

**UJI ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG
(*Anredera cardiofolia*(Ten)Steenis) DAN EKSTRAK DAUN LIDAH BUAYA
(*Aloe barbadensis* Miller) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
ATCC 25922 SECARA *in vitro***



Oleh :
Yogik Setyawan
19133867A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG
(*Anredera cardiofolia*(Ten)Steenis) DAN EKSTRAK DAUN LIDAH BUAYA
(*Aloe barbadensis* Miller) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
ATCC 25922 SECARA *in vitro***



Oleh :
Yogik Setyawan
19133867A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG
(*Anredera cardiofolia*(Ten)Steenis) DAN EKSTRAK DAUN LIDAH BUAYA
(*Aloe barbadensis* Miller) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
ATCC 25922 SECARA *in vitro***

SKRIPSI

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

Oleh :

Yogik Setyawan

19133867A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

UJI ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG

(*Anredera cardiofolia*(Ten)Steenis) DAN EKSTRAK DAUN LIDAH

BUAYA (*Aloe barbadensis* Miller) TERHADAP BAKTERI

Escherichia coli* ATCC 25922 SECARA *in vitro

Oleh

Yogik Setyawan

19133867A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi

Fakultas Farmasi universitas Setia Budi

Pada tanggal : 12 Juni 2017

Mengetahui,

Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi

Dekan



Prof. Dr.

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

Pembimbing Utama

Reslely Harjanti, M.Sc., Apt

Pembimbing Pendamping

Mardiyono, M.Si. Drs

Penguji :

- 1: Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt
2. D. Andang Arif Wibawa, S.P., M.Si.
3. Sunarti, M.Sc., Apt.
4. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt

1.

2.

3.

4.

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 atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, Juni 2017

Penulis,



(Yogik Setyawan)

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan maka apabila kamu telah selesai (dari satu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain. Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap”.

(QS. Al Insyirah: 5-8)

Segala kerendahan hati saya persembahkan karya ini kepada :

1. Allah SWT atas segala karunia-Nya
2. Ibu, Bapak, dan segenap keluarga besarku yang selalu mengiringi setiap perjalanan hidupku serta senantiasa mendukung dan mendoakanku agar tercapai segala impianku dan kelak bermanfaat untuk orang lain
3. Bu Reslely serta pak Mardiono yang senantiasa membantu serta memberikan motivasi ataupun masukan sehingga tercapailah hasil karya ini.
4. Semua teman sejawat yang berjuang bersama untuk mendapatkan keberhasilan.

KATA PENGANTAR

Segala Puji syukur kehadirat Allah SWT atas semua karunia-Nya. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada baginda junjungan kita Nabi Muhammad SAW. Semoga kita semua menjadi manusia yang selalu bersyukur dan menjadi orang yang lebih baik lagi.

Syukur Alhamdulillah tak hentinya diucapkan penulis dengan anugrah kesehatan, rizki dari segala arah, kekuatan serta suntikan semangat untuk dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cardiofolia*(Ten)Steenis) DAN EKSTRAK DAUN LIDAH BUAYA (*Aloe barbadensis* Miller) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922 SECARA *in vitro*”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Strata 1 pada Program Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi.

Skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari beberapa pihak, baik material maupun spiritual. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, M.BA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, S.U., M.M., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt. selaku Kepala Progam Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi
4. Samuel Budi Harsono, S.Farm, M.Si, Apt. selaku pembimbing akademik atas segala bimbingan dan pengarahannya.

5. Reslely Harjanti, M.Sc, Apt. selaku pembimbing utama yang telah bersedia memberikan bimbingan, berbagi ilmu, motivasi serta perhatian maupun suntikan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Mardiono, M.Si, Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah bersedia mendampingi, membimbing, memberi suntikan semangat serta bertukar pikiran sehingga membantu terselesaikannya skripsi ini.
7. Segenap dosen pengajar dan staff Program Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak memberikan ilmu dan pelajaran berharga.
8. Orang tua yang telah memberikan dukungan dalam material maupun spiritual untuk membantu menyelesaikan skripsi ini.
9. Teman - teman semuanya yang tak bisa disebutkan satu persatu khususnya mahasiswa S1 Farmasi angkatan 2013 yang banyak membantu dan kerja sama yang baik untuk selalu dikenang selama ini baik suka maupun duka di bangku perkuliahan.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang berperan serta memberikan dukungan atau bantuan dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih sangat jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan adanya kritik serta saran yang diberikan dalam upaya penyempurnaan penulisan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga apa yang telah penulis persembahkan dalam karya ini akan bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi para pembaca.

Surakarta, Juni 2017

Penulis,

Yogik Setyawan

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
INTISARI.....	xvi
ABSTRAK	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tanaman Binahong	4
1. Sistematika tanaman binahong.....	4
2. Nama lain	4
3. Morfologi tanaman.....	4
4. Kandungan kimia	5
4.1. Alkaloid.....	5
4.2. Flavonoid	5
4.3. Saponin.....	6
5. Kegunaan tanaman	6
B. Tanaman Daun lidah buaya.....	6
1. Sistematika tanaman daun lidah buaya	6
2. Nama lain	7
3. Morfologi tanaman.....	7

4.	Kandungan kimia	7
4.1.	Saponin.....	7
4.2.	Sterol	7
4.3.	Tanin	7
5.	Kegunaan tanaman	8
C.	Simplisia.....	8
1.	Pengertian simplisia	8
D.	Metode Penyarian.....	9
1.	Pengertian ekstraksi.....	9
2.	Maserasi	9
3.	Pelarut.....	9
E.	Kromatografi Lapis Tipis	10
F.	Bakteri <i>Escherichia Coli</i>	11
1.	Klarifikasi.....	11
2.	Morfologi dan sifat.....	11
3.	Toksin <i>Escherichia coli</i>	12
G.	Aktivitas Antibakteri.....	12
1.	Antibakteri.....	12
2.	Metode pengujian aktivitas antibakteri	12
H.	Media.....	13
1.	Pengertian media	13
2.	Macam-macam media	14
2.1.	Media padat.....	14
2.2.	Media setengah padat.....	14
2.3.	Media cair.....	14
I.	Terapi Antibakteri	14
1.	Antagonis	15
2.	Sinergisme.....	15
J.	Koltrimoksazol.....	15
K.	Landasan Teori.....	17
L.	Hipotesis.....	19
BAB III METODE PENYARIAN		20
A.	Populasi dan Sampel	20
B.	Variabel Penelitian	20
1.	Identifikasi variable utama	20
2.	Klasifikasi variable utama	20
3.	Definisi oprasional variable utama.....	21
C.	Alat dan Bahan.....	22
1.	Alat.....	22

2. Bahan.....	22
D. Jalannya Penelitian.....	22
1. Determinasi tanaman.....	22
2. Pengambilan bahan	23
3. Pembuatan serbuk	23
3.1. Pembuatan serbuk daun binahong.....	23
3.2. Pembuatan serbuk daun lidah buaya	23
4. Penetapan kadar lembab.....	23
5. Pembuatan ekstrak etanol 70%	24
5.1. Pembuatan ekstrak etanol daun binahong.....	24
5.2. Pembuatan ekstrak etanol daun lidah buaya	24
6. Uji bebas etanol.....	24
7. Identifikasi kandungan kimia.....	24
7.1. Flavonoid	25
7.2. Saponin.....	25
7.3. Tanin	25
8. Sterilisasi alat dan media.....	25
9. Pembuatan suspensi bakteri	26
10. Identifikasi bakteri.....	26
10.1. Identifikasi biokimia.....	26
10.2. Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan gram	27
10.3. Identifikasi makroskopis.....	27
11. Uji antibakteri secara difusi dan dilusi.....	27
11.1. Uji aktifitas antibakteri metode difusi	27
11.2. Uji aktifitas antibakteri metode dilusi.....	28
E. Analisis hasil	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	34
A. Hasil penelitian.....	34
1. Identifikasi tanaman binahong dan daun lidah buaya	34
1.1. Identifikasi tanaman binahong.....	34
1.2. Identifikasi tanaman daun lidah buaya	34
2. Hasil pengumpulan bahan, dan pembuatan serbuk	34
3. Hasil penetapan kadar lembab.....	35
4. Hasil pembuatan serbuk	35
5. Hasil tes bebas etanol	36
6. Hasil identifikasi kandungan kimia.....	37
7. Hasil identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i>	38
8. Hasil identifikasi biokimia <i>Escheriachia coli</i>	38
9. Hasil identifikasi mikroskopi bakteri	40

10. Hasil pengujian difusi.....	41
11. Hasil pengujian dilusi.....	44
BAB V KESIMPILAN DAN SARAN	46
A. Kesimpulan	46
B. Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA	47
DAFTAR LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i>) dan daun lidah buaya (<i>aloe vera</i>) dengan metode maserasi ..30	
Gambar 2. Skema pembuatan suspensi bakteri <i>Escherichia coli</i>31	
Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi32	
Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi.....33	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perhitungan prosentase bobot kering	35
Tabel 2. Hasil pembuatan ekstrak	36
Tabel 3. Hasil tes bebas etanol.....	36
Tabel 4. Hasil identifikasi KLT	37
Tabel 5. Hasil identifikasi biokimia e.coli	38
Tabel 6. Hasil pengujian antibakteri secara difusi	41
Tabel 7. Hasil pengujian antibakteri secara dilusi	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi binahong.....	51
Lampiran 2. Surat keterangan determinasi daun lidah buaya	52
Lampiran 3. Gambar tanaman.....	53
Lampiran 4. Gambar timbangan dan vortex	54
Lampiran 5. Gambar alat oven, incubator dan rotary evaporator	55
Lampiran 6. Gambar ekstrak.....	56
Lampiran 7. Gambar hasil KLT	57
Lampiran 8. Gambar hasil identifikasi bakteri.....	58
Lampiran 9. Gambar hasil uji difusi	59
Lampiran 10. Gambar hasil uji dilusi.....	60
Lampiran 11. Perhitungan persentase bobot kering.....	61
Lampiran 12. Perhitungan kadar rendemen	62
Lampiran 13. Pembuatan larutan stok.....	63
Lampiran 14. Formulasi dan pembuatan media.....	64
Lampiran 15. Tabel anova.....	67
Lampiran 16. Tabel Homogenous Subsest.....	71

INTISARI

SETYAWAN, Y., 2017, UJI ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cardiofolia*(Ten)Steenis) DAN EKSTRAK DAUN LIDAH BUAYA (*Aloe barbadensis* Miller) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922 SECARA *in vitro*

Daun binahong (*Anredera cardiofolia*.) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*) pada penelitian sebelumnya mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas kombinasi ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya pada berbagai kombinasi.

Daun binahong dan daun lidah buaya masing-masing diserbuk dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70 %. Kedua ekstrak dikombinasi dengan perbandingan (1:1), (1:2), dan (2:1), dibuat seri konsentrasi pengenceran 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,1%; 1,5%; 0,7%, 0,3%, 0,1%; 0,09%; diuji terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 secara dilusi.

Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol 70% daun binahong dan daun lidah buaya memiliki mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan Konsentrasi Bunuh Minimum 25%. Perbandingan kombinasi paling efektif yaitu (2:1), hal ini dimungkinkan karena ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya memiliki kandungan senyawa flavonoid, tanin, and saponin.

Kata kunci : daun binahong (*Anredera cardiofolia*.) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*), antibakteri, dilusi, *Escherichia coli* ATCC 25922.

ABSTRACT

SETYAWAN, Y., 2017, UJI ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cardiofolia*(Ten)Steenis) DAN EKSTRAK DAUN LIDAH BUAYA (*Aloe barbadensis* Miller) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 25922 SECARA *in vitro*

Binahong leaves (*Anredera cardiofolia*.) and aloe daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*) in previous studies had antibacterial activity against *Escherichia coli*. The aim of this research is to know the combination activity of binahong leaves extract and aloe vera on various combinations.

Leaves of binahong and aloe vera are each powdered and extracted by maceration method using 70% ethanol solvent. Both extracts were combined with a ratio of (1: 1), (1: 2), and (2: 1), a series of dilution concentrations of 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.1%; 1.5%; 0.7%, 0.3%, 0.1%; 0.09%; Tested against *Escherichia coli* ATCC 25922 dilutionally.

The result of antibacterial test showed that the combination of ethanol extract of 70% of binahong and aloe vera has antibacterial activity against *Escherichia coli* with 25% Minimum Inhibitors Concentration. The most effective combination of combinations (2:1), this is possible because the extracted leaves of binahong and aloe vera have contain flavonoid, tanin, and saponin compounds.

Keyword : binahong leaves (*Anredera cardiofolia*.) dan daun lidah buaya leaves (*Aloe barbadensis*), antibacterial, dilution, *Escherichia coli* ATCC 25922

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk, salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri (Radji 2011). Di negara berkembang seperti Indonesia, diare masih merupakan masalah kesehatan masyarakat karena morbiditas dan mortalitasnya yang masih tinggi, terutama untuk anak usia di bawah 5 tahun. Berdasarkan survei yang dilakukan oleh Departemen Kesehatan (Depkes) pada tahun 2013 dan tahun 2015 terlihat kenaikan insiden. Pada tahun 2000 insiden penyakit diare adalah 301 per 1000 penduduk, dan pada tahun 2015 naik menjadi 611 per 1000 penduduk. Prevalensi diare tertinggi terdapat pada balita usia 12-23 bulan, diikuti balita usia 6-11 bulan dan usia 23-45 bulan, prevalensinya lebih tinggi pada balita pedesaan dibandingkan perkotaan (Depkes RI 2015). Kota Surakarta sendiri, jumlah penderita diare pada tahun 2015 yaitu 4.683 anak. Hasil riset juga menunjukkan adanya kenaikan morbiditas diare balita dari tahun-tahun sebelumnya untuk propinsi Jawa Tengah dan kota Surakarta (Dinkes Jateng 2015).

Diare disebabkan karena infeksi yang menyebabkan frekuensi defekasi melebihi frekuensi normal dengan konsentrasi feses encer bahkan bercampur lendir dan darah. Diare juga dapat disebabkan karena enterotoksin atau racun yang dihasilkan oleh bakteri *Escherichia coli* melalui bahan makanan dan minuman yang terinfeksi oleh banyak kuman, menjadi invasif dan menyerbu ke dalam mukosa (Tjay dan Rahardja 2007). *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri penyebab diare akut baik anak-anak maupun orang dewasa karena mengkonsumsi air atau makanan yang tercemar *Escherichia coli* dapat menyebabkan infeksi pada usus dan dapat menyebabkan diare (Jawetz *et al.* 2012).

Bakteri *Escherichia coli* adalah salah satu jenis bakteri Gram negatif. Bakteri *Escherichia coli* merupakan kuman oportunistik yang banyak di temukan di usus besar manusia sebagai flora normal. Bakteri *Escherichia coli* dapat berubah menjadi pathogen jika pertumbuhan di dalam tubuh melebihi batas normal, akibat

perubahan makanan secara mendadak serta perubahan suhu lingkungan. Sifat dari bakteri dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare, seperti juga kemampuannya menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh lain (Cahyono 2013).

Penyakit diare yang disebabkan bakteri *Escherichia coli* dapat diobati dengan antibiotik, namun penggunaan antibiotik memiliki kekurangan. Penggunaan tanaman tradisional dapat digunakan sebagai alternatif dari anti diare. Diantaranya yaitu daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Miller) yang dapat digunakan sebagai anti diare (Annisa dan Nurul 2007).

Hasil penelitian tentang daun binahong menunjukkan zat-zat aktif seperti saponin, flavonoid, dan tannin. Zat-zat yang dimiliki oleh Binahong ini memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Hasil penelitian dari tanaman daun lidah buaya yang memiliki aktivitas antibakteri berupa flavonoid, saponin, sterol, acemannan, antrakuinon (Purbaya 2003). Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Rina Mulya (2011), diketahui bahwa ekstrak daun binahong memiliki aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan diameter hambat sebesar 0,76 cm pada konsentrasi 1,95 mg/ml. Penelitian yang dilakukan oleh Isabela (2009), menyatakan bahwa ekstrak daun lidah buaya mampu menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Aloe chinensis* Baker mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Menurut penelitian Ni Kadek Ariyanti (2013) ekstrak kulit daun lidah buaya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambatan pada konsentrasi 100% dengan rata-rata diameter 6,81 mm.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan masalah penelitian :

Pertama, apakah kombinasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 ?

Kedua, berapa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) dari kombinasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera*

cordifolia) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Miller) pada perbandingan konsentrasi (1:1),(2:1),(1:2) sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 ?

Ketiga, manakah dari perbandingan konsentrasi kombinasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*) yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling aktif untuk menghambat *Escherichia coli* ATCC 25922 ?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas dapat diketahui beberapa tujuan penelitian yaitu:

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, untuk mengetahui berapa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) dari kombinasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*) pada perbandingan konsentrasi (1:1),(2:1),(1:2) sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ketiga, untuk mengetahui manakah dari perbandingan konsentrasi kombinasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*) yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling aktif untuk menghambat *Escherichia coli* ATCC 25922.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi yang bermanfaat kepada masyarakat luas dalam bidang farmasi khususnya tentang aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan kulit daun lidah buaya dan sekaligus untuk membuka wawasan dan ilmu pengetahuan yang berkaitan dengan dalam mengatasi masalah kesehatan di Indonesia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Binahong

1. Sistematika tanaman binahong

Klasifikasi tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Sintesis), menurut Hariana 2013 adalah :

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobinta
Super Divisi : Spermatopyta
Divisi : Magnoliopyta
Class : Magnoliopsida
Sub class : Hamamelidae
Ordo : Caryophyllales
Famili : Basellaceae
Genus : Anredera
Spesies : *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis

2. Nama lain

Nama Ilmiah : *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis

Nama Daerah : *gondola* (Sunda); *gendola* (Bali); *lembayung* (Minangkabau); *genjerot*, *gedrek*, *uci-uci* (Jawa); *kandula* (Madura); *tatabuwe* (Sulawesi Utara), *poiloo* (Gorontalo), *kandola* (Timor).

Nama Asing : heartleaf maderavine madevine (Inggris) dan dheng shan chi (Cina) (Hariana 2008).

3. Morfologi tanaman

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah tanaman menjalar, berumur panjang (perennial), bisa mencapai panjang ± 5 m (Smith 2006). Batang lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun

dengan bentuk tidak beraturan dan bertekstur kasar. Daun tunggal, bertangkai sangat pendek (subsessile), tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung (cordata), panjang berlekuk (emarginatus), tepi rata, permukaan licin. 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 (Manoi 2009).

4. Kandungan kimia

Kandungan kimia yang terdapat pada daun binahong, antara lain flavonoid, tanin, alkaloid, minyak atsiri, dan saponin. Berbagai kandungan kimia tersebut menyebabkan daun binahong dapat bersifat sebagai antibakteri, antivirus, antiinflamasi, analgesik, dan antioksidan. Selain itu, daun binahong juga berkhasiat untuk meningkatkan daya tahan tubuh, memperkuat daya tahan sel terhadap infeksi sekaligus memperbaiki sel yang rusak, melancarkan dan menormalkan peredaran darah serta tekanan darah, mencegah stroke, mengatasi diabetes, serta mengobati penyakit maag (Hariana 2008).

4.1. Alkaloid. Alkaloid merupakan suatu senyawa yang berasal dari tumbuhan, mengandung nitrogen, biasanya berbentuk heterosiklik dalam ikatan primer, sekunder, dan pada umumnya berasa pahit dan memiliki aksi farmakologi tertentu. Alkaloid berlaku sebagai pengatur zat tumbuh karena dari struktur, beberapa alkohol menyerupai pengatur tumbuh (Robinson, 1995). Pada umumnya alkaloid larut dalam pelarut lipofil, dan garamnya larut dalam pelarut hidrofil. Alkaloid dalam tumbuhan umumnya terdapat sebagai garam organik (misalnya sebagai tartrat, sitrat) sehingga bisa diekstraksi dengan pelarut yang bersifat hidrofil misalnya campuran etanol dan air (Voigt 1995).

4.2. Flavonoid. Diperkirakan 2% dari seluruh karbon yang difotosintesis oleh tumbuhan diubah menjadi flavonoid atau senyawa yang berikatan erat dengannya seperti tannin dan antosianin. Flavonoid adalah salah satu golongan fenol alam terbesar (Voigt 1995). Flavonoid juga merupakan senyawa polar maka

umumnya senyawa flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dan air (Voigt 1995).

4.3. Saponin. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan dalam konsentrasi yang rendah sering menimbulkan hemolisis sel darah merah. Dikenal dua jenis saponin, glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid tertentu. Kedua jenis saponin ini larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Robinson 1995). Mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah melibatkan pembentukan kompleks dengan sterol pada membran plasma sehingga menghancurkan semi permeabilitas sel, kemudian mengarah pada kematian sel (Kumalasari dan Sulistyani 2011).

5. Kegunaan tanaman

Bagian dari tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah daunnya. Beberapa pemanfaatan daun binahong dalam pengobatan beberapa penyakit antara lain terapi untuk gagal ginjal, diabetes, hipertensi, hiperlipidemia, infeksi dan lainnya. Uji farmakologis mendapati tumbuhan ini mampu berperan sebagai antibakterial, antiobesitas dan antihiperlipidemia, antimutagenik, antiviral, antiulser, dan antiinflamasi (Supriadi 2001).

B. Tanaman Daun Lidah Buaya

1. Sistematika tanaman

Klasifikasi tanaman Daun lidah buaya (*Aloe Barbadensis* Miller), menurut Furnawanthi 2002 adalah :

Kingdom	: Plantae
Division	: Spermatophyta
Class	: Monocothyledoneae
Ordo	: Liliiflorae
Family	: Liliaceae
Genus	: Aloe
Species	: <i>Aloe vera</i>

2. Nama lain

Tanaman daun lidah buaya memiliki nama lain seperti *Aloe barbadensis*, Mill dan *Aloe vulgaris*

3. Morfologi tanaman

Tanama Daun lidah buaya (*Aloe Barbadensis* Miller) adalah tanaman perdu umumnya mempunyai struktur akar, batang, daun dan bunga, namun sering digunakan di dalam pengobatan adalah bagian daun. Daun lidah buaya merupakan daun tunggal berbentuk tombak dengan helaian memanjang berupa. Tanaman daun lidah buaya dapat mencapai 121 cm, berat per batangnya bisa mencapai 4 kg.

4. Kandungan kimia daun lidah buaya

Gel adalah bagian yang berlendir yang diperoleh dengan cara menyayat bagian dalam daun setelah eksudat dikeluarkan. Kandungan kimia yang terkandung dalam daun lidah buaya yang memiliki aktivitas antibakteri adalah senyawa saponin, sterol, dan tanin (Furnawanti 2002).

4.1. Saponin. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang dapat membentuk busa jika dikocok dalam air. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin menjadi antibakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran (Rijayanti 2014).

4.2. Sterol. Sterol merupakan senyawa steroid berbentuk alkohol dengan kerangka atom karbon C₂₇-C₂₉ dan mempunyai rantai cabang alifatik. Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membrane lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom (Madduluri *et al.* 2013).

4.3. Tanin. Tanin merupakan suatu senyawa polifenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksi dan karboksil. Senyawa tanin terdiri dari dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Mekanisme

tanin sebagai antibakteri adalah dengan menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna sehingga menyebabkan sel bakteri menjadi lisis (Rijayanti 2014).

5. Kegunaan tanaman

Bagian dari tanaman yang berkhasiat adalah bagian daun. Beberapa manfaat dari daun lidah buaya antara lain untuk mengobati luka bakar, rambut rontok, infeksi kulit, peradangan sinus, dan rasa nyeri pada saluran cerna. Uji farmakologis telah membuktikan bahwa daun lidah buaya berkhasiat sebagai antiinflamasi, antipiretik, antijamur, antioksidan, antiseptik, antimikroba, dan serta antivirus.

C. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apa pun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Berdasarkan hal itu maka simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral (Gunawan & Mulyani 2004).

Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya. Simplisia hewani adalah berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Pengeringan secara alamiah dapat juga dilakukan dengan panas matahari langsung. Cara ini dilakukan untuk mengeringkan bagian tanaman yang relatif keras seperti kayu, biji dan simplisia dengan kandungan senyawa aktif yang relative stabil apabila terkena panas.

D. Metode Penyarian

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi merupakan sediaan kering, kental, atau cair, dibuat dengan mengambil sari simplisia nabati atau hewani dengan cara yang sesuai, diluar pengaruh cahaya matahari langsung. Cairan penyari yang digunakan antara lain air, eter, atau campuran etanol air. Penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat menggunakan pelarut yang dipilih sehingga zat yang diinginkan larut. Bahan mentah oabat yang berasal dari tumbu-tumbuhan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan dan dikeringkan. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa factor 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 factor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih suatu metode ekstraksi (Tiwari et al, 2011).

2. Maserasi

Maserasi berasal dari kata “mecerare” artinya melunakkan. Maserata adalah hasil penarikan simplisia dengan cara maserasi, sedangkan maserasi adalah cara penarikan simplisia dengan merendam simplisia tersebut dalam cairan penyari pada suhu biasa ataupun memakai pemanasan. Maserasi juga merupakan proses pendahuluan untuk pembuatan secara perkolasi. Berapa lama simplisia harus dimaserasi, tergantung pada keadaannya, biasanya ditentukan pada tiap pembuatan sediaan. Jika tidak ada ketentuan lain, biasanya setengah sampai dua jam, sedangkan menurut Farmakope Herbal Indonesia Edisi I (2008) pembuatan ekstrak selama paling sedikit 2 hari dengan dua kali penyaringan dengan pelarut yang sama (DepKes 2013).

3. Pelarut

Pemilihan cairan penyari yang digunakan untuk ekstraksi harus berdasarkan daya larut zat aktif. Cairan penyari yang digunakan adalah etanol 70%. Etanol adalah pelarut serbaguna yang baik untuk ekstraksi, tidak

menyebabkan pembengkakan pada membran sel dan memperbaiki struktur bahan obat tertentu (Harbone 2006). Di samping itu etanol juga digunakan untuk melarutkan minyak menguap (Ansel 1987).

Senyawa yang dapat larut dengan etanol antara lain alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, antrakhinon, flavonoid, steroid, klorofil, lemak, malam, tanin, dan saponin. Etanol dapat dipertimbangkan sebagai pelarut karena lebih efektif, kapang dan kuman tidak mudah tumbuh, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, dan tidak diperlukan panas yang tinggi untuk pemekatan (Anonim 1986).

Pemilihan etanol 70% sebagai cairan penyari karena sifatnya yang lebih selektif, tidak beracun, netral, absorpsi baik, dapat mencegah pertumbuhan kapang dan kuman bercampur dengan air dengan segala perbandingan, dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit, sedangkan kerugiannya adalah harganya yang mahal. Etanol 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana pengotor yang ikut ke dalam cairan sangat kecil (Voigt 1995).

E. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan untuk pemisahan senyawa secara cepat dengan menggunakan zat penjerap berupa serbuk halus yang dilapiskan serba rata pada lempeng kaca. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan cara pemisahan senyawa dari campuran senyawa lain, agar menjadi senyawa murninya. Kelebihan KLT adalah keserbagunaan, kecepatan, dan kepekaan. Keserbagunaan KLT dikarenakan bahwa selain selulosa, sejumlah penyerap lain dapat disaputkan pada pelat kaca atau penyangga lain. Meskipun silika gel yang paling banyak digunakan, kecepatan KLT dipengaruhi oleh sifat penyerap yang lebih padat bila disaputkan pada pelat. Kekurangan KLT adalah kerja penyaputan pelat kaca dengan penyerap, bubuk silika gel yang harus dikocok kuat-kuat tiap jangka waktu tertentu, pengeringan pada suhu kamar dan pengaktifan dengan pemanasan pada suhu 100°C - 110°C selama 30 menit (Harbone 1987).

Pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi yang melibatkan dua fase yaitu sifat fase diam atau sifat lapisan dan sifat fase gerak atau campuran pelarut pengembang. Komponen kimia dapat bergerak naik mengikuti fase gerak karena adanya daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia yang berbeda sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya, hasil inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan. Fase diam dapat berupa serbuk halus berfungsi sebagai permukaan penyerap dan sebagai penyangga untuk lapisan zat cair. Cara deteksi bercak dapat dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm dengan pereaksi semprot khusus untuk senyawa tertentu (Sudjadi 1986).

F. Bakteri *Escherichia coli*

1. Klasifikasi

Menurut Jawetz et al (2012) *Escherichia coli* diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: Protiphyta
Sub Devisi	: Schizomycota
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

2. Morfologi dan sifat

Escherichia coli merupakan bakteri gram negative, berbentuk batang, berderet, dan merupakan flora yang paling banyak dalam usus, bergerak dengan flagel. Galur *Escherichia coli* dapat menghasilkan enterotoksin yang tidak tahan panas, yang dapat meningkatkan sekresi air dan klorida dalam lumen usus dan menyebabkan hipermotilitas yang akan menyebabkan diare ringan pada anak-anak (Jawetz et al. 2012).

3. Toksin *Escherichia coli*

Galur menghasilkan enterotoksin yang tidak tahan terhadap pemanasan yang dapat menyebabkan meningkatnya sekresi air dan klorida ke dalam lumen usus dan diare ringan pada anak-anak. *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang disebut dengan Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC) dan mempunyai kemampuan untuk memasuki epitel usus yang disebut dengan *Enteroinvasif Escherichia coli* (EIEC). Keadaan kurang baik seperti prematur, usia tua, terserang penyakit dan setelah imunisasi, bakteri *Escherichia coli* dapat mencapai saluran darah dan terjadi abses. *Escherichia coli* diekstraksi dalam jumlah besar di dalam feses, menyebabkan kontaminasi lingkungan termasuk tanah (Jewetz *et al* 2012).

G. Aktivitas Antibakteri

1. Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat 8 pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks 2005).

2. Metode pengujian aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dapat menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi yang banyak digunakan merupakan metode cakram kertas saring berisi sejumlah obat yang ditempatkan pada permukaan medium padat, sebelum digunakan medium diolesi dengan bakteri uji. Diameter zona hambat sekitar cakram yang digunakan untuk mengukur kekuatan hambat obat. Metode difusi agar dipengaruhi oleh faktor organisme, faktor antar obat, dan faktor fisika

kimia. Prinsip dari metode difusi adalah untuk mengukur zona hambat pertumbuhan bakteri yang terjadi akibat difusi zat yang bersifat sebagai antibiotik di dalam media padat. Daerah hambatan pertumbuhan bakteri adalah daerah jernih disekitar sumuran, semakin luas daerah hambatannya maka semakin kuat aktivitas daya antibakteri (Jawetz *et al* 2012).

Metode dilusi berguna untuk mencari KHM dan KBM dengan mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroba (Bonang & Koeswardono 1982). Prinsip metode dilusi adalah senyawa antimikroba diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi. Kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi mikroba uji dalam media cair. Kemudian diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa ada pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM, selanjutnya KHM tersebut dikultur ulang pada media agar tanpa penambahan mikroba uji ataupun senyawa antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media agar yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan jamur setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi 2008).

Keuntungan metode dilusi adalah diketahui KHM dan KBM. Bahan uji pada metode dilusi cair bahan uji lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi bakteri tersebar hingga metode ini lebih peka. Kekurangan metode ini adalah memerlukan waktu relatif lebih lama, tidak praktis (Jawetz *et al.* 2012) dan sampel yang digunakan ini harus jernih, karena bila keruh dapat mempersulit pengamatan. Prinsip dari metode dilusi adalah penghambatan pertumbuhan mikroba dalam pembedakan cair oleh suatu obat yang dicampurkan dalam pembedakan yang dapat membunuh mikroba secara optimum dan tidak menetralkan obat yang digunakan (Bonang & Koeswardono 1982).

H. Media

1. Pengertian media

Media adalah tempat jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mengandung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan

yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak diri. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik, didalam media diperlukan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi mikroba lain (Abdurahman 2008).

2. Macam-macam media

Bentuk media ada tiga jenis yaitu media padat, media setengah padat, media cair.

2.1. Media padat. Media padat diperoleh dengan cara menambahkan agar-agar. Agar berasal dari ganggang atau alga yang berfungsi sebagai bahan pemat. Alga digunakan karena bahan ini tidak diuraikan oleh mikroorganisme, dan dapat membeku pada suhu 45°C. Media padat terbagi menjadi media Agar miring dan Agar deep (Waluyo 2004).

2.2. Media setengah padat. Media setengah padat adalah media yang dibuat dengan bahan sama dengan media padat, akan tetapi yang berbeda adalah komposisi agarnya. Media ini digunakan untuk melihat gerak kuman secara mikroskopik (Waluyo 2004).

2.3. Media cair. Media cair juga dikenal sebagai media sintetik. Media sintetik merupakan media yang mempunyai kandungan dan isi bahan telah diketahui secara terperinci. Media sintetik sering digunakan untuk mempelajari genetika mikroorganisme. Senyawa anorganik dan senyawa organik yang ditambahkan dalam media sintetik harus murni. Contoh media sintetik adalah cairan Hanks, Locke, Eigel (Waluyo 2004).

I. Terapi Antibakteri

Obat tradisional yang memiliki khasiat empiris yang sama (efek sinergis) banyak digunakan saat ini. Obat tradisional akan bermanfaat dan aman jika digunakan dengan tepat. Baik takaran, waktum dan cara penggunaan serta

pemilihan bahan yang sesuai dengan indikasi dan efek farmakologi yang saling mendukung satu sama lain (efek komplementer) untuk mencapai efektivitas pengobatan. Obat tradisional memiliki beberapa kelebihan yaitu efek sampingnya yang relatif kecil dan harganya murah. Bahan obat alam juga memiliki beberapa kelemahan yang juga merupakan kendala dalam pengembangan obat tradisional. Kelemahan tersebut antara lain, efek farmakologinya lemah, bahan baku belum terstandar, belum dilakukan uji klinik dan mudah tercemar berbagai jenis mikroorganisme (Hariana 2008).

Kombinasi obat adalah perpaduan dua obat yang digunakan pada waktu bersamaan agar khasiatnya masing-masing dapat saling mempengaruhi yakni dapat memperlihatkan kerja berlawanan (antagonis) atau kerja sama (sinergisme). Efek dari kombinasi obat ada 2 yaitu :

1. Antagonis

Antagonis adalah terjadi apabila kegiatan obat pertama dikurangi dan ditiadakan sama sekali oleh obat kedua yang memiliki khasiat farmakologi yang berlawanan.

2. Sinergisme

Sinergisme adalah kerjasama antara dua obat dan dikenal dua jenis yaitu : Adisi (penambahan). Adisi yaitu efek kombinasi sama dengan jumlah kegiatan masing-masing obat dan potensiasi (peningkatan potensi).

J. Kotrimoksazol

Kotrimoksazol dalam penelitian ini digunakan sebagai pembanding (kontrol positif) karena memiliki spektrum yang luas sebagai antibakteri dan memiliki frekuensi terjadinya resistensi yang lebih rendah dari pada masing-masing obat. Kotrimoksazol merupakan antibiotik yang mengandung kombinasi sulfametoksazol dan trimethoprim (Ganiswara 2005).

Trimetoprim dan sulfametoksazol bekerja dengan menghambat reaksi enzimatik obligat pada dua tahap yang berurutan pada mikroba. Spektrum antibakteri trimethoprim sama dengan sulfametoksazol meskipun daya antibakterinya 20-100 kali lebih kuat dari pada sulfametoksazol. *Escherichia coli*

merupakan salah satu mikroba yang peka terhadap kotrimoksazol. Mekanisme antibakteri kotrimoksazol kerjanya berdasar atas dua tahap yang berurutan dalam reaksi enzimatis untuk membentuk asam tetrahidrofolat (Ganiswara 2005).

Sulfametoksazol menghambat masuknya molekul PABA ke dalam asam folat dan trimetoprim menghambat terjadinya reaksi reduksi dari dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat penting untuk reaksi-reaksi pemindahan satu atom C seperti pembentukan purin dan beberapa asam amino. Trimetoprim, menghambat enzim dihidrofolat reduktase mikroba secara selektif. Kombinasi ini mungkin efektif walupun mikroba telah resisten terhadap trimetoprim. Frekuensi terjadinya resistensi terhadap kotrimoksazol lebih rendah daripada masing-masing obat, karena mikroba yang resisten terhadap salah satu komponen lebih peka terhadap komponen yang lainnya. Sinergisme maksimum akan terjadi bila mikroba peka terhadap komponen (Ganiswara 2005).

Menurut WHO, pilihan utama farmakoterapi infeksi bakteri *Escherichia coli* pada manusia adalah kotrimoksazol. Uji yang dilakukan tentang pengaruh kotrimoksazol terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dapat dilihat rata-rata zona hambat yang terjadi adalah 22,8 mm, artinya secara kualitatif daya hambat yang dihasilkan sangat kuat karena lebih dari 20 mm (Billy dkk 2015). Kotrimoksazol mempunyai beberapa variasi dosis dengan kombinasi obat yang mengandung obat sulfametoksazol dan trimetoprim. Pada tablet oral mengandung trimetoprim 80 mg dan sulfametoksazol 400 mg, tablet forte sulfametoksazol 800 mg, trimetoprim 160 mg, pada suspensi per 5 ml mengandung sulfametoksazol 200 mg, trimetoprim 40 mg. Penggunaan pada usia 12 tahun keatas dan dewasa adalah 2 x sehari 2 tablet biasa atau 1 tablet forte. Anak usia 6 tahun – 12 tahun 2 x sehari 2 sendok teh. Anak usia 6 bulan – 5 tahun 2 x sehari 1 sendok teh.

K. Landasan Teori

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah tanaman menjalar, berumur panjang (perennial), bisa mencapai panjang ± 5 m (Smith 2006). Kandungan kimia yang terdapat pada daun binahong, antara lain flavonoid, alkaloid, dan saponin. Berbagai kandungan kimia tersebut menyebabkan daun

binahong dapat bersifat sebagai antibakteri, antivirus, antiinflamasi, analgesik, dan antioksidan. Selain itu, daun bianhong juga berkhasiat untuk meningkatkan daya tahan tubuh, memperkuat daya tahan sel terhadap infeksi sekaligus memperbaiki sel yang rusak, melancarkan dan menormalkan peredaran darah serta tekanan darah, mencegah stroke, mengatasi diabetes, serta mengobati penyakit maag (Hariana 2008).

Daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Miller) adalah tanaman yang termasuk dalam keluarga Liliacea. Habitat aslinya berasal dari Kepulauan Canary, sebelah barat Afrika dan diperkirakan masuk Indonesia pada abad ke-17. Kandungan kimia yang terkandung dalam Daun lidah buaya adalah senyawa saponin, sterol, dan tanin. Manfaat dari daun lidah buaya dapat mengobati luka bakar, rambut rontok, infeksi kulit, peradangan sinus, dan rasa nyeri pada saluran cerna, serta sebagai antiinflamasi, antipiretik, antijamur, antioksidan, antiseptik, antimikroba, dan serta antivirus (Herlina 2011).

Escherichia coli adalah bakteri Gram negatif, berbentuk batang pendek, berderet seperti rantai, dapat memfermentasi glukosa dan laktosa membentuk asam dan gas. *Escherichia coli* dapat tumbuh baik pada media Mc Conkey dan dapat memecah laktosa dengan cepat, juga dapat tumbuh pada media agar. Dapat merombak karbohidrat dan asam lemak menjadi asam dan gas serta dapat menghasilkan gas karbondioksida dan hidrogen (Pelczar dan Chan 1998). *Escherichia coli* berbentuk batang pendek (cocobasil), Gram negatif dengan ukuran $0,4 - 0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$. Sebagian besar bersifat motil (bergerak) dan beberapa strain memiliki kapsul (Supardi 1999).

Escherichia coli banyak ditemukan di dalam usus halus manusia sebagai flora normal, tetapi bila kesehatan menurun, bakteri ini dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. *Escherichia coli* umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada saluran kencing, paru-paru, saluran empedu dan saluran otak (Jawetz *et al.* 2012).

Kotrimoksazol merupakan kombinasi trimethoprim dan sulfametoksazol yang menghambat reaksi enzimatik obligat pada dua tahap yang berurutan pada

mikoba, sehingga kombinasi dari kedua obat memberikan efek sinergis (Ganiswara 2005).

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Rina Mulya (2011), diketahui bahwa ekstrak daun binahong memiliki aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Pada penelitian terdahulu diameter hambat sebesar 0,76 cm pada konsentrasi 1,95 mg/ml. Penelitian yang dilakukan oleh Isabela (2009), menyatakan bahwa ekstrak daun lidah buaya mampu menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Aloe chinensis* Baker mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Menurut penelitian Ni Kadek Ariyanti (2013) ekstrak kulit daun lidah buaya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambatan pada konsentrasi 100% dengan rata-rata diameter 6,81 mm.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Pelarut etanol 70% yang digunakan maserasi, karena netral, tidak beracun, dan lebih sulit ditumbuhi bakteri dalam etanol lebih dari 20%. Kelebihan menggunakan etanol karena mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim.

Penggunaan kombinasi obat herbal ialah campuran dua atau lebih obat dalam satu formulasi. Kombinasi yang saling menguatkan disebut sinergisme. Efek sinergisme efeknya lebih baik dari pada dosis tunggal dari masing-masing obat (Tjay & Rahardja 2007). Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi yang banyak digunakan merupakan metode cakram kertas saring berisi sejumlah obat yang ditempatkan pada permukaan medium padat, sebelum digunakan medium diolesi dengan bakteri uji. Daerah hambatan pertumbuhan bakteri adalah daerah jernih disekitar sumuran, semakin luas daerah hambatannya maka semakin kuat aktivitas daya antibakteri, sedangkan metode dilusi yaitu cara mengenceran bertingkat. Bagian yang tidak di tumbuhi bakteri berarti sebagai daya hambat. (Jawetz et al 2012).

L. Hipotesis

Berdasarkan pada permasalahan yang ada dapat disusun hipotesis dalam penelitian yaitu :

Pertama, kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, kombinasi dari ekstrak etanol 70% daun binahong dan daun lidah buaya dengan perbandingan (1:1),(2:1),(1:2) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*

Ketiga, perbandingan kombinasi yang paling aktif untuk menghambat *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah kombinasi (2:1) di mana kadar ekstrak daun binahong lebih besar dari pada kadar ekstrak daun lidah buaya.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*) yang diperoleh dari perkebunan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BP2TOOT) Tawangmangu.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*) yang diperoleh pada bulan januari 2017 dari perkebunan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BP2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

3. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*). Variabel utama yang kedua dalam penelitian ini adalah uji aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*) 1:1, 2:1, 1:2 terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Variabel utama ketiga aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

4. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang diidentifikasi dapat diklasifikasikan menjadi berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel kendali dan variabel tergantung. Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung berkaitan dengan perubahan-perubahan. Variabel

bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah kombinasi ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya, ekstrak diperoleh dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.

Variabel terkontrol merupakan variabel yang mempengaruhi variabel terikat sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah alat dan bahan yang digunakan, suhu, waktu inkubasi dan media, kemurniaan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Variabel terikat adalah titik pusat dari persoalan yang merupakan pilihan dalam penelitian ini. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri kombinasi dari ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya yang dapat mempengaruhi pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media uji.

5. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun binahong adalah diambil dari perkebunan Tawangmangu,

Kedua, daun lidah buaya adalah diambil dari daerah Tawangmangu,

Ketiga, ekstrak etanol daun binahong adalah hasil ekstrak yang diperoleh dari maserasi dengan pelarut etanol 70%.

Keempat, daun lidah buaya yang diperoleh dari maserasi dengan pelarut etanol 70%.

Kelima, bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah bakteri yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

Keenam, kombinasi ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya (1:1),(2:1),(1:2) dengan konsentrasi 50%.

Ketujuh, kombinasi ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya (1:1),(2:1),(1:2) dengan konsentrasi 25%.

Kedelapan, kombinasi ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya (1:1),(2:1),(1:2) dengan konsentrasi 12,5%.

Kesembilan, uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi dan dilusi yang digunakan untuk mengukur luas daerah daya hambat dan daya bunuh bakteri. Untuk menentukan Konsentrasi Daya Hambat Minimum (KHM) dengan melihat kejernihan medium, sedangkan menentukan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) dengan melihat bagian yang tidak ada pertumbuhan bakteri.

Kesepuluh, mengukur diameter hambat dan melihat daya pada *Escherichia coli* ATCC 25922 oleh ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya.

C. Alat dan Bahan

6. Alat

Alat yang digunakan alat timbang, mesin giling, perangkat alat gelas (labu Erlenmeyer, botol coklat), kain flanel, kertas saring, cawan petri, corong pisah, gelas ukur, tabung reaksi, labu takar, inkas, jarum onset, pinset, pipet ukur, batang pengaduk, cawan porselin, penangas air, lampu spirtus, kaki tiga, oven, seperangkat alat vacuum dan KLT Vallu, Rotary evaporator, autoklaf, incubator, labu destilasi, corong kaca, kertas cakram.

7. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah sebagai berikut daun binahong (*Anredera cordifolia*), daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*), etanol 70%, media Mueller Hinton Agar (MHA), media Endo Agar (EA), tween 2,5%, larutan KOH 1 N, larutan FeCl₃, larutan amonia, aquadestilata, HCl encer, HCl 1%, pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer.

D. Jalannya Penelitian

8. Determinasi tanaman

Determinasi dilakukan bertujuan untuk memastikan tanaman yang digunakan untuk penelitian adalah sesuai. Determinasi dilakukan di Universitas Setia Budi, Surakarta dengan menggunakan buku acuan "Flora of Java" (Backer dan Van & Brink 1963).

Determinasi sampel tanaman juga dilakukan untuk mengetahui kebenaran dari identitas daun lidah buaya yang akan digunakan dan menghindari terjadinya pengambilan bahan dalam penelitian. Determinasi dilakukan di Universitas Setia Budi, Surakarta.

9. Pengambilan bahan

Daun binahong (*Anredera cordifolia*) yang masih segar dan masih muda diambil dari kebun di ds. Kaliroso kec. Tawangmangu Kab. Karanganyar, Jawa Tengah. Daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*) diperoleh dari perkebunan di ds. Kaliroso kec. Tawangmangu Kab. Karanganyar, Jawa Tengah. Lidah buaya yang digunakan yaitu yang masih segar, dan memiliki ukuran lebar 4-5 cm dan panjang 30-40 cm.

10. Pembuatan serbuk

3.1. Pembuatan serbuk daun binahong. Daun binahong yang sudah dicuci bersih dengan air dikeringkan dengan dioven pada suhu 50°C bertujuan untuk mengurangi kadar air untuk mencegah tumbuhnya jamur dan bakteri, mencegah bekerjanya enzim dan perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Bahan yang dikeringkan juga memudahkan dalam proses penyerbukan (Harbone 2006). Bahan yang sudah dikeringkan segera diserbuk dengan mesin penyerbukan kemudian diayak dengan ayakan no.40. Serbuk halus ditimbang untuk pembuatan ekstrak.

3.2. Pembuatan serbuk daun lidah buaya. Daun lidah buaya dikeringkan dan dicuci bersih, daun lidah buaya setelah dikupas kulit daunnya, dicuci bersih hingga lendir berkurang. Daun lidah buaya dipotong lalu dikeringkan pada suhu 50°C menggunakan oven sehingga daun lidah buaya menjadi kering. Daun lidah buaya yang telah kering tersebut dihaluskan dengan blender sehingga bentuknya menyerupai serbuk, serbuk daun lidah buaya diayak dengan ayakan nomor 40, kemudian ditimbang untuk mengetahui berat serbuk daun lidah buaya yang diperoleh.

11. Penetapan kadar lembab

Penetapan kadar lembab daun binahong dan daun lidah buaya dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Pengeringan secara manual yaitu selama 15 menit pada temperature 95°C kemudian ditimbang pada neraca timbangan masing-masing serbuk daun binahong dan daun lidah buaya. Kemudian ditunggu sampai alat *Moisture Balance* berbunyi dimana menandakan hasil analisa telah selesai. Kadar lembab akan memenuhi syarat apabila kadar air suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

12. Pembuatan ekstrak etanol 70%

5.1. Pembuatan ekstrak etanol daun binahong. Simplisia yang telah kering dihaluskan ditimbang sebanyak 500 gram lalu dimaserasi dengan etanol 70% dengan perbandingan 1:7,5. Maserasi dilakukan selama lima hari sesekali digojog kemudian filtrat dan ampas dipisahkan dengan corong buchner. Diperoleh filtrat lalu dipekatkan dengan evaporator pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak etanol daun binahong (DepKes 2008).

5.2. Pembuatan ekstrak etanol daun lidah buaya. Serbuk daun lidah buaya diayak dengan ayakan nomor 40, kemudian ditimbang sebanyak 500 gram serbuk daun lidah buaya yang mengandung lalu dimaserasi dengan etanol 70% dengan perbandingan 1:7,5. Maserasi dilakukan selama lima hari sesekali digojog kemudian filtrat dan ampas dipisahkan dengan corong buchner. Diperoleh filtrat lalu dipekatkan dengan evaporator pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak etanol daun lidah buaya (DepKes 2008).

13. Uji bebas etanol

Tes bebas etanol dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol. Ekstrak kombinasi daun binahong dan daun lidah buaya ditambahkan asam asetat dan asam sulfat kemudian dipanaskan bila tidak ada bau etil salisilat berarti ekstrak tidak mengandung etanol.

14. Identifikasi kandungan kimia serbuk daun binahong dan daun lidah buaya

Ekstrak teraktif dari ekstrak etanol kombinasi daun binahong (*anredera cardiofolia*) dan daun lidah buaya (*aloe barbadensis*) dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian totolkan menggunakan pipa kapiler pada jarak 1 cm dari sisi bawah lempeng KLT. Lapisi bak kromatografi dengan kertas saring. Jenuhkan bak kromatografi dengan fase gerak yang sesuai, ditandai dengan kertas saring terbasahi semuanya. Setelah totolan kering, dimasukkan lempeng KLT pada bak kromatografi yang sudah dijenuhkan, elusi dilakukan sampai jarak tertentu. Angkat lempeng KLT angin-anginkan hingga kering, kemudian deteksi noda di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm serta pereaksi tertentu. Bercak yang terdeteksi kemudian ditentukan harga Rfnya dan penampakan warnanya.

7.1. Flavonoid. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF₂₅₄ dengan fase gerak kloroform:etanol (5:5). Pereaksi penampak sitroborat. Flavonoid akan berfluorensi pada sinar UV 366 nm. Hasil positif jika terbentuk fluoresensi kuning, biru dan ungu pada UV 366 nm (Harborne 2006).

7.2. Tannin. Identifikasi adanya senyawa tanin dilakukan menggunakan KLT, fase diam silika gel GF 254 dan fase geraknya menggunakan *n*-heksan : etil asetat (3:7). Dideteksi di bawah sinar UV 366 nm berwarna hitam (Harborne 2006).

7.3. Saponin. Identifikasi adanya senyawa saponin dilakukan menggunakan KLT, fase diam silika gel GF 254 dan fase geraknya kloroform : etanol : air (65 : 35 : 2). Di deteksi di bawah sinar UV 254 nm berwarna kuning dan dibawah sinar UV 366 nm berwarna hijau. Pereaksi semprot menggunakan anisaldehyd dengan hasil berwarna ungu dan dibawah bercak sinar biasa berwarna biru (Harborne 2006).

15. Sterilisasi alat dan media

Media agar yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit, karena uap panasnya efektif untuk sterilisasi medium. Alat-alat dari gelas yang ada ukurannya disterilkan dengan

menggunakan oven pada suhu 170⁰-180⁰C selama 2 jam. Alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung. Sterilisasi inkas menggunakan formalin (Suriawiria 2005).

16. Pembuatan suspensi bakteri

Pembuatan bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922 diambil dari biakan murni pada media NA, diambil dengan ose steril kurang lebih satu ose kemudian dimasukkan ke tabung reaksi yang telah berisi media Brain Heart Infusien (BHI) 10 mL lalu diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 5-8 jam. Tabung reaksi yang berisi suspensi bakteri tersebut diambil dan diamati kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan Mc Farland 0,5 yang menunjukkan kekeruhan bakteri sama dengan 1,5 x 10⁸ CFU/mL. Kekeruhan media yang sesuai kemudian digunakan untuk diidentifikasi (Bonang & Koewardono 1982).

17. Identifikasi bakteri

Bakteri uji *Escherichia coli* dapat diketahui sifat fisiologinya dengan inokulasi pada media-media uji biokimia, makroskopis, dan mikroskopis.

10.1. Identifikasi biokimia, Pertama uji biokimia SIM (Sulfide Indol Motility). Biakan bakteri ditanam padamedia SIM dengan cara tusukan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. uji sulfide positif bila medium berwarna merah setelah pertumbuhan reagen erlich, uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada seluruh media.

Kedua uji KIA (Kliger's Iron Agar).Pengujian media KIA dilakukan pengamatan pada lereng, dasr, ada tidaknya gas dan terbentuk gas warna hitam. Biakan bakteri diinokulasi secara tusuk gores kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Hasil diamati adanya warna kuning pada bagian media yang miring dan pada bagian dasar, perubahan adanya media yang pecah atau terangkat ke atas menunjukkan adanya gas, warna media yang tidak berubah warna hitam menunjukkan uji sulfide negatif.

Ketiga uji LIA (Lysin Iron Agar).Pengujian media LIA dilakukan pengamatan pada bagian lereng, dasar, dan adanya sulfide. Biakan bakteri ditanamkan pada bagian media LIA yang akan diamati dengan cara inokulasi tusuk dan gores, kemudian di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Diamati adanya perubahan warna merah coklat ungu, atau kuning pada lereng dan dasar media LIA. Perubahan warna hitam pada media LIA menunjukkan uji sulfide positif .

Keempat, uji Citrat. Biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Identifikasi inibertujuan untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan citrate sebagai sumber carbon tunggal, uji positif bila media berwarna biru (Volk dan Wheller 1988). Artinya bakteri ini tidak memiliki enzim sitrat permiase yaitu enzim spesifik yang membawa sitrat kedalam sel. Bakteri yang memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon akan menghasilkan natrium karbonat yang bersifat alkali, sehingga dengan adanya indicator brom thymol blue menyebabkan warna biru pada media.

10.2. Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan gram. Suspensi bakteri *Echerichia coli* ATCC 25922 diambil dari media biakan menggunakan jarum ose yang telah dipijarkan, lalu diratakan diatas object glass. Larutan zat warna Kristal violet diteteskan sebanyak 2 sampai 3 tetes dan didiamkan selama 1 menit. Preparat diberikan aquadestilata mengalir dan dikeringkan. Larutan lugol diteteskan dan dibiarkan selama 1 menit, lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Larutan alkohol diberikan 30 detik, lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Larutan safranin diberikan selama 20 detik. Dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Minyak imersi diberikan diatas kaca preparat bakteri. Kaca preparat bakteri diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 10-100 kali. *Escherichia coli* didapatkan bila sel bakteri berwarna merah, bentuk *bacilli* dan susunannya menyebar.

10.3. Identifikasi makroskopis. Suspensi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 diinokulasi pada media diferensiasi

18. Uji antibakteri secara difusi dan dilusi

11.1. Uji aktifitas antibakteri metode difusi. Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui kemampuan zat tersebut dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai metode, yaitu metode difusi dan dilusi (Jawetz dkk 2012). Ekstrak yang diperoleh dari hasil ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya secara maserasi diuji aktivitasnya secara mikrobiologi dengan menggunakan bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 25922, dengan konsentrasi dimulai dari 50%, 25%, dan 12,5%. Perlakuan metode ini dengan cara menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi yang telah dibuat dan ditekan-tekan pada ujung tabung, lalu dioleskan pada medium Mueller Hinton Agar (MHA) sampai rata. Media tersebut diletakkan dalam cakram disk. Kontrol positif yang digunakan pada media yaitu kotrimoksazol, dan kontrol negatifnya DMSO 1%. Cakram disk yang lain diisi kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan ekstrak daun lidah buaya dengan perbandingan konsentrasi (1:1), (1:2) dan (2:1) pada masing-masing konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% kemudian media tersebut langsung diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Keuntungan metode difusi adalah ekonomis, sederhana (mudah dibuat) dan reproduksibel. Ada beberapa macam metode difusi yakni metode disk diffusion, metode E-test, metode Ditch-plate technique, dan metode Cup-plate technique.

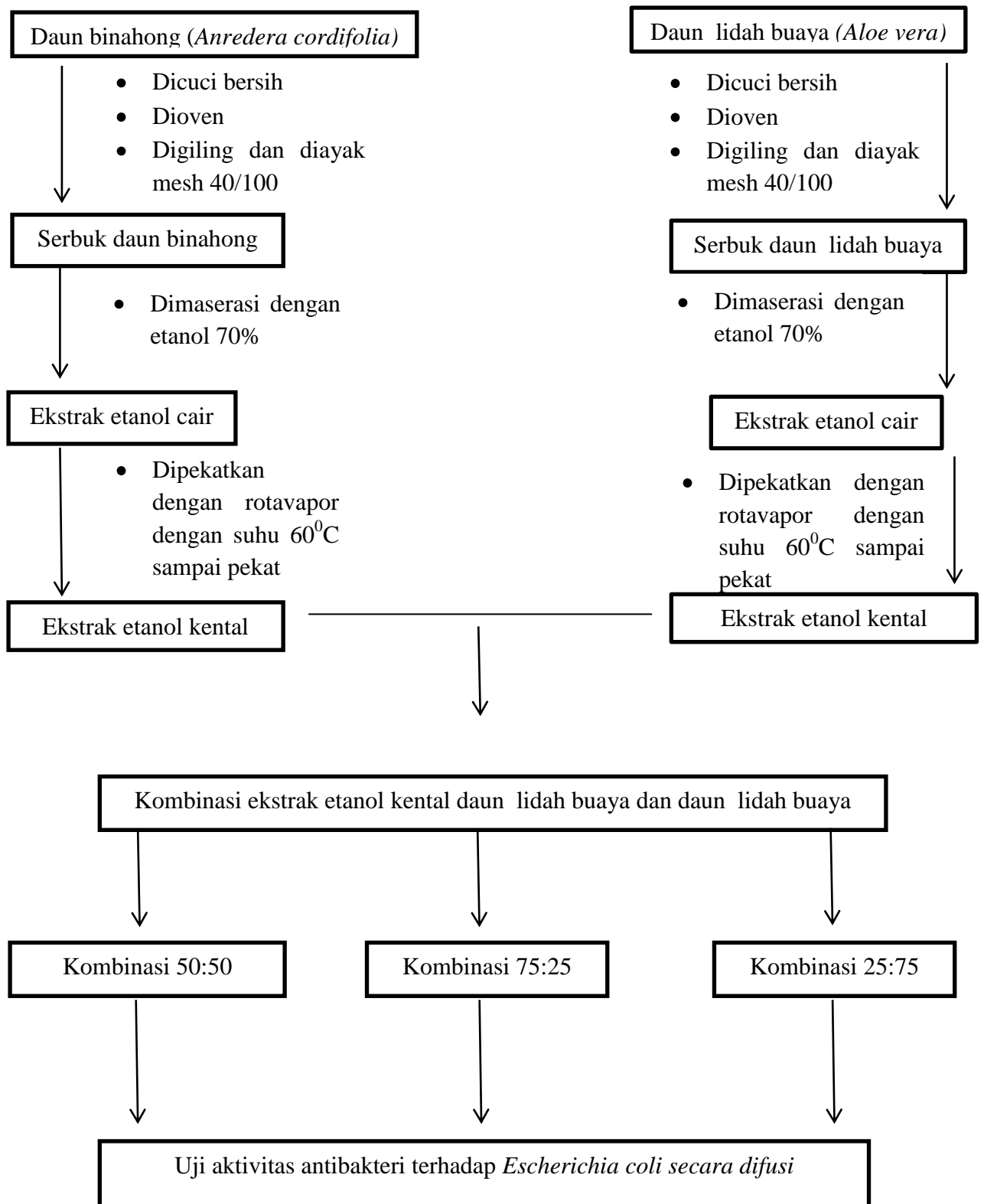
11.2. Uji aktivitas antibakteri metode dilusi. Uji dilusi dilakukan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) terhadap bakteri dengan konsentrasi pengenceran 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%. Metode dilusi adalah dengan cara pengenceran 9tabung steril yang dibuat secara aseptis. Metode ini dilakukan dengan memasukkan bahan uji kedalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung nomor 9 sebagai kontrol positif yang berisi suspensi bakteri dan kontrol negatif berisi larutan kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya, masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi bahan uji yang berbeda dengan menambahkan bahan pengencer atau media BHI. Suspensi bakteri yang setara dengan standard Mc Farland 0,5 dengan pengenceran 1:1000

dimasukkan kedalam masing-masing tabung uji kecuali tabung nomor 1 sebagai kontrol negatif. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam pada suhu 37⁰C, lalu diamati kekeruhannya (Anonim 1986). Semua tabung uji dilakukan pengujian kembali untuk membuktikan apakah bakteri tersebut memang tidak dapat tumbuh dalam konsentrasi tersebut dengan menggunakan media Endo Agar (EA) untuk melihat pertumbuhan bakterinya dan untuk menentukan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dari kombinasi ekstrak etanol tersebut.

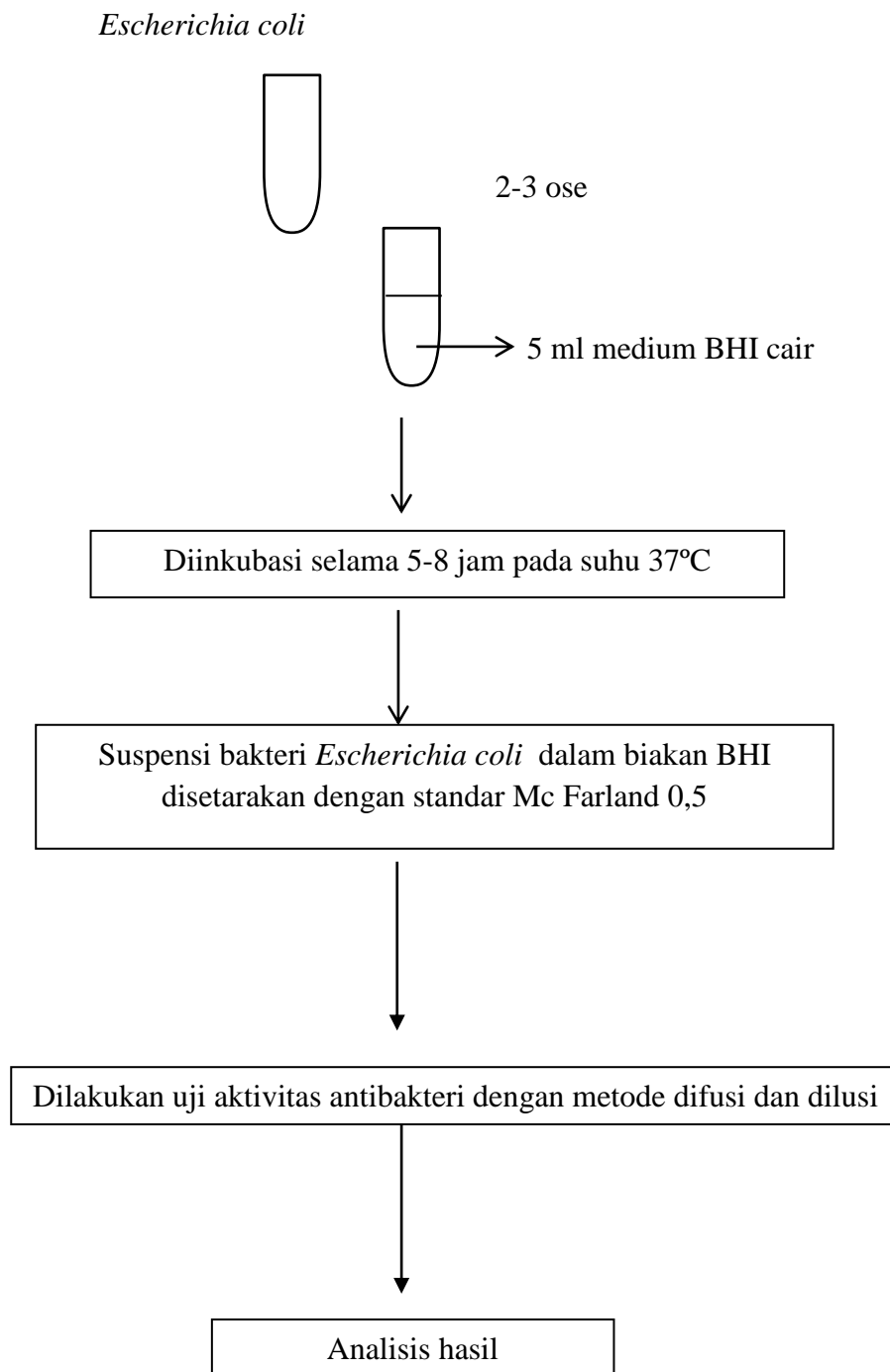
E. Analisis Hasil

Data hasil penelitian diperoleh dengan mengukur daya sebar dilihat dari adanya daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona jernih di sekeliling cakram yang tidak ditumbuhi bakteri, kemudian di ukur diameter hambatan pertumbuhan bakterinya dari masing-masing lingkaran. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *Kolmogorof-Smirnov*, jika terdistribusi secara normal kemudian dilanjutkan dengan *analysis of varian* (ANOVA) satu jalan.

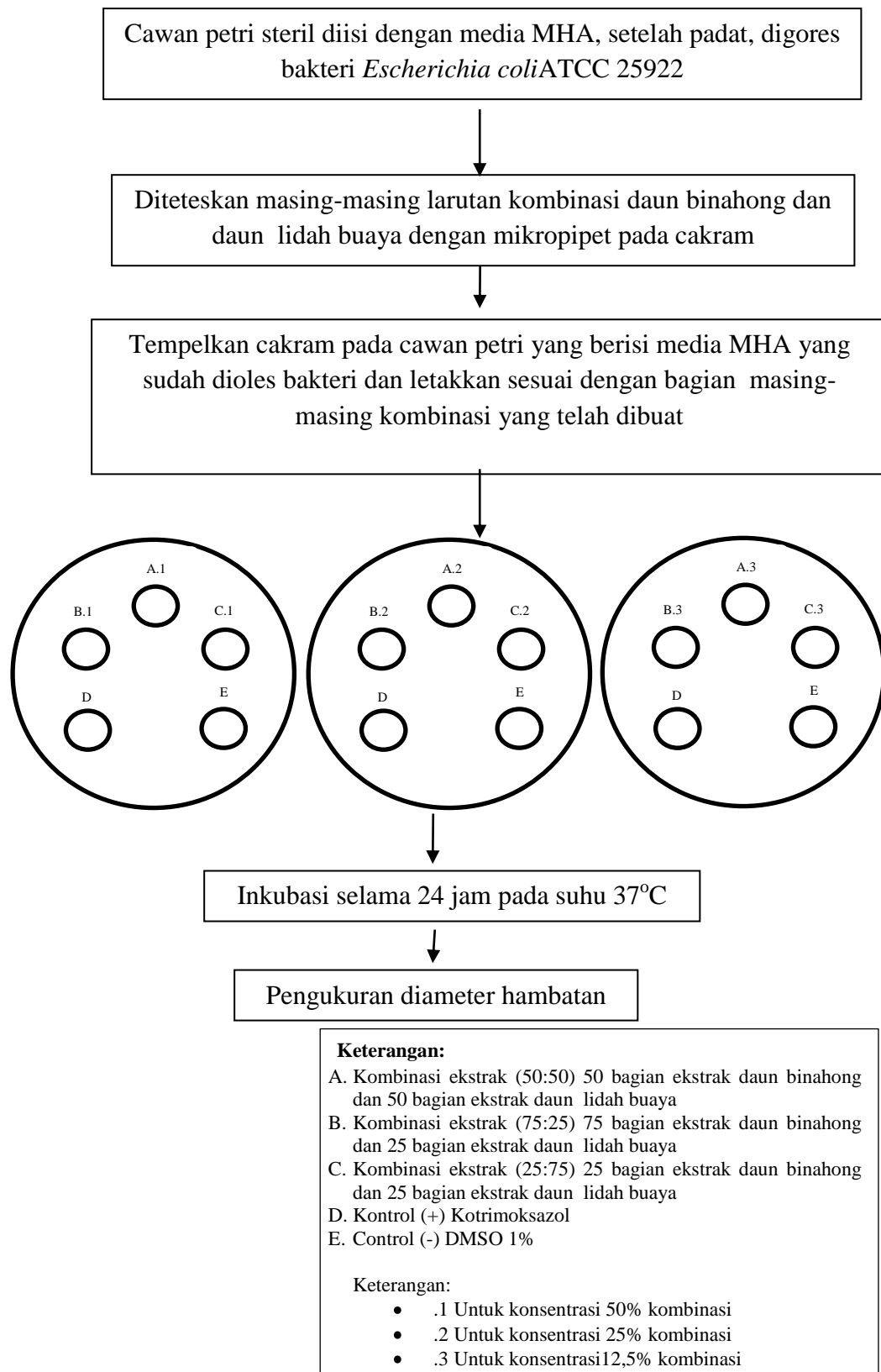
Analisis hasil yang digunakan secara dilusi adalah dengan membandingkan hasil Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya (1:1, 1:2, 2:1) dari hasil tiga kali replikasi pengujian terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.



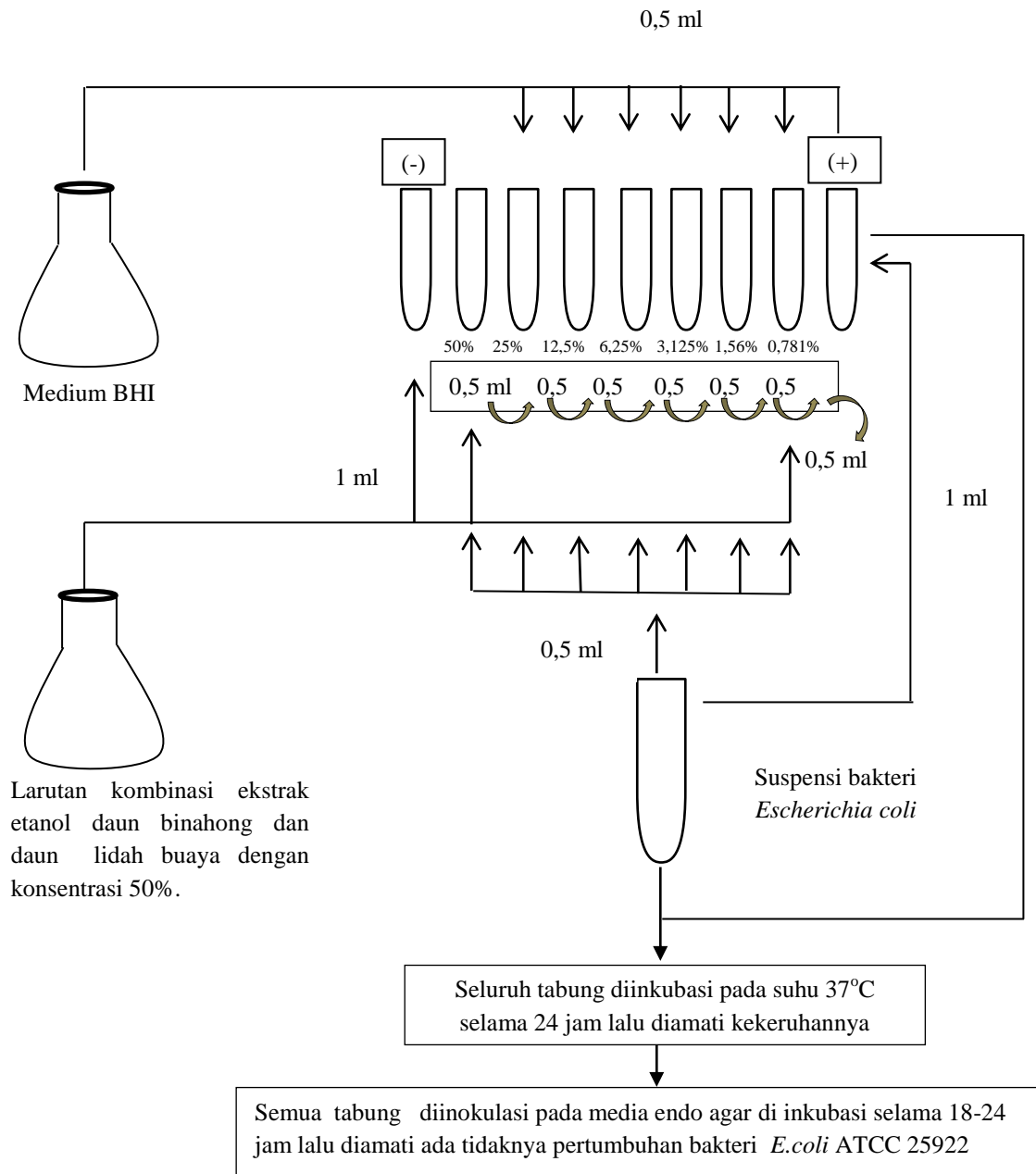
Gambar 1. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun lidah buaya (*aloe vera*) dengan metode maserasi.



Gambar 2. Skema pembuatan suspensi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922



Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi



Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan ekstrak daun lidah buaya terhadap bakteri *E.coli* ATCC 25922 secara dilusi

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Identifikasi tanaman Binahong (*Anredera cardiofolia*(Ten) stennis) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Miller)

1.1. Identifikasi tanaman binahong. Identifikasi dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi, Surakarta. Identifikasi bertujuan untuk mencocokkan ciri - ciri morfologis yang ada pada simplisia yang diteliti, mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan simplisia lain. Berdasarkan hasil identifikasi diketahui bahwa benar tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tanaman binahong (*Anredera cardiofolia*.). Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 1.

1.2. Identifikasi tanaman daun lidah buaya. Identifikasi dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi, Surakarta. Identifikasi bertujuan untuk mencocokkan ciri - ciri morfologis yang ada pada simplisia yang diteliti, mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan simplisia lain. Berdasarkan hasil identifikasi diketahui bahwa benar tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tanaman daun lidah buaya (*Aloe barbadensis*.). Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 2.

2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun binahong dan daun lidah buaya

Daun binahong dan daun lidah buaya diambil dalam keadaan segar dari tanaman binahong yang tumbuh di daerah Gunung Lawu, di dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BP2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah, pada januari 2017. Pengeringan dilakukan dengan

tujuan untuk mengurangi kadar air, sehingga mencegah terjadinya pembusukan oleh jamur atau mikroorganisme lainnya dan mencegah terjadinya perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Pengeringan dilakukan di oven pada suhu 40° C selama 5 hari kemudian dilakukan perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah daun binahong dan daun lidah buaya.

Tabel 1. Perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah daun binahong dan daun lidah buaya

Tanaman	Bobot Basah (g)	Bobot Kering (g)	Persentase % ^(b/k)
Daun binahong	4000	250	6,25
Daun lidah buaya	5000	250	5,0

Tabel 1 menunjukkan bahwa daun binahong dengan bobot basah 4000 gram dikeringkan dan diperoleh bobot kering yaitu 250 gram. Persentase bobot kering terhadap bobot basah sebesar 6,25%, sedangkan untuk daun lidah buaya bobot basah 5000 gram dan diperoleh bobot kering 250 gram. Persentase bobot kering terhadap bobot basah sebesar 5,0%. Perhitungan persentase bobot basah terhadap bobot kering dapat dilihat pada lampiran 11.

3. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun binahong dan daun lidah buaya

Kadar lembab pada serbuk daun binahong dan daun lidah buaya dapat dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Hasil dari pengukuran kadar lembab untuk daun binahong dan daun lidah buaya masing-masing 0,5% dan 1,5%. Kadar air tidak boleh lebih dari 10 %, kadar air yang terlalu tinggi dapat merubah komposisi kimia dari simplisia sehingga menurunkan kualitas simplisia tersebut. Air merupakan media tumbuhnya mikroorganisme yang dapat merusak simplisia. Berdasarkan dari penetapan kadar air serbuk daun binahong dan daun lidah buaya dapat disimpulkan bahwa serbuk tersebut memenuhi syarat karena persentase kadar air serbuk daun lada kurang dari 10%.

4. Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun binahong dan daun lidah buaya

Serbuk daun binahong dan daun lidah buaya yang sudah ditimbang sebanyak 250 gram dimasukkan dalam botol coklat, ditambah etanol 70%

sebanyak 1875 ml dan didiamkan selama 5 hari dengan sesekali digojog. Maserat disaring dengan kain flannel kemudian dipekatkan dalam evaporator menghasilkan rendemen ekstrak yang berbeda.

Tabel 2. Hasil pembuatan ekstrak maserasi daun binahong dan daun lidah buaya

Tanaman	Bahan sampel	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen ekstrak (b/b%)
Binahong	250	12	4,8
Daun lidah buaya	250	20	8

Persentase rendemen ekstrak maserasi daun binahong yang diperoleh sebanyak 4,8 %. Organoleptis ekstrak warna hijau tua, bentuk kental. Persentase rendemen ekstrak maserasi daun lidah buaya yang diperoleh sebanyak 8%. Organoleptis ekstrak hijau tua kecoklatan, bentuk kental. Hasil perhitungan ekstrak daun lada dapat dilihat pada lampiran 12.

5. Hasil tes bebas etanol ekstrak maserasi daun binahong dan daun lidah buaya

Ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya dilakukan tes bebas etanol dengan melakukan uji esterifikasi alkohol. Hasil tes bebas etanol ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya dapat dilihat pada table 3.

Tabel 3. Hasil tes bebas etanol ekstrak maserasi daun binahong dan daun lidah buaya

Ekstrak	Hasil	Pustaka
Ekstrak daun binahong	Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol	Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol
Ekstrak daun lidah buaya	Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol	Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol

Hasil tes bebas etanol pada tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya tersebut sudah bebas dari pelarutnya yaitu etanol 70 % yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol. Hasil test bebas etanol adalah untuk membuktikan bahwa ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya sudah tidak mengandung etanol.

6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya

Analisis kualitatif hanya dilakukan pada ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya. Analisis ini dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung pada ekstrak. Identifikasi senyawa tersebut dilakukan menggunakan fase gerak dan penampak bercak yang sesuai dengan senyawa yang diuji. Hasil identifikasi ekstrak secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pengujian	Pereaksi semprot	Hasil		Pustaka	Ket
		UV 254 nm	UV 366 nm		
Flavonoid	Sitoborat	Berfluorensi	Kuning	Kuning	+
Saponin	Anisaldehyda	Kuning	Hijau	Hijau	+
Tanin	Anisaldehyda	Berfluorensi	Hitam	Hitam	+

Hasil uji kandungan zat aktif pada flavonoid di bawah sinar UV 254 berwarna biru, berfluorensi pada UV 366 nm dan pada bercak biasa berwarna kuning. Senyawa saponin akan terlihat bercak berwarna hijau-biru pada sinar tampak. Bercak terlihat berwarna kuning setelah diberi pereaksi semprot anisaldehyd sulfat pekat, biru gelap pada sinar UV 254 nm, berwarna biru pada UV 366 nm. Tanin dibawah sinar UV 254 nm adanya fluorensi biru dan pada UV 366 nm berwarna hitam. Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya menunjukkan hasil positif untuk identifikasi flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil identifikasi dengan UV dapat dilihat pada lampiran 7.

Hasil identifikasi fraksi paling aktif secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan bahwa senyawa kimia yang terkandung pada ekstrak adalah senyawa yaitu flavonoid, saponin, dan tanin. Flavonoid merupakan senyawa aktif yang dapat membunuh bakteri *Escherichia coli*. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler serta mendenaturasi dan koagulasi

protein sel mikroba, flavonoid juga sebagai pengatur tumbuh, pengatur fotosintesis, kerja antimikroba, antivirus dan kerja terhadap serangga. Saponin merupakan senyawa permukaan yang kuat. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar serta menurunkan tegangan permukaan sel sehingga menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat (Rijayanti 2014). Mekanisme kerja tanin menghambat pembentukan dinding sel sehingga dinding sel menjadi kurang sempurna sehingga menyebabkan sel bakteri menjadi lisis (Rijayanti 2014).

7. Hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli*

Identifikasi *Escherichia coli* yang diinokulasi pada medium Endo Agar setelah diinokulasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengamatan, koloni yang dihasilkan berwarna merah dengan logam kilauan permanen (Volk dan Wheller 1988). Gambar hasil identifikasi makroskopis *Escherichia coli* dapat dilihat pada lampiran 8.

8. Hasil identifikasi biokimia *Escherichia coli*

Identifikasi uji biokimia pada *Escherichia coli* berdasar tabel 5 dan gambar hasil identifikasi dapat dilihat dalam lampiran 8.

Tabel 5. Hasil identifikasi biokimia *Escherichia coli*

Pengujian	Hasil	Pustaka (Volk dan Wheller 1988)
SIM	+++	+++
KIA	A/AGS(-)	A/AGS(-)
LIA	K/KS(-)	K/KS(-)
Citrat	-	-

Hasil pengujian pada medium Sulfida Indol Motilitas (SIM) untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas. Pengujian dengan media Sulfida Indol Motilitas (SIM) setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil +++, hasil +++ artinya pada uji sulfida *Escherichia coli* tidak dapat mereduksi thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hydrogen sulfide sehingga media tidak berwarna hitam. Uji indol dengan menambahkan tiga tetes

Erlich A dan B, permukaan media berwarna merah muda ini berarti uji indol positif, bakteri *Escherichia coli* membentuk indol karena bakteri tersebut membentuk indol dari triptophan sebagai sumber karbon. Uji motilitas positif ditunjukkan dengan penyebaran di media Sulfide Indol Motilitas (SIM) karena terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar di sekitar inokulasi, hal ini menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, yang berarti bahwa bakteri ini memiliki flagel.

Hasil pengujian pada medium Kliger's Iron Agar (KIA) untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas, dan pembentukan sulfida. Pengujian dengan medium KIA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C menunjukkan hasil A/AGS (-), A/A artinya pada lereng dasar media berwarna kuning, hal ini menunjukkan bahwa bakteri memfermentasi glukosa dan laktosa, karena bakteri tersebut mengubah indikator fenol merah menjadi kuning, G artinya terbentuk gas yang ditandai dengan terangkatnya media, S(-) artinya H₂S negatif ditunjukkan dengan tidak terbentuknya warna hitam pada media, karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H₂S, dan H₂S akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media sehingga tidak terbentuk warna hitam. Medium KIA mengandung laktosa dan glukosa dalam konsentrasi 1% laktosa, 0,1% glukosa, dan phenol red sebagai indikator yang menyebabkan perubahan warna dari merah menjadi kuning dalam suasana asam. Medium KIA juga mengandung sodium thiosulfat yaitu susunan untuk penghasil H₂S.

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

dengan Fe^{++} yang terdapat pada media sehingga tidak terbentuk warna hitam (Volk dan Wheller 1988). Hasil pengamatan yang dilakukan menunjukkan bahwa bakteri uji yang digunakan dalam penelitian adalah *Escherichia coli*.

Hasil pengujian pada medium citrat untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Pengujian dengan medium citrat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil negatif sehingga warna media tetap hijau. Menunjukkan bahwa *Escherichia coli* tidak menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Medium citrat terdapat indikator BTB (Bromo thymol blue) yang merupakan indikator pH, jika mikroba mampu menggunakan citrat menyebabkan suasana basa, sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru.

9. Hasil identifikasi mikroskopis bakteri *Escherichia coli*

Pewarnaan Gram untuk memastikan bahwa bakteri tersebut golongan Gram negatif. Gram negatif didapatkan bila sel bakteri berwarna merah, bentuk bacilli berarti positif golongan *Escherichia coli*. Penetasan Kristal violet (Gram A) menyebabkan kristal ungu akan mewarnai seluruh permukaan sel bakteri Gram positif dan negatif. Penetasan mordant (*lugol, s iodine*/Gram B) menyebabkan adanya ikatan kristal violet dengan iodine yang akan meningkatkan afinitas pengikatan zat warna oleh bakteri. Gram positif dapat terbentuk kristal violet iodine-ribonukleat pada dinding sel. Penetasan Gram C (alkohol 96%) menyebabkan pori – pori pada Gram negatif yang memiliki banyak lapisan lemak (lipid larut dalam etanol), sehingga kompleks kristal violet tidak menempel di dinding sel, menyebabkan sel Gram negatif menjadi bening. Penetasan *counterstain* (safranin / Gram D), safranin akan mewarnai sel Gram negatif menjadi berwarna merah (Volk dan Wheller 1988). Gambar hasil identifikasi mikroskopis dapat di lihat dalam lampiran 9.

10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara difusi terhadap bakteri *Escherichia coli*

Hasil sediaan dari ekstrak daun binahong dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode difusi untuk mendapat Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak yang paling poten. Dari hasil dapat diketahui perbandingan ekstrak yang memiliki daya hambat atau yang menimbulkan daerah jernih disekitar cakram yang berisi dengan kombinasi ekstrak, sehingga dapat disimpulkan kombinasi yang paling aktif. Pengujian aktivitas sediaan dari ekstrak kombinasi dengan perbandingan 1:1, 2:1, 1:2, pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5% yang diujikan terhadap suspensi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan control (-) yaitu DMSO 1% dan koltrimoksazol sebagai control (+). Hasil uji antibakteri dengan metode difusi terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dan dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol 70 % daun binahong dan ekstrak etanol 70 % daun lidah buaya terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Perbandingan	Konsentrasi	Diameter Hambat (mm)			Rata-Rata (mm)
		Replikasi			
		I	II	III	
1:1	50%	8	11	11	10
	25%	7	6	7	6,67
	12,50%	3	4	4	3,67
2:1	50%	15	16	15	15,33
	25%	10	9	11	10
	12,50%	5	6	5	5,33
1:2	50%	10	13	12	11,67
	25%	8	7	9	8
	12,50%	4	5	3	4
kontrol positif (koltrimoksazol)	25µg	22	21	23	22
kontrol negatif DMSO 1%	1%	0	0	0	0

Penilaian zona hambat dilihat Penilaian zona hambat dilihat dari hasil pengukuran diameter dan digolongkan menjadi (1) tidak ada zona hambat, (2) lemah yaitu zona hambat kurang dari 5 mm, (3) sedang yaitu zona hambat 5–10 mm, (4) kuat yaitu zona hambat 11–20 mm, dan (5) sangat kuat yaitu zona hambat 21-30 mm pada penelitian (Radji 2011).

Hasil penelitian ini menunjukkan diameter zona hambat yang bervariasi antara kelompok intervensi dengan kelompok kontrol positif. Hal ini mungkin disebabkan oleh jumlah ekstrak yang terserap oleh kertas saring berbeda dan jumlah *Escherichia Coli* yang terhapus pada setiap cawan petri di media agar tidak merata di tiap bagian. Selisih antara diameter zona hambat membuktikan bahwa efek antibakteri kotrimoksazol masih lebih besar dibandingkan dengan antibakteri yang ada pada ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Umumnya pada beberapa penelitian, zona hambat akan berbanding lurus dengan konsentrasi yang diberikan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perbandingan 1:1 mempunyai diameter hambat paling besar pada konsentrasi 50 % yaitu sebesar 10 mm. Perbandingan 1:2 mempunyai diameter zona hambat paling besar pada konsentrasi 50% yaitu 11,67 mm, sedangkan pada perbandingan 2:1 mempunyai diameter zona hambat paling besar pada konsentrasi 50% yaitu 15,33 mm. Kadar Hambat Minimum (KHM) yang hasilnya masih jauh dari yang diharapkan. Hasil dari uji difusi dapat dilihat pada lampiran 10.

Analisis data hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi diuji secara statistik *Analisis of Varian* (ANOVA) oneway. ANOVA oneway digunakan untuk membandingkan ekstrak pada masing-masing konsentrasi. Berdasarkan hasil analisis yang diperoleh analisis data menggunakan metode ANOVA oneway menunjukkan perbedaan yang signifikan. Data diameter zona hambat kombinasi ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya, kontrol positif dan kontrol negatif diuji menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Hasil yang diperoleh dari analisis diameter zona hambat menunjukkan signifikansi $0,805 > 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal

sehingga dapat dilanjutkan uji ANOVA. Uji ANOVA tabel diameter hambat diperoleh $F 116,194$ dengan probabilitas $0,000 < 0,05$ yang artinya tiap sampel uji terdapat perbedaan yang nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Hasil analisis Tukey test dan Bonferroni test dapat dilihat pada lampiran 16.

Hasil *Homogenous Subset* untuk mencari subset mana saja yang memiliki perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan. Terlihat dari hasil uji homogenitas sediaan yang terbagi dalam 8 subset, setiap subsetnya mempunyai beda nyata dalam satu subset terlihat bahwa tidak memiliki beda nyata dalam menghambat aktivitas antibakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Uji statistik menunjukkan bahwa semua hasil uji aktivitas antibakteri yang dilakukan tidak sebanding dengan control positif. Hal tersebut ditunjukkan dari sediaan uji yang tidak berada satu subset yang sama dengan Kotrimoksazol. Hasil *Homogenous Subset* dapat dilihat dilampiran 17.

Tanaman binahong merupakan salah satu tanaman yang biasa digunakan sebagai tanaman obat dapat menyembuhkan berbagai penyakit, pada tanaman ini memiliki daun binahong yang memiliki kandungan antibakteri dan antimikroba. Hal ini disebabkan karena dalam daun binahong terdapat senyawa aktif yaitu flavonoid, tanin, dan saponin. Tanaman daun lidah buaya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hal ini disebabkan karena di dalam ekstrak daun lidah buaya itu sendiri mengandung senyawa saponin, tanin, dan flavonoid yang dapat bekerja sebagai antibakteri (Isabela 2009).

Flavonoid merupakan zat yang terbesar yang yang dapat berperan langsung sebagai antioksidan dan antibakteri. Mekanisme kerja senyawa flavonoid dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel (Rochani 2009). Saponin merupakan senyawa permukaan yang kuat. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar serta menurunkan tegangan permukaan sel sehingga menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat. Mekanisme kerja tanin menghambat pembentukan dinding sel sehingga dinding

sel menjadi kurang sempurna sehingga menyebabkan sel bakteri menjadi lisis (Rijayanti 2014).

11. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun binahong dan daun lidah buaya terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 secara dilusi

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun binahong dan daun lidah buaya terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dilakukan dengan metode dilusi yang bertujuan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yaitu konsentrasi terendah dari suatu antibakteri yang mampu membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri. Metode uji dilusi cair adalah metode yang sangat baik karena metode ini dilakukan dengan cara penanaman hasil pengenceran langsung ke media sehingga pertumbuhan bakteri dapat diketahui.

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan konsentrasi pengenceran 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,1%; 1,5%; 0,7%, 0,3%, 0,1%; 0,09%; sebagai kontrol positif berupa suspensi bakteri dan kontrol negatif berupa ekstrak. Bakteri *Escherichia coli* yang dipakai adalah suspensi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dalam medium BHI dengan perbandingan 1:1000. Perhitungan konsentrasi larutan stok dilusi dapat dilihat pada lampiran 14. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) dilihat dari kejernihan hasil inokulasi atau penggoresan pada media yang telah disiapkan, sehingga dapat diketahui konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil pengujian dilusi terlihat bahwa Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol 70% daun binahong dan daun lidah buaya terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah pada konsentrasi 25%. Karena pada konsentrasi 25% dan 50% ekstrak masih mampu membunuh bakteri, tetapi pada konsentrasi 12,5%, 6,25% dan seterusnya memiliki daya bunuh yang lebih kecil, sehingga pada proses inokulasi terdapat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tersebut. Hasil dilihat dari proses inokulasi dimana daerah jernih yang tidak ditumbuhi bakteri berarti daerah pada konsentrasi tersebut memiliki daya bunuh terhadap bakteri, sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi tersebut

adalah konsentrasi daya bunuh minimal pada bakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri dari senyawa uji dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun binahong dan daun lidah buaya terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara dilusi

Konsentrasi	Hasil inokulasi dilusi		
	Ekstrak Etanol		
	I	II	III
Kontrol (-)	(-)	(-)	(-)
50%	(-)	(-)	(-)
25%	(-)	(-)	(-)
12,5%	(-)	(+)	(-)
6,2%	(+)	(+)	(+)
3,1%	(+)	(+)	(+)
1,5%	(+)	(+)	(+)
0,7%	(+)	(+)	(+)
0,3%	(+)	(+)	(+)
0,1%	(+)	(+)	(+)
0,09%	(+)	(+)	(+)
Kontrol (+)	(+)	(+)	(+)

Ada pertumbuhan = (+)

Tidak ada pertumbuhan = (-)

Kontrol (-) = ekstrak

Kontrol (+) = bakteri

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol kombinasi daun binahong (*Anredera cardiofolia(ten)Steenis*) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Miller) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, Konsentrasi Bunuh Minimum menunjukkan ekstrak etanol kombinasi daun binahong (*Anredera cardiofolia(ten) steenis*) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Miller) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan Konsentrasi Bunuh Minimum berturut – turut adalah 50%, dan 25%.

Ketiga, ekstrak etanol kombinasi daun binahong dan daun lidah buaya dengan konsentrasi 50% pada perbandingan 2:1 dengan kadar binahong lebih banyak mempunyai aktivitas antibakteri paling efektif terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun binahong (*Anredera cardiofolia (ten)Steenis*) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Miller) dengan bakteri yang berbeda.

Kedua, perlu dilanjutkan fraksinasi dari kombinasi ekstrak daun binahong (*Anredera cardiofolia (ten)Steenis*) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Miller)

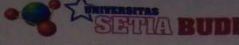
DAFTAR PUSTAKA

- [Anonim]. 1986. Sediaan Galenik. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Departemen Kesehatan Republik Indonesia]. 2013. *Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Pusat Penelitian Pengembangan Kesehatan.
- [Departemen Kesehatan RI]. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Ed ke-1. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Abdurrahman D. 2008. *Biologi Kelompok Pertanian dan Kesehatan*. Bandung: Grafindo Media Pratama.
- Annisa N. 2007. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Daun Binahong (Anredera Scandens (L)Mor) terhadap Bakteri Klebsiella Pneumonia dan Bacillus Subtilis ATTC 6633 Beserta Skrining Fitokimia dengan Uji Tabung*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta.
- Bonang G. dan Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT. Gramedia. hlm 77-78,113-118.
- Bridson E.Y. 1998. *The Oxoid Manual*. Edisi 8. Oxoid Limited. England.
- Brooks GF, Butel JS, and Morse SA. 2005. *Medical Microbiology*. Mc Graw Hill, New York dan pengembangan tanaman industri. 15(1):3-5. daun Anredera Cordifolia (ten) Steenis. (Thesis). Universitas Airlangga. Surabaya.
- Davis WW, Stout TR. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay: I. factors influencing variability and error 1. *Appl Microbiol*
- Furnawanti I. 2002. *Khasiat dan Manfaat Lidah Buaya si Tanaman Ajaib*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka. hlm 3-10.
- Ganiswara SG. 2005. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. Jakarta: Bagian Farmakologi FKUI.
- Gunawan D. & Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm 1-7, 9-13, 86-94, 104-122
- Harborne JB. 2006. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Ed. III. Bandung: Penerbit ITB.
- Hariana A. 2008. *Tumbuhan obat dan khasiatnya*. Seri 2. Jakarta: Penebar Swadana.
- Herlina Widyaningrum. 2011. *Kitab Tanaman Obat Nusantara disertai Indeks Pengobatan*. Yogyakarta: MedPress

- Isabela, A. 2009. Pengaruh Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera*) terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* pada Pasien Osteomielitis Bangsal Cempaka Rumah Sakit Ortopedi Prof. Dr. R. Soeharso Surakarta In Vitro [Abstrak], UPT Perpustakaan Universitas Sebelas Maret, Solo
- Jawetz E, Melnick JL, and Adelberg EA. 2012. *Microbiology Kedokteran 25th Ed.* Editor edisi bahasa Adisti Adityaputri *et al.* Jakarta: ECG
- Kumalasari E, Sulistyani N. 2011. *Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (Anredera Cordifolia (Tenore) Steen.) Terhadap Candida Albicans Serta Skrining Fitokimia.* Jurnal Ilmiah Kefarmasian, Vol. 1 (2), hal. 51-62.
- Madduluri S, Rao K.B, Sitaram B. 2013. In Vitro Evaluation Of Antibacterial Activity Of Five Indigenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogen Of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4 : 679-684.
- Manoi F. 2009. *Binahong (Anredera Cordifolia) sebagai Obat.* Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri.
- Pelczar MJ., Chan ECS. 1986. *Dasar – dasar Mikrobiologi.* Jilid I. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia. hlm 170-173. Penerjemah: Hadioetomo RS Dkk.
- Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi.* Jakarta: Penerbit Erlangga. hlm 136, 190.
- Radji M. 2011. *Mikrobiologi.* Jakarta: Buku Kedokteran ECG. hlm 112-120.
- Rijayanti RP. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera Foetida L.*) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro [Skripsi]. Pontianak : Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.
- Rina Mulya. 2011. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Secara In Vitro. (Skripsi). Jember. Fakultas kedokteran universitas jember
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi.* Bandung: Institut Teknologi Bandung. *Scientia I.* Screening and Extration: A Review, *International Pharmaceutica* Septembet 2013.
- Rochani N. 2009. Uji aktivitas antijamur ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*(Tenore) Steenis) terhadap *Candida albicans* serta skrining fitokimianya. (Skripsi). Surabaya: Farmasi UMS

- Sudjadi, 1986, *Metode Pemisahan*, 167 – 177, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Supardi. 1999. *Mikrobiologi dalam pengolahan dan keamanan pangan*. Penerbit Alumni Bandung.hlm 137-139.
- Supriadi. 2001. *Tumbuhan Obat Indonesia: Penggunaan dan Khasiatnya*. Jakarta: Pustaka Populer Obor. Hal 14
- Suriawiria U. 2005.*Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Papas Sinar Sinanti.
- Tiwari P, Bimlesh K, Mandeep K, Gurpreet K, Harleen K. 2011. *Skrining Fitokimia dan Ekstraksi*. Internationale Pharmaceutica Scientia 7:98-106.
- Tjay TH, Rahardja K. 2007. *Obat-obat Penting.Edisi kelima*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo. hlm 145-148
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*.Diterjemahkan oleh Noerono S. Edisi V. UGM Press Yogyakarta.hlm 187-192.
- Volk WA, dan Wheeler MF. 1998. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Penerbit Erlangga. hlm 97, 331-335.
- Waluyo, Lud. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.

Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tanaman binahong



UPT- LABORATORIUM


No : 182/DET/UPT-LAB/23/V/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :
Nama : Yogik Setyawan
NIM : 19133867 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Binahong / *Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.**
Hasil determinasi berdasarkan : **Baker: Flora of Java**
1b - 2b - 3b - 4b - 12b - b13b - b14b - 17b - 18b - 19b - 20b - 21b - 22b - 23b - 24b - 25b - 26b - 27a - 28b - 29b - 30b - 31b - 403 b - 404b - 405b - 414a - 415b - 451b - 466b - 467b - 468b - 469b - 470e - 541a. familia 49. Basellaceae. 1b. Anredera. ***Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.**


Deskripsi :
Habitus : Herba, menahun, tumbuh menjalar.
Akar : Rimpang.
Batang : Lunak, silindris, berwarna merah, saling membelit, masif, permukaan halus, dapat membesar untuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan permukaan kasar dan tidak beraturan.
Daun : **Tunggal, bulat telur, tangkai pendek, berseling, pangkal berlekuk sampai runcing, ujung runcing atau tumpul, tepi rata, permukaan daun licin, panjang 5,1 - 6,1 cm, lebar 2,9- 3,2 cm, tulang daun menyirip, tebal, berdaging, hijau tua.**
Bunga : Majemuk, tandan, bertangkai panjang, muncul dari ketiak daun, daun mahkota 5, berwarna krem keputihan, tidak berlekatan, berbau harum.
Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff - Groningen - The Netherlands.

Surakarta, 23 Mei 2017
Tm determinasi

Dra. Kartinah Wiryosoendjojo, SU.



Jl. Let. Jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.ac.id

Lampiran 2. Surat Keterangan Determinasi Tanaman lidah buaya


UPT- LABORATORIUM

No : 182/DET/UPT-LAB/23/V/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan


Menerangkan bahwa :

Nama : Yogik Setyawan
NIM : 19133785 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Lidah buaya (*Aloe vera*.L) Webb**
Determinasi berdasarkan : Baker : Flora of Java
1b - 2b - 3b - 4b - 12b - 13b - 14b - 17b - 18b - 19b - 20b - 21b - 22b - 23b - 24b - 25b
- 26b - 27a - 28b - 29b - 30b - 31a - 32a - 33a - 34a - 35b - 37b - 38b - 39b - 41b - 42b
- 44b - 45b - 46e - 50b - 54b - 56b - 57a - 58b - 59d - 72b - 73b - 74a - 75b - 76a - 77a
- 78a - 79b - 80a - 81b - 86a - 87a - 88b - 89b - 91a - 92b - 93b - 94a. familia Liliaceae.
1a - 2b. *Aloe vera* (L.) Webb. Sinonim : *Aloe barbadensis* Mill.

Deskripsi :

Habitus : Semak.
Batang : Sangat pendek, tidak terlihat karena tertutup oleh daun.
Daun : Tunggal, tersusun roset akar, bentuk tombak dengan helaian memanjang, ujung meruncing, berdaging tebal, tidak bertulang, mengandung banyak air dan getah, permukaan dilapisi lilin, tepi bergerigi kasar seperti duri, permukaan bagian atas rata, permukaan bagian bawah cembung, panjang 32-33cm, hijau.
Bunga : berukuran kecil, tersusun melingkar pada tangkai bunga majemuk menyerupai sumbu vertikal diameter lk 1cm, panjang lk 45 cm, keluar dari ketiak daun; tersusun tandan, mahkota berbentuk tabung panjang, warna oranye kekuningan.
Akar : serabut.
Pustaka : Backer c.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff - Groningen - The Netherlands

Surakarta, 23 Mei 2017
Tim determinasi

Dra. Kartinah Wijosoendjojo, SU.

Jl. Let.jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.ac.id

Lampiran 3. Gambar tanaman binahong dan lidah buaya



Lampiran 4. Gambar timbangan, alat *moistur balance*, dan vortex



Timbangan



Vortex



alat moisture balance

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



Foto oven binder



Foto rotary evaporator



Foto incubator

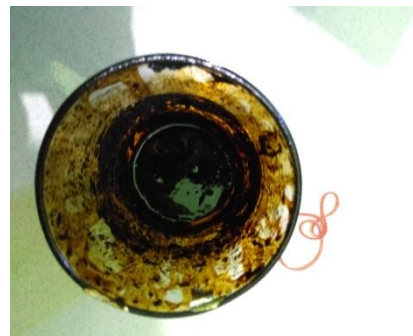


Foto Autoklaf

Lampiran 6. Foto ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya



ekstrak binahong

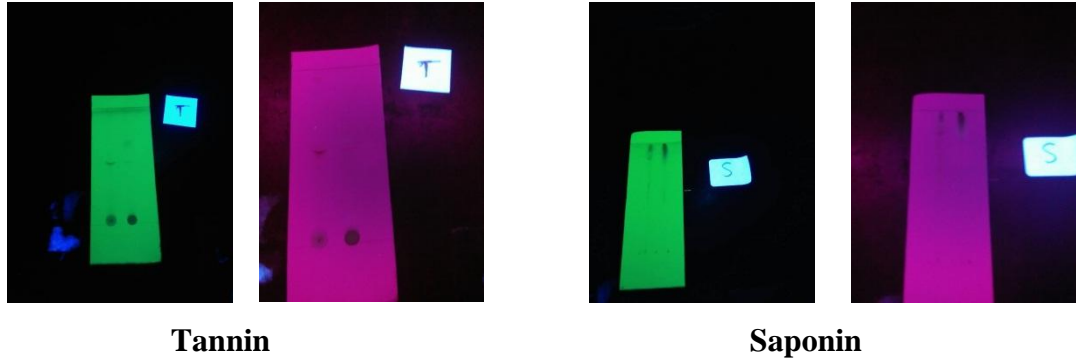


ekstrak lidah buaya

Lampiran 7. Foto identifikasi senyawa ekstrak daun binahong dan lidah



flavonoid



Lampiran 8. Gambar hasil identifikasi makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia bakteri *Escherichia coli*

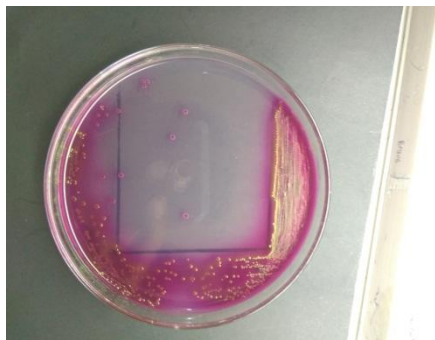


Foto identifikasi makroskopis

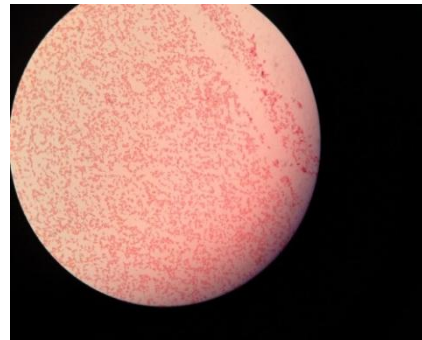


Foto identifikasi mikroskopis

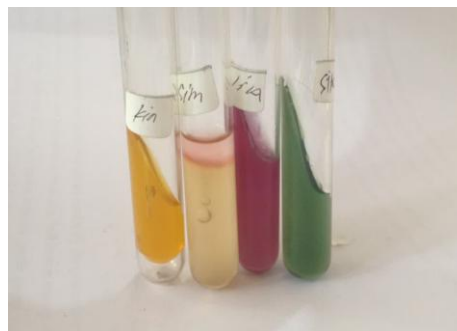
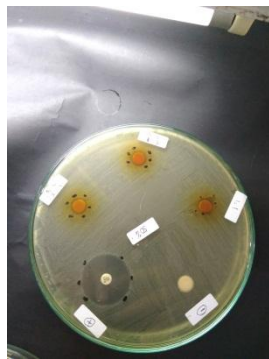
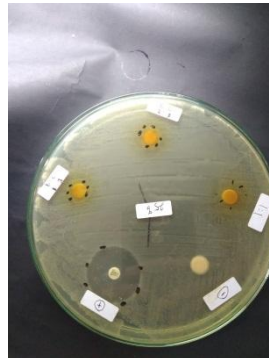


Foto uji biokimia

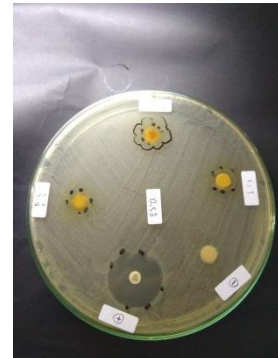
Lampiran 9. Gambar uji antibakteri ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya serta hasil inokulasi terhadap bakteri *Escherichia coli* secara difusi



kadar 50%



kadar 25%



kadar 12,5%

Lampiran 10. Gambar uji antibakteri ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya serta hasil inokulasi terhadap bakteri *Escherichia coli* secara di lusi



Foto uji aktivitas antibakteri ekstrak daun talas

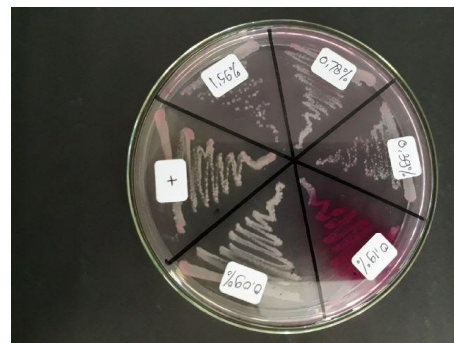
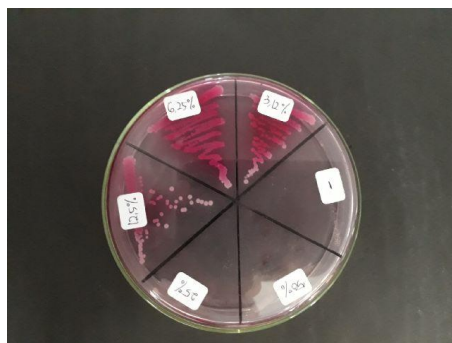


Foto hasil inokulasi uji antibakteri ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya

Lampiran 11. Perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah daun binahong dan daun lidah buaya

Bobot basah	Bobot kering	Persentase
Daun binahong	4000	250
Daun lidah buaya	5000	250

$$\begin{aligned} \text{Rendemen serbuk binahong} &= \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100 \% \\ &= \frac{250 \text{ (g)}}{4.000 \text{ (g)}} \times 100 \% \\ &= 6,25 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen serbuk lidah buaya} &= \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100 \% \\ &= \frac{250 \text{ (g)}}{5.000 \text{ (g)}} \times 100 \% \\ &= 5,0 \% \end{aligned}$$

Lampiran 12. Hasil persentase ekstrak daun talas

Perhitungan kadar rendemen ekstrak

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Binahong 250	12	4,8
Lidah buaya 250	30	12

$$\% \text{ Rendemen daun binahong} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen daun binahong} &= \frac{12 \text{ gram}}{250 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 4,8\% \end{aligned}$$

$$\% \text{ Rendemen daun lidah buaya} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen daun lidah buaya} &= \frac{30 \text{ gram}}{250 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 12\% \end{aligned}$$

Lampiran 13. Pembuatan larutan stok konsentrasi 50%

Larutan stok 50% = % $\frac{b}{v}$ = 50 gram/100 ml

Konsentrasi 50% = 0,5 gram/ ml

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

$$V_1 \cdot 50\% = 1 \cdot 25\%$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml dari konsentrasi } 50\%$$

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

$$V_1 \cdot 25\% = 1 \cdot 12,5\%$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml dari konsentrasi } 25\%$$

Lampiran 14. Formulasi dan pembuatan media

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

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

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

b. Formulasi dan pembuatan Endo Agar

Pepton from maeat	10,0 gram
Di potassium hydrogen fosfat	3,5 gram
Laktosa	10,0 gram
Sodium sulfit	2,5 gram
Fuchsin	0,4 gram
Agar – agar	12,5 gram
pH 7,4	

Reagen – reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1 L, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121⁰ C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri.

c. Sulfida indol motility (SIM)

Pepton from casein	20 g
Pepton from meat	6 g
Ammonium Iron (II) citrate	0,2 g
Sodium thiosulfate	0,2 g
Agar-agar	0,2 g
Aquadest	ad 1000 ml, pH = 7,4

Bahan- bahan di atas dilarutkan ke dalam aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121⁰C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

d. Klinger Iron Agar (KIA)

Pepton from casein	15 g
Pepton from meat	5 g

Ammonium Iron (II) citrate	0,5 g
Meat extract	3 g
Yeast extract	3 g
Sodium chloride	5 g
Laktosa	10 g
Glukosa	1 g
Sodium thiosulfate	0,5 g
Phenol red	0,024 g
Agar-agar	12 g
Aquadest	ad 1000 ml, pH = 7,4

Bahan- bahan di atas dilarutkan ke dalam aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121⁰C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

e. Lysine Iron Agar (LIA)

Pepton from casein	5 g
Yeast extract	3 g
Glukosa	1 g
Lysine monohydrochloride	10 g
Sodium thiosulfate	0,04
Ammonium Iron (II) citrate	0,5 g
Bromo cresol purple	0,02 g
Agar-agar	12,5 g
Aquadest	ad 1000 ml, pH = 7,4

Bahan- bahan di atas dilarutkan ke dalam aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

f. Citrat Agar

Ammonium hydrogen fosfat	1 g
DI- postassium hydrogen fosfate	1g
Sodium chloride	5 g
Magnesium sulfat	0,2 g
Bromo thymol blue	0,08 g
Agar-agar	12,5 g
Aquadest	ad 1000 ml, pH = 7,4

Bahan- bahan di atas dilarutkan ke dalam aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

Lampiran 15. Tabel anova

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameter
N		33
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	8.76
	Std. Deviation	5.990
Most Extreme Differences	Absolute	.112
	Positive	.112
	Negative	-.077
Kolmogorov-Smirnov Z		.641
Asymp. Sig. (2-tailed)		.805

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1126.727	10	112.673	116.194	.000
Within Groups	21.333	22	.970		
Total	1148.061	32			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

diameter

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1:1 50%	1:1 25%	3.333 [*]	.804	.014	.46	6.21
	1:1 12.5%	6.667 [*]	.804	.000	3.79	9.54
	2:1 50%	-5.333 [*]	.804	.000	-8.21	-2.46
	2:1 25%	.000	.804	1.000	-2.87	2.87
	2:1 12.5%	4.667 [*]	.804	.000	1.79	7.54
	1:2 50%	-1.667	.804	.606	-4.54	1.21
	1:2 25%	2.000	.804	.362	-.87	4.87
	1:2 12.5%	6.000 [*]	.804	.000	3.13	8.87
	koltrimoksazol	-12.000 [*]	.804	.000	-14.87	-9.13
	DMSO 1%	10.000 [*]	.804	.000	7.13	12.87
1:1 25%	1:1 50%	-3.333 [*]	.804	.014	-6.21	-.46
	1:1 12.5%	3.333 [*]	.804	.014	.46	6.21
	2:1 50%	-8.667 [*]	.804	.000	-11.54	-5.79
	2:1 25%	-3.333 [*]	.804	.014	-6.21	-.46
	2:1 12.5%	1.333	.804	.840	-1.54	4.21
	1:2 50%	-5.000 [*]	.804	.000	-7.87	-2.13
	1:2 25%	-1.333	.804	.840	-4.21	1.54
	1:2 12.5%	2.667	.804	.085	-.21	5.54
	koltrimoksazol	-15.333 [*]	.804	.000	-18.21	-12.46
	DMSO 1%	6.667 [*]	.804	.000	3.79	9.54
1:1 12.5%	1:1 50%	-6.667 [*]	.804	.000	-9.54	-3.79
	1:1 25%	-3.333 [*]	.804	.014	-6.21	-.46
	2:1 50%	-12.000 [*]	.804	.000	-14.87	-9.13
	2:1 25%	-6.667 [*]	.804	.000	-9.54	-3.79

	2:1 12.5%	-2.000	.804	.362	-4.87	.87
	1:2 50%	-8.333 ⁺	.804	.000	-11.21	-5.46
	1:2 25%	-4.667 ⁺	.804	.000	-7.54	-1.79
	1:2 12.5%	-.667	.804	.999	-3.54	2.21
	koltrimoksazol	-18.667 ⁺	.804	.000	-21.54	-15.79
	DMSO 1%	3.333 ⁺	.804	.014	.46	6.21
2:1 50%	1:1 50%	5.333 ⁺	.804	.000	2.46	8.21
	1:1 25%	8.667 ⁺	.804	.000	5.79	11.54
	1:1 12.5%	12.000 ⁺	.804	.000	9.13	14.87
	2:1 25%	5.333 ⁺	.804	.000	2.46	8.21
	2:1 12.5%	10.000 ⁺	.804	.000	7.13	12.87
	1:2 50%	3.667 ⁺	.804	.006	.79	6.54
	1:2 25%	7.333 ⁺	.804	.000	4.46	10.21
	1:2 12.5%	11.333 ⁺	.804	.000	8.46	14.21
	koltrimoksazol	-6.667 ⁺	.804	.000	-9.54	-3.79
	DMSO 1%	15.333 ⁺	.804	.000	12.46	18.21
2:1 25%	1:1 50%	.000	.804	1.000	-2.87	2.87
	1:1 25%	3.333 ⁺	.804	.014	.46	6.21
	1:1 12.5%	6.667 ⁺	.804	.000	3.79	9.54
	2:1 50%	-5.333 ⁺	.804	.000	-8.21	-2.46
	2:1 12.5%	4.667 ⁺	.804	.000	1.79	7.54
	1:2 50%	-1.667	.804	.606	-4.54	1.21
	1:2 25%	2.000	.804	.362	-.87	4.87
	1:2 12.5%	6.000 ⁺	.804	.000	3.13	8.87
	koltrimoksazol	-12.000 ⁺	.804	.000	-14.87	-9.13
	DMSO 1%	10.000 ⁺	.804	.000	7.13	12.87
2:1 12.5%	1:1 50%	-4.667 ⁺	.804	.000	-7.54	-1.79
	1:1 25%	-1.333	.804	.840	-4.21	1.54
	1:1 12.5%	2.000	.804	.362	-.87	4.87
	2:1 50%	-10.000 ⁺	.804	.000	-12.87	-7.13
	2:1 25%	-4.667 ⁺	.804	.000	-7.54	-1.79
	1:2 50%	-6.333 ⁺	.804	.000	-9.21	-3.46

	1:2 25%	-2.667	.804	.085	-5.54	.21
	1:2 12.5%	1.333	.804	.840	-1.54	4.21
	koltrimoksazol	-16.667 ⁺	.804	.000	-19.54	-13.79
	DMSO 1%	5.333 ⁺	.804	.000	2.46	8.21
1:2 50%	1:1 50%	1.667	.804	.606	-1.21	4.54
	1:1 25%	5.000 ⁺	.804	.000	2.13	7.87
	1:1 12.5%	8.333 ⁺	.804	.000	5.46	11.21
	2:1 50%	-3.667 ⁺	.804	.006	-6.54	-.79
	2:1 25%	1.667	.804	.606	-1.21	4.54
	2:1 12.5%	6.333 ⁺	.804	.000	3.46	9.21
	1:2 25%	3.667 ⁺	.804	.006	.79	6.54
	1:2 12.5%	7.667 ⁺	.804	.000	4.79	10.54
	koltrimoksazol	-10.333 ⁺	.804	.000	-13.21	-7.46
	DMSO 1%	11.667 ⁺	.804	.000	8.79	14.54
1:2 25%	1:1 50%	-2.000	.804	.362	-4.87	.87
	1:1 25%	1.333	.804	.840	-1.54	4.21
	1:1 12.5%	4.667 ⁺	.804	.000	1.79	7.54
	2:1 50%	-7.333 ⁺	.804	.000	-10.21	-4.46
	2:1 25%	-2.000	.804	.362	-4.87	.87
	2:1 12.5%	2.667	.804	.085	-.21	5.54
	1:2 50%	-3.667 ⁺	.804	.006	-6.54	-.79
	1:2 12.5%	4.000 ⁺	.804	.002	1.13	6.87
	koltrimoksazol	-14.000 ⁺	.804	.000	-16.87	-11.13
	DMSO 1%	8.000 ⁺	.804	.000	5.13	10.87
1:2 12.5%	1:1 50%	-6.000 ⁺	.804	.000	-8.87	-3.13
	1:1 25%	-2.667	.804	.085	-5.54	.21
	1:1 12.5%	.667	.804	.999	-2.21	3.54
	2:1 50%	-11.333 ⁺	.804	.000	-14.21	-8.46
	2:1 25%	-6.000 ⁺	.804	.000	-8.87	-3.13
	2:1 12.5%	-1.333	.804	.840	-4.21	1.54
	1:2 50%	-7.667 ⁺	.804	.000	-10.54	-4.79
	1:2 25%	-4.000 ⁺	.804	.002	-6.87	-1.13

	koltrimoksazol	-18.000 [*]	.804	.000	-20.87	-15.13
	DMSO 1%	4.000 [*]	.804	.002	1.13	6.87
Koltrimoksazol	1:1 50%	12.000 [*]	.804	.000	9.13	14.87
	1:1 25%	15.333 [*]	.804	.000	12.46	18.21
	1:1 12.5%	18.667 [*]	.804	.000	15.79	21.54
	2:1 50%	6.667 [*]	.804	.000	3.79	9.54
	2:1 25%	12.000 [*]	.804	.000	9.13	14.87
	2:1 12.5%	16.667 [*]	.804	.000	13.79	19.54
	1:2 50%	10.333 [*]	.804	.000	7.46	13.21
	1:2 25%	14.000 [*]	.804	.000	11.13	16.87
	1:2 12.5%	18.000 [*]	.804	.000	15.13	20.87
	DMSO 1%	22.000 [*]	.804	.000	19.13	24.87
	DMSO 1%	1:1 50%	-10.000 [*]	.804	.000	-12.87
1:1 25%		-6.667 [*]	.804	.000	-9.54	-3.79
1:1 12.5%		-3.333 [*]	.804	.014	-6.21	-.46
2:1 50%		-15.333 [*]	.804	.000	-18.21	-12.46
2:1 25%		-10.000 [*]	.804	.000	-12.87	-7.13
2:1 12.5%		-5.333 [*]	.804	.000	-8.21	-2.46
1:2 50%		-11.667 [*]	.804	.000	-14.54	-8.79
1:2 25%		-8.000 [*]	.804	.000	-10.87	-5.13
1:2 12.5%		-4.000 [*]	.804	.002	-6.87	-1.13
koltrimoksazol		-22.000 [*]	.804	.000	-24.87	-19.13

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

Lampiran 16. Tabel *Homogenous Subsect.*

Homogeneous Subsets

diameter

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
DMSO 1%	3	.00							
1:1 12.5%	3		3.33						
1:2 12.5%	3		4.00	4.00					
2:1 12.5%	3		5.33	5.33	5.33				
1:1 25%	3			6.67	6.67				
1:2 25%	3				8.00	8.00			
1:1 50%	3					10.00	10.00		
2:1 25%	3					10.00	10.00		
1:2 50%	3						11.67		
2:1 50%	3							15.33	
koltrimoksazol	3								22.00
Sig.		1.000	.362	.085	.085	.362	.606	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.