	9	8,5	8,2	8,56 ± 0,40
Fraksi <i>n</i> -heksana	12,5%	0	0	0	0 ± 0
Fraksi etil asetat	12,5%	0	0	0	0 ± 0
Fraksi air	12,5%	11,5	11	11	11,16 ± 0,29
Ekstrak	12,5%	0	0	0	0 ± 0
Kontrol (+)	2,5%	35,7	36,5	36	36,06 ± 0,40
Kontrol (-)	1%	0	0	0	0 ± 0

Keterangan : kontrol (+) : Amoxicilin  
kontrol (-) : DMSO 1%

Fraksi dan ekstrak pada konsentrasi 50% memiliki diameter daerah hambat yang lebih besar dari pada konsentrasi 25% dan 12,5%. Berdasarkan tabel 7 hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi air merupakan fraksi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat. Hasil rata-rata diameter hambat fraksi air dengan masing-masing konsentrasi yaitu 50%, 25%, dan 12,5% adalah 20,4 mm, 16,26 mm, dan 11,16 mm.

Kontrol positif (amoxicillin 2,5%) terbukti efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan diameter hambat rata-rata paling besar dibandingkan dengan fraksi teraktif (fraksi air 50%) yaitu sebesar 36,06 mm. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi menggunakan kontrol negatif DMSO 1% yang dalam pengujian ini tidak aktif dalam menghambat bakteri uji. Perhitungan standar deviasi berfungsi untuk mengetahui besar perbedaan dari nilai sampel terhadap rata-rata dari jumlah keseluruhan obyek yang diamati. Standar deviasi juga menyatakan besarnya keragaman sampel. Suatu nilai deviasi yang lebih besar, maka akan memberikan arti bahwa titik data individu jauh dari nilai

rata-rata. Pada tabel 7 nilai standar deviasi termasuk baik, karena nilainya termasuk rendah.

Analisis uji statistik dilakukan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* oleh fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, ekstrak etanol daun binahong, kontrol positif dan kontrol negatif. Pertama data dianalisis dengan uji *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak. Uji ini diperoleh signifikansi =  $0,238 > 0,05$  maka  $H_0$  diterima maka hasil data ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air terdistribusi normal. Berdasarkan data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan uji *Analisis of Varians (ANOVA) Oneway*. Anova *Oneway* untuk membandingkan ekstrak dan fraksi pada setiap konsentrasi dan membandingkan perbedaan besar diameter daya hambat antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, kontrol negatif, dan kontrol positif. Hasil uji *oneway ANOVA* tabel diameter hambat diperoleh  $F = 2442,691$  dengan probabilitas  $0,000 < 0,05$  yang berarti dari tiap sampel uji terdapat perbedaan nyata dalam menghambat *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Hubungan diameter daya hambat dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, kontrol negatif, dan kontrol positif, dapat dilihat pada tabel tukey test. Tabel tersebut menjelaskan bahwa ada tanda \* pada *Mean Difference*, maka perbedaan tersebut signifikan dengan maksud memiliki perbedaan diameter hambat aktivitas antibakteri, sedangkan tidak ada tanda \* maka perbedaan signifikan dengan maksud tidak memiliki perbedaan diameter hambat aktivitas antibakteri. Fraksi air 50% memiliki perbedaan diameter hambat aktivitas antibakteri yang signifikan dengan ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, kontrol positif, dan kontrol negatif yang dapat dilihat pada lampiran 18.

Pada tabel *Homogeneous Subsets* terbagi dalam 9 subset, tabel ini bertujuan untuk mencari kelompok mana saja yang memiliki perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan. Hasil diketahui bahwa kontrol positif amoksisilin dan fraksi air 50%, 25%, dan 12,5% berbeda secara signifikan terhadap masing-masing sediaan uji. Subset 1 terdapat *n*-heksana 12,5%, etil asetat 12,5%, ekstrak 12,5%, dan kontrol negatif. Subset 2 terdapat ekstrak 25%.

Subset 3 terdapat ekstrak 50%, dan *n*-heksana 25%. Subset 4 terdapat *n*-heksana 25% dan air 12,5%. Subset 5 terdapat air 12,5% dan *n*-heksana 50%. Subset 6 terdapat etil asetat 25%. Subset 7 terdapat etil asetat 50% dan air 25%. Subset 8 terdapat air 50%. Subset 9 terdapat kontrol negatif yaitu amoksisilin, dari berbagai subset diketahui bahwa subset 1-8 mempunyai perbedaan yang nyata dalam penghambatan aktivitas antibakteri, sehingga diketahui bahwa fraksi air 50% merupakan fraksi paling aktif. Hal ini berbeda dengan sediaan uji yang termasuk dalam satu subset tidak mempunyai beda secara signifikan dalam penghambatan aktivitas antibakteri. Tabel *Homogeneous Subsets* dapat dilihat pada lampiran 18.

Fraksi air dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mempunyai aktivitas antibakteri terbesar dibandingkan dengan fraksi etil asetat, air dan ekstrak etanol daun binahong. Ekstrak etanol memiliki aktivitas penghambatan paling rendah, walaupun ekstrak etanol mampu menarik semua senyawa yang terkandung dalam daun binahong, akan tetapi senyawa-senyawa tersebut ternyata tidak mampu bekerja secara sinergis sehingga daya hambat yang terbentuk lebih kecil. Fraksi *n*-heksan mampu menarik senyawa terpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri yang belum bisa bekerja secara optimum sehingga aktivitas antibakterinya masih rendah. Fraksi air memiliki daya hambat paling besar terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175, adanya kemungkinan fraksi air mampu menarik senyawa yang paling aktif sebagai antibakteri dibandingkan dengan fraksi yang lain. Kandungan senyawa kimia yang polar di fraksi air yang lebih optimum untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan adanya peningkatan konsentrasi zat aktif antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Senyawa aktif dalam fraksi air yaitu saponin, alkaloid, dan flavonoid. Saponin merupakan glukosida yang larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter. Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakterilisis. Mekanisme kerja saponin sebagai kelompok antibakteri mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida (Ganiswarna 2007). Saponin akan mengganggu tegangan permukaan

dinding sel, maka saat tegangan permukaan terganggu zat antibakteri akan masuk dengan mudah ke dalam sel dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadilah kematian bakteri (Karlina *et al.* 2013).

Alkaloid merupakan golongan senyawa basa nitrogen heterosiklik yang banyak terdapat pada tumbuhan. Senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Alkaloid bersifat antimikroba spektrum luas. Menurut Juliantina *et al.* (2008) mekanisme alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

Senyawa flavonoid memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein sel bakteri melalui ikatan hidrogen. Struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein, menjadi tidak stabil karena struktur protein sel bakteri menjadi rusak karena adanya ikatan hidrogen dengan flavonid, sehingga protein bakteri menjadi kehilangan aktivitas biologinya. Akibatnya fungsi permeabilitas sel terganggu dan sel bakteri menjadi pecah yang berakibat pada kematian sel bakteri (Kusdarwati *et al* 2010).

#### **11. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong secara dilusi**

Pengujian aktivitas antibakteri dilanjutkan dengan menggunakan metode dilusi sediaan uji yang digunakan adalah fraksi teraktif dalam menghambat aktivitas antibakteri yang diperoleh dari hasil uji difusi. Uji aktivitas antibakteri fraksi air daun binahong terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dilakukan dengan metode dilusi untuk mengetahui nilai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum). Pengujian dilakukan dengan konsentrasi larutan fraksi air masing-masing adalah 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%; kontrol negatif (fraksi teraktif dari ekstrak daun binahong tanpa penambahan bakteri *Streptococcus mutans*); kontrol positif (suspensi bakteri *Streptococcus mutans*). Amoksisilin yang digunakan sebagai pembanding dalam metode dilusi dengan dengan seri konsentrasi yang digunakan yaitu 2,5%; 1,25%;



0,625%; 0,312%; 0,156%; 0,078%; 0,039%; 0,019%; 0,009%; 0,004%; kontrol positif dan kontrol negatif.

Aktivitas antibakteri diketahui dari kekeruhan masing-masing tabung uji yang kemudian digoreskan dalam media MHA. Konsentrasi hambat minimum adalah konsentrasi terendah dari ekstrak, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. KHM diketahui dengan melihat kekeruhan pada tabung uji yang terlihat jernih, akan tetapi hal ini sulit diamati karena ekstrak berwarna coklat tua dan kekeruhannya tinggi. Hal tersebut menyebabkan konsentrasi hambat minimum tidak dapat ditentukan, sehingga untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum perlu dilakukan penggoresan pada media MHA, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 8. Gambar hasil uji dilusi fraksi air dapat dilihat pada lampiran 10 dan uji dilusi amoksisilin pada lampiran 11.

**Tabel 8. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong secara dilusi**

No	Konsentrasi (%)	Fraksi air Replikasi			Konsentrasi (%)	Amoksisilin Replikasi		
		I	II	III		I	II	III
1	50	-	-	-	2,5	-	-	-
2	25	-	-	-	1,25	-	-	-
3	12,5	-	-	-	0,625	-	-	-
4	6,25	+	+	+	0,312	-	-	-
5	3,125	+	+	+	0,156	+	+	+
6	1,56	+	+	+	0,078	+	+	+
7	0,78	+	+	+	0,039	+	+	+
8	0,39	+	+	+	0,019	+	+	+
9	0,19	+	+	+	0,009	+	+	+
10	0,09	+	+	+	0,004	+	+	+
11	K (+)	+	+	+	K (+)	+	+	+
12	K (-)	-	-	-	K (-)	-	-	-

Keterangan:

(+) = terdapat pertumbuhan bakteri

(-) = tidak terdapat pertumbuhan bakteri

Hasil dari pengujian aktivitas antibakteri yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa fraksi air dapat membunuh bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 pada konsentrasi 12,5%, sedangkan pada amoksisilin dapat membunuh pada konsentrasi 0,312%. Semakin tinggi konsentrasi pada sediaan uji maka semakin tinggi pula kandungan zat aktif yang terdapat di dalamnya sehingga

aktivitas antibakteri akan semakin bertambah. Sediaan uji yang memiliki konsentrasi bunuh minimum semakin kecil, menandakan semakin potensialnya sediaan tersebut sebagai antibakteri karena dengan konsentrasi kecil pada sediaan uji sudah dapat membunuh bakteri.

Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa perbandingan fraksi air sebagai fraksi yang paling aktif dengan antibiotik amoksisilin sebagai antibakteri menunjukkan hasil yang masih jauh dari yang diharapkan. Antibiotik amoksisilin bekerja dengan cara menghambat pembentukan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroorganisme (Goodman & Gilman 2008). Sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan kandungan senyawa kimia murni. Konsentrasi bunuh minimum ditentukan dengan konsentrasi paling rendah yang tidak ditumbuhi koloni bakteri berwarna putih pada media MHA.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Kedua, fraksi air dari daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan fraksi yang paling aktif sebagai antibakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dibandingkan ekstrak etanol dan fraksi lain.

Ketiga, fraksi air mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus Mutans* ATCC 25175 dengan nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) 12,5%.

#### **B. Saran**

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antimikroba daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap mikroorganisme lainnya.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk isolasi senyawa aktif dari fraksi air ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad R, Didit A, Lia Y.B. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* In Vitro. Jurnal Kedokteran Gigi. Vol II. No 1. Maret 2014.
- Ajizah A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava L.* Jurnal Biologi Pertanian 1:31-8.
- Ansel, HC. 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. 605. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Astuti, S. M. 2012. Skrining Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga dan Umbi Tanaman (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Malaysia: Universitas Malaysia Pahang (UMP)
- Baskoro D & Purwoko BS. 2011. Pengaruh bahan perbanyakan tanaman dan jenis pupuk organik terhadap pertumbuhan tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *J. Hort. Indonesia* 2 (1): 6-13.
- Bonang G & Koeswardono ES. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran. Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya. Yogyakarta: Gramedia. Hal 65-68.
- Darmandi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika.
- Darsana I, Besug I, Mahatmi H. 2012. Potensi daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. *Indonesia Medicus Veterinus* 1(3): 337-351.
- Departemen Kesehatan. 1978. *Materia Medika Indonesia*. Jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: DEPKES RI.
- [Depkes RI]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: DEPKES RI. hlm 2-13.
- [Depkes RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. 1987. *Sediaan Galenik*. Jilid I. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.

- [Depkes RI]. 2005. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. hlm 301-304.
- [Depkes RI]. 2006. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (VI)*. Jakarta: Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI. hlm 16-17.
- [Depkes RI]. 2008. *Pengelolaan Pasca Panen Tanaman Obat*. Balai Penelitian Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Dianasari N. 2009. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kayu secang (*caesalpinia sappan* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae* serta Bioautografinya [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ganiswarna. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi V. Jakarta : Gaya Baru. Hlm 585-598.
- Goodman & Gilman. 2008. *Dasar Farmakologi Terapi*. Volume 2. Hardman JC, Limbird LE, editor; Musadad A, Soemardji AA, Nawawi A, Retnoningrum DS, Sukandar EY, Adnyana IK, Setia L, Iwo MI, Singgih M, Kusmardiyani M, Kusmardiyani S, Soebito S, Asyarie S, Suwendar, Syarif WR, tim alih bahasa, Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Gunawan D & Mulyani S. 2004. *Farmakognosi*. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 106.
- Hamada S & Slade HH. 1980. Biology, *Immunology and Cariogenicity of Streptococcus mutans*. *microbiological Review* 44(2): 331-384.
- Harborne JB. 2006. *Metode Fitokimia*. Edisi ke-2. Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerjemah; Bandung: ITB Press. Terjemahan dari *Phytochemical Methods*
- Harmita & Maksum M. 2005. Buku Ajar Analisis Hayati. Edisi II. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Hart, Tony dan Shears, Paul. 1997 *Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran*, 73, 76, 80, 82, 93, 111, Jakarta, Penerbit Hipokartes.
- Heinrich M, Joanne B, Simon G, Elizabeth M. W. 2010. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta. Buku Kedokteran EGC.
- Herbie T. 2015. *KITAB Tanaman Berkhasiat Obat 226 Tumbuhan Obat Untuk Penyembuhan Penyakit Dan Kebugaran Tubuh*. Yogyakarta: OCTOPUS Publishing House.

- Janata *et al.* 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill.*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan* 2:1.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Microbiology)* Tonang H, penerjema; Bonang Gerard, editor. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2007. *Medical Microbiology*. Ed ke-24. New York: McGraw Hill Medical.
- Jayanti, M. F. 2011. Perbedaan Daya Hambat Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava L.*) Varian Merah dan Putih Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Jember. Universitas Jember.
- Juliantina F., Dewa A. C. M., Bunga N., Titis N., Endrawati T. B., 2008. Manfaat sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai agen anti bakterial terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 60:58-62.
- Karlina C.Y., Ibrahim M., Trimulyono G. 2013. *Aktivitas antibakteri ekstrak herbal krokot (Portulaca oleracea L.) terhadap staphylo-coccus aureus dan Escherichia coli*. *E journal UNESA Lentera-Bio*. 2 (1): 87-93.
- Kepmenkes RI. 2010. *Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.
- Klaudya E. Warokka, Jane Wuisan, Juliatri. 2016. Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal e-GiGi (eG)*, Volume 4 Nomor 2.
- Kristijono A. 2008. *Obat Tradisional Dan Fitofarmaka*. Kediri: Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wijaya Kediri.
- Kusdarwati R, Sari I, Taufiq AM. 2010. Antibacterial effort of adas fruits (*Feonicum Vulgara*) extract on *Micrococcus Luteus* bacterial by in vitro. *Jurnal ilmiah perikanan dan kelautan*. 2 (1) : 31-35.
- Kusuma, R.B.B.E., 2010, *Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.) Terhadap Streptococcus mutans*, Skripsi, Universitas Sebelas Maret, Surakarta
- Lestari, N. N., 2014, *Pengaruh Jumlah Daun Rebusan Sirih Merah Dan Daun Rebusan Sirih Kuning Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus mutans (Kajian in vitro)*, [Skripsi], Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

- List P. H., P. C.Schmidt. 2000. *Phytopharmaceuticals Technology*. Alih bahasa David Ellaby. Florida: CRC Press. hlm. 67-71. 73. 107-111.
- Madduluri, Suresh R, Babu K, 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 and Research*. 1(8): 88-91.
- Manoi, F. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Sebagai Obat. *Jurnal Warta Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Industri*. Volume 15 Nomor 1:3.
- Nolte, W. A. 1982. *Oral Microbiology With Basic Microbiology and Immunology*: 4th Edition. Saint Louis: Mosby.
- Nugraha AW. 2008. *Streptococcus mutans, Si Plak dimana-mana*. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Paju N, Yamlean PVY & Kojong N. 2013. Uji efektivitas salep ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. *J. Ilmiah Farmasi* 2(01):51-61.
- Peleczar M. I & Chan ECS. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 2. Hadioetomo RS, Imas T, Angka SL, Penerjemah; Jakarta: UI-Press. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*
- Peleczar M. I. & Chan E.C.S., 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Diterjemahkan oleh Ratna S.H.dkk., Jakarta: University Indonesia Press.
- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga. hlm: 154-160.
- Rachmawati S. 2007. Studi Makroskopi dan Skrining Fitokimia Daun *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis [Skripsi]. Surabaya: Fakultas Farmasi UNAIR Surabaya.
- Radji M. 2011. *Mikrobiologi*. Buku kedeokteran ECG, Jakarta.
- Rijke E. 2005. trace-level determination of flavonoids and their conjugates application to plants of the leguminosae family [Skripsi]. Amsterdam: Universitas Amsterdam.
- Rimporok S, Billy J. K, Krista V. S. 2015. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Steenis) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT* Vol. 4. No. 4.
- Rochani N. 2009. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap *Candida albicans* Serta Skrining Fitokimianya [Skripsi]. Surabaya: Fakultas Farmasi, UMS Surakarta.

- Sabir, A., 2005, *Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona sp Terhadap Bakteri Streptococcus Mutans (in vitro)*. *Majalah Kedokteran Gigi* Vol 38 No. 3 Hal 135, FKG Universitas Hasanudin, Makasar
- Salni, Hanifa, M., dan Ratna, W. M., 2011, Isolasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Jengkol (*Pithecolobium Lobatum Benth*) dan Penentuan Nilai KHMnya, *Jurnal Penelitian Sains*, Vol. 14, 40, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan.
- Selawa W, Runtuwene MRJ & Citraningtyas G. 2013. Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong [*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis]. *J. Ilmiah Farmasi* 2(01): 18-22.
- Setianingrum TR. 2010. Isolasi Fungi Endofit Penghasil Antimikroba dari *Terminalia Catappa* L., dan Identifikasi Senyawa Aktifnya Menggunakan Bioautografi [Skripsi]. Yogyakarta. Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada.
- Siswanto YW. 2004. *Penanganan Hasil Panen Tanaman Obat Komersial*. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 24-26.
- Suriawiria, U., 2005. *Pengantar Mikrobiologi Umum*, Penerbit Angkasa, Bandung, 60-61, 57-58.
- Sutrisno, E, Adnyana, I. K., Sukandar, E. Y., Fidrianny,I., dan Lestari, T. 2014. Kajian aktivitas penyembuhan luka dan antibakteri binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) serta kombinasinya terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dari pasien luka kaki diabetes. *Bionatural-jurnal Ilmu-Ilmu Hayati dan fisik*. Vol. 16, No. 2. Juli 2014: 78-82.
- Tiwari P, Bimslash K, Mandeep K, Gurpreet K, Harleen K, editor. 2011. Skrining fitokimia dan ekstraksi. *Internationale Pharmaceutical*.
- Umar A, Krihariyani D & Mutiarawati DT . 2012. Pengaruh pemberian ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap kesembuhan luka infeksi *Staphylococcus aureus* pada mencit. *Analisis Kesehatan Sains* 01(02):68-75.
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Noerono S, penerjemah; Yogyakarta: Gajah Mada University Press. 566-567.
- Waji RA, Sugrani A. 2009. “*Flavonoid (Quercetin)*”. Makalah Program S2 Kimia. Makassar: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
- Yang RY, Lin S, Kuo G. 2008. “Content and Distribution of Flavonoids Among 91 Edible Plant Species”. *Asia Pac J Clin Nutr*. 17(S1): 275-279.



L

A

M

P

I

R

A

N

## Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman binahong



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

Nomor : 016/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Silviana Indriyani  
NIM : 19133980A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

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

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

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

#### Deskripsi Tumbuhan :

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

Surakarta, 4 Januari 2017

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

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



Mengetahui,  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS  
Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001

**Lampiran 2. Gambar tanaman dan serbuk daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)**



**Tanaman binahong**



**Serbuk daun binahong**

**Lampiran 3. Gambar proses pengeringan, dan pembuatan serbuk daun binahong**



Daun binahong basah



Oven



Simplisia kering



Mesin penggiling





Ayakan 40



Botol maserasi



Penyaringan ekstrak



*vakum Rotary Evaporator*

**Lampiran 4. Penetapan kadar lembab serbuk daun binahong dan uji bebas alkohol ekstrak binahong**







Penetapan kadar lembab serbuk daun binahong







Uji bebas etanol ekstrak daun binahong

**Lampiran 5. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi teraktif daun binahong**

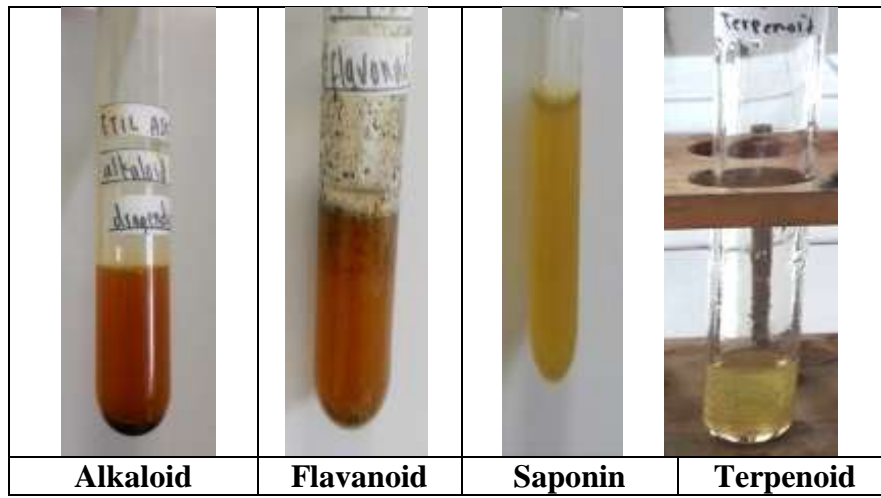
**Ekstrak**

			
Alkaloid	Flavonoid	Terpenoid	Saponin

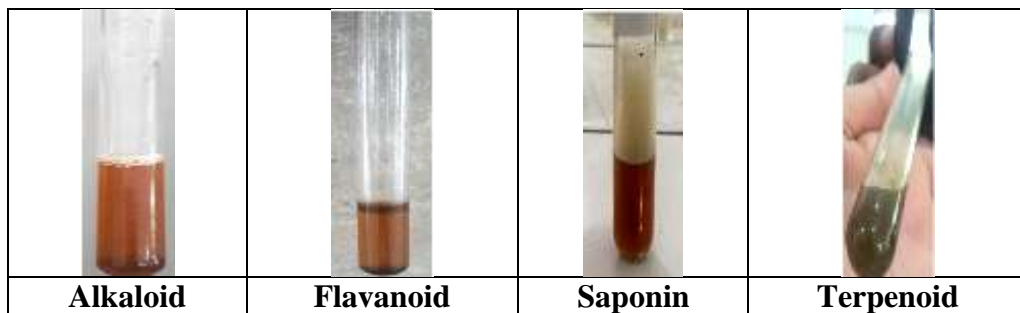
**Fraksi *n*-heksana**

			
Alkaloid	Flavanoid	Saponin	Terpenoid

## Fraksi etil asetat

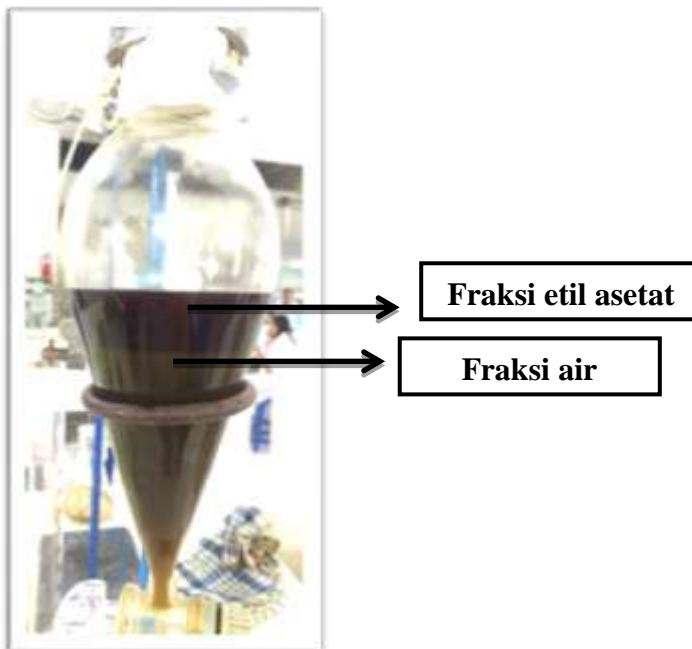
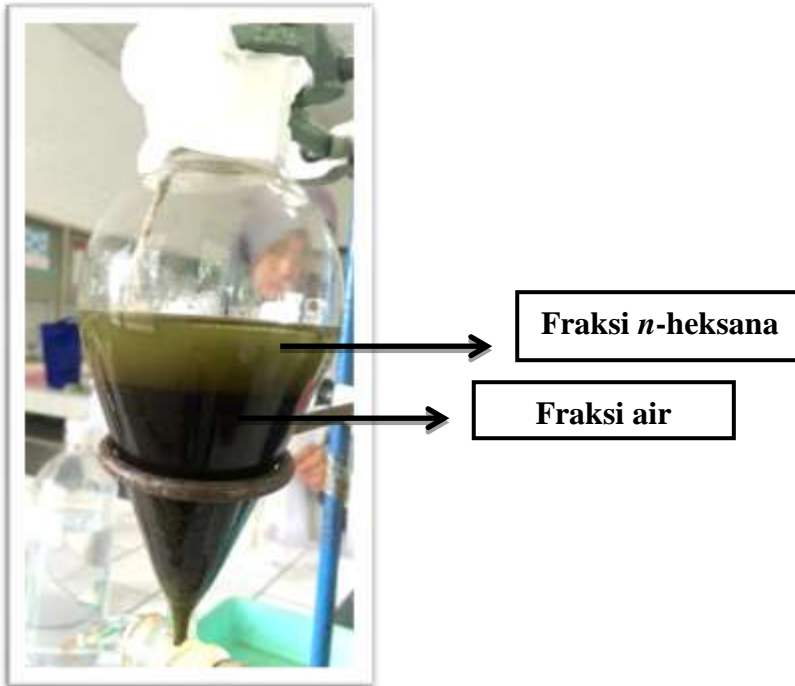


## Fraksi teraktif (Fraksi air)





Lampiran 6. Fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air



**Lampiran 7. Ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air**



Ekstrak



*n*-heksana



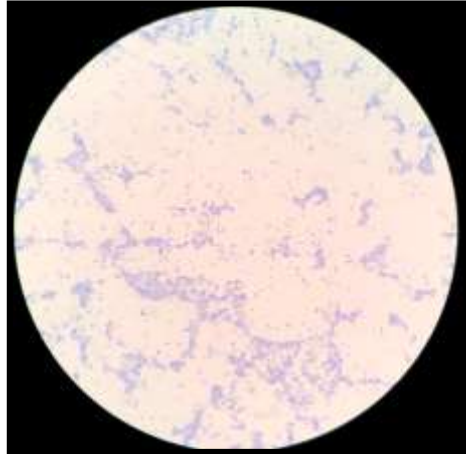
etil asetat



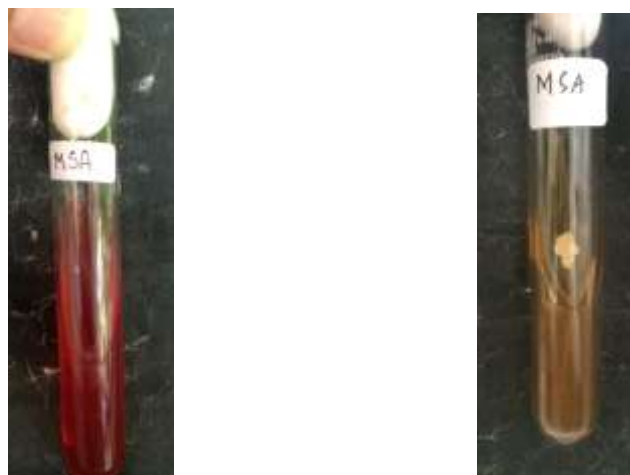
air

**Lampiran 8. Hasil identifikasi *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

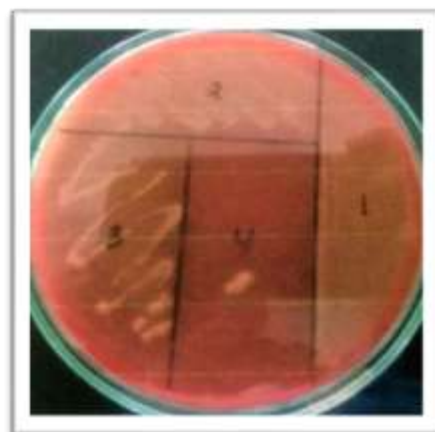
Hasil pewarnaan Gram *Streptococcus mutans* ATCC 25175



Hasil uji biokimia *Streptococcus mutans* pada media Manitol Salt Agar



Hasil inokulasi *Streptococcus mutans* pada media agar darah (Blood Agar)



Hasil pengujian katalase *Streptococcus mutans* ATCC 25175

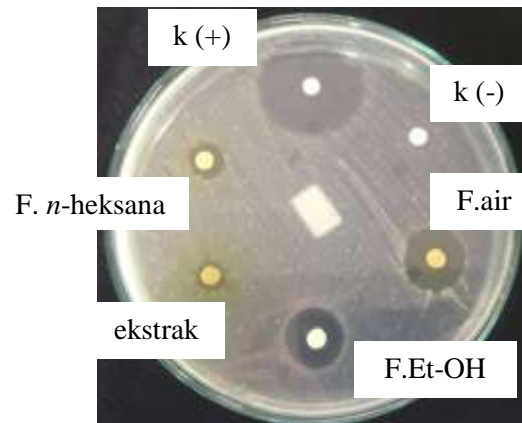


Hasil pengujian koagulase *Streptococcus mutans* ATCC 25175

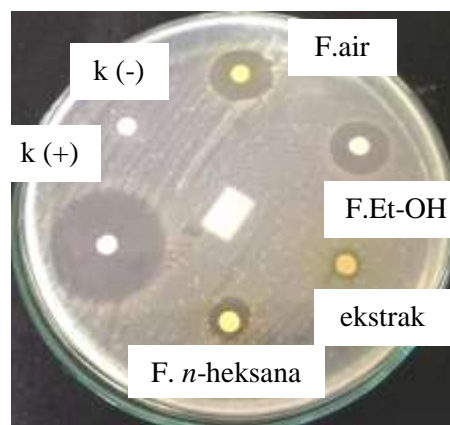


**Lampiran 9. Gambar hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi****Uji konsentrasi 50%**

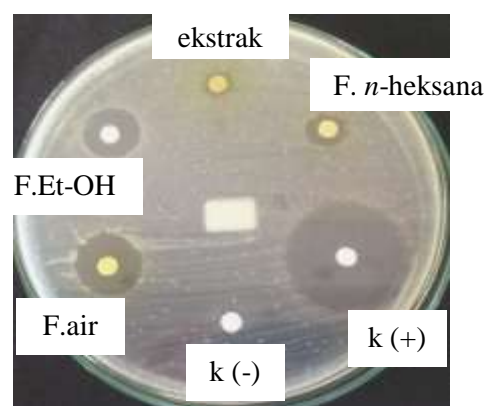
## Replikasi 1



## Replikasi 2

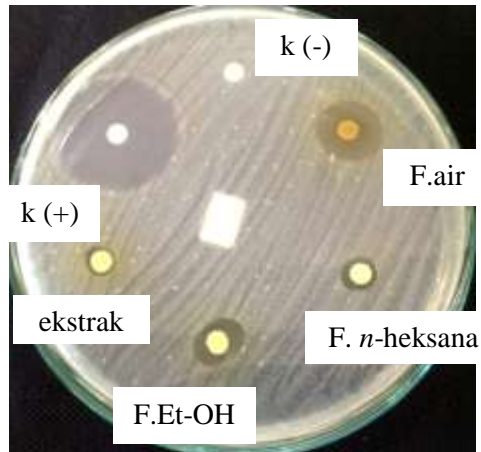


## Replikasi 3

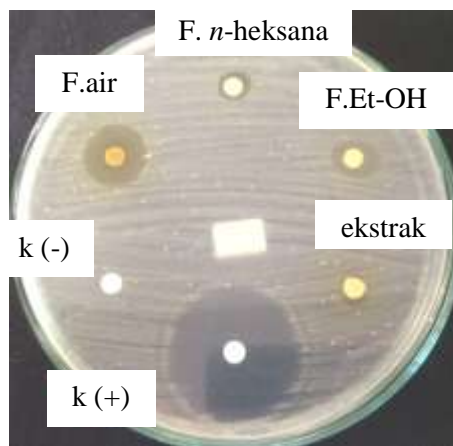


### Uji konsentrasi 25%

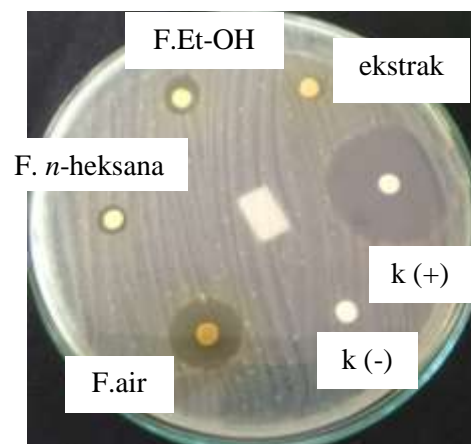
#### Replikasi 1



#### Replikasi 2

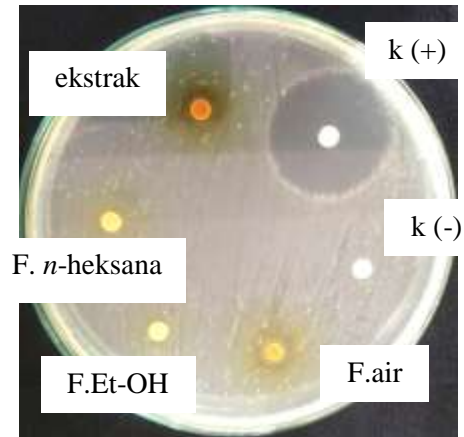


#### Replikasi 3

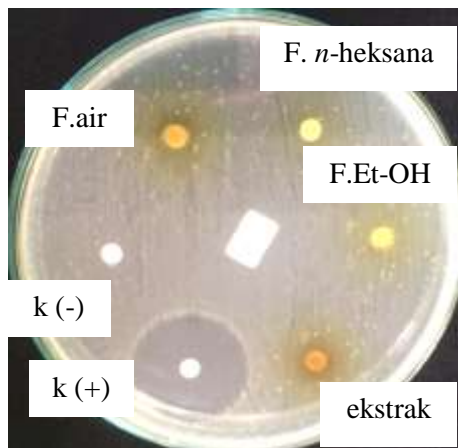


**Uji konsentrasi 12,5%**

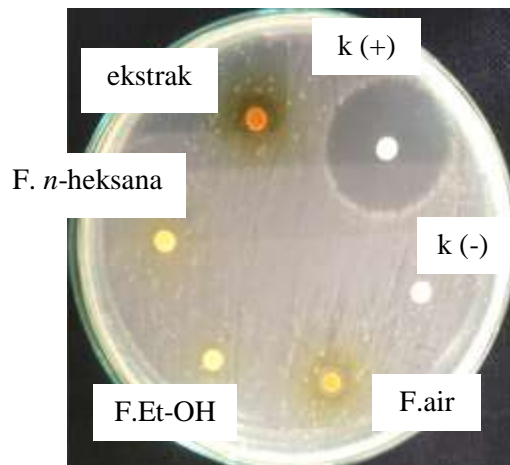
## Replikasi 1



## Replikasi 2



## Replikasi 3



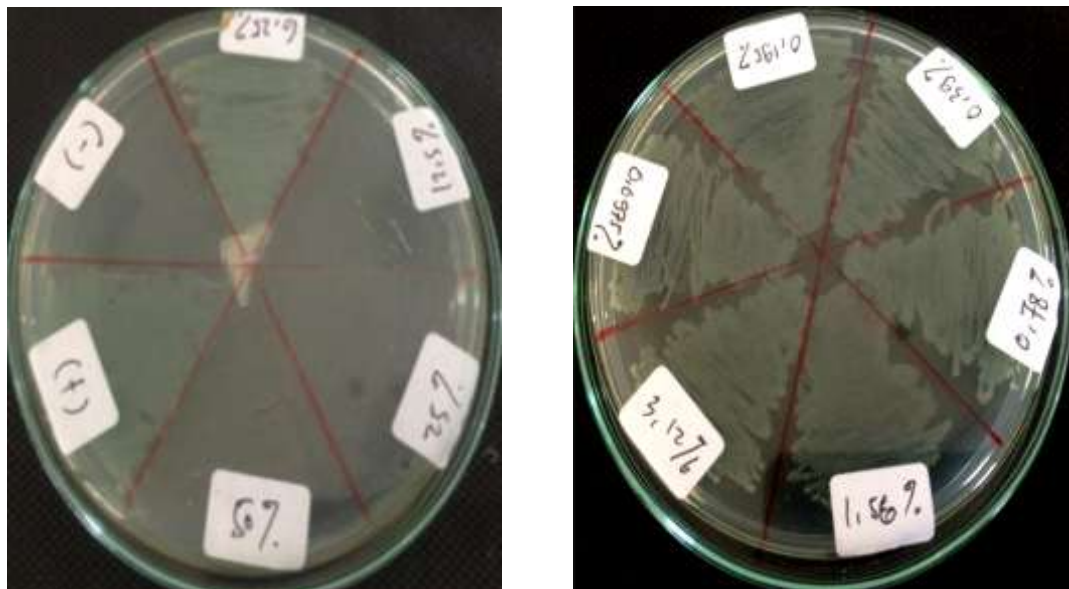


**Lampiran 10. Gambar hasil uji aktivitas antibakteri fraksi air dengan metode dilusi**



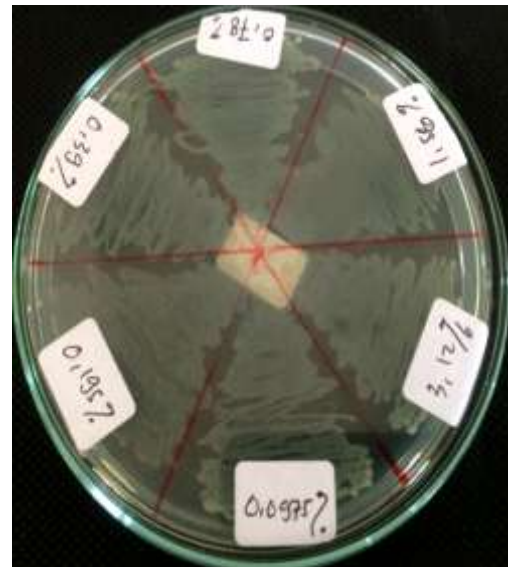
Tabung dilusi fraksi air

Replikasi 1

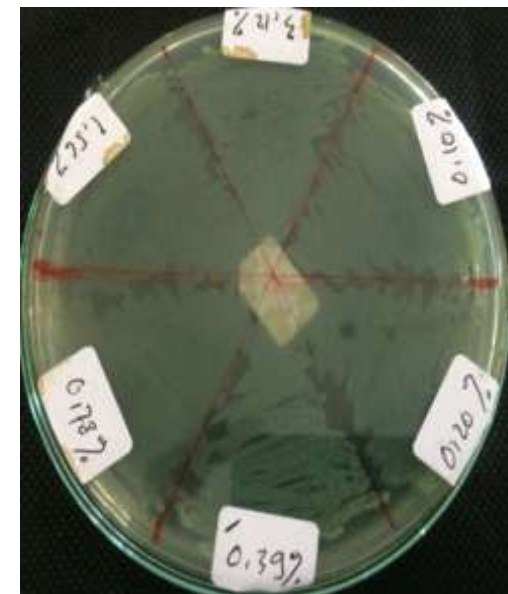
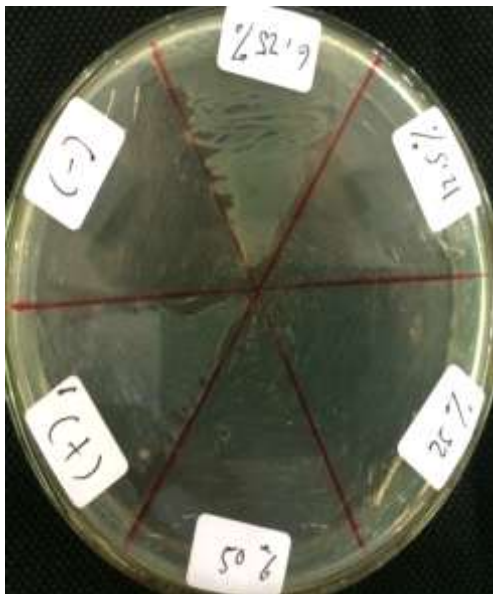




Replikasi 2



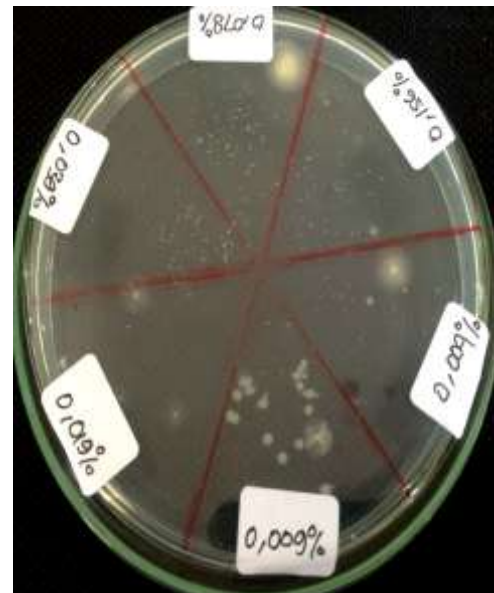
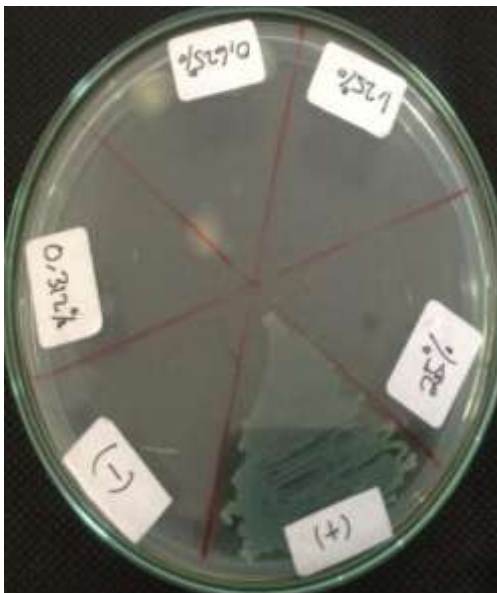
Replikasi 3



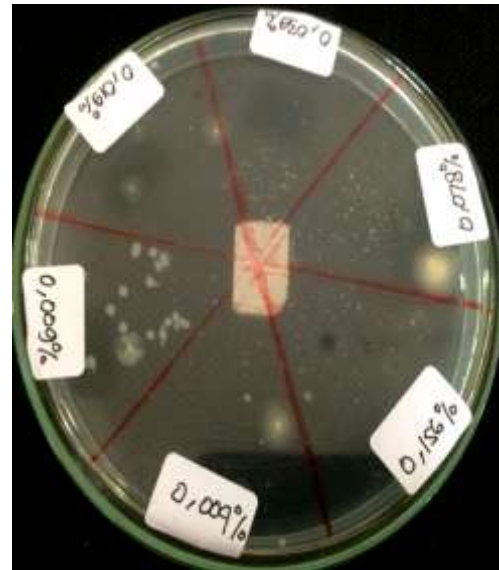
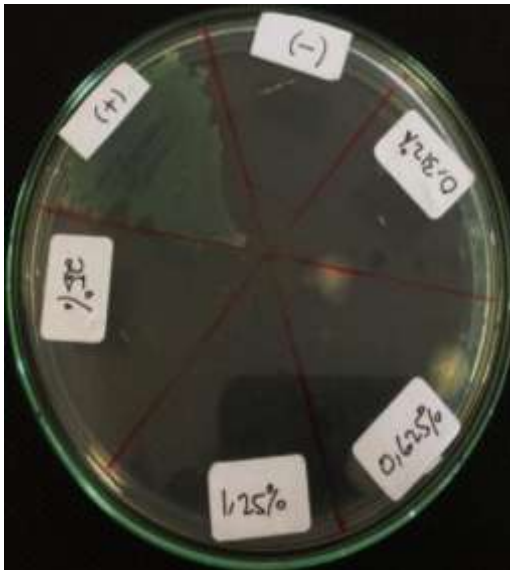
**Lampiran 11. Gambar hasil uji aktivitas antibakteri amoksisilin dengan metode dilusi**



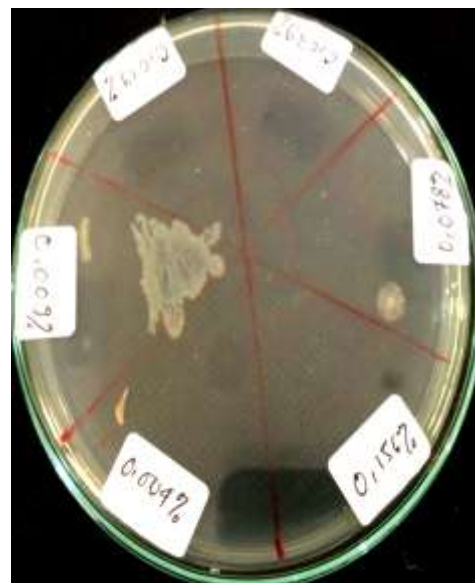
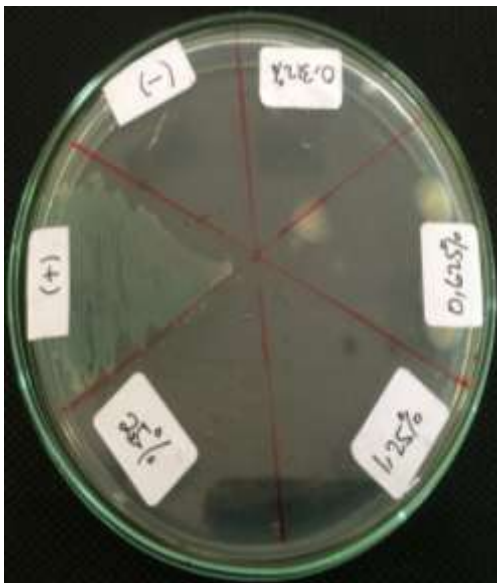
**Replikasi 1**



Replikasi 2



Replikasi 3



**Lampiran 12. Hasil Persentase bobot kering terhadap bobot basah**

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Persentase (%)
4000	930	23,25

$$\text{Perhitungan persentase bobot kering} = \frac{\text{bobot kering (kg)}}{\text{bobot basah (kg)}} \times 100\%$$

$$= \frac{930}{4000} \times 100\%$$

$$= 23,25 \%$$

**Lampiran 13. Hasil perhitungan rendemen ekstrak etanol daun binahong**

Serbuk daun binahong (g)	Bobot ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
400	85,76	21,44

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{85,76}{400} \times 100\% \\ &= 21,44 \%\end{aligned}$$

### Lampiran 14. Perhitungan rendemen fraksinasi

Fraksi	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksana	10	2,01	20,1
	10	2,03	20,3
	10	2,08	20,8
	Rata-rata	2,04	20,4
etil asetat	10	2,50	25,0
	10	2,42	24,2
	10	2,49	24,9
	Rata-rata	2,47	24,7
air	10	6,31	63,1
	10	6,35	63,5
	10	6,30	63,0
	Rata-rata	6,32	63,2

$$\text{Perhitungan rendemen fraksi} = \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

#### 1. Fraksi *n*-heksana

$$\% \text{ Rendemen 1} = \frac{2,01}{10} \times 100\%$$

$$= 20,1 \%$$

$$\% \text{ Rendemen 2} = \frac{2,03}{10} \times 100\%$$

$$= 20,3 \%$$

$$\% \text{ Rendemen 3} = \frac{2,08}{10} \times 100\%$$

$$= 20,8 \%$$

Persentase rata-rata rendemen fraksi *n*-heksana yaitu 20,4 %.

#### 2. Fraksi etil asetat

$$\% \text{ Rendemen 1} = \frac{2,50}{10} \times 100\%$$

$$= 25,0 \%$$

$$\% \text{ Rendemen 2} = \frac{2,42}{10} \times 100\%$$

$$= 24,2 \%$$

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen 3} &= \frac{2,49}{10} \times 100\% \\ &= 24,9 \%\end{aligned}$$

Persentase rata-rata rendemen fraksi etil asetat yaitu 24,7%.

### 3. Fraksi air

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen 1} &= \frac{6,31}{10} \times 100\% \\ &= 63,1 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen 2} &= \frac{6,35}{10} \times 100\% \\ &= 63,5 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen 3} &= \frac{6,30}{10} \times 100\% \\ &= 63,0 \%\end{aligned}$$

Persentase rata-rata rendemen fraksi air yaitu 63,2 %.

**Lampiran 15. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dengan metode difusi**

1. Konsentrasi 50%

Ditimbang 1 gram ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dilarutkan dengan DMSO 1 % sampai 2 ml menggunakan labu takar.

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot C_{100\%} = V_{1\text{mL}} \cdot C_{50\%}$$

$$V \cdot 100\% = 1 \text{ mL} \cdot 50\%$$

$$V = \frac{50\%}{100\%}$$

$$V = 0,5 \text{ mL}$$

Ket :  $V_1$  = Volume awal

$V_2$  = Volume setelah pengenceran

$C_1$  = Konsentrasi awal

$C_2$  = Konsentrasi setelah pengenceran

2. Konsentrasi 25%

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot C_{50\%} = V_{1\text{mL}} \cdot C_{25\%}$$

$$V \cdot 50\% = 1 \text{ mL} \cdot 25\%$$

$$V = \frac{25\%}{50\%}$$

$$V = 0,5 \text{ mL}$$

Dipipet 0,5 mL dari sediaan awal (50%) kemudian ditambah DMSO 1% sampai 1 ml menggunakan labu takar.

3. Konsentrasi 12,5%

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot C_{25\%} = V_{1\text{mL}} \cdot C_{12,5\%}$$

$$V \cdot 25\% = 1 \text{ mL} \cdot 12,5\%$$



$$V = \frac{12,5\%}{25\%}$$

$$V = 0,5 \text{ mL}$$

Dipipet 0,5 mL dari sediaan awal (25%) kemudian ditambah DMSO 1% sampai 1 ml menggunakan labu takar.

### Lampiran 16. Pembuatan larutan stok dilusi

Larutan stok 50% = %<sup>b/v</sup> = 5 gram/10 ml DMSO 1%

Konsentrasi 50% = 0,5 gram/ ml

$$\text{Konsentrasi 25\%} = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_{0,5} \cdot C_{50\%} = V_{1\text{mL}} \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 50\% = 1 \text{ mL} \cdot C$$

$$C = 25\%$$

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

$$V_{0,5} \cdot C_{25\%} = V_{1\text{mL}} \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 25\% = 1 \text{ mL} \cdot C$$

$$C = 12,5\%$$

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

$$V_{0,5} \cdot C_{12,5\%} = V_{1\text{mL}} \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 12,5\% = 1 \text{ mL} \cdot C$$

$$C = 6,25\%$$

$$\text{Konsentrasi 3,125\%} = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_{0,5} \cdot C_{6,25\%} = V_{1\text{mL}} \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 6,25\% = 1 \text{ mL} \cdot C$$

$$C = 3,125\%$$

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

$$V_{0,5} \cdot C_{3,125\%} = V_{1\text{mL}} \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 3,125\% = 1 \text{ mL} \cdot C$$

$$C = 1,56\%$$

$$\text{Konsentrasi } 0,78\% = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_{0,5} \cdot C_{1,56\%} = V_{1\text{mL}} \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 1,56\% = 1 \text{ mL} \cdot C$$

$$C = 0,78\%$$

$$\text{Konsentrasi } 0,39\% = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_{0,5} \cdot C_{0,78\%} = V_{1\text{mL}} \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 0,78\% = 1 \text{ mL} \cdot C$$

$$C = 0,39\%$$

$$\text{Konsentrasi } 0,19\% = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_{0,5} \cdot C_{0,39\%} = V_{1\text{mL}} \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 0,39\% = 1 \text{ mL} \cdot C$$

$$C = 0,19\%$$

$$\text{Konsentrasi } 0,09\% = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_{0,5} \cdot C_{0,19\%} = V_{1\text{mL}} \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 0,19\% = 1 \text{ mL} \cdot C$$

$$C = 0,09\%$$

Kontrol negatif (-) berisi 1 ml fraksi air

Kontrol positif (+) berisi 1 ml suspensi bakteri

### Lampiran 17. Perhitungan konsentrasi amoksisilin

$$\begin{aligned}
 \text{Sirup kering amoksisilin} &= 125 \text{ mg/ 5 ml} \\
 &= 2500 \text{ mg/ 100 ml} \\
 &= 2,5 \text{ gram/100 ml} \\
 &= 2,5\%
 \end{aligned}$$

Pembuatan amoksisilin (konsentrasi 2,5%) dengan sediaan sirup kering amoksisilin (0,25 gram) ditambahkan aquadest ad 10 ml.

Konsentrasi 2,5%

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 12,5\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\
 &V_{0,5} \cdot C_{2,5\%} &= V_{1\text{mL}} \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 2,5\% &= 1 \text{ mL} \cdot C \\
 &C &= 1,25 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 0,625\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\
 &V_{0,5} \cdot C_{1,25\%} &= V_{1\text{mL}} \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 1,25\% &= 1 \text{ mL} \cdot C \\
 &C &= 0,625 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 0,3125\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\
 &V_{0,5} \cdot C_{0,625\%} &= V_{1\text{mL}} \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 0,625\% &= 1 \text{ mL} \cdot C \\
 &C &= 0,3125 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 0,156\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\
 &V_{0,5} \cdot C_{0,3125\%} &= V_{1\text{mL}} \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 0,3125\% &= 1 \text{ mL} \cdot C \\
 &C &= 0,156 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 0,078\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\
 &V_{0,5} \cdot C_{0,156\%} &= V_{1\text{mL}} \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 0,156\% &= 1 \text{ mL} \cdot C \\
 &C &= 0,078 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi } 0,039\% &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\
 &V_{0,5} \cdot C_{0,078\%} &= V_{1\text{mL}} \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 0,078\% &= 1 \text{ mL} \cdot C \\
 &C &= 0,039\% \\
 \\
 \text{Konsentrasi } 0,019\% &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\
 &V_{0,5} \cdot C_{0,039\%} &= V_{1\text{mL}} \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 0,039\% &= 1 \text{ mL} \cdot C \\
 &C &= 0,019\% \\
 \\
 \text{Konsentrasi } 0,009\% &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\
 &V_{0,5} \cdot C_{0,019\%} &= V_{1\text{mL}} \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 0,019\% &= 1 \text{ mL} \cdot C \\
 &C &= 0,009\%
 \end{aligned}$$

Kontrol negatif (-) : 1 ml antibiotik amoksisilin

Kontrol positif (+) : 1 ml suspensi bakteri

### Lampiran 18. Formulasi dan pembuatan media

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

Brain infusion .....	12,5 gram
Heart infusion .....	5,0 gram
proteose peptone .....	10,0 gram
Glucose .....	2,0 gram
Sodium chloride .....	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate .....	2,5 gram

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam tabung, kemudian media yang sudah dibuat dihitung dengan indikator pH  $\pm 7,4$ .

2. Formulasi dan pembuatan Muller Hinton Agar (MHA)

Meat infusion .....	2.0 gram
Bacto asam kasamino .....	17,5 gram
Kanji .....	1,5 gram
Agar .....	17,0 gram

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri, kemudian media yang sudah dibuat dihitung dengan indikator pH  $\pm 7,4$ .

**Lampiran 19. Hasil analisis data uji ANOVA antara fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air, ekstrak etanolik dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, kontrol (+), dan kontrol (-)**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
diameter	42	10.990	9.6161	.0	36.5

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		diameter
N		42
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	10.990
	Std. Deviation	9.6161
Most Extreme Differences	Absolute	.159
	Positive	.159
	Negative	-.127
Kolmogorov-Smirnov Z		1.032
Asymp. Sig. (2-tailed)		.238

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Test of Homogeneity of Variances**

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.396	13	28	.003

**ANOVA**

Diameter

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3787.916	13	291.378	2442.691	.000
Within Groups	3.340	28	.119		
Total	3791.256	41			

### Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
n-heksana 50%	3	12.067	.4041	.2333	11.063	13.071	11.7	12.5
etil asetat 50%	3	15.400	.6928	.4000	13.679	17.121	15.0	16.2
air 50%	3	20.433	.4041	.2333	19.429	21.437	20.0	20.8
ekstrak 50%	3	9.900	.3606	.2082	9.004	10.796	9.5	10.2
n-heksana 25%	3	10.600	.3606	.2082	9.704	11.496	10.3	11.0
etil asetat 25%	3	13.400	.3606	.2082	12.504	14.296	13.0	13.7
air 25%	3	16.267	.2517	.1453	15.642	16.892	16.0	16.5
ekstrak 25%	3	8.567	.4041	.2333	7.563	9.571	8.2	9.0
n-heksana 12,5%	3	.000	.0000	.0000	.000	.000	.0	.0
etil asetat 12,5%	3	.000	.0000	.0000	.000	.000	.0	.0
air 12,5%	3	11.167	.2887	.1667	10.450	11.884	11.0	11.5
ekstrak 12,5%	3	.000	.0000	.0000	.000	.000	.0	.0
kontrol +	3	36.067	.4041	.2333	35.063	37.071	35.7	36.5
kontrol -	3	.000	.0000	.0000	.000	.000	.0	.0
Total	42	10.990	9.6161	1.4838	7.994	13.987	.0	36.5

### Post Hoc Tests

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable:diameter

(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
Tukey HSD	n-heksana 50%	etil asetat 50%	-3.3333	.2820	.000	-4.366	-2.301
		air 50%	-8.3667	.2820	.000	-9.399	-7.334
		ekstrak 50%	2.1667	.2820	.000	1.134	3.199
		n-heksana 25%	1.4667	.2820	.001	.434	2.499
		etil asetat 25%	-1.3333	.2820	.004	-2.366	-.301
		air 25%	-4.2000	.2820	.000	-5.232	-3.168
		ekstrak 25%	3.5000	.2820	.000	2.468	4.532
		n-heksana 12,5%	12.0667	.2820	.000	11.034	13.099
		etil asetat 12,5%	12.0667	.2820	.000	11.034	13.099
		air 12,5%	.9000	.2820	.136	-.132	1.932
		ekstrak 12,5%	12.0667	.2820	.000	11.034	13.099
		kontrol +	-24.0000	.2820	.000	-25.032	-22.968
		kontrol -	12.0667	.2820	.000	11.034	13.099
		etil asetat 50%	n-heksana 50%	3.3333	.2820	.000	2.301
		air 50%	-5.0333	.2820	.000	-6.066	-4.001
		ekstrak 50%	5.5000	.2820	.000	4.468	6.532
		n-heksana 25%	4.8000	.2820	.000	3.768	5.832
		etil asetat 25%	2.0000	.2820	.000	.968	3.032



	air 25%	- .8667	.2820	.171	-1.899	.166
	ekstrak 25%	6.8333	.2820	.000	5.801	7.866
	n-heksana 12,5%	15.4000	.2820	.000	14.368	16.432
	etil asetat 12,5%	15.4000	.2820	.000	14.368	16.432
	air 12,5%	4.2333	.2820	.000	3.201	5.266
	ekstrak 12,5%	15.4000	.2820	.000	14.368	16.432
	kontrol +	-20.6667	.2820	.000	-21.699	-19.634
	kontrol -	15.4000	.2820	.000	14.368	16.432
air 50%	n-heksana 50%	8.3667	.2820	.000	7.334	9.399
	etil asetat 50%	5.0333	.2820	.000	4.001	6.066
	ekstrak 50%	10.5333	.2820	.000	9.501	11.566
	n-heksana 25%	9.8333	.2820	.000	8.801	10.866
	etil asetat 25%	7.0333	.2820	.000	6.001	8.066
	air 25%	4.1667	.2820	.000	3.134	5.199
	ekstrak 25%	11.8667	.2820	.000	10.834	12.899
	n-heksana 12,5%	20.4333	.2820	.000	19.401	21.466
	etil asetat 12,5%	20.4333	.2820	.000	19.401	21.466
	air 12,5%	9.2667	.2820	.000	8.234	10.299
	ekstrak 12,5%	20.4333	.2820	.000	19.401	21.466
	kontrol +	-15.6333	.2820	.000	-16.666	-14.601
	kontrol -	20.4333	.2820	.000	19.401	21.466
ekstrak 50%	n-heksana 50%	-2.1667	.2820	.000	-3.199	-1.134
	etil asetat 50%	-5.5000	.2820	.000	-6.532	-4.468
	air 50%	-10.5333	.2820	.000	-11.566	-9.501
	n-heksana 25%	-.7000	.2820	.453	-1.732	.332
	etil asetat 25%	-3.5000	.2820	.000	-4.532	-2.468
	air 25%	-6.3667	.2820	.000	-7.399	-5.334
	ekstrak 25%	1.3333	.2820	.004	.301	2.366
	n-heksana 12,5%	9.9000	.2820	.000	8.868	10.932
	etil asetat 12,5%	9.9000	.2820	.000	8.868	10.932
	air 12,5%	-1.2667	.2820	.007	-2.299	-.234
	ekstrak 12,5%	9.9000	.2820	.000	8.868	10.932
	kontrol +	-26.1667	.2820	.000	-27.199	-25.134
	kontrol -	9.9000	.2820	.000	8.868	10.932
n-heksana 25%	n-heksana 50%	-1.4667	.2820	.001	-2.499	-.434
	etil asetat 50%	-4.8000	.2820	.000	-5.832	-3.768
	air 50%	-9.8333	.2820	.000	-10.866	-8.801
	ekstrak 50%	.7000	.2820	.453	-.332	1.732
	etil asetat 25%	-2.8000	.2820	.000	-3.832	-1.768
	air 25%	-5.6667	.2820	.000	-6.699	-4.634
	ekstrak 25%	2.0333	.2820	.000	1.001	3.066
	n-heksana 12,5%	10.6000	.2820	.000	9.568	11.632
	etil asetat 12,5%	10.6000	.2820	.000	9.568	11.632
	air 12,5%	-.5667	.2820	.750	-1.599	.466
	ekstrak 12,5%	10.6000	.2820	.000	9.568	11.632

	kontrol +	-25.4667	.2820	.000	-26.499	-24.434
	kontrol -	10.6000	.2820	.000	9.568	11.632
etil asetat 25%	n-heksana 50%	1.3333	.2820	.004	.301	2.366
	etil asetat 50%	-2.0000	.2820	.000	-3.032	-.968
	air 50%	-7.0333	.2820	.000	-8.066	-6.001
	ekstrak 50%	3.5000	.2820	.000	2.468	4.532
	n-heksana 25%	2.8000	.2820	.000	1.768	3.832
	air 25%	-2.8667	.2820	.000	-3.899	-1.834
	ekstrak 25%	4.8333	.2820	.000	3.801	5.866
	n-heksana 12,5%	13.4000	.2820	.000	12.368	14.432
	etil asetat 12,5%	13.4000	.2820	.000	12.368	14.432
	air 12,5%	2.2333	.2820	.000	1.201	3.266
	ekstrak 12,5%	13.4000	.2820	.000	12.368	14.432
	kontrol +	-22.6667	.2820	.000	-23.699	-21.634
	kontrol -	13.4000	.2820	.000	12.368	14.432
	air 25%	n-heksana 50%	4.2000	.2820	.000	3.168
etil asetat 50%		.8667	.2820	.171	-.166	1.899
air 50%		-4.1667	.2820	.000	-5.199	-3.134
ekstrak 50%		6.3667	.2820	.000	5.334	7.399
n-heksana 25%		5.6667	.2820	.000	4.634	6.699
etil asetat 25%		2.8667	.2820	.000	1.834	3.899
ekstrak 25%		7.7000	.2820	.000	6.668	8.732
n-heksana 12,5%		16.2667	.2820	.000	15.234	17.299
etil asetat 12,5%		16.2667	.2820	.000	15.234	17.299
air 12,5%		5.1000	.2820	.000	4.068	6.132
ekstrak 12,5%		16.2667	.2820	.000	15.234	17.299
kontrol +		-19.8000	.2820	.000	-20.832	-18.768
kontrol -		16.2667	.2820	.000	15.234	17.299
ekstrak 25%		n-heksana 50%	-3.5000	.2820	.000	-4.532
	etil asetat 50%	-6.8333	.2820	.000	-7.866	-5.801
	air 50%	-11.8667	.2820	.000	-12.899	-10.834
	ekstrak 50%	-1.3333	.2820	.004	-2.366	-.301
	n-heksana 25%	-2.0333	.2820	.000	-3.066	-1.001
	etil asetat 25%	-4.8333	.2820	.000	-5.866	-3.801
	air 25%	-7.7000	.2820	.000	-8.732	-6.668
	n-heksana 12,5%	8.5667	.2820	.000	7.534	9.599
	etil asetat 12,5%	8.5667	.2820	.000	7.534	9.599
	air 12,5%	-2.6000	.2820	.000	-3.632	-1.568
	ekstrak 12,5%	8.5667	.2820	.000	7.534	9.599
	kontrol +	-27.5000	.2820	.000	-28.532	-26.468
	kontrol -	8.5667	.2820	.000	7.534	9.599
	n-heksana 12,5%	n-heksana 50%	-12.0667	.2820	.000	-13.099
etil asetat 50%		-15.4000	.2820	.000	-16.432	-14.368
air 50%		-20.4333	.2820	.000	-21.466	-19.401
ekstrak 50%		-9.9000	.2820	.000	-10.932	-8.868

	n-heksana 25%	-10.6000	.2820	.000	-11.632	-9.568
	etil asetat 25%	-13.4000	.2820	.000	-14.432	-12.368
	air 25%	-16.2667	.2820	.000	-17.299	-15.234
	ekstrak 25%	-8.5667	.2820	.000	-9.599	-7.534
	etil asetat 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.032	1.032
	air 12,5%	-11.1667	.2820	.000	-12.199	-10.134
	ekstrak 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.032	1.032
	kontrol +	-36.0667	.2820	.000	-37.099	-35.034
	kontrol -	.0000	.2820	1.000	-1.032	1.032
etil asetat 12,5%	n-heksana 50%	-12.0667	.2820	.000	-13.099	-11.034
	etil asetat 50%	-15.4000	.2820	.000	-16.432	-14.368
	air 50%	-20.4333	.2820	.000	-21.466	-19.401
	ekstrak 50%	-9.9000	.2820	.000	-10.932	-8.868
	n-heksana 25%	-10.6000	.2820	.000	-11.632	-9.568
	etil asetat 25%	-13.4000	.2820	.000	-14.432	-12.368
	air 25%	-16.2667	.2820	.000	-17.299	-15.234
	ekstrak 25%	-8.5667	.2820	.000	-9.599	-7.534
	n-heksana 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.032	1.032
	air 12,5%	-11.1667	.2820	.000	-12.199	-10.134
	ekstrak 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.032	1.032
	kontrol +	-36.0667	.2820	.000	-37.099	-35.034
	kontrol -	.0000	.2820	1.000	-1.032	1.032
air 12,5%	n-heksana 50%	-9.9000	.2820	.136	-1.932	.132
	etil asetat 50%	-4.2333	.2820	.000	-5.266	-3.201
	air 50%	-9.2667	.2820	.000	-10.299	-8.234
	ekstrak 50%	1.2667	.2820	.007	.234	2.299
	n-heksana 25%	.5667	.2820	.750	-.466	1.599
	etil asetat 25%	-2.2333	.2820	.000	-3.266	-1.201
	air 25%	-5.1000	.2820	.000	-6.132	-4.068
	ekstrak 25%	2.6000	.2820	.000	1.568	3.632
	n-heksana 12,5%	11.1667	.2820	.000	10.134	12.199
	etil asetat 12,5%	11.1667	.2820	.000	10.134	12.199
	ekstrak 12,5%	11.1667	.2820	.000	10.134	12.199
	kontrol +	-24.9000	.2820	.000	-25.932	-23.868
	kontrol -	11.1667	.2820	.000	10.134	12.199
ekstrak 12,5%	n-heksana 50%	-12.0667	.2820	.000	-13.099	-11.034
	etil asetat 50%	-15.4000	.2820	.000	-16.432	-14.368
	air 50%	-20.4333	.2820	.000	-21.466	-19.401
	ekstrak 50%	-9.9000	.2820	.000	-10.932	-8.868
	n-heksana 25%	-10.6000	.2820	.000	-11.632	-9.568
	etil asetat 25%	-13.4000	.2820	.000	-14.432	-12.368
	air 25%	-16.2667	.2820	.000	-17.299	-15.234
	ekstrak 25%	-8.5667	.2820	.000	-9.599	-7.534
	n-heksana 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.032	1.032
	etil asetat 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.032	1.032

	air 12,5%	-11.1667	.2820	.000	-12.199	-10.134	
	kontrol +	-36.0667	.2820	.000	-37.099	-35.034	
	kontrol -	.0000	.2820	1.000	-1.032	1.032	
kontrol +	n-heksana 50%	24.0000	.2820	.000	22.968	25.032	
	etil asetat 50%	20.6667	.2820	.000	19.634	21.699	
	air 50%	15.6333	.2820	.000	14.601	16.666	
	ekstrak 50%	26.1667	.2820	.000	25.134	27.199	
	n-heksana 25%	25.4667	.2820	.000	24.434	26.499	
	etil asetat 25%	22.6667	.2820	.000	21.634	23.699	
	air 25%	19.8000	.2820	.000	18.768	20.832	
	ekstrak 25%	27.5000	.2820	.000	26.468	28.532	
	n-heksana 12,5%	36.0667	.2820	.000	35.034	37.099	
	etil asetat 12,5%	36.0667	.2820	.000	35.034	37.099	
	air 12,5%	24.9000	.2820	.000	23.868	25.932	
	ekstrak 12,5%	36.0667	.2820	.000	35.034	37.099	
	kontrol -	36.0667	.2820	.000	35.034	37.099	
kontrol -	n-heksana 50%	-12.0667	.2820	.000	-13.099	-11.034	
	etil asetat 50%	-15.4000	.2820	.000	-16.432	-14.368	
	air 50%	-20.4333	.2820	.000	-21.466	-19.401	
	ekstrak 50%	-9.9000	.2820	.000	-10.932	-8.868	
	n-heksana 25%	-10.6000	.2820	.000	-11.632	-9.568	
	etil asetat 25%	-13.4000	.2820	.000	-14.432	-12.368	
	air 25%	-16.2667	.2820	.000	-17.299	-15.234	
	ekstrak 25%	-8.5667	.2820	.000	-9.599	-7.534	
	n-heksana 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.032	1.032	
	etil asetat 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.032	1.032	
	air 12,5%	-11.1667	.2820	.000	-12.199	-10.134	
	ekstrak 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.032	1.032	
	kontrol +	-36.0667	.2820	.000	-37.099	-35.034	
Bonferro ni	n-heksana 50%	etil asetat 50%	-3.3333	.2820	.000	-4.433	-2.234
		air 50%	-8.3667	.2820	.000	-9.466	-7.267
		ekstrak 50%	2.1667	.2820	.000	1.067	3.266
		n-heksana 25%	1.4667	.2820	.001	.367	2.566
		etil asetat 25%	-1.3333	.2820	.005	-2.433	-.234
		air 25%	-4.2000	.2820	.000	-5.300	-3.100
		ekstrak 25%	3.5000	.2820	.000	2.400	4.600
		n-heksana 12,5%	12.0667	.2820	.000	10.967	13.166
		etil asetat 12,5%	12.0667	.2820	.000	10.967	13.166
		air 12,5%	.9000	.2820	.317	-.200	2.000
		ekstrak 12,5%	12.0667	.2820	.000	10.967	13.166
		kontrol +	-24.0000	.2820	.000	-25.100	-22.900
		kontrol -	12.0667	.2820	.000	10.967	13.166
etil asetat 50%	n-heksana 50%	3.3333	.2820	.000	2.234	4.433	
	air 50%	-5.0333	.2820	.000	-6.133	-3.934	
	ekstrak 50%	5.5000	.2820	.000	4.400	6.600	
	n-heksana 25%	4.8000	.2820	.000	3.700	5.900	

	etil asetat 25%	2.0000	.2820	.000	.900	3.100
	air 25%	-8667	.2820	.426	-1.966	.233
	ekstrak 25%	6.8333	.2820	.000	5.734	7.933
	n-heksana 12,5%	15.4000	.2820	.000	14.300	16.500
	etil asetat 12,5%	15.4000	.2820	.000	14.300	16.500
	air 12,5%	4.2333	.2820	.000	3.134	5.333
	ekstrak 12,5%	15.4000	.2820	.000	14.300	16.500
	kontrol +	-20.6667	.2820	.000	-21.766	-19.567
	kontrol -	15.4000	.2820	.000	14.300	16.500
air 50%	n-heksana 50%	8.3667	.2820	.000	7.267	9.466
	etil asetat 50%	5.0333	.2820	.000	3.934	6.133
	ekstrak 50%	10.5333	.2820	.000	9.434	11.633
	n-heksana 25%	9.8333	.2820	.000	8.734	10.933
	etil asetat 25%	7.0333	.2820	.000	5.934	8.133
	air 25%	4.1667	.2820	.000	3.067	5.266
	ekstrak 25%	11.8667	.2820	.000	10.767	12.966
	n-heksana 12,5%	20.4333	.2820	.000	19.334	21.533
	etil asetat 12,5%	20.4333	.2820	.000	19.334	21.533
	air 12,5%	9.2667	.2820	.000	8.167	10.366
	ekstrak 12,5%	20.4333	.2820	.000	19.334	21.533
	kontrol +	-15.6333	.2820	.000	-16.733	-14.534
	kontrol -	20.4333	.2820	.000	19.334	21.533
ekstrak 50%	n-heksana 50%	-2.1667	.2820	.000	-3.266	-1.067
	etil asetat 50%	-5.5000	.2820	.000	-6.600	-4.400
	air 50%	-10.5333	.2820	.000	-11.633	-9.434
	n-heksana 25%	-7.000	.2820	1.000	-1.800	.400
	etil asetat 25%	-3.5000	.2820	.000	-4.600	-2.400
	air 25%	-6.3667	.2820	.000	-7.466	-5.267
	ekstrak 25%	1.3333	.2820	.005	.234	2.433
	n-heksana 12,5%	9.9000	.2820	.000	8.800	11.000
	etil asetat 12,5%	9.9000	.2820	.000	8.800	11.000
	air 12,5%	-1.2667	.2820	.010	-2.366	-.167
	ekstrak 12,5%	9.9000	.2820	.000	8.800	11.000
	kontrol +	-26.1667	.2820	.000	-27.266	-25.067
	kontrol -	9.9000	.2820	.000	8.800	11.000
n-heksana 25%	n-heksana 50%	-1.4667	.2820	.001	-2.566	-.367
	etil asetat 50%	-4.8000	.2820	.000	-5.900	-3.700
	air 50%	-9.8333	.2820	.000	-10.933	-8.734
	ekstrak 50%	.7000	.2820	1.000	-.400	1.800
	etil asetat 25%	-2.8000	.2820	.000	-3.900	-1.700
	air 25%	-5.6667	.2820	.000	-6.766	-4.567
	ekstrak 25%	2.0333	.2820	.000	.934	3.133
	n-heksana 12,5%	10.6000	.2820	.000	9.500	11.700
	etil asetat 12,5%	10.6000	.2820	.000	9.500	11.700
	air 12,5%	-.5667	.2820	1.000	-1.666	.533
	ekstrak 12,5%	10.6000	.2820	.000	9.500	11.700
	kontrol +	-25.4667	.2820	.000	-26.566	-24.367
	kontrol -	10.6000	.2820	.000	9.500	11.700

etil asetat 25%	n-heksana 50%	1.3333	.2820	.005	.234	2.433
	etil asetat 50%	-2.0000	.2820	.000	-3.100	-.900
	air 50%	-7.0333	.2820	.000	-8.133	-5.934
	ekstrak 50%	3.5000	.2820	.000	2.400	4.600
	n-heksana 25%	2.8000	.2820	.000	1.700	3.900
	air 25%	-2.8667	.2820	.000	-3.966	-1.767
	ekstrak 25%	4.8333	.2820	.000	3.734	5.933
	n-heksana 12,5%	13.4000	.2820	.000	12.300	14.500
	etil asetat 12,5%	13.4000	.2820	.000	12.300	14.500
	air 12,5%	2.2333	.2820	.000	1.134	3.333
	ekstrak 12,5%	13.4000	.2820	.000	12.300	14.500
	kontrol +	-22.6667	.2820	.000	-23.766	-21.567
	kontrol -	13.4000	.2820	.000	12.300	14.500
air 25%	n-heksana 50%	4.2000	.2820	.000	3.100	5.300
	etil asetat 50%	.8667	.2820	.426	-.233	1.966
	air 50%	-4.1667	.2820	.000	-5.266	-3.067
	ekstrak 50%	6.3667	.2820	.000	5.267	7.466
	n-heksana 25%	5.6667	.2820	.000	4.567	6.766
	etil asetat 25%	2.8667	.2820	.000	1.767	3.966
	ekstrak 25%	7.7000	.2820	.000	6.600	8.800
	n-heksana 12,5%	16.2667	.2820	.000	15.167	17.366
	etil asetat 12,5%	16.2667	.2820	.000	15.167	17.366
	air 12,5%	5.1000	.2820	.000	4.000	6.200
	ekstrak 12,5%	16.2667	.2820	.000	15.167	17.366
	kontrol +	-19.8000	.2820	.000	-20.900	-18.700
	kontrol -	16.2667	.2820	.000	15.167	17.366
ekstrak 25%	n-heksana 50%	-3.5000	.2820	.000	-4.600	-2.400
	etil asetat 50%	-6.8333	.2820	.000	-7.933	-5.734
	air 50%	-11.8667	.2820	.000	-12.966	-10.767
	ekstrak 50%	-1.3333	.2820	.005	-2.433	-.234
	n-heksana 25%	-2.0333	.2820	.000	-3.133	-.934
	etil asetat 25%	-4.8333	.2820	.000	-5.933	-3.734
	air 25%	-7.7000	.2820	.000	-8.800	-6.600
	n-heksana 12,5%	8.5667	.2820	.000	7.467	9.666
	etil asetat 12,5%	8.5667	.2820	.000	7.467	9.666
	air 12,5%	-2.6000	.2820	.000	-3.700	-1.500
	ekstrak 12,5%	8.5667	.2820	.000	7.467	9.666
	kontrol +	-27.5000	.2820	.000	-28.600	-26.400
	kontrol -	8.5667	.2820	.000	7.467	9.666
n-heksana 12,5%	n-heksana 50%	-12.0667	.2820	.000	-13.166	-10.967
	etil asetat 50%	-15.4000	.2820	.000	-16.500	-14.300
	air 50%	-20.4333	.2820	.000	-21.533	-19.334
	ekstrak 50%	-9.9000	.2820	.000	-11.000	-8.800
	n-heksana 25%	-10.6000	.2820	.000	-11.700	-9.500
	etil asetat 25%	-13.4000	.2820	.000	-14.500	-12.300
	air 25%	-16.2667	.2820	.000	-17.366	-15.167
	ekstrak 25%	-8.5667	.2820	.000	-9.666	-7.467
etil asetat 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.100	1.100	

	air 12,5%	-11.1667	.2820	.000	-12.266	-10.067
	ekstrak 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.100	1.100
	kontrol +	-36.0667	.2820	.000	-37.166	-34.967
	kontrol -	.0000	.2820	1.000	-1.100	1.100
etil asetat 12,5%	n-heksana 50%	-12.0667	.2820	.000	-13.166	-10.967
	etil asetat 50%	-15.4000	.2820	.000	-16.500	-14.300
	air 50%	-20.4333	.2820	.000	-21.533	-19.334
	ekstrak 50%	-9.9000	.2820	.000	-11.000	-8.800
	n-heksana 25%	-10.6000	.2820	.000	-11.700	-9.500
	etil asetat 25%	-13.4000	.2820	.000	-14.500	-12.300
	air 25%	-16.2667	.2820	.000	-17.366	-15.167
	ekstrak 25%	-8.5667	.2820	.000	-9.666	-7.467
	n-heksana 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.100	1.100
	air 12,5%	-11.1667	.2820	.000	-12.266	-10.067
	ekstrak 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.100	1.100
	kontrol +	-36.0667	.2820	.000	-37.166	-34.967
	kontrol -	.0000	.2820	1.000	-1.100	1.100
air 12,5%	n-heksana 50%	-.9000	.2820	.317	-2.000	.200
	etil asetat 50%	-4.2333	.2820	.000	-5.333	-3.134
	air 50%	-9.2667	.2820	.000	-10.366	-8.167
	ekstrak 50%	1.2667	.2820	.010	.167	2.366
	n-heksana 25%	.5667	.2820	1.000	-.533	1.666
	etil asetat 25%	-2.2333	.2820	.000	-3.333	-1.134
	air 25%	-5.1000	.2820	.000	-6.200	-4.000
	ekstrak 25%	2.6000	.2820	.000	1.500	3.700
	n-heksana 12,5%	11.1667	.2820	.000	10.067	12.266
	etil asetat 12,5%	11.1667	.2820	.000	10.067	12.266
	ekstrak 12,5%	11.1667	.2820	.000	10.067	12.266
	kontrol +	-24.9000	.2820	.000	-26.000	-23.800
	kontrol -	11.1667	.2820	.000	10.067	12.266
ekstrak 12,5%	n-heksana 50%	-12.0667	.2820	.000	-13.166	-10.967
	etil asetat 50%	-15.4000	.2820	.000	-16.500	-14.300
	air 50%	-20.4333	.2820	.000	-21.533	-19.334
	ekstrak 50%	-9.9000	.2820	.000	-11.000	-8.800
	n-heksana 25%	-10.6000	.2820	.000	-11.700	-9.500
	etil asetat 25%	-13.4000	.2820	.000	-14.500	-12.300
	air 25%	-16.2667	.2820	.000	-17.366	-15.167
	ekstrak 25%	-8.5667	.2820	.000	-9.666	-7.467
	n-heksana 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.100	1.100
	etil asetat 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.100	1.100
	air 12,5%	-11.1667	.2820	.000	-12.266	-10.067
	kontrol +	-36.0667	.2820	.000	-37.166	-34.967
	kontrol -	.0000	.2820	1.000	-1.100	1.100
kontrol +	n-heksana 50%	24.0000	.2820	.000	22.900	25.100
	etil asetat 50%	20.6667	.2820	.000	19.567	21.766
	air 50%	15.6333	.2820	.000	14.534	16.733
	ekstrak 50%	26.1667	.2820	.000	25.067	27.266
	n-heksana 25%	25.4667	.2820	.000	24.367	26.566

	etil asetat 25%	22.6667	.2820	.000	21.567	23.766
	air 25%	19.8000	.2820	.000	18.700	20.900
	ekstrak 25%	27.5000	.2820	.000	26.400	28.600
	n-heksana 12,5%	36.0667	.2820	.000	34.967	37.166
	etil asetat 12,5%	36.0667	.2820	.000	34.967	37.166
	air 12,5%	24.9000	.2820	.000	23.800	26.000
	ekstrak 12,5%	36.0667	.2820	.000	34.967	37.166
	kontrol -	36.0667	.2820	.000	34.967	37.166
kontrol -	n-heksana 50%	-12.0667	.2820	.000	-13.166	-10.967
	etil asetat 50%	-15.4000	.2820	.000	-16.500	-14.300
	air 50%	-20.4333	.2820	.000	-21.533	-19.334
	ekstrak 50%	-9.9000	.2820	.000	-11.000	-8.800
	n-heksana 25%	-10.6000	.2820	.000	-11.700	-9.500
	etil asetat 25%	-13.4000	.2820	.000	-14.500	-12.300
	air 25%	-16.2667	.2820	.000	-17.366	-15.167
	ekstrak 25%	-8.5667	.2820	.000	-9.666	-7.467
	n-heksana 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.100	1.100
	etil asetat 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.100	1.100
	air 12,5%	-11.1667	.2820	.000	-12.266	-10.067
	ekstrak 12,5%	.0000	.2820	1.000	-1.100	1.100
	kontrol +	-36.0667	.2820	.000	-37.166	-34.967

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

## Homogeneous Subsets

diameter

Sampel	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Tukey HSD <sup>a</sup>										
n-heksana 12,5%	3	.000								
etil asetat 12,5%	3	.000								
ekstrak 12,5%	3	.000								
kontrol -	3	.000								
ekstrak 25%	3		8.567							
ekstrak 50%	3			9.900						
n-heksana 25%	3			10.600	10.600					
air 12,5%	3				11.167	11.167				
n-heksana 50%	3					12.067				
etil asetat 25%	3						13.400			
etil asetat 50%	3							15.400		
air 25%	3							16.267		
air 50%	3								20.433	
kontrol +	3									36.067
Sig.		1.000	1.000	.453	.750	.136	1.000	.171	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.