

**KAJIAN AKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) DAN DAUN LIDAH BUAYA
(*Aloe barbadensis* Miller) TERHADAP *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923**



Oleh :

**Aisyah Rofie Fitriantari
19133794 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**KAJIAN AKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) DAN DAUN LIDAH BUAYA
(*Aloe barbadensis* Miller) TERHADAP *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923**

SKRIPSI

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

Oleh :

**Aisyah Rofie Fitriantari
19133794 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**KAJIAN AKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) DAN DAUN LIDAH BUAYA
(*Aloe barbadensis* Miller) TERHADAP *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923**

Oleh :

Aisyah Rofie Fitriantari
19133794 A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 7 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan ,

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

Pembimbing Utama

Dr. Ana Indrayati, M.,Si

Pembimbing Pendamping

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

Penguji

1. D. Andang Arif Wibawa, SP.,M.Si
2. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc
3. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si

1.
2.
3.
4.

PERSEMBAHAN



“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai dari (sesuatu urusan, kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain, dan hanya Tuhanmulah hendaknya kamu berharap” (Q.S. Al-Insyirah : 6-8)

“Niscaya Allah akan meninggikan beberapa derajat orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat”(Qur'an Al Mujadalahah: 11)

Banyak kegagalan dala hidup ini dikarenakan orang-orang tidak menyadari betapa dekatnya mereka dengan keberhasilan saat mereka menyerah

-Thomas Alva Edison-

Kupersembahkan Skripsi ini untuk :

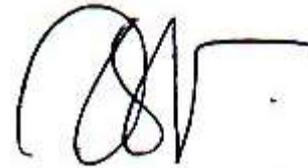
- ✓ Allah SWT yang telah memudahkan semua urusan dan meridhai segala usahaku.
- ✓ Kedua orangtuaku (Papa Benny Hatmanto dan Mama Sri Sabdantari), kedua kakakku (Annisa Risqi. F dan Yunus Madjid), kedua adikku (Yusuf Ma'arif dan Soraya Rachma. F)
- ✓ Dosen pembimbingku Ibu Ana Indrayati dan Bapak Iswandi, terima kasih telah sabar dan ikhlas meluangkan waktu dan perhatiannya dalam memberikan ilmu, nasehat, serta bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini.
- ✓ Teman-temanku Dika, Hikma, Hanim, Asis, yang sudah sering membantu dalam praktek, teman-teman seperjuangan FKK,FSTOA terima kasih atas do'a semangat, dukungan dan kerjasamanya.
- ✓ Almamaterku Fakultas Farmasi USB 2013, Agama, Bangsa, dan Negara.

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 2 Mei 2017



Aisyah Rofie Fitriantari

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb

Segala puji bagi Allah Yang Maha Pengasih dan Penyayang bahwa atas taufiq dan hidayah-Nya maka penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.

Skripsi yang berjudul “ Kajian Aktivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan Daun Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Miller) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 “ ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Strata Satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis menyadari bahwa penulisan ini tidak mungkin terlaksana tanpa adanya bantuan baik moral dan spiritual dari berbagai pihak. Untuk itu penulis menyampaikan terima kasih yang sedalamnya terutama kepada :

1. Allah SWT yang selalu memberikan rahmat, hidayah, dan risik-Nya serta kesehatan kepada penulis sehingga penulis dapat memberikan yang terbaik.
2. Dr.Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc.,Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si, selaku pembimbing utama skripsi yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, mengarahkan serta bersikap sangat sabar dan tulus ikhlas sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Iswandi,S.Si,M.Farm.,Apt, selaku pembimbing pendamping dan pembimbing akademik yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini.
6. Bapak dan ibu dosen, beserta seluruh staf akademik, staf tata usaha, dan staf karyawan fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
7. Kedua orang tua penulis (Bp. Benny Hatmanto dan Ibu Sri Sabdantari) yang selalu memberikan kasih sayang, nasehat, bimbingan, dan doanya sehingga terselesaikan skripsi ini.

8. Kedua kakakku (Annisa Rizki Fitriantari dan Yunus Madjid) dan kedua adikku (Yusuf Ma'arif dan Soraya Rachma Fitriantari) yang sudah memberikan dukungan dan doanya kepada penulis sehingga terselesaikannya skripsi ini.
9. Seluruh teman-teman Teori 2, teman-teman praktek satu meja selama 3,5 tahun (Fatimah, Talita, Dewi, Putri), teman-temanku seperjuangan dalam perkuliahan yang selalu semangat dan kompak.
10. Rekan-rekan KKN kelompok 12 (Bagas, Eka, Fanny, Hesti, Olivia, Resa, Yoga, Yama, Adit) terima kasih atas segalanya.
11. Teman-teman di Apotek Cahaya Sehat Nusukan yang telah menemani bekerja selama 3 tahun yang banyak memberikan ilmunya, Apotek Permata dan Apotek Yudhistira yang telah menemani bekerja dan tempat curhat.
12. Pihak-pihak lain yang membantu dalam penyelesaian skripsi yang tidak sempat saya tuliskan namanya terima kasih atas bantuannya.

Harapan dan doa penulis semoga semua amal kebaikan dan jasa-jasa dari semua pihak yang membantu hingga terselesaikannya skripsi ini di terima Allah SWT serta mendapatkan balasan yang lebih baik dan berlipat ganda.

Penulis juga menyadari bahwa skripsi ini kurang sempurna yang disebabkan keterbatasan kemampuan penulis. Oleh karena itu, penulis mengharap saran dan kritik konstruktif dari pembaca demi sempurnanya skripsi ini.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat nyata bagi penulis khususnya dan para pembaca umumnya.

Surakarta, 30 Mei 2017
Penulis

Aisyah Rofie Fitriantari

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian.....	2
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tanaman Binahong.....	4
1. Sistematika Tanaman	4
2. Nama	4
3. Morfologi Tanaman.....	5
4. Kandungan Kimia dan Efek Farmakologis	5
4.1 Alkaloid.....	5
4.2 Flavonoid	6
4.3 Saponin	6
4.4 Polifenol.....	6
5. Bagian yang Digunakan dan Pemanfaatannya	7
6. Perkembangan Penelitian Antibakteri Daun Binahong.....	7
B. Tanaman Lidah Buaya.....	8
1. Sistematika Tanaman	8
2. Nama Lain	8

3.	Deskripsi.....	8
4.	Daerah Distribusi, Habitat, dan Budidaya.....	9
5.	Jenis dan Varietas Lidah Buaya	9
6.	Kandungan Kimia Lidah buaya.....	9
6.1	Saponin.	9
6.2	Alkaloid.....	10
6.3	Flavonoid.	10
6.4.	Antrakuinon.	10
6.5.	Tanin.	10
7.	Sifat kimiawi dan efek farmakologi	11
8.	Perkembangan Penelitian Antibakteri Lidah Buaya	11
C.	Simplisia	12
1.	Pengertian simplisia	12
2.	Pengeringan simplisia.....	12
D.	Metode Penyarian	13
1.	Ekstraksi	13
2.	Maserasi.....	14
3.	Pelarut.....	14
E.	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	15
1.	Klasifikasi.....	15
2.	Morfologi dan sifat	15
F.	Media.....	16
1.	Jenis media	16
1.1.	Media padat.....	16
1.2.	Media cair	16
1.3.	Media semi padat atau semi cair	16
G.	Antibakteri.....	17
1.	Menghambat sintesis dinding sel	17
2.	Menghambat metabolisme sel bakteri	17
3.	Meningkatkan permeabilitas membrane sel bakteri.....	17
4.	Menghambat sintesis protein sel bakteri	18
5.	Menghambat sintesis asam nukleat dan protein	18
H.	Kombinasi Obat Herbal.....	18
I.	Uji Aktivitas Antibakteri	19
1.	Metode difusi.....	19
J.	Amoksisillin	20
K.	Landasan Teori	22
L.	Hipotesis	23
BAB III METODE PENELITIAN.....		25
A.	Populasi dan Sampel.....	25
B.	Variabel Penelitian	25
1.	Identifikasi variabel utama	25
2.	Klasifikasi variabel utama	25
3.	Definisi operasional variabel utama	26
C.	Alat dan Bahan	27

1. Alat	27
2. Bahan.....	27
D. Jalannya Penelitian	27
1. Determinasi Tanaman.....	27
2. Pengambilan Bahan.....	28
3. Pembuatan Serbuk.....	28
3.1 Pembuatan Serbuk Daun Binahong	28
3.2 Pembuatan Serbuk Lidah Buaya.....	28
4. Penetapan Kadar Lembab.....	28
5. Pembuatan Ekstrak	29
5.1 Ekstrak Etanol Daun Binahong.....	29
5.2 Ekstrak Etanol Daun Lidah Buaya.....	29
6. Uji Bebas Etanol daun Binahong dan Lidah Buaya	29
7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun binahong dan lidah buaya	29
7.1 Pembuatan larutan uji.	29
7.2 Flavonoid.	30
7.6 Antrakuinon.	30
9. Pembuatan suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	31
10. Identifikasi Bakteri.....	31
10.1 Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram	31
10.2 Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dengan medium Vogel Johnson Agar.....	31
10.3 Uji Biokimia.	31
11. Pembuatan ekstrak kombinasi.....	32
12. Pengujian aktivitas antibakteri	32
E. Analisis Hasil.....	33
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	 38
1. Determinasi Tanaman.....	38
2. Pembuatan Simplisia	38
2.1. Perhitungan susut pengeringan.	39
3. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Binahong dan Daun Lidah Buaya.....	40
4. Uji bebas etanol	41
5. Uji Organoleptis dan Fitokimia Serbuk dan Ekstrak.....	42
5.1 Uji organoleptis.....	42
5.2 Uji Fitokimia.....	42
6. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	44
6.1. Identifikasi morfologi <i>Staphylococcus aureus</i> dengan menggunakan media <i>Vogel Johnson Agar</i>	44
6.2. Pewarnaan Gram.....	44
6.3. Uji biokimia.	45
7. Pembuatan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Binahong dan Daun Lidah Buaya.....	46

8. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun binahong tunggal dan daun lidah buaya tunggal terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara difusi	47
9. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara difusi	49
10. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara dilusi	53
10.1. Penetapan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum).....	53
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	56
A. Kesimpulan.....	56
B. Saran	56
 DAFTAR PUSTAKA.	57
 LAMPIRAN.....	62

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Daun binahong.....	4
Gambar 2. Daun lidah buaya.....	8
Gambar 3. Struktur kimia Amoksisilin	20
Gambar 4. Hasil dengan menggunakan media selektif <i>Vogel Johnson Agar</i>	44
Gambar 5. Pewarnaan bakteri gram positif yaitu <i>Staphylococcus aureus</i>	45
Gambar 6. Hasil katalase.....	46
Gambar 7. Hasil koagulase	46
Gambar 8. Hasil pengujian difusi ekstrak etanol daun lidah buaya.....	48
Gambar 9. Hasil pengujian difusi ekstrak etanol daun binahong.....	49
Gambar 10 . Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara dilusi	55
Gambar 11.. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara dilusi pada media VJA	55

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1.	Perhitungan rendemen bobot susut pengeringan daun binahong dan daun lidah buaya.....	39
Tabel 2.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun binahong dan serbuk daun lidah buaya.....	40
Tabel 3.	Rendemen ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya.....	41
Tabel 4.	Hasil Uji bebas etanol.....	41
Tabel 5.	Hasil pengujian organoleptis serbuk daun binahong dan daun lidah buaya.....	42
Tabel 6.	Hasil pengujian organoleptis ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya.....	42
Tabel 7.	Hasil uji fitokimia serbuk dan ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya.....	43
Tabel 8.	Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun binahong tunggal dan daun lidah buaya tunggal.....	47
Tabel 9.	Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara difusi.....	50
Tabel 10.	Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara dilusi.....	54

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1.	Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan	63
Lampiran 2.	Perhitungan Persentase Bobot Kering Daun Binahong Segar dan Daun Lidah Buaya Segar.....	65
Lampiran 3.	Penetapan Susut Pengeringan.....	65
Lampiran 4.	Perhitungan Rendemen Ekstrak	65
Lampiran 5.	Pembuatan Kontrol Positif Amoxicillin 2,5%	66
Lampiran 6.	Pembuatan Kontrol Negatif DMSO 5%	66
Lampiran 7.	Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Binahong Tunggal dan Daun Lidah Buaya Tunggal.....	66
Lampiran 8.	Hasil Pembuatan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Binahong dan Ekstrak Etanol Daun Lidah Buaya Konsentrasi 100%.....	67
Lampiran 9.	Hasil Pembuatan Konsentrasi Kombinasi Ekstrak.....	67
Lampiran 10.	Skema Kerja Metode Difusi	83
Lampiran 11.	Skema Kerja Difusi	84
Lampiran 12.	Hasil Uji Statistik	85

INTISARI

FITRIANTARI, A.R., 2017, KAJIAN AKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia (Ten) Steenis*) DAN DAUN LIDAH BUAYA (*Aloe barbadensis Miller*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun binahong (*Anredera cordifolia (Ten) Steenis*) mengandung zat-zat aktif seperti saponin, alkaloid, flavonoid, dan tanin. Daun lidah buaya (*Aloe barbadensis Miller*) mengandung zat-zat aktif seperti antrakuinon, saponin, alkaloid, flavonoid, dan tanin. Senyawa yang terkandung di dalam kedua tanaman memiliki aktivitas antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri pada kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap *Staphylococcus aureus*.

Daun binahong dan daun lidah buaya diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Ekstrak dibuat dengan 3 perbandingan (ekstrak etanol daun binahong: ekstrak etanol daun lidah buaya) yaitu 1:1, 1:2, dan 2:1. Hasil ekstraksi dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi dengan konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5%, sedangkan metode dilusi dengan seri konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,781%, 0,391%, dan 0,195%. Kontrol positif yang digunakan adalah amoksisilin 2,5% dan kontrol negatif DMSO 5%.

Hasil uji analisis *Anova* membuktikan bahwa konsentrasi dan perbandingan kombinasi ekstrak mempunyai rata-rata daya hambat yang berbeda ($F=0,00>0,05$). Pada perbandingan 1:1 konsentrasi 50% memiliki daya hambat sebesar 19,67mm, perbandingan 1:2 sebesar 14,00 mm, perbandingan 2:1 sebesar 14,67mm. Perbandingan 1:1 pada konsentrasi 50% pada uji dilusi memberikan hasil Konsentrasi Bunuh Minimum sebesar 3,125%.

Kata kunci : Daun binahong, Daun lidah buaya, *Staphylococcus aureus*, Daya hambat, Konsentrasi Bunuh Minimum.

ABSTRACT

FITRIANTARI, A.R., 2017, ACTIVITY STUDY COMBINATION EXTRACT ETHANOL BINAHONG LEAVES (*Anredera cordifolia (Ten) Steenis*) AND ALOE BARBADENSIS MILLER (*Aloe barbadensis Miller*) AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, SETIA BUDI UNIVERSITY OF PHARMACY, SURAKARTA.

Binahong leaves (*Anredera cordifolia (Ten) Steenis*) has containing saponins, tannin, flavonoids, and alkaloids. Aloe vera (*Aloe barbadensis Miller*) has containing anthraquinone, saponins, tannin, and flavonoids. The compounds have antibacterial activity. The purpose was to know antibacterial activity in combination ethanol extract of binahong leaves and aloe vera to *Staphylococcus aureus*.

Binahong leaves and Aloe barbadensis Miller had extraction with maceration. The extracts had been comparison (ethanol extract binahong leaf : ethanol extract Aloe barbadensis Miller) 1:1, 1:2, and 2:1. The extracts was antibacterial tested by diffusion with concentration 50%, 25%, and 12,5% and dillution with series concentration 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, and 0,195%. The positive control is amoxicillin 2,5% and negative control is DMSO 5%.

The data is analyzed by using two way ANOVA. The result show that concentration and comparison extract has different effect of inhibition zone (Sig= 0,00< 0,05). In comparison 1:1, 1:2, and 2:1 concentration 50% have inhibition zone 19,67 mm, 14,00 mm, and 14,67 mm. The result Minimum Bakterisidal Concentration (MBC) is 3,125%.

Keywords : Binahong leaves, Aloe vera , *Staphylococcus aureus*, Inhibition zone, MBC.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kesehatan merupakan satu hal yang sangat penting dalam kehidupan manusia, namun untuk menjaganya perlu dilakukan pencegahan (preventif) dan pengobatan (kuratif) (Trisnayanti 2003). Tindakan pencegahan dan pengobatan ini dilakukan untuk menghindari resiko terjadinya infeksi. Penyakit infeksi disebabkan oleh bakteri seperti bakteri *Staphylococcus aureus* (Gibson 1996). Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri patogen yang bersifat invasif dan merupakan flora normal pada kulit, mulut, dan saluran pernafasan bagian atas. *S. aureus* menyebabkan pneumonia, meningitis, endokarditis, dan infeksi kulit (Jawetsz *et al* 2005).

Pemberian antibakteri merupakan salah satu pilihan dalam menangani penyakit infeksi. Penggunaan antibakteri yang tidak terkontrol mendorong terjadinya perkembangan resistensi terhadap antibakteri yang diberikan (Wardani 2008). Adanya resistensi ini dapat menimbulkan banyak masalah dalam pengobatan penyakit infeksi, sehingga diperlukan usaha untuk mengembangkan obat tradisional berbahan herbal yang dapat membunuh bakteri untuk menghindari terjadinya resistensi. Salah satu tanaman yang secara empiris digunakan sebagai bahan obat yaitu daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Miller).

Daun binahong yang termasuk ke dalam *Basellaceae* adalah salah satu tanaman obat yang tumbuh di daerah tropis, sebenarnya daun ini berasal dari Brazil namun seiring dengan perkembangan zaman, daun ini kemudian mulai dikenal oleh negara-negara lainnya (Wagner dan Sohmer 1999). Daun binahong mengandung zat-zat aktif seperti saponin, alkaloid, flavonoid, dan tanin (Rachmawati 2008). Zat-zat yang dimiliki oleh binahong ini memiliki aktivitas sebagai antimikroba (Seeman dan Iles 1973). Makalunsenge *et al* (2014) menyimpulkan bahwa ekstrak daun binahong yang tumbuh di daerah Gorontalo dapat menghambat bakteri *S. aureus* pada fraksi metanol diameter rata-rata 14,94 mm pada konsentrasi 75% dan 10,125 mm pada konsentrasi 50% dan fraksi n-

heksan 14,25 mm pada konsentrasi 100% dan 13,31 mm pada konsentrasi 75% dan 50% dan 12,88 mm pada konsentrasi 25%. Senyawa metabolit sekunder yang diduga dapat menghambat aktivitas pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada fraksi n-heksan dan metanol adalah flavonoid.

Kandungan zat aktif lidah buaya yang sudah teridentifikasi antara lain saponin, sterol, acemannan, antrakuinon (Purbaya 2003; Furnawanthi 2004). Penelitian Mbajiuka Chinedu Stanley *et al* (2014) menyatakan bahwa ekstrak lidah buaya mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* pada konsentrasi 0,25 mg/ml.

Kombinasi ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat aktivitas antibakteri serta memiliki kemampuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) pada daun binahong dan daun lidah buaya.

B. Rumusan 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 Miller*) dengan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 pada konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% memiliki daya hambat terhadap *S. aureus* ATCC 25923?

Kedua, perbandingan pada konsentrasi berapakah yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling efektif terhadap *S. aureus* ATCC 25923?

Ketiga, berapakah nilai KHM dan KBM kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah terhadap *S. aureus* ATCC 25923 ?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas dapat diketahui beberapa tujuan penelitian yaitu:

Pertama, untuk mengetahui daya hambat kombinasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis Miller*) perbandingan 1:1, 1:2, 2:1 pada konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

Kedua, untuk mengetahui konsentrasi pada perbandingan kombinasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Miller) yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling efektif terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

Ketiga, untuk mengetahui nilai KHM dan KBM dari perbandingan kombinasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Miller) terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

D. Manfaat Penelitian

Pertama, memberikan informasi pada dunia kefarmasian dan masyarakat tentang khasiat pengkombinasian dari ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap *S. aureus* ATCC 25923 sehingga, diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu pilihan terapi obat alam.

Kedua, menambah wawasan tentang pengobatan secara tradisional dengan menggunakan daun binahong dan daun lidah buaya.

Ketiga, penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar untuk penelitian selanjutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Binahong

1. Sistematika Tanaman

Klasifikasi tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Sintesis), menurut Depkes RI (2006) adalah :

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobinta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatopyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliopyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (Tumbuhan berbunga)
Sub kelas	: Hamamelidae
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Basellaceae
Genus	: Anredera
Spesies	: <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis



Gambar 1. Daun binahong

2. Nama

Nama daerahnya adalah *gondola* (Sunda); *gendola* (Minangkabau); *genjerot*, *gedrek*, *uci-uci* (Jawa); *knadula* (Madura); *tatabuwe* (Sulawesi Utara); *poiloo* (Gorontalo), *kandola* (Timor).

Nama asingnya adalah *heartleaf maderavine* *maderavine* (Inggris) dan *dheng shan chi* (Cina) (Hariana 2002).

3. Morfologi Tanaman

Tanaman binahong 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 (kordata), 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 dan Efek Farmakologis

Kandungan kimia yang terdapat pada daun binahong, antara lain flavonoid, asam oleanoik, protein, asam askorbat, 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 2002).

4.1 Alkaloid. Alkaloid merupakan suatu senyawa yang berasal dari tumbuhan, mengandung nitrogen biasanya berbentuk heterositik dalam ikatan primer, sekunder, dan kuartar, 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 1994). Pada penelitian

sebelumnya diketahui bahwa senyawa yang telah diisolasi dari daun binahong kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FTIR, dan LC-MS diduga merupakan senyawa alkaloid betanidin ($C_{18}H_{16}N_2O_8$) (Titis *et al* 2013).

4.2 Flavonoid. Flavonoid adalah salah satu golongan fenol alam terbesar. Flavonoid juga merupakan senyawa polar maka umumnya senyawa flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dan air (Tyler 1988). Pada simplisia daun binahong memiliki kadar flavonoid sebesar 21,1801 % (Zia *et al* 2016).

4.3 Saponin. Merupakan senyawa bentuk glikosida yang tersebar luas pada tumbuhan tingkat tinggi. Saponin membentuk larutan koloidal dalam air dan membentuk busa yang mantap jika dikocok dan tidak hilang dengan penambahan asam (Harbone 1987). Pada semua bagian tanaman binahong mengandung saponin, triterpenoid, steroid, glikosida, dan alkaloid dalam 20 mg daun binahong kering kadar saponin $28,14 \pm 0,22\%$ (Sri *et al* 2011). Pada isolasi daun binahong dengan metode KLT menunjukkan hasil positif terhadap saponin. Hasil teridentifikasi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis memiliki nilai absorbansi senyawa saponin sebesar 3,565 pada panjang gelombang maksimal 211. Dari hasil isolat yang diduga senyawa saponin teridentifikasi mengandung senyawa O-H, CH, C=O, C-O (Arif R *et al* 2015).

4.4 Polifenol. Senyawa polifenol adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan dengan ciri-ciri mempunyai cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena umumnya sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel. Beberapa ribu senyawa fenol telah diketahui strukturnya. Flavonoid merupakan golongan terbesar, tetapi fenol monosiklik sederhana, fenil propanoid, dan kuinon fenolik juga terdapat dalam jumlah besar. Beberapa golongan bahan polimer penting dalam tumbuhan seperti lignin, melanin, dan tanin adalah senyawa polifenol (Harbone 1987). Asam fenolat merupakan salah satu jenis metabolit sekunder yang banyak ditemukan dalam berbagai jenis tumbuhan. Turunan asam hidroksibenzoat dan asam hidroksisinamat adalah salah satu jenis asam fenolat yang banyak terdapat pada

tumbuhan (Mattila *et al* 2006). Asam fenolat yang terkandung dalam ekstrak etanol daun binahong diduga merupakan asam p-kumarat (Tyas Ayu 2013).

5. Bagian yang Digunakan dan Pemanfaatannya

Bagian dari tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah daunnya. Berikut pemanfaatan daun binahong dalam pengobatan beberapa penyakit antara lain terapi untuk gagal ginjal, diabetes, hipertensi, hiperlipidemia, infeksi dan lainnya. Uji farmakologis tumbuhan ini mampu berperan sebagai antibakterial, antiobesitas dan antihiperlipidemia, antimutagenik, antiviral, antiulser, dan antiinflamasi (Sukandar *et al* 2010).

6. Perkembangan Penelitian Antibakteri Daun Binahong

Arman dan David (2009) mengemukakan bahwa ekstrak etanol daun binahong tidak memiliki efek anti bakteri terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 10%. Hasil yang didapat pada penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Paz pada tahun 1994, dimana dalam percobaannya didapatkan bahwa tanaman binahong memiliki aktivitas anti mikroba terhadap *S. aureus*. Faktor yang diperkirakan mempengaruhi perbedaan hasil ini adalah penggunaan teknik ekstraksi yang berbeda, dimana Paz (1994) dalam penelitiannya menggunakan ekstraksi air. Selain itu perbedaan karakteristik habitat tanaman binahong yang menjadi subyek penelitian diperkirakan ikut mempengaruhi kandungan zat aktif tanaman ini. Selain kedua faktor tersebut, kemungkinan penyebab lain ekstrak etanol daun binahong tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* adalah konsentrasi yang diujikan tidak adekuat. Hal ini menyebabkan bakteri ini tetap dapat tumbuh dengan subur pada tabung reaksi. Oleh karena itu, kemungkinan dibutuhkan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dari 10% untuk menghasilkan efek bakterisidal yang diinginkan.

Makalunsenge *et al* (2014) menyimpulkan bahwa ekstrak daun binahong yang tumbuh di daerah Gorontalo dapat menghambat bakteri *S. aureus* pada fraksi methanol diameter rata-rata 14,94 mm pada konsentrasi 75% dan 10,125 mm pada konsentrasi 50% dan fraksi n-heksan 14,25 mm pada konsentrasi 100% dan 13,31 mm pada konsentrasi 75% dan 50% dan 12,88 mm pada konsentrasi 25%. Senyawa metabolit sekunder yang diduga dapat menghambat aktivitas

pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada fraksi n-heksan dan metanol adalah flavonoid.

B. Tanaman Lidah Buaya

1. Sistematika Tanaman

Kedudukan tanaman lidah buaya dalam sistematika tumbuhan :

Kingdom	: Plantae
Division	: Spermatophyta
Class	: Monocothyledoneae
Ordo	: Liliflorae
Family	: Liliaceae
Genus	: Aloe
Species	: <i>Aloe barbadensis Miller</i>



Gambar 2. Daun lidah buaya

2. Nama Lain

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

3. Deskripsi

Lidah buaya sama seperti tanaman lainnya yang 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 pelepah dengan panjang mencapai kisaran 40-60 cm dan lebar pelepah bagian bawah 8-13 cm dan tebal antara 2-3 cm.

4. Daerah Distribusi, Habitat, dan Budidaya

Lidah buaya (*Aloe barbadensis Miller*) adalah tanaman yang termasuk dalam keluarga Liliaceae. Habitat aslinya berasal dari Kepulauan Canary, sebelah barat Afrika dan diperkirakan masuk Indonesia pada abad ke-17. Tanaman ini dapat tumbuh di daerah dataran tinggi maupun dataran rendah, dan juga bisa hidup di dalam pot.

5. Jenis dan Varietas Lidah Buaya

Lebih dari 350 jenis lidah buaya yang termasuk dalam suku Liliaceae dan tidak sedikit yang merupakan hasil persilangan. Ada tiga jenis lidah buaya yang dibudidayakan secara komersial di dunia yaitu *Aloe vera* atau *Aloe barbadensis Miller*, *Cape aloe* atau *Aloe ferox Miller* dan *Socotriae aloe* atau *Aloe perry Baker*.

Tanaman lidah buaya yang banyak dimanfaatkan adalah spesies *Aloe barbadensis Miller* karena jenis ini mempunyai banyak keunggulan yaitu: tahan hama, ukurannya dapat mencapai 121 cm, berat per batangnya bisa mencapai 4 kg, mengandung 75 nutrisi serta aman dikonsumsi.

6. Kandungan Kimia Lidah buaya

Kandungan kimia yang terkandung dalam lidah buaya adalah senyawa saponin, alkaloid, flavonoid, antraquinon (aloin, barbaloin, anthranol, asam aleolat, aloe emodin, yak ether) (Trubus 2009).

6.1 Saponin. Saponin adalah metabolit sekunder yang terdapat di alam. Saponin tersusun dari gugus gula yang berikatan dengan aglikon/sapogenin. Menurut Oleszek (2002), saponin sebagian besar berupa glikosida yang dapat mengikat satu (monodesmosida), dua (bidesmosida), atau tiga (tridesmosida) rantai glukosa dan aglikonnya yang mengikat gugus fungsi -OH, -COOH, dan -CH. Saponin ada pada seluruh tumbuhan dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagiab tertentu dan dipengaruhi oleh varietas tumbuhan dan tahap pertumbuhan. Salah satu tumbuhan yang mengandung saponin adalah lidah buaya dilakukan oleh Bradford (2007) yang menyatakan bahwa di dalam lidah buaya terdapat antrakuinon yang digunakan sebagai antibakteri.

6.2 Alkaloid. Alkaloid yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan yang bersifat basa dan struktur kimianya mempunyai sistem lingkar heterosiklik dengan nitrogen sebagai hetero atomnya. Unsur-unsur penyusun alkaloid adalah karbon, hidrogen, nitrogen, dan oksigen. Alkaloid yang struktur kimianya tidak mengandung oksigen hanya ada beberapa saja. Ada pula alkaloid yang mempunyai unsur lain selain keempat unsur yang telah disebutkan. Adanya nitrogen dalam lingkar pada struktur kimia alkaloid menyebabkan alkaloid tersebut bersifat alkali. Oleh karena itu golongan senyawa-senyawa ini disebut alkaloid (Sumardjo 2006).

6.3 Flavonoid. Flavonoid merupakan golongan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik yang merupakan pigmen tumbuhan. Saat ini lebih dari 6.000 senyawa yang berbeda masuk dalam golongan flavonoid. Flavonoid merupakan bagian penting dari diet manusia karena banyak manfaatnya bagi kesehatan. Fungsi kebanyakan flavonoid dalam tubuh manusia adalah sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, memiliki hubungan sinergis dengan vitamin C (meningkatkan efektivitas vitamin C), antiinflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik (Barnes 1996).

6.4. Antrakuinon. Kuinon merupakan senyawa berwarna dan memiliki kromofor dasar. Kuinon dibagi menjadi empat kelompok untuk tujuan identifikasi, yaitu: benzokuinon, neftokuinon, isoprenoid, dan antrakuinon diperlukan hidrolisis asam untuk melepas kuinon bebasnya. Kuinon isoprenoid terlibat dalam respirasi sel dan fotosintesis diperlukan cara khusus untuk memisahkannya dari bahan lipid lain (Harbone 1987). Antrakuinon bila dihidrolisis akan terurai menjadi di-, tri-, atau tetrahidroksi antrakuinon sebagai aglikon atau modifikasi dari senyawa tersebut (Hasiholan 2012).

6.5. Tanin. Tanin adalah polifenol tanaman yang berfungsi mengikat dan mengendapkan protein. Tanin juga dipakai untuk menyamak kulit. Terapi di dunia pengobatan, tanin berfungsi untuk mengobati diare, menghentikan pendarahan, dan mengobati ambeien. Tanin merupakan senyawa fenolik kompleks yang memiliki berat molekul 500-3000. Tanin dibagi menjadi beberapa kelompok,

yaitu berdasarkan tipe struktur dan aktivitasnya terhadap senyawa hidrofolik terutama asam, tanin berkondensasi dan tanin yang dapat dihidrolisis (Lenny 2006).

7. Sifat kimiawi dan efek farmakologi

Lidah buaya mengandung gugus glikosida yang merupakan gugus aminoglikosida yang bersifat antibakteri. Senyawa ini akan berdifusi pada dinding sel bakteri dan proses ini berlangsung lama dan terus menerus dalam suasana aerob. Gugus glikosida akan masuk ke dalam sel, kemudian diteruskan pada ribosom yang menghasilkan protein, sehingga akan menimbulkan gangguan pada proses sintesis protein dan selanjutnya akan menyebabkan terjadinya pemecahan ikatan protein sel bakteri. Saponin dapat menimbulkan reaksi saponifikasi. Senyawa ini akan menyebabkan kerusakan struktur lemak membran bakteri sehingga dinding sel bakteri akan ruptur dan lisis kemudian mati (Herlina 2011).

Peran antrakuinon dalam gel lidah buaya dapat mempengaruhi sintesis protein sel *S. aureus*. Antibakteri yang bekerja dengan mempengaruhi sintesis protein digolongkan sebagai bakteriostatik, yaitu antibakteri yang mencegah pertumbuhan bakteri. Dinyatakan pula bahwa antrakuinon merupakan suatu persenyawaan fenolik, sehingga mekanisme kerja sebagai antibakteri mirip dengan sifat-sifat fenol, yaitu menghambat bakteri dengan cara mendenaturasi protein (Arunkumar dan Muthuselvam 2009).

8. Perkembangan Penelitian Antibakteri Lidah Buaya

Menurut penelitian Nur Alim (2013) ekstrak daun lidah buaya berpengaruh sangat nyata ($P > 1\%$) terhadap daya hambat pertumbuhan *S. aureus*. Pada konsentrasi 25%, 30%, dan 35% menunjukkan daya hambat sebesar 1,36 mm, 1,66 mm, dan 0,94 mm. Hal ini disebabkan daun lidah buaya mengandung kompleks antrakurnonealoin antara lain aloemodin, aloin, barbaloin yang berfungsi sebagai senyawa antibakteri. Selain itu terkandung zat saponin yang bersifat antiseptik. Senyawa antrakurnonealoin dapat menyebabkan protein bakteri menjadi inaktif dan kehilangan fungsinya, sedangkan saponin dapat melarutkan lipid pada membran sel bakteri akibatnya

dapat menurunkan tegangan lipid, permeabilitas sel berubah, fungsi sel bakteri menjadi tidak normal, dan sel bakteri lisis dan mati (Wijayakusuma 2008).

Menurut Fatemeh (2013) aktivitas antibakteri ekstrak daun lidah buaya terhadap bakteri *S. aureus* menghasilkan daya hambat sebesar 7 mm. Hal ini disebabkan ekstrak daun lidah buaya mengandung antrakuinon dan dihidroksiantrakuinon serta saponin yang berfungsi sebagai antibakteri (Bradford 2007)

Menurut Irene *et al* (2011) menyatakan bahwa ekstrak daun lidah buaya dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan memiliki konsentrasi hambat minimum (KHM) pada konsentrasi 25%.

C. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan baku alami yang digunakan untuk membuat ramuan obat tradisional yang belum mengalami pengolahan apapun terkecuali proses pengeringan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral

Dasar pembuatan simplisia meliputi beberapa tahap yaitu mulai dari pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengubahan bentuk, pengeringan, sortasi kering, pengepakan, dan penyimpanan (Gunawan dan Mulyani 2004).

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

2. Pengeringan simplisia

Definisi dari pengeringan sendiri adalah untuk menghilangkan cairan dari bahan menggunakan panas dan dilakukan dengan pemindahan cairan dari permukaan ke dalam fase uap yang belum jenuh. Sisa air yang terdapat di dalam

simplisia pada kadar tertentu dapat merupakan pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Simplisia dinilai cukup aman bila kadar air kurang dari 10%

Cara pengeringan simplisia dilakukan menggunakan sinar matahari atau menggunakan alat pengeringan. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan. Dalam proses pengeringan tersebut harus diperhatikan sehingga diperoleh hasil simplisia yang kering dan tidak mudah mengalami kerusakan saat penyimpanan. Suhu yang digunakan untuk pengeringan simplisia adalah 30°C sampai 90°C, akan tetapi suhu yang paling baik adalah tidak melebihi 60°C (Gunawan dan Mulyani 2004).

Tujuan dilakukan pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah terjadinya pembusukan oleh cendawan atau bakteri, agar tahan lebih lama (Wijayakusuma dan Dalimartha 2001), disamping itu juga memudahkan pada proses selanjutnya (ringkas dan mudah disimpan). Proses pengeringan adalah faktor penting untuk simplisia karena kadar air yang cukup tinggi dapat menyebabkan tumbuhnya jamur, bahkan zat berkhasiat yang terkandung dapat menurun akibat terjadinya proses metabolisme dalam simplisia karena aktivitas enzim (Mursito 2002).

D. Metode Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstraksi berasal dari kata "*extrahere*" atau "*to draw out*", menarik sari, yaitu suatu cara untuk menarik satu atau lebih zat dari bahan asal. Umumnya zat berkhasiat tersebut dapat ditarik, namun khasiatnya tidak berubah.

Dalam ilmu farmasi, istilah ini terutama hanya dipergunakan untuk penarikan zat-zat dari bahan asal dengan mempergunakan cairan penarik yang digunakan "*menstrum*", ampasnya disebut "*marc*", sedangkan cairan yang dipisahkan dari ampas tersebut merupakan suatu larutan yang disebut "*macerate liquid*" atau "*colutura*". Cairan yang didapat secara perkolasi disebut "*perkolat*", dan zat-zat yang terlarut di dalam cairan penarik tersebut disebut "*extractive*".

Umunya ekstraksi dikerjakan untuk simplisia yang mengandung zat-zat yang berkhasiat atau zat lain untuk keperluan tertentu.

Tujuan utama ekstraksi adalah mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan (*concentrata*) dari zat-zat yang tidak berfaedah, agar lebih mudah dipergunakan (kemudahan diabsorpsi, rasa, pemakaian, dan lain-lain) dan disimpan dibandingkan simplisia asal, dan tujuan pengobatan lebih terjamin (Syamsuni 2013).

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 2013 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 (Ansel 1989). 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 1987). Disamping itu etanol juga digunakan untuk melarutkan minyak menguap (Ansel 1989).

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, absorbsinya 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 (Anonim 1986). Etanol 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana pengotor yang ikut ke dalam cairan sangat kecil (Voigt 1994).

E. Bakteri *Staphylococcus aureus*

1. Klasifikasi

Klasifikasi *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif, berbentuk bulat, bergerombol seperti anggur, tidak bergerak dan tidak berspora.

Klasifikasi dari *S. aureus* menurut (Brooks *et al* 2005) sebagai berikut :

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Divisi	: Firmicutes
Class	: Cocci
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>S. aureus</i>

2. Morfologi dan sifat

S. aureus merupakan bakteri Gram positif, menggerombol seperti anggur, tidak bergerak, tidak berspora (Sujudi 1993). Bakteri ini berbentuk bulat berdiameter 0,5-1,5 mikron, berpasangan, metabolisme aerob dan anaerob tumbuh pada pembedihan bakteriologi dalam keadaan aerobik atau mikroaerobik. Bakteri ini cepat tumbuh pada suhu 37°C dan pada suhu 20°C dapat membentuk pigmen yang paling baik. Bersifat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, dapat menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas, bakteri ini berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan sehingga dapat menimbulkan penyakit karena kemampuannya dalam menghasilkan banyak zat ekstraseluler. *S. aureus* merupakan anggota flora normal kulit manusia dan saluran nafas serta pada

saluran pencernaan. Bakteri ini sering ditemukan di sekitar lingkungan manusia. *S. aureus* mempunyai daya infeksi yang rendah, dan banyak terjadi pada infeksi kulit ringan (Jawetz *et al* 1991).

F. Media

Media adalah suatu bahan yang terdiri dari zat-zat kimia dan anorganik yang telah melalui proses pengolahan tertentu dapat digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroba (Suriawira 1986). Media ada beberapa macam menurut bentuk, sifat dan susunannya yang ditentukan oleh senyawa penyusun media, presentase campuran dan tujuan penggunaan (Suriawira 1986).

1. Jenis media

Berdasarkan ada atau tidaknya zat pematat seperti agar-agar, gelatin dan sebagainya maka bentuk media dikenal tiga jenis :

1.1. Media padat. Media ini umumnya dipergunakan untuk bakteri dan jamur. Medium padat digunakan untuk mengamati morfologi koloni dan mengisolasi biakan murni. Media padat ini diperoleh dengan cara menambahkan agar yang berfungsi sebagai bahan pematat, dapat membeku di suhu ruang dan suhu 45°C. Medium padat dapat berupa bahan alamiah, misalnya medium yang dibuat dari bahan kentang, wortel maupun bahan lainnya. Contoh medium padat antara lain agar butylon, agar endo, dan lain-lain.

1.2. Media cair. Media cair tidak ditambahkan zat pematat, biasanya media cair dipergunakan untuk pembiakan mikroba, terutama bakteri dan ragi. Medium cair dapat digunakan untuk berbagai tujuan seperti pembiakan mikroba dalam jumlah besar, penelaah fermentasi dan uji-uji lain. Contoh medium cair yaitu medium kaldu dan *Brilian Green Lactose Blue Brooth* (BGLBB).

1.3. Media semi padat atau semi cair. Penambahan zat pematat dalam media ini hanya 50% atau kurang dari seharusnya. Media ini umumnya dipergunakan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup anaerob atau fakultatif. Media setengah padat ini dibuat dengan bahan yang sama dengan media padat, tetapi berbeda dalam komposisi agarnya.

Medium setengah padat berbentuk cair dalam keadaan panas dan berbentuk padat saat dingin. Berdasarkan keperluannya medium ini dibuat tegak atau miring. Media setengah padat ini contohnya media Nutrien Agar (Suriawira 1986).

G. Antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang memiliki khasiat untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteristatik sedangkan antibakteri yang dapat membunuh bakteri disebut bakterisid (Ganiswara 1995).

Berdasarkan mekanisme kerja, antibakteri dibagi menjadi 5 kelompok yaitu :

1. Menghambat sintesis dinding sel

Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan, yaitu suatu kompleks polimer glikopeptida. Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubah setelah terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis.

2. Menghambat metabolisme sel bakteri

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, bakteri mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoate (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antimikroba bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat nonfungsional.

3. Meningkatkan permeabilitas membrane sel bakteri

Kerja antibakteri salah satunya adalah mengubah tegangan permukaan sehingga merusak permeabilitas selektif dari membran sel mikroba. Selaput sel berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain-lain.

4. Menghambat sintesis protein sel bakteri

Untuk kelangsungan hidupnya bakteri perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Salah satu kerja antibakteri adalah menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan non fungsional bagi sel mikroba.

5. Menghambat sintesis asam nukleat dan protein

DNA, RNA, dan protein memegang peranan penting dalam kehidupan normal sel. Karena mekanisme berikatan dengan enzim polimerase RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim (Ganiswara 1995).

H. Kombinasi Obat Herbal

Terdapat banyak tanaman herbal yang memiliki kandungan farmakologi yang signifikan. Seringkali tanaman herbal tersebut hanya memunculkan efeknya secara tunggal saja. Hal ini memunculkan suatu tanggapan apabila suatu tanaman herbal yang memiliki efek tunggal dikombinasikan dengan tanaman herbal lainnya maka akan dapat memunculkan suatu efek baik efek komplementer, sinergis, maupun kontraindikasi.

Terdapat tiga efek dari kombinasi kandungan kimia obat herbal yaitu efek komplementer, efek sinergis, dan efek kontraindikasi (Pramono 2006). Efek komplementer merupakan suatu efek yang saling mendukung antara zat satu dengan zat lainnya. Misalnya *Thymus vulgaris* L. tanaman ini mengandung minyak atsiri dengan komponen utamanya yaitu timol dan karvakrol yang bertindak sebagai antimikroba dan pengencer dahak. Selain kandungan metabolit sekunder tersebut *Thymus vulgaris* L juga mengandung flavon polimetoksi yang berfek sebagai penekan batuk (Pramono 2006).

Efek sinergis merupakan suatu efek yang muncul dari dua atau lebih kandungan kimia yang memiliki khasiat yang sama dan saling menguatkan. Misalnya daun kemangi (*Ocimum sanctum* L) pada penelitian Angelina *et al* (2015) dibuktikan bahwa daun kemangi mengandung flavonoid, minyak atsiri, dan tanin yang terbukti efektif sebagai antibakteri. Masing-masing metabolit sekunder tersebut memiliki mekanisme yang berbeda sebagai antibakteri namun,

memiliki efek yang sama dan saling menguatkan. Adanya efek yang sama dan saling menguatkan dari kandungan kimia tersebut dapat dikatakan sebagai efek sinergis (Pramono 2006).

Efek kontraindikasi merupakan suatu efek yang muncul karena terdapat kandungan kimia yang memiliki sifat bertentangan. Contoh yang dapat menjelaskan efek tersebut adalah kandungan kimia yang dimiliki oleh tanaman kelembak (*Rheum officinale* Bail.). tanaman ini mengandung senyawa golongan antrakinon yaitu rein dan turunannya yang memiliki efek laksansia selain itu, tanaman kelembak juga memiliki kandungan senyawa lain yaitu tanin. Tanin memiliki efek sebagai antidiare sehingga terjadi dua efek yang bertentangan antara kandungan kimia yang dimiliki oleh tanaman kelembak yaitu efek laksansia dan antidiare (Pramono 2006).

Pengkombinasian dari suatu ekstrak yang memunculkan efek sinergis, efek kontraindikasi, atau tidak adanya interaksi, dapat ditentukan nilainya dengan *Fractional Inhibitory Concentration* (FIC). Perhitungan tersebut dapat dilakukan menggunakan rumus :

$$\text{FIC extract} = \frac{\text{MIC of Plant Extract in Combination}}{\text{MIC of Plant Extract Alone}}$$

Ketentuan yang dapat digunakan yaitu $\text{FIC}_{\text{index}}$ bila nilai yang didapat < 1 maka efeknya sinergis, bila nilai $= 1$ maka aditif, bila nilai $> 1 \leq 2$ maka tidak ada interaksi, dan bila nilai > 2 maka kontraindikasi (Okoye *et al* 2013).

I. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu :

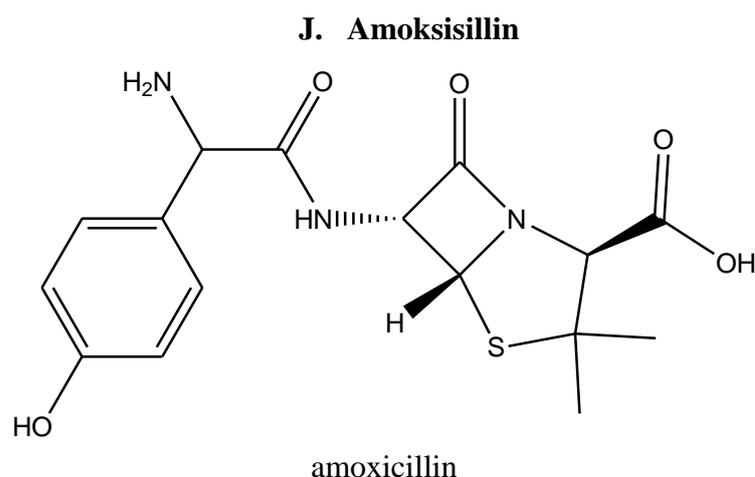
1. Metode difusi

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 hambatnya maka semakin kuat aktivitas daya antibakteri (Jawetz *et al* 2001). 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.

2. Metode dilusi

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Dilakukan dengan menggunakan antimikroba yang mempunyai kadar menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Metode ini mencampur homogen suatu obat dalam media dengan jumlah yang berbeda-beda, masing-masing media ditambahkan suspensi mikroba kemudian diinkubasi dan diamati daerah media yang jernih (Bonang & Koeswardono 1982). Media diinokulasikan terhadap bakteri uji, selanjutnya diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji. Uji dengan cara dilusi memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama dan penggunaannya dibatasi dan keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al* 1986).



Gambar 3. Struktur kimia Amoksisilin

Amoksisillin mengandung tidak kurang dari 90,0% C₁₆H₁₉N₃O₅S, dihitung terhadap zat anhidrat. Mempunyai potensi setara dengan tidak kurang dari 900 µg dan tidak lebih dari 1050 µg per mg C₁₆H₁₉N₃O₅S, dihitung terhadap zat anhidrat. Amoksisillin (*alpha-amino-p-hydroxy-benzyl-penicillin*) merupakan antibiotik semisintetik yang mempunyai struktur penicillin analog dengan ampicillin, derivat 6 *aminipenicillonic acid* merupakan antibiotik dengan spektrum luas yang mempunyai daya kerja bakterisidal melawan mikroorganisme Gram positif dan Gram negatif. Keberadaan cincin benzyl pada rantai samping memperluas aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram negatif (De Abreu *et al* 2003).

Bakteri Gram positif antara lain, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridan*, *Streptococcus faecalis*, *Diplococcus pneumoniae*, *Corynebacterium sp*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium sp*, *Bacillus anthracis*. Bakteri Gram negatif antara lain, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Proteus mirabilis*, *Brucella sp*.

Amoxicillin diserap secara baik sekali pada saluran pencernaan, dan tidak berubah walau bersamaan dengan penyerapan makanan. Kadar bermakna di dalam serum darah dicapai 1 jam setelah pemberian per-oral, ikatan rendah dengan protein plasma (17%), didistribusikan cepat ke seluruh badan, dan eliminasi setengahnya dalam 1 jam. Kadar puncak di dalam serum darah 5,3 mg/ml dicapai 1,5-2 jam setelah pemberian per-oral. Kurang lebih 60% pemberian per-oral dan 75% pemberian parenteral akan diekskresikan melalui urin dalam 6 jam (De Abreu *et al* 2003).

Amoxicilin adalah antibiotika golongan β-laktam dengan spektrum luas, digunakan untuk pengobatan infeksi pada saluran napas, saluran empedu dan saluran seni, gonorrhoe, gastroenteritis, meningitis dan infeksi karena *Salmonella sp.*, seperti demam tifoid. Amoxicilin merupakan turunan penisilin yang tahan asam tetapi tidak tahan terhadap penisilanasase. Beberapa keuntungan dibandingkan ampisilin adalah penyerapan obat dalam saluran cerna lebih sempurna, sehingga

kadar darah dalam plasma dan saluran seni lebih tinggi, serta adanya makanan tidak mempengaruhi penyerapan obat (Siswandono dan Soekardjo 1995).

Amoxicillin mengikat *penicillin-binding protein 1A* (PBP-1A) yang lokasinya berada di dalam sel bakteri. Menghambat aktivasi dari enzim *penicillin-sensitive transpeptidase C-terminal* dengan membuka cincin lactam, sehingga mencegah pembentukan dari *cross-link* dua tali *peptidoglycan* yang bekerja menghambat stadium akhir dari sintesis dinding sel bakteri (De Abreu *et al.*, 2003).

Dosis oral 3 dd 375-1000mg, anak-anak < 10 tahun 3 dd 10 mg/kg, 3-10 tahun 3 dd 250 mg, 1-3 tahun 3 dd 125 mg, 0-1 tahun 3 dd 100 mg. juga diberikan secara i.m./i/v (Tjay dan Kirana 2002).

K. Landasan Teori

Hasil penelitian Anggun Angraini Wibisana (2012) menggunakan konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 1,95 mg/ml; 3,91 mg/ml; 7,81 mg/ml; 15,62 mg/ml; 31,25 mg/ml; 62,50 mg/ml; 125 mg/ml; 250 mg/ml. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun binahong terhadap bakteri *S. aureus* secara in vitro. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun binahong maka daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* semakin besar (Anggun 2012).

Hasil penelitian Mufid Khunaifi mengatakan bahwa hasil penelitian didapatkan KHM (Kadar Hambat Minimum) ekstrak daun binahong terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 25% dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) terhadap *S. aureus* adalah 50% (Ani, Dwi, & Diah 2012).

Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri adalah dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang dapat mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Juliana 2008).

Lidah buaya mengandung antrakuinon dan kuinon yang memiliki efek antimikroba. Selain itu, lupeol, asam salisilat, nitrogen urea, asamsinamat, fenol,

sulfur dan minyak atsiri dalam lidah buaya juga berfungsi sebagai antimikroba (Dzulkarnain *et al* 1996; Agarry *et al* 2005; Jatnika dan Saptoningsih, 2009).

Ekstrak etanol daun lidah buaya berpengaruh sangat nyata ($P > 1\%$) terhadap daya hambat pertumbuhan *S. aureus*. Pada konsentrasi 0%, 25%, 30%, dan 35% menunjukkan daya hambat sebesar 0 mm, 1,36 mm, 1,6 mm, dan 0,94 mm (Nur Alim 2013).

Pada penelitian interaksi ekstrak daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Miller.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap daya hambat *S. aureus* secara in vitro menunjukkan adanya interaksi antar konsentrasi dan jenis ekstrak daun lidah buaya dan daun sirih pada perlakuan konsentrasi 75% yaitu sebesar 25 mm (Rahmawati 2004).

Amoxicilin adalah antibiotika golongan β -laktam dengan spektrum luas, digunakan untuk pengobatan infeksi pada saluran napas, saluran empedu dan saluran seni, gonorrhoe, gastroenteritis, meningitis dan infeksi karena *Salmonella sp.*, seperti demam tipoid. Amoxicilin merupakan turunan penisilin yang tahan asam tetapi tidak tahan terhadap penisilnase. Beberapa keuntungan dibandingkan ampisilin adalah penyerapan obat dalam saluran cerna lebih sempurna, sehingga kadar darah dalam plasma dan saluran seni lebih tinggi, serta adanya makanan tidak mempengaruhi penyerapan obat (Siswandono dan Soekardjo, 1995).

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

L. Hipotesis

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

Pertama, kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya dengan perbandingan 1:1; 1:2; 2:1 memiliki daya hambat terhadap *S. aureus*.

Kedua, kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan lidah buaya memiliki daya hambat terhadap *S. aureus*.

Ketiga, senyawa yang terkandung dalam kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan lidah buaya yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* yaitu flavonoid, saponin, dan tanin.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong (*A.cordifolia*) yang diperoleh dari perkebunan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BP2TOOT) Tawangmangu pada bulan Januari tahun 2017 dan daun lidah buaya yang diperoleh dari daerah Purwomartani, Yogyakarta pada bulan Januari tahun 2017.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong(*A. cordifolia*) yang masih muda dan berwarna hijau segar yang diperoleh dari perkebunan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BP2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah dan lidah buaya (*Aloe barbadensis Miller*) yang berwarna hijau dengan panjang rata-rata 40 cm dengan ketebalan kurang lebih 2 cm yang diperoleh dari daerah Purwomartani, Yogyakarta.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah ekstrak daun binahong dan ekstrak etanol daun lidah buaya. Variabel utama yang kedua dalam penelitian ini adalah uji aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan ekstrak etanol daun lidah buaya 1:1; 1:2; 2:1 terhadap *S. aureus* ATCC 25923. Variabel utama ketiga aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

2. 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 *S. aureus* ATCC 25923.

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri kombinasi dari ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya yang dapat mempengaruhi pertumbuhan *S. aureus* ATCC 25923 pada media uji.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun binahong yang diambil dari perkebunan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BP2TOOT) Tawangmangu.

Kedua, daun lidah buaya yang diambil dari perkebunan daerah Purwomartani, Yogyakarta.

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 *S. aureus* ATCC 25923 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; 1:2; 2:1 dengan konsentrasi 50%.

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

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

Kesembilan, uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi yang digunakan untuk mengukur luas daerah daya hambat pertumbuhan bakteri.

Kesepuluh, mengukur diameter hambatan, zona terang menunjukkan adanya zona hambatan pada *S. aureus* oleh ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya.

Kesebelas, menentukan nilai KHM dan KBM dari konsentrasi ekstrak kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya yang memiliki hasil zona hambatan maksimum.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan adalah alat timbangan, penggilingan, wadah plastik, labu Erlenmeyer, botol coklat, kain flanel, kertas saring, cawan petri, corong pisah, gelas ukur, tabung reaksi, labu takar, inkas, jarum ose, pinset, pipet ukur, batang pengaduk, cawan porselin, penangas air, lampu spiritus, kaki tiga, ayakan nomor 40, oven, seperangkat alat rotary evaporator, autoklaf, incubator, labu destilasi, corong kaca, kertas cakram, mikropipet, corong buchner.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah sebagai berikut daun binahong, daun lidah buaya, etanol 70%, *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Nutrient Agar* (NA), *Brain Heart Infusion* (BHI) larutan KOH 1 N, larutan FeCl₃, larutan amonia, larutan NaCl, aquadestilata, HCl encer, HCl pekat, pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer, DMSO 5 %.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan bertujuan untuk mengetahui sampel dan identitas yang digunakan merupakan benar dari daun binahong yang akan digunakan sebagai bahan uji dalam penelitian. Determinasi dilakukan di Universitas Setia Budi, Surakarta dengan menggunakan buku acuan "Flora of Java" (Backer dan Van dan 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.

2. Pengambilan Bahan

Daun binahong yang masih segar dan masih muda diambil dari kebun di Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Lidah buaya diperoleh dari daerah Purwomartani, Yogyakarta.

3. Pembuatan Serbuk

3.1 Pembuatan Serbuk Daun Binahong. Daun binahong yang sudah dicuci bersih dengan air dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C untuk mengurangi kadar air, mencegah tumbuhnya jamur dan bakteri, mencegah bekerjanya enzim dan perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Bahan yang dikeringkan juga memudahkan dalam proses penyerbukan (Harbone 1987; Ansel 1987). Bahan yang sudah dikeringkan segera diserbuk dengan mesin penyerbukan kemudian diayak dengan ayakan nomor 40. serbuk halus ditimbang untuk pembuatan ekstrak.

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

4. Penetapan Kadar Lembab

Penetapan kadar air serbuk daun binahong dan 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 lidah buaya. Kemudian ditunggu sampai alat *Moisture Balance* berbunyi yang menandakan hasil analisa telah selesai. Kadar air akan memenuhi syarat apabila kadar air suatu serbuk simplisia tidak lebih dari 10%.

5. Pembuatan Ekstrak

1.1 Ekstrak Etanol Daun Binahong. Simplisia yang telah kering dihaluskan ditimbang sebanyak 250 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. Kemudian ditambah dengan etanol 70% dengan perbandingan 1:2,5 bagian selama 2 hari. Lalu diperoleh filtrat lalu dipekatkan dengan evaporator pada suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak etanol daun binahong.

1.2 Ekstrak Etanol Daun Lidah Buaya. Simplisia yang telah kering dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 250 gram lalu dimaserasi dengan etanol 70% dengan perbandingan 1:7,5. Maserasi dilakukan selama lima hari sesekali digojog kemudian ditambah dengan etanol 70% dengan perbandingan 1:2,5 bagian lalu filtrat dan ampas dipisahkan dengan evaporator pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak etanol daun lidah buaya.

6. Uji Bebas Etanol daun Binahong dan Lidah Buaya

Uji bebas etanol yaitu dengan cara uji esterifikasi. Ekstrak etanol daun binahong dan ekstrak lidah buaya ditambah asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, hasil positif ditandai dengan jika tidak terbentuk bau ester yang kuat dari etanol.

7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun binahong dan lidah buaya

Identifikasi kandungan ekstrak daun binahong dan ekstrak daun lidah buaya dilakukan terhadap masing-masing ekstrak. Pengujian yang dilakukan menurut literatur memiliki aktivitas sebagai antibakteri kandungan tersebut adalah saponin, alkaloid, dan flavonoid. Kandungan yang akan diuji pada ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya adalah flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan antrakuinon pada daun lidah buaya. Pengujian akan dilakukan dengan metode analisis fitokimia dengan menggunakan uji tabung.

7.1 Pembuatan larutan uji. Dilakukan dengan melarutkan sebanyak 500 mg ekstrak lalu dilarutkan ke dalam 10 ml etanol. Hal tersebut dilakukan juga terhadap serbuk yaitu dengan cara sebanyak 500 mg serbuk dipanaskan dengan air

10 ml selama 30 menit kemudian disaring panas-panas. Larutan inilah yang akan digunakan untuk uji fitokimia.

7.2 Flavonoid. Sebanyak 1 ml larutan uji ekstrak dan serbuk ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 10 tetes asam klorida pekat. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid. Jika warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon, dan auron (Depkes RI 1995).

7.3 Tanin. Sebanyak 1 ml larutan uji direaksikan dengan larutan FeCl_3 10%. Hasil positif bila terbentuk warna hitam kebiruan atau hijau (Robinson 1991).

7.4 Alkaloid. Dua (2) ml larutan uji diuapkan diatas cawan porselen. Residu yang terbentuk dilarutkan dengan 5 ml HCl 2N. Larutan dibagi menjadi 3 tabung reaksi. Tabung reaksi pertama berfungsi sebagai blanko yang ditambah HCl 2N, tabung reaksi kedua ditambah 3 tetes peraksi Dragendorf dan tabung reaksi ketiga ditambah 3 tetes pereaksi Mayer. Hasil positif bila tabung kedua terbentuk endapan jingga dan pada tabung ketiga terbentuk endapan kuning (Farnworth 1966).

7.5 Saponin. Sepuluh (10) ml larutan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dipanaskan. Dilakukan pengocokan selama 10 detik kemudian diamkan selama 10 detik. Hasil dinyatakan positif apabila terbentuk busa setinggi 1-10 cm yan stabil selama tidak kurang dari 10 menit (DepKes RI 1989).

7.6 Antrakuinon. Serbuk simplisia 200 mg dimasukkan kedalam tabung reaksi tambahkan 5 ml H_2SO_4 2N, panaskan sebentar lalu dinginkan. Tambahkan 10 ml benzena, kocok, dan diamkan. Larutan kemudian disaring untuk memisahkan lapisan benzena. Filtrat yang berwarna kuning menunjukkan adanya antrakuinon. Kocok lapisan benzena dengan 1-2 ml NaOH 2N, diamkan. Lapisan air berwarna merah intensif dan lapisan benzena tidak berwarna (DepKes RI 1989).

8. Sterilisasi alat dan media

Alat-alat yang digunakan dicuci bersih seperti cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, pipet volume, labu takar dan ose dibungkus dalam kertas dan dimasukkan dalam plastik tahan panas kemudian dimasukkan ke dalam oven pada

pemanasan 170°C selama 60 menit. Alat dan bahan yang tidak tahan pemanasan kering seperti media, aquadestilata, pipet tetes, dengan autoklaf (pemanasan basah) pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Alat yang telah disterilkan dapat langsung dipakai atau disimpan dalam keadaan tertutup rapat.

9. Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*

Pembuatan suspensi untuk difusi dengan mengambil biakan murni kurang lebih 2 ose bakteri *S. aureus* ATCC 25923. Suspensi dibuat dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah $1,5 \times 10^8$ CFU /mL. Tujuan disesuaikannya suspensi bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakterisaat pengujian.

10. Identifikasi Bakteri

10.1 Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan dengan membuat bekasan isolat di gelas obyek, kemudian diwarnai dengan larutan kristal violet dan yodium secara bergantian selama beberapa menit dan dicuci dengan larutan cat penutup safranin. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop, bakteri Gram positif akan nampak berwarna ungu, sedangkan Gram negatif berwarna merah.

10.2 Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan medium Vogel Johnson Agar.Suspensi bakteri *S. aureus* ATCC 25923 diinokulasi pada media VJA yang sebelumnya telah ditambahkan kalium tellurit 1% kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif bila penampakan koloni berwarna hitam dan warna medium disekitar koloni kuning (Jawetsz *et al* 2007).

10.3 Uji Biokimia.Identifikasi bakteri *S. aureus* dilakukan dua uji yaitu uji koagulase dan katalase. Uji koagulase dapat dilakukan dengan cara menginokulasikan koloni *S. aureus* ke dalam BHI 2 ml lalu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 35°C. Inokulum tersebut dipindahkan sejumlah 0,2-0,3 ml ke dalam tabung reaksi yang sudah disterilkan kemudian ditambahkan 0,5 ml plasma lalu diaduk dan diinkubasi sampai 24 jam. Hal ini dimaksudkan untuk melihat atau mengecek koagulan yang terbentuk. Koagulan yang terbentuk secara padat

atau solid serta tidak jatuh apabila tabung dibalik dinyatakan positif bahwa bakteri tersebut memang *S. aureus*. Sedangkan uji katalase dapat dilakukan dengan jalan diambil 1 ose inokulum dari stok bakteri *S. aureus* dan diletakkan di atas gelas preparat, kemudian ditetesi dengan H₂O₂ untuk melihat pembentukan gelembung gas.

11. Pembuatan ekstrak kombinasi

Kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya dengan perbandingan 1:1 dibuat dengan mengambil 2 gr ekstrak etanol daun binahong dan 2 gram ekstrak etanol daun lidah buaya kemudian dilarutkan dalam 4 ml DMSO 5%. Kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya perbandingan 1:2 dibuat dengan mengambil 1,33 gram ekstrak etanol daun binahong dan 2,67 gram ekstrak etanol daun lidah buaya kemudian dilarutkan dalam 4 ml DMSO 5%. Kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya dengan perbandingan 2:1 dibuat dengan mengambil 2,67 gram ekstrak etanol daun binahong dan 1,33 gram ekstrak etanol daun lidah buaya dilarutkan dalam 4 ml DMSO 5%.

12. Pengujian aktivitas antibakteri

Metode yang digunakan untuk uji daya antibakteri adalah metode difusi dan dilusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat terhadap bakteri uji dan untuk menentukan diameter daerah hambat dari ekstrak etanol daun binahong dan ekstrak etanol daun lidah buaya dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%. Penelitian ini menggunakan cawan petri yang berisi MHA. Pertama bakteri diambil dari media BHI dengan menggunakan kapas lidi steril sebanyak satu kali kemudian dioleskan pada cawan petri yang berisi MHA tersebut dan tunggu sampai bakteri berdifusi pada media.

Setelah suspensi bakteri yang setara dengan standar Mc Farland 0,5 dioleskan dengan rata pada cawan petri yang berisi MHA, kemudian pada setiap cakram yang berukuran 6 mm ditetesi menggunakan mikropipet sebanyak 10µm dengan larutan kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya. Kombinasi yang pertama berisi kombinasi 1:1, yang kedua berisi kombinasi 1:2, yang ketiga berisi kombinasi 2:1. Kontrol positif menggunakan antibiotik

amoxicillin 2,5%. Setelah itu cakram diletakkan atau ditempelkan pada media MHA dengan menggunakan pinset, cawan petri diinkubasi di dalam inkubator selama 18 jam pada suhu 37°C. Kemudian setelah 18 jam dilakukan inkubasi, zona hambat yang terbentuk dapat diukur. Pengukuran zona hambat disekitar cakram dilakukan menggunakan penggaris dengan ketelitian 1mm. Hasil dari pengukuran tersebut dijumlahkan dan dibagi dengan banyaknya pengukuran untuk mendapatkan besarnya zona hambat yang terbentuk.

Uji dilusi dilakukan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap bakteri dengan konsentrasi pengenceran 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562 %; 0,781 %; 0,391 %; dan 0,195 %. Metode dilusi adalah dengan cara pengenceran 11 tabung steril yang dibuat secara aseptis. Metode ini dilakukan dengan memasukkan bahan uji kedalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung nomor 11 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 dimasukkan kedalam masing-masing tabung uji kecuali tabung nomor 1 sebagai kontrol negatif. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu kamar selama 18-24 jam pada suhu 37°C, lalu diamati kekeruhannya. Semua tabung uji dilakukan pengujian kembali untuk membuktikan apakah bakteri tersebut memang tidak dapat tumbuh dalam konsentrasi tersebut dengan menggunakan media VJA untuk melihat pertumbuhan bakterinya dan untuk menentukan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dari kombinasi ekstrak etanol tersebut.

E. Analisis Hasil

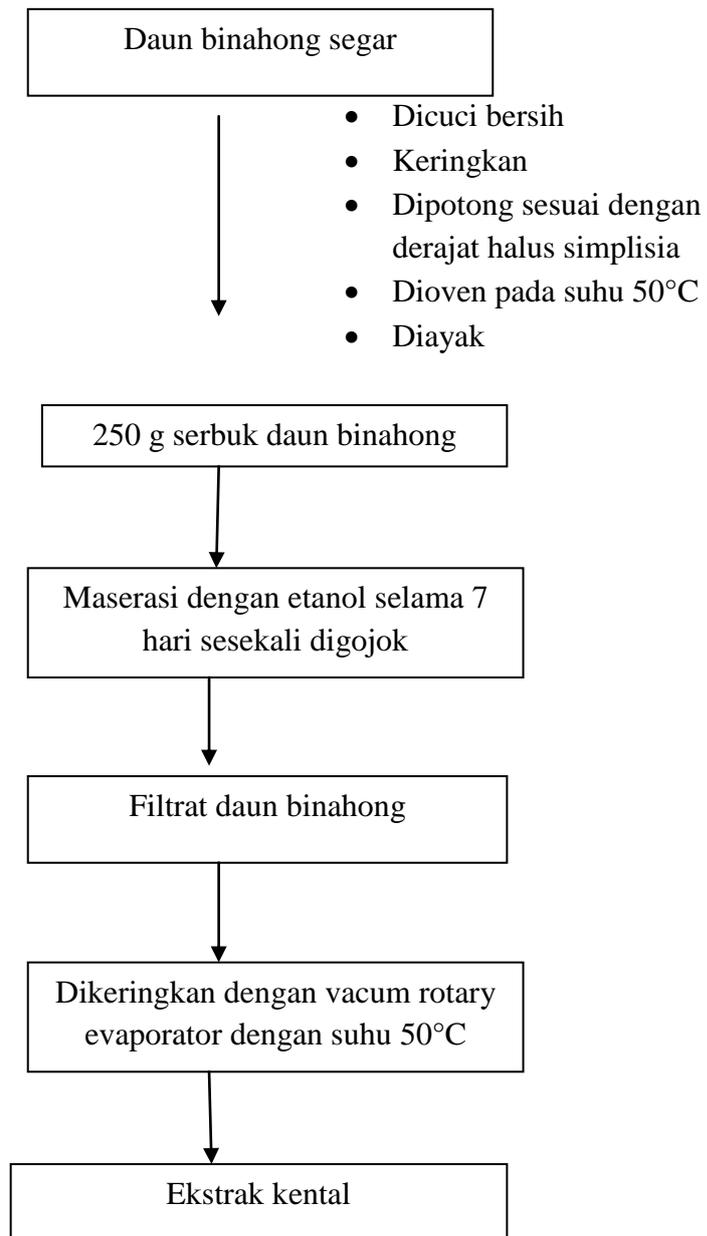
Data hasil penelitian diperoleh dengan mengukur daya hambat dilihat dari daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan adanya zona jernih disekeliling cakram yang tidak ditumbuhi bakteri, kemudian diukur diameter hambatan pertumbuhannya dari masing-masing lingkaran. Data yang diperoleh

dianalisa dengan menggunakan *Shapiro Wilk* untuk mengetahui apakah data sudah terdistribusi normal, analisa dengan *Levene Test* untuk mengetahui apakah data yang didapat sudah homogen kemudian dilanjutkan dengan *analysis of varian* (ANOVA) *two way* atau dua arah.

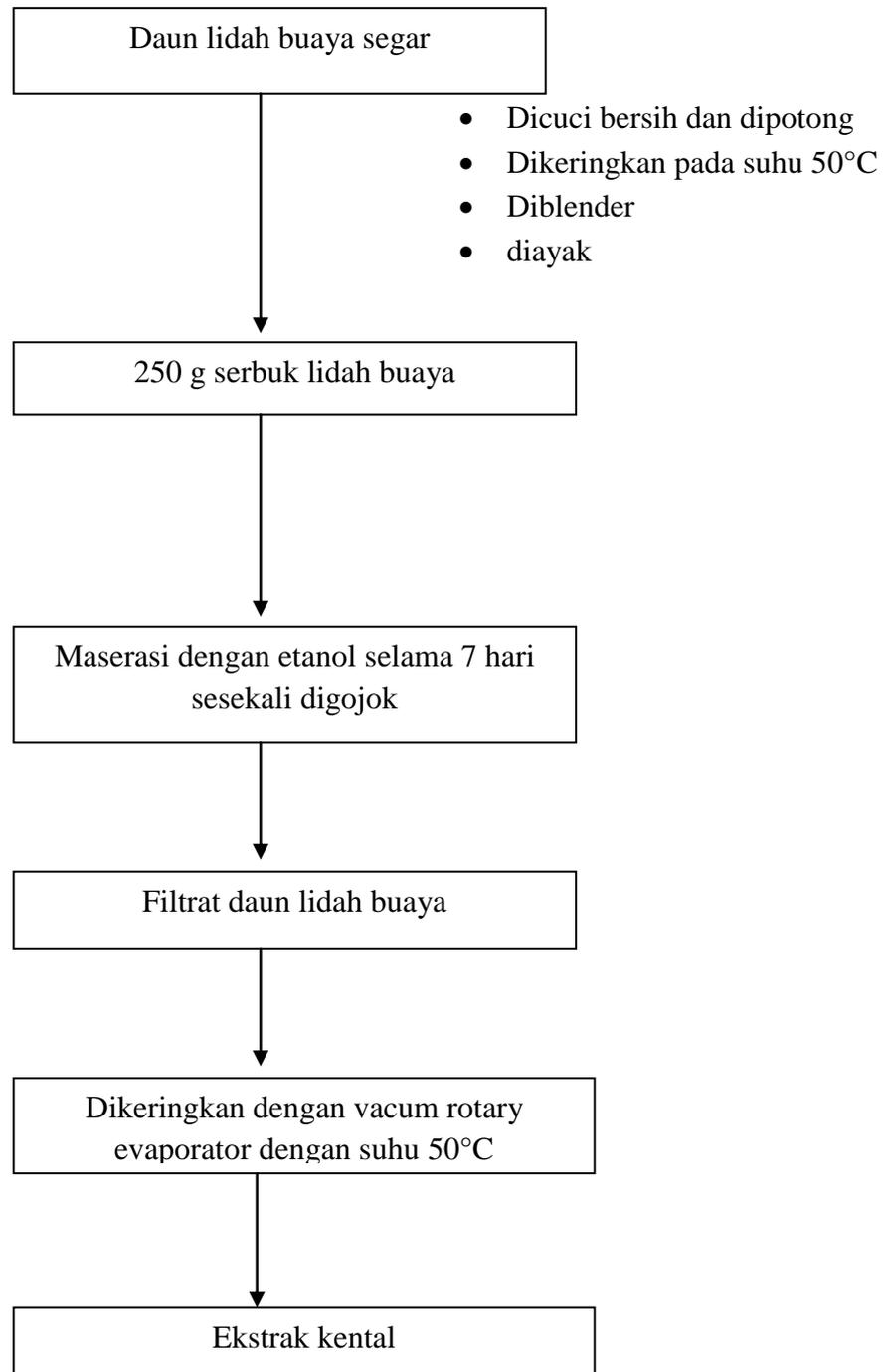
Analisis hasil yang digunakan secara dilusi adalah dengan membandingkan hasil Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya (1:1; 1:2; 2:1) dari hasil dua kali replikasi pengujian terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

F. Jadwal Penelitian

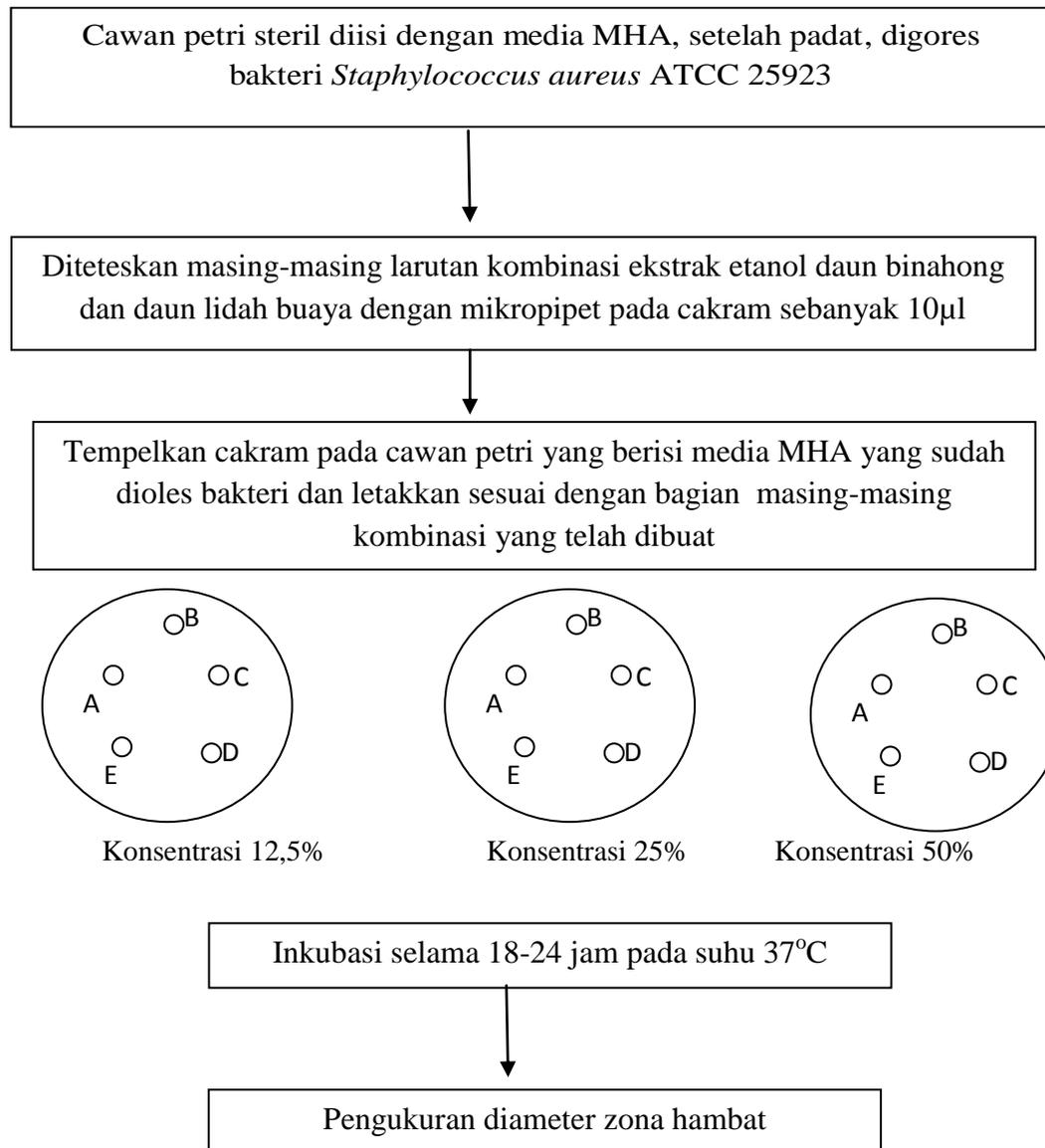
No	Jeniskegiatan	Tahun 2016			Tahun 2017			
		Okt	Nov	Des	Jan	Feb	Mar	Apr
1.	Studi Pustaka							
2.	Persiapan Penelitian							
	a. Identifikasi Tanaman							
	b. Pengambilan dan Pengeringan Bahan							
	c. Maserasi							
3.	Penelitian Laboratorium							
	a. Identifikasi Kandungan							
	b. Pengujian Aktivitas Antibakteri							
4.	Pengumpulan dan Analisis Data							
5.	Penyusunan Laporan							



Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol daun binahong



Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak etanol daun lidah buaya

**Keterangan:**

- A. Kombinasi ekstrak etanol(1:1) 1 bagian ekstrak etanol daun binahong dan 1 bagian ekstrak etanol daun lidah buaya
- B. Kombinasi ekstrak etanol (1:2) 1 bagian ekstrak etanol daun binahong dan 2 bagian ekstrak etanol daun lidah buaya
- C. Kombinasi ekstrak etanol (2:1) 2 bagian ekstrak etanol daun binahong dan 1 bagian ekstrak etanol daun lidah buaya
- D. Kontrol (+) antibiotik amoksisilin 2,5%
- E. Kontrol (-) DMSO 5%

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi Tanaman

Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas dari tanaman yang digunakan sehingga dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan benar-benar tanaman yang diinginkan. Determinasi dilakukan di UPT Universitas Setia Budi Surakarta dan memberikan hasil yaitu tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) dan daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Miller.(L) Webb). Hasil ini dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pembuatan Simplisia

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini berupa daun binahong yang diperoleh dari perkebunan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BP2TOOT) Tawangmangu dan daun lidah buaya diperoleh dari Purwomartani, Yogyakarta.

Daun binahong dan daun lidah buaya masing-masing dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel dan ditiriskan. Daun binahong dipotong-potong kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 40-50°C selama 5 hari untuk menghilangkan kandungan air dalam daun binahong segar. Kulit daun lidah buaya di sisi kanan dan kiri dibuang dan hanya menyisakan bagian tengahnya lalu dipotong kemudian dikeringkan di oven pada suhu 40-50°C selama 1 hari untuk menghilangkan kandungan air dan getah dalam daun lidah buaya. Daun binahong kering didapatkan sebesar 380 gram dan daun lidah buaya 260 gram. Simplisia daun binahong dimasukkan ke dalam mesin penyerbukan dan daun lidah buaya diblender menjadi serbuk halus, dengan tujuan untuk meningkatkan luas permukaan sampel sehingga pelarut lebih mudah masuk ke dalam sel dan menarik zat aktif yang larut untuk keluar dari sel. Hasil rendemen bobot kering daun binahong dan daun lidah buaya dapat dilihat pada tabel 1 dan perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 2.

Tabel 1. Perhitungan rendemen bobot susut pengeringan daun binahong dan daun lidah buaya

Bahan	Bobot Basah (gram)	Bobot Kering (gram)	Rendemen (%)
Daun binahong	6000	380	6,33
Daun lidah buaya	5000	260	5,2

Serbuk tersebut kemudian diayak dengan ayakan mesh 40. Menurut buku Farmakope Herbal Indonesia (2008) menyebutkan bahwa derajat kehalusan serbuk dinyatakan dengan satu nomor, dimaksudkan bahwa semua serbuk dapat melalui pengayak dengan nomor tersebut. Pemilihan ayakan mesh 40 dalam penelitian ini dimaksudkan untuk meminimalisir penyumbatan pada alat perkulator karena yang lolos ayakan mesh 40 memiliki ukuran partikel yang kecil, selain itu apabila serbuk terlalu halus maka cairan penyari tidak dapat turun hal ini disebabkan karena ruang antar sel yang merupakan jalan yang mudah dilalui oleh cairan penyari berkurang. Menurut Farmakope Herbal Indonesia Edisi I (2011) menyatakan bahwa susut pengeringan daun binahong tidak boleh lebih dari 10%, sehingga hasil susut pengeringan pada penelitian sudah sesuai dengan literatur yaitu 6,33%. Menurut Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1 (2008) menyatakan bahwa susut pengeringan daun lidah buaya tidak boleh lebih dari 94% hasil penelitian menunjukkan rendemen susut pengeringan yaitu 5,2%, maka susut pengeringan daun lidah buaya sudah sesuai dengan literatur.

2.1. Perhitungan susut pengeringan. Penetapan susut pengeringan merupakan suatu proses yang dilakukan untuk mengetahui banyaknya bagian zat yang dapat menguap dan dilakukan dengan cara pengeringan. Pengujian ini menggunakan alat *Moisture Balance*. Prinsip kerja dari alat ini yaitu pemanasan secara konstan pada sampel berupa simplisia atau ekstrak pada suhu 105°C selama beberapa waktu sehingga semua senyawa yang dapat menguap pada suhu 105°C akan teruapkan termasuk air dan minyak atsiri. Tujuan penetapan susut pengeringan untuk mengetahui batasan maksimal besarnya kandungan air di dalam bahan. Simplisia dinilai cukup aman bila nilai penetapan susut pengeringan sesuai dengan literatur untuk mencegah terjadinya pembusukan yang disebabkan oleh jamur bakteri, dan mencegah perubahan kimiawi yang menurunkan mutu

serbuk. Hasil susut pengeringan serbuk daun binahong dan serbuk daun lidah buaya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun binahong dan serbuk daun lidah buaya

Replikasi	Penimbangan (gram)		Berat akhir (gam)		Susut pengeringan (%)	
	A	B	A	B	A	B
1	2	2	1,91	1,86	3	3
2	2	2	1,93	1,95	4	5,5
3	2	2	1,92	1,93	3,9	5,3
Rata-rata					3,63	4,6

Keterangan :

- A : serbuk daun binahong
B : serbuk daun lidah buaya

Hasil penetapan susut pengeringan dilakukan tiga kali replikasi menggunakan *moisture balance*. Hasil rata-rata penetapan susut pengeringan serbuk daun binahong yaitu 3,63% hal ini sudah sesuai dengan ketentuan Farmakope Herbal Indonesia Suplemen 1 yaitu tidak lebih dari 10%. Serbuk daun lidah buaya memiliki rata-rata penyusutan yaitu 4,6% sudah sesuai dengan ketentuan Farmakope Herbal Indonesia Suplemen 1 yaitu tidak boleh lebih dari 12,5%.

3. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Binahong dan Daun Lidah Buaya

Ekstraksi terhadap serbuk daun binahong dan daun lidah buaya dilakukan menggunakan ekstraksi cara dingin, yaitu dengan maserasi. Metode ini pelarut dan sampel tidak mengalami pemanasan sama sekali sehingga maserasi merupakan teknik ekstraksi yang dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas ataupun tahan panas.

Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% pemilihan pelarut tersebut dikarenakan etanol dengan kadar 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut ke dalam cairan pengekstraksi (Voigt 1995).

Ekstrak yang telah dimaserasi, dipisahkan dengan *vacum rotary evaporator*. Prinsip *vacum rotary evaporator* yaitu pada penurunan tekanan sehingga pelarut dapat menguap pada suhu dibawah titik didih dan terpisah dari sumbernya dengan pemanasan secara vakum. *Vacum rotary evaporator* mampu

menguapkan pelarut dibawah titik didih sehingga zat yang terkandung di dalam pelarut tidak rusak oleh suhu yang tinggi. Maserat kemudian dikeringkan hingga terbentuk ekstrak kental. Hasil ekstrak kental dihitung sebagai rendemen ekstrak. Berikut tabel hasil rendemen ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya.

Tabel 3. Rendemen ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya

Bahan	Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak kental (gram)	Rendemen (%) b/v
Daun binahong	250	33,724	1,50
Daun lidah buaya	250	34,875	1,48

Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun binahong dihasilkan persen rendemen sebesar 1,50 % hasil ini memiliki jumlah yang lebih sedikit dibandingkan dengan penelitian Desri Herawati *et al* (2017) yang memiliki rendemen sebesar 3,04%. Hasil ini sudah sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia Suplemen II (2011) yang menyatakan bahwa rendemen ekstrak daun binahong tidak kurang dari 11,91%. Rendemen ekstrak etanol daun lidah buaya dihasilkan sebesar 1,48% hasil ini melebihi rendemen yang ditetapkan dalam Farmakope Herbal Indonesia (2010) yaitu rendemen ekstrak lidah buaya sebesar 0,4% hal ini disebabkan kemungkinan adanya kandungan etanol di dalam ekstrak masih ada.

4. Uji bebas etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk membuktikan bahwa tidak ada kandungan etanol yang terdapat dalam ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya. Dengan demikian hasil pada aktivitas antibakteri murni karena pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya bukan karena senyawa pelarut etanol pada ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya. Hasil uji menunjukkan hasil tidak adanya bau eter yang khas (seperti bau balon) Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji bebas etanol

Bahan yang diujikan	Pereaksi	Hasil pengujian
Ekstrak daun binahong	Ekstrak + H ₂ SO ₄ pekat+ CH ₃ COOH dipanaskan	Tidak terbentuk bau eter yang khas (seperti bau balon)
Ekstrak daun lidah buaya	Ekstrak + H ₂ SO ₄ pekat+ CH ₃ COOH dipanaskan	Tidak terbentuk bau eter yang khas (seperti bau balon)

5. Uji Organoleptis dan Fitokimia Serbuk dan Ekstrak

1.1 Uji organoleptis. Digunakan untuk mengetahui bentuk, bau, warna, dan rasa dari serbuk dan ekstrak tanaman yang diteliti sehingga dapat dipastikan tanaman yang digunakan adalah benar dan sesuai dengan literatur.

Tabel 5. Hasil pengujian organoleptis serbuk daun binahong dan daun lidah buaya

Sampel uji	Variabel	Hasil pengujian	Literatur (DepKes RI 2011)
Serbuk daun binahong	Bentuk	Serbuk	Serbuk
	Bau	Khas	Khas
	Warna	Hijau tua	Hijau tua
	Rasa	Pahit	Pahit dan sepat
Serbuk daun lidah buaya	Bentuk	Serbuk	Serbuk
	Bau	Khas	Khas
	Warna	Coklat tua	Coklat tua
	Rasa	Tawar	Tawar

Tabel 6. Hasil pengujian organoleptis ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya

Sampel uji	Variabel	Hasil pengujian	Literatur
Ekstrak etanol daun binahong	Bentuk	Ekstrak kental	Ekstrak kental
	Bau	Khas	Khas
	Warna	Hijau tua kehitaman	Hijau tua
	Rasa	Pahit	Pahit
Ekstrak etanol daun lidah buaya	Bentuk	Ekstrak kental sulit diambil	Ekstrak kental sulit diambil
	Bau	Khas	Khas
	Warna	Coklat kehitaman	Coklat kehitaman
	Rasa	Tawar	Tawar

Pemeriksaan organoleptik yang dilakukan pada serbuk daun binahong dan daun lidah buaya dibandingkan dengan literatur yang ada dan terbukti bahwa hasil pengujian warna dan rasa yang dimiliki oleh serbuk daun binahong telah sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Widya Selawa *et al* (2013) yang menyatakan bahwa warna pada sampel daun binahong segar masih terlihat cerah sebab tidak mengalami proses pengolahan lebih lanjut. Hal ini sejalan dengan pendapat Winarno *et al* (1980) yaitu proses pengeringan menyebabkan pigmen warna menjadi rusak dan berkurang, sampel segar memiliki kandungan air masih tinggi sehingga kandungan cairan masih besar yang membuat tekstur sampel halus dan lembab.

1.2 Uji Fitokimia. Identifikasi kandungan senyawa merupakan suatu pengujian pendahuluan terhadap serbuk maupun ekstrak untuk mengetahui

kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalamnya sebelum dilakukan pengujian lebih lanjut. Kandungan yang diujikan terhadap serbuk dan ekstrak dari daun binahong dan daun lidah buaya meliputi flavonoid, tanin, alkaloid, minyak atsiri, saponin, dan antrakuinon untuk daun lidah buaya. Hasil pengujian kandungan serbuk dan ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji fitokimia serbuk dan ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya

Kandungan	Pereaksi	Pustaka	Daun binahong		Daun lidah buaya	
			Serbuk	Ekstrak	Serbuk	Ekstrak
Flavonoid	Larutan uji + serbuk Mg+HCl pekat	Warna merah jingga sampai merah ungu (DepKes RI 1995)	+	+	+	+
Tanin	Larutan uji direaksikan dengan larutan FeCl ₃ 10%	Warna hitam kebiruan atau hijau (Robinson 1991)	+	+	+	+
Alkaloid	Larutan uji diuapkan lalu ditambah HCl 2N dibagi 3 tabung. Tabung 1 sebagai blanko. Tabung 2 + reagen Dragendorf. Tabung 3 + reagen Meyer	Tabung 2 terbentuk endapan jingga dan tabung 3 terbentuk endapan kuning (Farmworth 1996).	+	+	+	+
Minyak atsiri	Larutan uji diuapkan diatas cawan porselen hingga diperoleh residu.	Bau khas (Ciulei 1984)	+	+	+	+
Saponin	Larutan uji dipanaskan, kocok dengan kuat + 1 tetes HCl 2N.	Positif busa masih terbentuk selama 10 menit setelah penetesan HCl 2N (DepKes RI 1989).	+	+	+	+
Antrakuinon	200 mg sampel ditambah 5ml H ₂ SO ₄ 2N, panaskan, dinginkan. Tambahkan 10 ml benzen, kocok, diamkan. Lapisan benzena disaring.	Filtrat berwarna kuning, menunjukkan adanya antrakuinon tambahkan 1-2ml NaOH 2N, kocok, diamkan. Lapisan air berwarna merah intensif dan lapisan benzena tidak berwarna (DepKes RI, 1989)	-	-	+	+

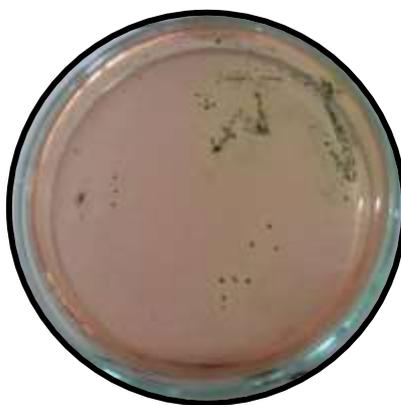
Keterangan : + : ada senyawa
- : tidak ada senyawa

Berdasarkan Tabel 7 dapat dilihat bahwa hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol daun binahong positif mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, minyak atsiri, dan saponin. Hal tersebut sesuai dengan hasil dari literatur yang menyebutkan bahwa kandungan daun binahong adalah flavonoid,

tanin, saponin, dan alkaloid (Samirana *et al* 2014; Rochani 2009; Rachmawati 2009; Hidayati 2009; Sumartiningsih 2011). Hasil pada serbuk dan ekstrak daun lidah buaya juga positif mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan antrakuinon (Purbaya 2003; Furwanthi 2004; Bradford PG 2007; Aviello G *et al* 2010).

6. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

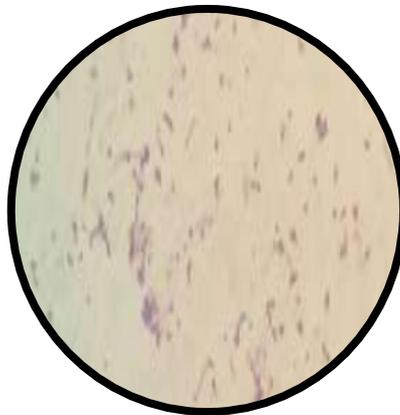
6.1. Identifikasi morfologi *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan media *Vogel Johnson Agar*. Identifikasi dilakukan dengan cara menggoreskan inokulasi suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media *Vogel Johnson Agar* yang telah ditetesi dengan kalium telurit 1% sebanyak 2-3 tetes. Media yang telah berisi dengan bakteri kemudian diinkubasi selama 18-24 jam. Hasil setelah diinkubasi selama 18 jam adalah timbul koloni berwarna hitam dengan media disekitarnya berubah menjadi warna kuning muda. Warna hitam pada koloni karena bakteri mereduksi kalium telurit, sedangkan warna kuning pada media disebabkan adanya fermentasi manitol sehingga dalam kondisi asam media menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua. Hasil dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Hasil dengan menggunakan media selektif *Vogel Johnson Agar*

6.1. Pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram berguna untuk membedakan Gram positif dan Gram negatif. Pengamatan pada penelitian pewarnaan bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa bentuk isolat adalah bergerombol seperti buah anggur. Pada gambar 5 menunjukkan adanya koloni yang bergerombol berwarna ungu. Bakteri Gram positif mampu mempertahankan zat warna utama dalam pewarnaan Gram yaitu, *Gentian violet*, sehingga tampak

berwarna ungu, saat pengamatan dinding sel yang tersusun atas peptidoglikan mampu mengikat warna ungu dan tidak rusak saat dicuci dengan alkohol.



Gambar 5. Pewarnaan bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus*

6.2. Uji biokimia. Uji biokimia dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologinya. dengan uji katalase dan uji koagulase. Proses biokimia erat kaitannya dengan metabolisme sel yakni selama reaksi kimia yang dilakukan oleh sel yang menghasilkan energi maupun yang menggunakan energi untuk sintesis komponen-komponen sel dan untuk kegiatan seluler, seperti pergerakan (Petczar *et al* 2010). Uji biokimia untuk *S. aureus* adalah uji katalase dan uji koagulase.

6.3.1. Uji koagulase. Dilakukan dengan mengambil sebanyak 0,2-0,3 ml suspensi bakteri *S. aureus* yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam media BHI kedalam tabung steril kemudian ditambahkan dengan 5ml koagulase plasma lalu divortex hingga tercampur. Diamati tiap jam selama 4 jam, terjadi penggumpalan dari denaturasi plasma. *S. aureus* menghasilkan koagulase yaitu suatu protein yang mirip enzim yang dapat menggumpalkan plasma yang telah diberi oksalat atau sitrat dalam serum. Serum yang bereaksi dengan koagulase untuk menghasilkan enterase dan menyebabkan aktivitas pembekuan. Koagulase dapat mengendapkan fibrin pada permukaan *S. aureus* sehingga terbentuklah gumpalan apabila *S. aureus* dinyatakan positif. Hasil penggumpalan tidak terlihat dengan jelas, maka dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x terlihat hasil pada Gambar . 6.



Gambar 6. Hasil koagulasi

6.3.2. Uji katalase. Dilakukan dengan mengambil satu ose inokulum *S. aureus* kemudian diletakkan pada kaca arloji yang telah disterilkan, kemudian ditetesi dengan H_2O_2 hingga terjadi gelembung udara. Hasil positif ditandai adanya gelembung udara karena H_2O_2 bersifat toksik bagi bakteri, sehingga *S. aureus* akan menghasilkan enzim katalase untuk menetralkan H_2O_2 menjadi H_2 dan O_2 maka terbentuk gelembung. Hasil dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Hasil katalase

7. Pembuatan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Binahong dan Daun Lidah

Buaya

Pembuatan ekstrak kombinasi dibuat dengan mengkombinasikan ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya dengan perbandingan 1:1, 1:2, 2:1. Kombinasi antara kedua ekstrak dibuat dengan menimbang masing-masing ekstrak kedalam vial yang sudah disterilkan sesuai dengan perbandingannya yang nantinya akan diencerkan dengan DMSO 5% sesuai dengan konsentrasinya. Pada perbandingan 1:1 mengandung ekstrak daun binahong 2 gram dan ekstrak daun lidah buaya 2 gram. Perbandingan 1:2 mengandung 1,33 gram ekstrak daun binahong dan 2,67 gram ekstrak daun lidah buaya. Perbandingan 2:1 mengandung 2,67 gram ekstrak daun binahong dan 1,33 gram ekstrak daun lidah buaya.

Penggunaan DMSO 5% dengan konsentrasi tersebut mampu melarutkan ekstrak sehingga kandungan yang ada pada kedua ekstrak yang dikombinasikan dapat larut dan dapat berinteraksi dengan bakteri uji pada uji difusi dan dilusi serta tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri uji. Perhitungan kombinasi ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 4.

8. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun binahong tunggal dan daun lidah buaya tunggal terhadap *Staphylococcus aureus* secara difusi

Penelitian terhadap daya hambat pada ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya dilakukan secara tunggal untuk mengetahui apakah keduanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*. Penelitian ini menggunakan metode difusi *Kirby Bauer* dengan cara meletakkan *blank disk* yang telah ditetesi dengan mikro pipet sebanyak 20 μ l lalu diletakkan pada media uji yaitu *Mueller Hinton Agar* yang sudah digores dengan suspensi bakteri diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Proses difusi dilakukan replikasi sebanyak tiga kali untuk memastikan ada tidaknya pertumbuhan bakteri yang dibuktikan dengan adanya zona hambat atau daerah disekitar *blank disk* yang berwarna lebih terang. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun binahong tunggal dan daun lidah buaya tunggal dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun binahong tunggal dan daun lidah buaya tunggal

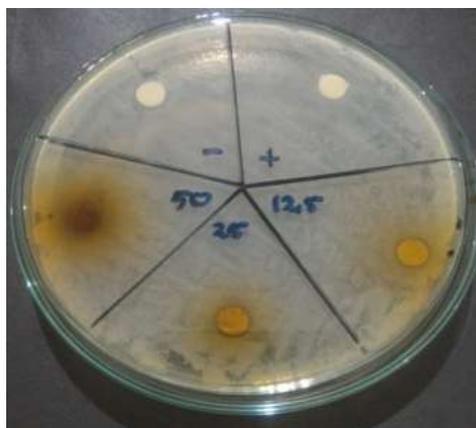
Ekstrak	Konsentrasi	Diameter hambat (mm)			Rata-rata (mm)	SD
		Replikasi				
		I	II	III		
Ekstrak tunggal etanol daun binahong	50%	10	10	10	10	0,00
	25%	9	9	9	9	0,00
	12,5%	9	8	8	8,33	0,58
Ekstrak tunggal etanol daun lidah buaya	50%	10	10	9	9,67	0,58
	25%	8	9	9	8,67	0,58
	12,5%	7	7	7	7	0,00
Kontrol positif (Amoxicillin 2,5%)	50%	25	25	25	25	0,00
	25%	24	24	23	23,67	0,58
	12,5%	24	23	23	23,33	0,58
Kontrol negatif (DMSO 5%)	50%	0	0	0	0	0,00
	25%	0	0	0	0	0,00
	12,5%	0	0	0	0	0,00

Dari hasil pengamatan diatas, ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dilihat dari besar zona hambat. Ekstrak etanol daun binahong pada konsentrasi 50% memiliki daya hambat paling besar yaitu 10 mm. Kontrol positif yang digunakan yaitu amoxicillin 2,5%, sebab pada pengujian sebelumnya menggunakan amoxicillin *disk* dengan konsentrasi 1% tidak memberikan daya hambat terhadap bakteri uji.

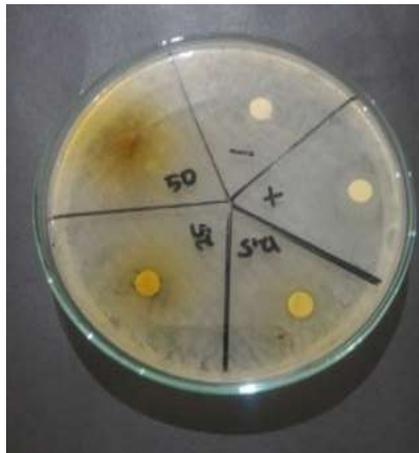
Hasil analisis data dengan menggunakan *spss* dapat disimpulkan bahwa konsentrasi dan daya hambat memiliki nilai yang normal dan homogen dengan nilai sig $0,37 > 0,05$. Hal ini ditunjukkan pada Lampiran 4.

Pada uji Anova One Way dinyatakan bahwa daya hambat berpengaruh dengan konsentrasi, hal ini dibuktikan dengan adanya nilai Sig $0,97 > 0,05$. Hal ini ditunjukkan pada lampiran 5.

Menurut penelitian Nur Alim natsir (2013) ekstrak etanol daun lidah buaya memiliki daya hambat antibakteri terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 25% sebesar 1,36 mm, 30% sebesar 1,6 mm, dan 35% sebesar 0,94 mm. Ekstrak etanol daun binahong pada penelitian Sovey Maribton (2015) menyatakan bahwa zona bening sebesar 8,6 mm didapatkan pada konsentrasi 25mg/ml. Hasil dari penelitian ini sudah melebihi hasil yang ada pada penelitian sebelumnya, sehingga mnjadi dasar acuan untuk membuat kombinasi antara ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya. Hasil pengujian dapat dilihat pada Gambar 8 dan Gambar 9.



Gambar 8. Hasil pengujian difusi ekstrak etanol daun lidah buaya



Gambar 9. Hasil pengujian difusi ekstrak etanol daun binahong

9. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap *Staphylococcus aureus* secara difusi

Ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya secara maserasi diuji secara mikrobiologi dengan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 29253. Pada penelitian ini menggunakan metode dengan menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian ditekan-tekan pada dinding tabung bertujuan agar bakteri tidak terlalu banyak menempel pada kapas lidi, lalu dioleskan pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) sampai rata dengan cara diputar 60° pada setiap sisi cawan petri. *Blank disk* diteteskan sebanyak 10 μ l dengan ekstrak dengan masing-masing perbandingan yaitu perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 pada konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% . *Blank disk* diletakkan dalam media yang telah berisi bakteri uji, kemudian diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya. Area jernih yang menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba. Amoxicillin digunakan sebagai kontrol positif sebesar 25mg/ml dan DMSO 5% sebagai kontrol negatif. Media yang digunakan adalah media MHA sebab media ini telah direkomendasikan oleh FDA dan WHO untuk tes antibakteri terutama bakteri aerob dan bakteri anaerob untuk makanan dan materi klinis. Media agar ini juga telah memberikan hasil yang baik dan reproduibel. Hasil penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap *Staphylococcus aureus* secara difusi

Konsentrasi	Sampel Uji	Diameter Daya Hambat(mm)			Rata-rata (mm)	SD
		Replikasi				
		I	II	III		
50%	Perbandingan 1:1	20	19	20	19,67	0,58
	Perbandingan 1:2	14	14	14	14,00	0,58
	Perbandingan 2:1	15	15	14	14,67	0,58
	Kontrol positif (Amoxicillin 2,5%)	22	22	22	22,00	0,00
	Kontrol negatif (DMSO5%)	0	0	0	0	00
25%	Perbandingan 1:1	14	14	14	14,00	0,00
	Perbandingan 1:2	10	10	9	9,67	0,58
	Perbandingan 2:1	12	12	12	12,00	0,00
	Kontrol positif (Amoxicillin 2,5%)	22	22	23	22,67	0,58
	Kontrol negatif (DMSO 5%)	0	0	0	0	0,00
12,5%	perbandingan 1:1	12	12	12	12,00	0,00
	perbandingan 1:2	8	8	7	7,67	0,58
	perbandingan 2:1	9	10	10	9,67	0,58
	kontrol positif (Amoxicillin 2,5%)	21	22	21	20,67	0,58
	kontrol negatif (DMSO 5%)	0	0	0	0	0,00

Tabel diatas menunjukkan hasil kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang ditandai dengan adanya zona bening disekitar disk. Kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya dengan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 dengan konsentrasi 50 mg/ml, 25 mg/ml, dan 12,5 mg/ml.

Hasil uji normalitas dengan menggunakan *Shapiro Wilks* menunjukkan bahwa daya hambat terdistribusi normal dengan perbandingan dengan hasil sig yaitu $0,64 > 0,05$ sehingga konsentrasi dan perbandingan terdistribusi normal terhadap daya hambat. Pada uji homogenitas, data daya hambat, konsentrasi, dan perbandingan sampel uji memiliki nilai signifikansi $0,360 > 0,05$ maka dapat disimpulkan mempunyai varian yang sama. Data daya hambat pada variasi perbandingan terdistribusi normal dan memiliki hasil yang homogen kemudian dilanjutkan dengan analisis ANOVA two way, perbandingan sampel uji pada table test of between subjects effect memiliki nilai sebesar 4019,733 dengan nilai

signifikansi 0,000 adalah kurang dari 0,05 ($0,00 < 0,05$) maka dapat dikatakan bahwa untuk masing-masing perbandingan memiliki rata-rata hasil daya hambat yang berbeda. Nilai F hitung konsentrasi sebesar 439,200 dengan nilai signifikansi sebesar 0,00 adalah kurang dari 0,05 ($0,000 < 0,05$) maka dikatakan bahwa untuk tiap-tiap konsentrasi memiliki hasil daya hambat yang berbeda. Hasil dari perbandingan sampel uji dan konsentrasi memiliki perbedaan dapat dilihat pada Lampiran 12. Untuk melihat perbedaan antar perbandingan maka dilanjutkan dengan uji Tukey untuk melihat perbedaannya.

Hasil output berupa subsets yang berisi nilai rata-rata daya hambat yang dihasilkan pada masing-masing perbandingan sampel uji dan konsentrasi. Pada subsets tabel konsentrasi, didapatkan rata-rata daya hambat paling besar pada konsentrasi 50%. Pada subsets tabel perbandingan didapatkan hasil daya hambat paling besar perbandingan 1:1 dibandingkan dengan perbandingan lainnya.

Uji aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya pada konsentrasi 50% dengan perbandingan 1:1 memiliki efek adisi, karena hasil diameter zona hambat rata-rata yang didapatkan hampir sama dengan tanpa kombinasi. Perbandingan kombinasi dengan perbandingan 1:2 bersifat sinergis, karena hasil diameter daya hambat antara kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol daun binahong tunggal dan daun lidah buaya tunggal, sehingga hasilnya dapat saling menguatkan. Kombinasi dengan konsentrasi 50% dengan perbandingan 1:1 ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya memiliki daya hambat paling besar terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hal ini disebabkan karena kandungan daun binahong mempunyai senyawa aktif flavonoid, saponin, dan tanin serta daun lidah buaya yang memiliki senyawa antrakuinon.

Flavonoid sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang dapat mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Juliani 2008). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan

naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Nuria *et al* 2009). Menurut Cavalieri *et al* (2005) senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu kestabilan. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma berifat bakterisida.

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse* transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Robinson 1991). Tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan merusak membran sel bakteri, senyawa astringen tanin dapat menginduksi pembentukan ikatan senyawa kompleks terhadap enzim atau substrat mikroba pembentukan ikatan senyawa kompleks terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu ikatan kompleks tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri (Akiyama *et al* 2001). Ajizah (2004) menjelaskan, aktivitas antibakteri senyawa tanin adalah dengan cara mengkerutkan dinding sel atau membran sel, sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Hasil diameter daya hambat mempengaruhi konsentrasi semakin tinggi konsentrasi maka daya hambat yang dihasilkan semakin besar.

Hasil uji aktivitas perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 kemudian dibandingkan dengan antibiotik yaitu amoxicillin. Mekanisme kerja dari antibiotik amoxicillin dengan mengikat *trans-penicillin-binding protein* (PBP) dan karboksipeptidase yang terdapat dalam formasi rantai peptidoglikan pada membran dalam bakteri. Hasil interaksi antara PBP dengan antibiotik amoxicillin dapat mengganggu sintesis peptidoglikan, menghentikan pembelahan sel, dan sel mati. Ikatan antibiotik dengan PBP dipengaruhi oleh afinitas dari β -laktam terhadap *active-site* PBP. Dalam hal ini dapat diketahui bahwa yang memberikan aktivitas antibakteri dari antibiotik β -laktam adalah cincin β -laktam (Rubisova *et al* 2010).

Kontrol negatif dalam pengujian aktivitas antibakteri menggunakan DMSO 5% Pelarut DMSO digunakan sebagai kontrol negatif yang merupakan

bahan alami dari serat kayu dan tidak berbahaya, berfungsi sebagai pelarut yang cepat meresap di dalam epitel ekstrak tanpa merusak sel-sel tersebut dan sering digunakan dalam bidang kedokteran dan kesehatan.

10. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap *Staphylococcus aureus* secara dilusi

Ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya setelah diuji dengan metode difusi dilanjutkan uji aktivitas antibakterinya dengan metode dilusi. Pengujian dilakukan terhadap kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya pada perbandingan 1:1 sebab pada perbandingan 1:1 didapatkan zona hambat terbesar pada metode difusi dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,781%; 0,391%; dan 0,195%. Kontrol positif yang digunakan berupa bakteri uji *Staphylococcus aureus* dalam media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kontrol negatif berupa larutan kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya yang ditempatkan pada tabung steril yang sudah disterilkan. Metode ini dapat menghasilkan dua data yaitu data Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

10.1. Penetapan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum). Penetapan KHM dilakukan dengan melihat dari kejernihan dari tabung yang berisi zat uji. Namun, pengujian pada penelitian ini menggunakan ekstrak yang umumnya berwarna gelap dan keruh walaupun sudah diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan, sehingga hasil Konsentrasi Hambat Minimum tidak dapat ditetapkan dan data yang ditetapkan adalah data Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) saja. Konsentrasi Bunuh Minimum adalah kemampuan sampel bahan uji yang digunakan untuk membunuh bakteri dengan konsentrasi terkecil. Semakin kecil konsentrasi yang dihasilkan maka semakin besar kemampuan dalam membunuh bakteri. Penetapan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan dengan menginokulasikan cairan dari tabung pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditambahi dengan 2-3 tetes kalium telurit 1% diinkubasi dengan suhu 37°C selama 18-24 jam. Hasil dilihat dan apabila tidak terdapat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi tertentu maka nilai KBM dapat

ditentukan Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap *Staphylococcus aureus* secara dilusi

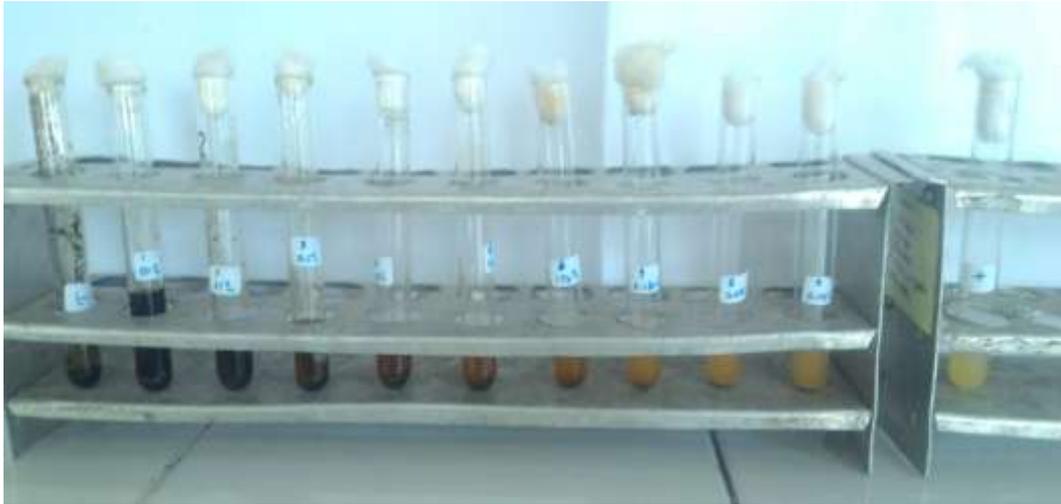
No.	Konsentrasi (% ^b / _v)	Kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah perbandingan 1:1	
		Replikasi	
		I	II
1.	Kontrol (-)	-	-
2.	50	-	-
3.	25	-	-
4.	12,5	-	-
5.	6,25	-	-
6.	3,125	-	-
7.	1,56	+	+
8.	0,781	+	+
9.	0,391	+	+
10.	0,195	+	+
11.	Kontrol (+)	+	+

Keterangan :

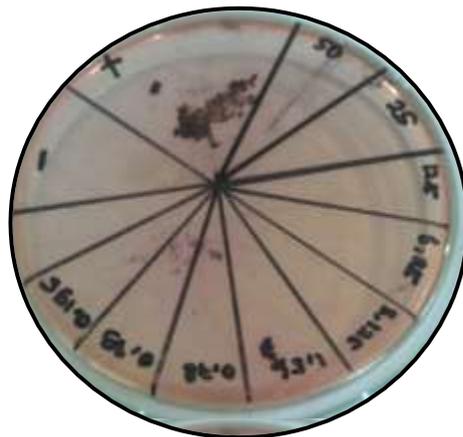
- (-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri
- (+) : Ada pertumbuhan bakteri
- Kontrol (-) : laruta stok (ekstrak kombinasi)
- Kontrol (+) : Suspensi bakteri + BHI
- Tabung 2-10 : Larutan uji dan suspensi bakteri

Pertumbuhan bakteri *S. aureus* ditandai dengan koloni berbentuk kokus berwarna hitam dengan pinggiran berwarna kuning. Warna tersebut muncul karena bakteri *S. aureus* mampu meragikan maintol pada media VJA.

Pengujian terhadap kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya pada perbandingan 1:1 menggunakan seri konsentrasi mulai dari 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,781%; 0,391%; dan 0,195% dengan melakukan replikasi 2 kali. Pada replikasi pertama, hasil pengujian pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 sedangkan pada konsentrasi 1,56%, 0,781%, 0,391%, dan 0,195% terdapat pertumbuhan bakteri. Hal yang sama juga ditunjukkan pada replikasi kedua, maka dapat ditetapkan bahwa nilai Konsentrasi Bunuh Minimum dari kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya adalah 3,125%. Konsentrasi Bunuh Minimum yang dihasilkan karena adanya senyawa aktif yang terdapat di dalam kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya yaitu antrakuinon, saponin, tanin, flavonoid dan minyak atsiri. Hasil dapat dilihat pada gambar 10 dan gambar 11.



Gambar 10. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap *Staphylococcus aureus* secara dilusi



Gambar 11. Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya terhadap *Staphylococcus aureus* secara dilusi pada media VJA

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian uji aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan ekstrak etanol daun lidah buaya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah :

Pertama, ekstrak etanol tunggal dan kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan ekstrak etanol daun lidah buaya pada perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5%.

Kedua, kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan ekstrak etanol daun lidah buaya dengan perbandingan 1:1 pada konsentrasi 50% memiliki daya hambat sebesar 19,67 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan ekstrak etanol daun lidah buaya dengan perbandingan 1:1 memiliki Konsentrasi Bunuh Minimum sebesar 3,125 % terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan ekstrak etanol daun lidah buaya terhadap bakteri patogen lain.

Kedua, perlu dilakukan penelitian secara *in vivo* guna melihat efek komplementer yang ditimbulkan dari pengkombinasian ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya pada perbandingan 1:1.

DAFTAR PUSTAKA.

- Agarry OO, Olaleye MT, Bello-Micheal CO. 2005. *Comparative antimicrobial activities of Aloe barbadensis Miller gel and Leaf*. Afr. J. Biotechnol., edisi 12 halaman 1413-1414.
- Akiyama, H., K. Fujii., O. Yamasaki., T. Oono., dan K. Iwatsuki. 2001. Antibacterial Action of Several Tannin against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. edisi 48 halaman 487 – 491.
- Ani Umar, Dwi Krihariyani, Diah Titik Mutiarawati. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia (Ten) Steenis*) terhadap Kesembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* pada mencit.
- Ansel. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Penerjemah: Farida Ibrahim. Jakarta; UI Press. Terjemahan dari: Introduction of Pharmaceutical Dosage Forms.
- Arman, C., & David, P. 2010. Aktivitas Antimikroba Daun Binahong Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* yang Sering Menjadi Penyulit pada Penyembuhan Luka Bakar.
- Barnes, J., L. A. Anderson and J. D. Philipson. 1996. *Herbal Medicine*, 2nd edition. Pharmaceutical Press. London.
- Bonang, gerad, S Koesardono, Enggar. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan klinik*. PT Gramedia.
- Bradford PG, Awad AB . 2007. *Phytosterols as anticancer compounds*. Mol Nutr Food Res edisi 51 halaman 161–170.
- Brooks, G.F., J.S. Butel, and L.N. Ornston. 2005. *Medical Microbiology*. 4th ed. Conecticut: Appleton & Lange, Simon & Schuster Company. p.197-202.
- Cavaliere, S.J., I.D. Rankin., R.J. Harbeck., R.S. Sautter., Y.S. McCarter., S.E. Sharp., J.H. Ortez., dan C.A. Spiegel. 2005. *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. American Society for Microbiology, USA.
- De Abreu, L., N. J. Shackleton, J. Schoenfeld, M. Hall, and M. Chapman (2003), Millennial-scale oceanic climate variability off the western Iberian margin during the last two glacial periods, Mar. Geol., 196, 1 – 20
- DepKes RI. 1985. *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI. 1989. *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI. 1995. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Depkes RI. 2006. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (VI)*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Balai Penelitian Tanaman Obat.
- DepKes RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI. 2010. *Farmakope Herbal Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI. 2011. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI. 2011. *Farmakope Herbal Indonesia Suplemen II*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dzulkarnain B, Sundari Dian, Chosin Ali, 1996. *Tanaman Obat Bersifat Antibakteri di Indonesia*. Cermin Dunia Kedokteran. Hal 35-48.
- Fatemeh Nejatzadeh, Barandozi. 2013. *Antibacterial activities and antioxidant capacity of Aloe barbadensis Miller*. Organic and Medicinal Chemistry Letters edisi 3.
- Fransworth, N.R., 1966, *Review Article: Biological and phytochemical screening of plants*, J. of Pharm. Sci., edisi 3 halaman 245-264
- Friska Makalunsenge, Yuszda K. Salimi, Suleman Duengo. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo.
- Furnawanthi, I. 2004. Khasiat dan Manfaat Lidah Buaya Si Tanaman Ajaib. Agro Media Pustaka. Jakarta. Hal 1-21.
- Ganiswara, S. G. Setiabudy, R. Suyatna, F.D. Purwastyastuti, Nafraldi. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Jakarta. FK UI.
- Gunawan, D dan Mulyani, S. 2004. Farmakognosi. Swadaya, Jakarta.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi ke dua. ITB. Bandung.
- Hasiholan, Anju DP. 2012. Isolasi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik senyawa dari Ekstrak Daun *Garciana homobrohiana Peirre*. Universitas Indonesia.

- Hidayat, I. 2009. Uji Aktivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*(Ten.) Steenis) Sebagai Penyembuh Luka Bakar pada Kulit Punggung Kelinci (Skripsi). Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah.
- Ihedioha, J. N. and Okoye, C. O. B. 2013. *Levels of some trace metals (Zn, Cr and Ni) in the muscle and internal organs of cattle in Nigeria*. Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal 19 edisi 4 halaman 989-998
- Irene Edith Rieuwpassa, Rahmat, Karlina. 2011. Daya hambat ekstrak Aloe barbadensis Miller terhadap pertumbuhan *S. aureus* (*studi in vitro*). Universitas Hasanudin Makasar.
- Jatnika, A & Saptoningsih. 2009. 1001 Obat Herbal, cet. 1. Jakarta: Agro Media Pustaka
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi XXII*. diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Halaman 211-215.
- Khunaifi, M. 2010. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) steenis) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Pseudomonas Aeruginosa*. Terdapat pada <http://lib.uin-malang.ac.id/fullchapter/03520025.pdf>. Diakses pada tanggal 13 Maret 2017.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida (Makalah). Fakultas Matematika dan Ilmu Alam. Universitas Sumatera Utara.
- Mattila, P., dan Helstrom, J. 2006. *Original Article : Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products*. J. of FoodComposition and Analysis edisi 20. Halaman 152-160
- Muhammad Titis B.M, Dra. Enny Fachriyah,M.Si, Dra. Dewi Kusriani, M.Si. 2013. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). Fakultas Kimia Universitas Diponegoro Semarang.
- Nur Alim Natsir. 2013. Pengaruh Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe barbadensis Miller*) sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Fakultas Biologi IAIN Ambon.
- Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus*

aureus ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu – ilmu Pertanian*. edisi 5 halaman 26 – 37.

- Olezek., Price KR, Colquhoun, IJ, Jurizta, M, Ploszynski, M and Fenwick, GR. 2002. Isolation and Identification of Alfalfa (*Medicago sativa* L) root saponins; their activity in relation to a fungal bioassay. *J Agric, Food chem.*, edisi 38 halaman 1810-1817.
- Paz, E. Alonso, Cerdeiras, M.P, Fernandez J, Ferreira, F, Moyna, P, Soubes, M, Yfrzquez, A, Vero, S, Zunino, L. 1994. *Screening of Uruguayan medicinal plants for antimicrobial activity*. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol 45 (1995); hal: 67-70.
- Pramono, S. 2006. Penanganan pascapanen dan penga-ruhnya terhadap efek terapi obat alami. Prosiding 39 Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXVIII, Bogor, 15-18 Sept. 2005. Hal 1-6.
- Rachmawati, S., 2008, Study Makroskopi, Mikroskopi dan Skrining Fitokimia Daun *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, *Thesis*, Airlangga University, Surabaya
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke enam, Departement of Biochemistry University of Massachusetts. Terjemahkan dari Kosasih, P., Penerbit ITB, Bandung, Hal 71-72, 157, 191-192.
- Rochani, N. 2009. *Uji aktivitas antijamur ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steen) terhadap Candida albicans serta skrining fitokimianya*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- S. Arunkumar, M. Muthuselvan. 2009. *Analysis of Phytochemical Constituents and Antimicrobial Activities of Aloe barbadensis Miller L. Against Clinical Pathogens*. Muthaiyah Research Foundation, Thanjavur, Tamiladu, India.
- Samirana, P. O., N. P. E. Leliqia, and N. P. Ariantari. 2014. *TLC-Densitometer Profile and Antiulcer Activity Assay of Ethanol Extract of Binahong Leaves (Anredera Scandens (L.) Moq.) in Sprague Dawley Strain Male Rats*. *Proceeding The International Conference of Pharmaceutical Care*. Pp. 63-71
- Siswandono dan Soekardjo B. 2000. *Kimia Medisinal*. Airlangga University Press. Surabaya. Hal: 10 – 14.
- Sovey Marinton. 2015. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro. *Skripsi*. Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang.

- Sri Sudewi dan Widya Astuty Lolo. 2016. Kombinasi Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dalam Menghambat Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus aureus*. Fakultas Farmasi. Universitas Sam Ratulangi Manado.
- Sujudi, H. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Binarupa Aksara. Jakarta.
- Sukandar EY, Qowiyyah A, Minah N. 2010. *Influence of ethanol extract of binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) leaves on renal failure rat model*. Jurnal Medika Planta. 1(4): 1-10.
- Sumardjo D. 2009. *Pengantar Kimia Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Sumartiningsih, S., 2011, The effect of binahong to hematoma, *WorldAcademy of Science, Engineering, and Technology* World Acad Sci Eng Technol 2011;5:679-81.
- Suryawiria, U. 1986. *Mikroba Lingkungan*. Edisi kedua. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Tjay dan rahardja. 2002. *Obat-Obat Penting* Edisi 5. PT. Elex Media. Jakarta.
- Tyas Ayu Ekaviantiwi, Enny Fachriyah, Dewi Kusriani. 2013. Identifikasi Asam Fenolat dari Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) *Steenis*) dan Uji Antioksidan. Universitas Diponegoro Semarang.
- Voight, R.. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Penerjemah Soendari, Noerono S. Edisi Kelima. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Widya Selawa , Max Revolta John Runtuwene, Gayatri Cutraningtyas. 2013. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol daun Binahong (*Anredera cordifolia*(Ten)Steenis). Prgram Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi Manado.
- Wijayakusuma, M.H. 2008. *Ramuan lengkap Herbal Taklukan Penyakit*. Pustaka Bunda. Jakarta.
- Winarno, FG. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Zia Nurajizah, Sri Wardatun, Husain Nashrianto. 2016. *Kandungan Flavonoid Total dan Potensi Antioksidan Sediaan Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) yang Beredar di Pasaran*. Program Studi Farmasi dan Kimia Universitas Pakuan Bogor.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan



No : 107/DET/UPT-LAB/30/I/2017

Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Aisyah Rofie F

NIM : 19133794 A

Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

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

Determinasi berdasarkan : **Backer Flora of Java**

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 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 membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan permukaan kasar dan tidak beraturan.

Daun : Tunggal, bulat telur, tangkai pendek, berseling, pangkal berlekuk, ujung runcing atau tumpul, tepi rata, permukaan daun licin, panjang 6 – 10 cm, lebar 5 – 7 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, 30 Januari 2017

Determinasi



...tinah Wirjosoendjojo, SU.



No : 107/DET/UPT-LAB/21/II/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Aisyah Rofie Fitriantari
NIM : 19133794 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, 21 Februari 2017

Direktur Determinasi

 Dr. Kartunah Wirjosoendjojo, SU.

Lampiran 2. Perhitungan persentase bobot kering daun binahong segar dan daun lidah buaya segar

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot kering (gram)}}{\text{bobot basah (gram)}} \times 100\%$$

Sampel	Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (%)
Daun binahong	6000	380	6,33
Daun lidah buaya	5000	260	5,2

Lampiran 3. Penetapan susut pengeringan

Sampel	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Hasil (%)
Daun binahong	1. 2	1. 1,91	1. 3,0
	2. 2	2. 1,93	2. 4,0
	3. 2	3. 1,90	3. 3,9
Daun lidah buaya	1. 2	1. 1,86	1. 3,0
	2. 2	2. 1,95	2. 5,5
	3. 2	3. 1,93	3. 5,3

Lampiran 4. Perhitungan rendemen ekstrak

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak (gram)}}{\text{berat serbuk (gram)}} \times 100\%$$

Sampel	Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Daun binahong	250	33,724	13,49
Daun lidah buaya	250	34,875	13,95

Lampiran 5. Pembuatan kontrol positif amoxicillin 2,5%

Dibuat dengan menimbang 250 mg amoxicillin serbuk masukan ke dalam vial steril, kemudian larutkan dengan aquadest steril sebanyak 10 ml, kocok hingga homogen. Larutan amoxicillin siap digunakan.

Lampiran 6. Pembuatan kotrol negatif DMSO 5%

Dibuat dengan menimbang DMSO sebanyak 5 gram masukkan dalam botol gelap yang sudah disterilkan, kemudian tambahkan dengan aquadest steril sebanyak 100 ml kemudian tutup dengan penutup yang sudah steril, kocok ad larut. DMSO 5% siap digunakan.

Lampiran 7. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun binahong tunggal dan daun lidah buaya tunggal

1) Ekstrak etanol daun binahong tunggal

- Konsentrasi 50%

Timbang ekstrak etanol daun binahong sebanyak 500 mg masukkan dalam vial steril larutkan dengan 1 ml DMSO5% aduk ad larut.

- Konsentrasi 25%

Timbang ekstrak etanol daun binahong sebanyak 250 mg masukkan dalam vial steril larutkan dengan 1 ml DMSO 5% aduk ad larut.

- Konsentrasi 12,5%

Timbang ekstrak etanol daun binahong sebanyak 125 mg masukkan dalam vial steril larutkan dengan 1 ml DMSO 5% aduk ad larut.

2) Ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal

- Konsentrasi 50%

Timbang ekstrak etanol daun lidah buaya sebanyak 500 mg masukkan dalam vial steril larutkan dengan 1 ml DMSO5% aduk ad larut.

- Konsentrasi 25%
Timbang ekstrak etanol daun lidah buaya sebanyak 250 mg masukkan dalam vial steril larutkan dengan 1 ml DMSO 5% aduk ad larut.
- Konsentrasi 12,5%
Timbang ekstrak etanol daun lidah buya sebanyak 125 mg masukkan dalam vial steril larutkan dengan 1 ml DMSO 5% aduk ad larut.

Lampiran 8. Hasil pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan ekstrak etanol daun lidah buaya konsentrasi 100%.

Perbandingan	Ekstrak etanol daun binahong (gram)	Ekstrak etanol daun lidah buaya (gram)
1:1	2	2
1:2	1,34	2,66
2:1	2,66	1,34

Masing-masing perbandingan dilarutkan dalam DMSO5% sebanyak 4 ml.

Lampiran 9. Hasil pembuatan konsentrasi kombinasi ekstrak

1) Konsentrasi 50%

Diambil 500 mg larutan stok ekstrak kombinasi masukkan dalam vial steril kemudian tambahkan dengan DMSO 5% sebanyak 1 ml aduk ad larut.

2) Konsentrasi 25%

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \text{ ml} \times 50 = V_2 \times 25$$

$$V_2 = 2 \text{ ml}$$

Diambil 500 mg larutan stok ekstrak kombinasi masukkan dalam vial steril kemudian tambahkan dengan DMSO 5% sebanyak 2 ml aduk ad larut.

3) Konsentrasi 12,5%

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \text{ ml} \times 50 = V_2 \times 25$$

$$V_2 = 4 \text{ ml}$$

Diambil 500 mg larutan stok ekstrak kombinasi masukkan dalam vial steril kemudian tambahkan dengan DMSO 5% sebanyak 4 ml aduk ad larut.

Lampiran 10. Hasil Perhitungan Rumus FIC

$$\text{FIC extract} = \frac{\text{MIC of Plant Extractin Combination}}{\text{MIC of Plant Extract Alone}}$$

Perbandingan 1:1

$$\begin{aligned} \text{FIC}_{\text{konsentrasi 50\%}} &= \frac{\text{daya hambat kombinasi ekstrak}}{\text{daya hambat (ekstrak etanol binahong+lidah buaya)tunggal}} \\ &= \frac{19,67 \text{ mm}}{(10\text{mm}+9,67 \text{ mm})} \\ &= 1 \end{aligned}$$

Hasil yang didapat adalah 1, maka kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya perbandingan 1:1 bersifat aditif.

Perbandingan 1:2

$$\begin{aligned} \text{FIC}_{\text{konsentrasi 50\%}} &= \frac{\text{daya hambat kombinasi ekstrak}}{\text{daya hambat (ekstrak etanol binahong+lidah buaya)tunggal}} \\ &= \frac{14 \text{ mm}}{(10\text{mm}+9,67 \text{ mm})} \\ &= 0,71 \end{aligned}$$

Hasil yang didapat adalah 0,71, maka kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya perbandingan 1:2 bersifat sinergis.

Perbandingan 2:1

$$\begin{aligned} \text{FIC}_{\text{konsentrasi 50\%}} &= \frac{\text{daya hambat kombinasi ekstrak}}{\text{daya hambat (ekstrak etanol binahong+lidah buaya)tunggal}} \\ &= \frac{14,67\text{mm}}{(10\text{mm}+9,67 \text{ mm})} \\ &= 0,74 \end{aligned}$$

Hasil yang didapat adalah 0,74, maka kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya perbandingan 2:1 bersifat sinergis



Lidah buaya segar



Daun lidah buaya yang telah dipotong



Daun lidah buaya kering



Daun lidah buaya serbuk



Daun binahong segar



Daun binahong yang telah dipotong



Serbuk daun binahong



Simplisia daun binahong



Moisture balance



Evaporator



Inkubator



Ayakan no 40

Uji fitokimia ekstrak daun binahong dan daun lidah buaya



Senyawa uji	Serbuk daun binahong	Serbuk daun lidah buaya
saponin		
Tanin		
Flavonoid		
Alkaloid		
Minyak atsiri		

Sampel uji	Ekstrak etanol daun binahong	Ekstrak etanol daun lidah buaya
Flavonoid		
Saponin		
Tanin		



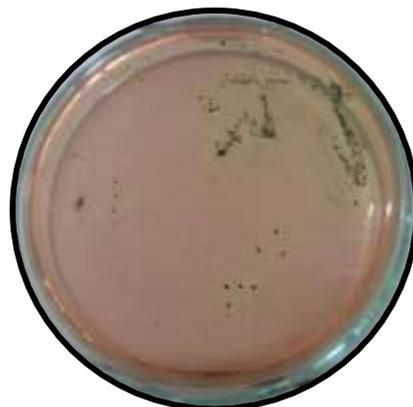
Antraquinon



Uji bebas etanol daun lidah buaya

Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*

Pewarnaan Gram secara mikroskopis



Identifikasi bakteri dengan media VJA



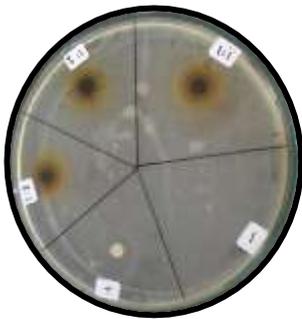
Uji biokimia katalase



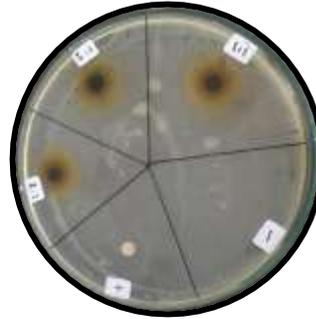
Uji biokimia koagulase

Konsentrasi 50% kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya

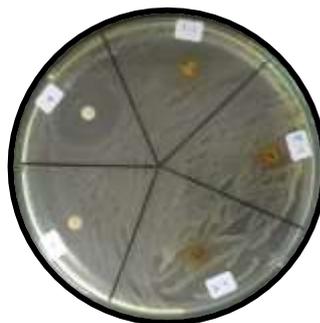
Replikasi I



Replikasi II

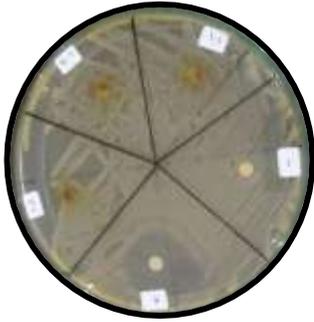


Replikasi III

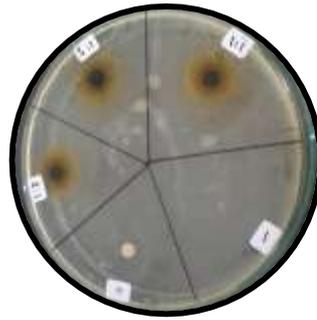


Konsentrasi 25% kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya

Replikasi I



Replikasi II

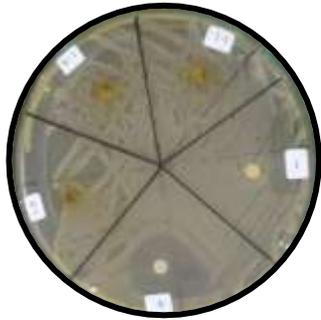


Replikasi III

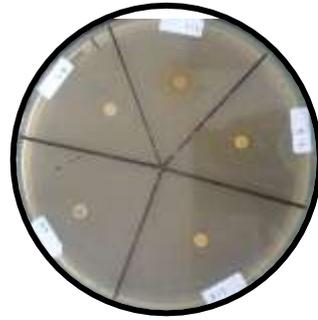


Konsentrasi 12,5% kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya

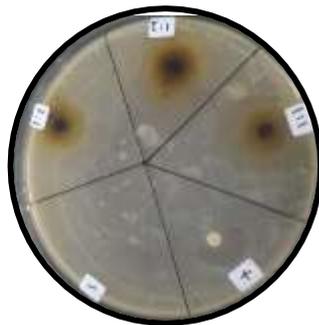
Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

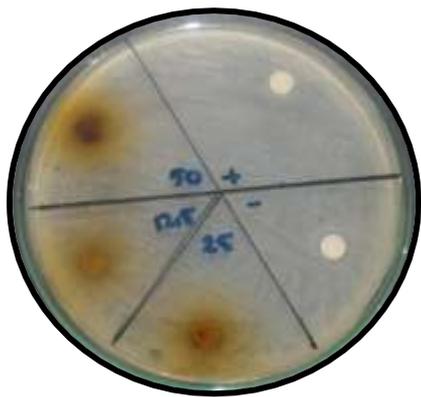


Difusi ekstrak etanol tunggal daun lidah buaya

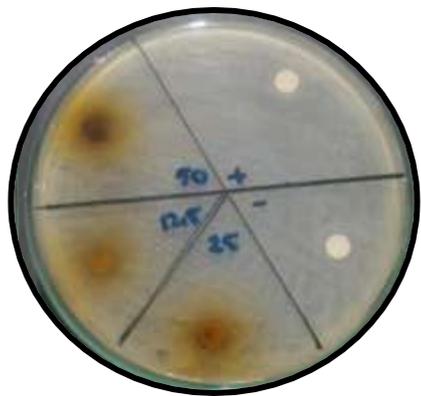
Replikasi I



Replikasi II

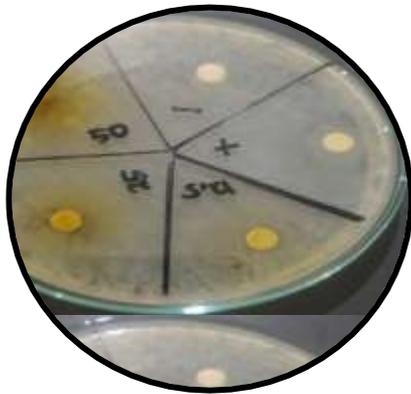


Replikasi III

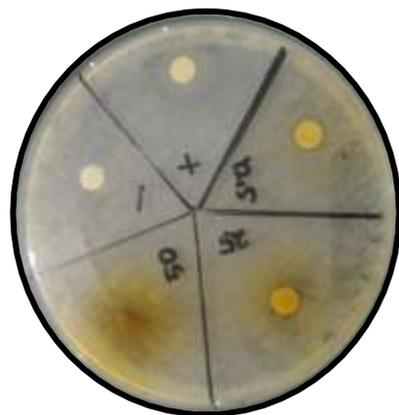


Difusi ekstrak etanol daun binahong

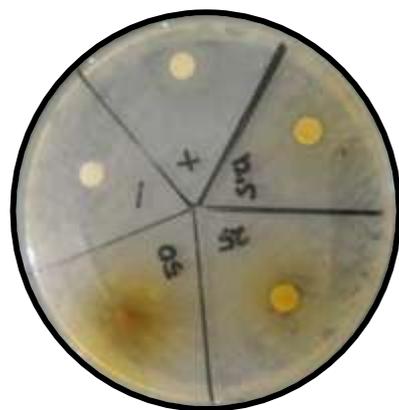
Replikasi I



Replikasi II

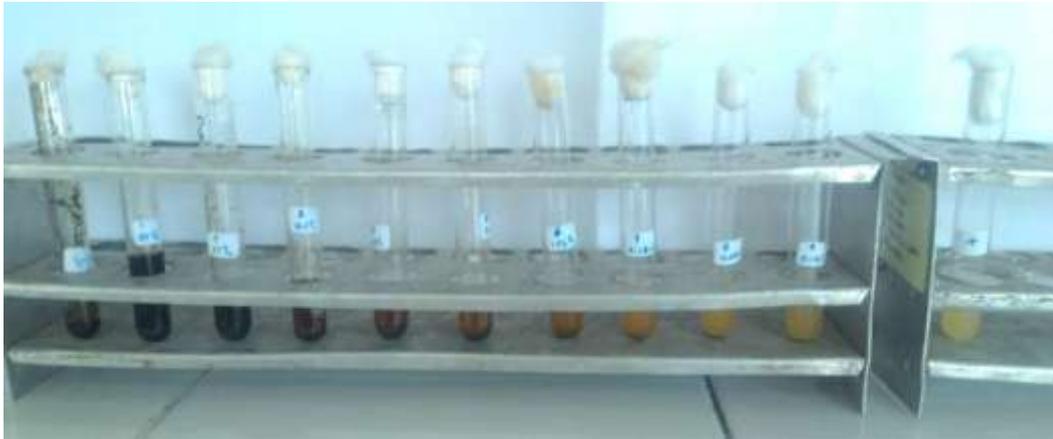


Replikasi III

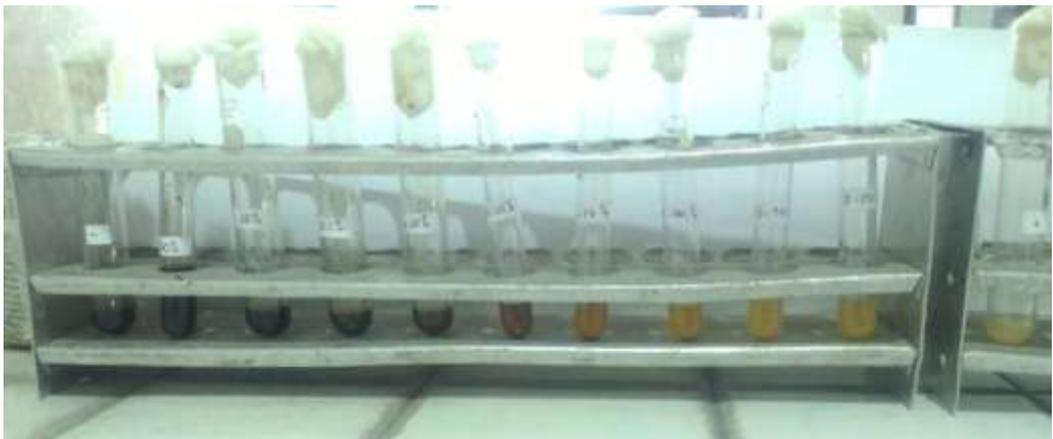


Dilusi kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun lidah buaya dengan perbandingan 1:1 konsentrasi 50%

Replikasi I



Replikasi II



Inokulasi hasil dilusi pada media VJA

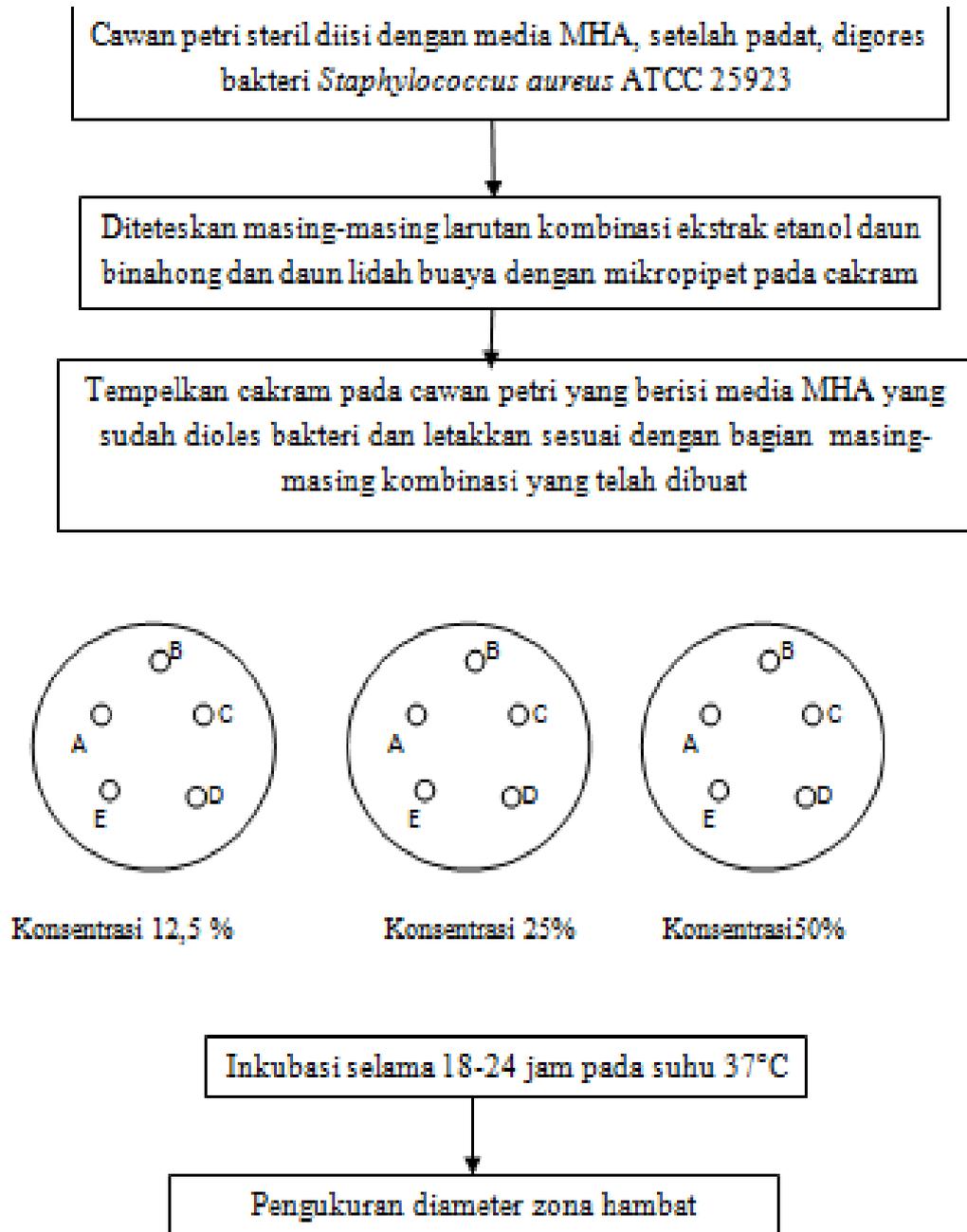
Replikasi 1



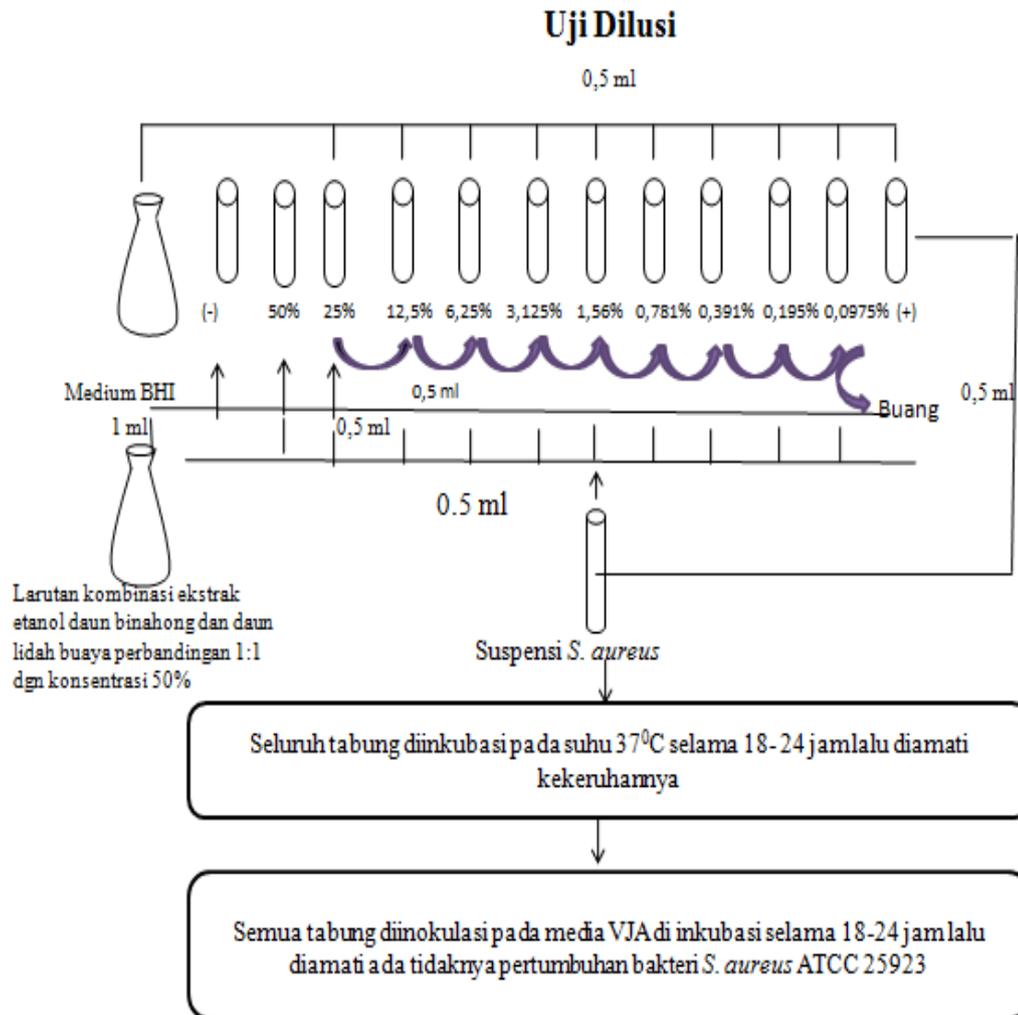
Replikasi II



Lampiran 10. Skema Kerja Metode Difusi



Lampiran 11. Skema Kerja Difusi



Lampiran 12. Hasil uji statistik

Hasil Normalitas Data Tunggal dan Kombinasi

		Tests of Normality ^a					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Sampel uji	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Daya hambat	ekstrak etanol daun binahong tunggal	,287	9	,051	,823	9	,067
	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	,240	9	,143	,851	9	,076
	perbandingan 1:1	,282	9	,057	,844	9	,064
	perbandingan 1:2	,233	9	,089	,823	9	,058
	perbandingan 2:1	,252	9	,105	,839	9	,056
	kontrol positif kombinasi	,285	9	,077	,849	9	,073
	kontrol positif tunggal	,277	9	,081	,841	9	,081

Test of Homogeneity of Variances

Daya hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,039	2	60	,360

HASIL ANOVA TWO WAY

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Daya hambat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	2012,381 ^a	20	100,619	1267,800	,000	,998
Intercept	13906,286	1	13906,286	175219,200	,000	1,000
konsentrasi	69,714	2	34,857	439,200	,000	,954
perbandingan	1914,159	6	319,026	4019,733	,000	,998
konsentrasi * perbandingan	28,508	12	2,376	29,933	,000	,895
Error	3,333	42	,079			
Total	15922,000	63				
Corrected Total	2015,714	62				

a. R Squared = ,998 (Adjusted R Squared = ,998)

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: Daya hambat

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^b	95% Confidence Interval for Difference ^b	
					Lower Bound	Upper Bound
50%	25%	1,143 [*]	,087	,000	,967	1,318
	12,5%	2,571 [*]	,087	,000	2,396	2,747
25%	50%	-1,143 [*]	,087	,000	-1,318	-,967
	12,5%	1,429 [*]	,087	,000	1,253	1,604
12,5%	50%	-2,571 [*]	,087	,000	-2,747	-2,396
	25%	-1,429 [*]	,087	,000	-1,604	-1,253

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: Daya hambat

(I) Sampel uji	(J) Sampel uji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^b	95% Confidence Interval for Difference ^b	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol daun binahong tunggal	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	,778 [*]	,133	,000	,510	1,046
	kontrol positif tunggal	-14,000 [*]	,133	,000	-14,268	-13,732
	perbandingan 1:1	-8,444 [*]	,133	,000	-8,712	-8,176
	perbandingan 1:2	-3,000 [*]	,133	,000	-3,268	-2,732
	perbandingan 2:1	-3,556 [*]	,133	,000	-3,824	-3,288
ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	ekstrak etanol daun binahong tunggal	-,778 [*]	,133	,000	-1,046	-,510
	kontrol positif tunggal	-14,778 [*]	,133	,000	-15,046	-14,510
	perbandingan 1:1	-9,222 [*]	,133	,000	-9,490	-8,954
	perbandingan 1:2	-3,778 [*]	,133	,000	-4,046	-3,510
	perbandingan 2:1	-4,333 [*]	,133	,000	-4,601	-4,065
kontrol positif tunggal	ekstrak etanol daun binahong tunggal	14,000 [*]	,133	,000	13,732	14,268
	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	14,778 [*]	,133	,000	14,510	15,046
	perbandingan 1:1	5,556 [*]	,133	,000	5,288	5,824
	perbandingan 1:2	11,000 [*]	,133	,000	10,732	11,268
	perbandingan 2:1	10,444 [*]	,133	,000	10,176	10,712
perbandingan 1:1	kontrol positif kombinasi	1,222 [*]	,133	,000	,954	1,490
	ekstrak etanol daun binahong tunggal	8,444 [*]	,133	,000	8,176	8,712
	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	9,222 [*]	,133	,000	8,954	9,490
	kontrol positif tunggal	-5,556 [*]	,133	,000	-5,824	-5,288
	perbandingan 1:2	5,444 [*]	,133	,000	5,176	5,712
perbandingan 1:2	perbandingan 2:1	4,889 [*]	,133	,000	4,621	5,157
	kontrol positif kombinasi	-4,333 [*]	,133	,000	-4,601	-4,065
	ekstrak etanol daun binahong tunggal	3,000 [*]	,133	,000	2,732	3,268
	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	3,778 [*]	,133	,000	3,510	4,046

	kontrol positif tunggal	-11,000*	,133	,000	-11,268	-10,732
	perbandingan 1:1	-5,444*	,133	,000	-5,712	-5,176
	perbandingan 2:1	-,556*	,133	,000	-,824	-,288
	kontrol positif kombinasi	-9,778*	,133	,000	-10,046	-9,510
perbandingan 2:1	ekstrak etanol daun binahong tunggal	3,556*	,133	,000	3,288	3,824
	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	4,333*	,133	,000	4,065	4,601
	kontrol positif tunggal	-10,444*	,133	,000	-10,712	-10,176
	perbandingan 1:1	-4,889*	,133	,000	-5,157	-4,621
	perbandingan 1:2	,556*	,133	,000	,288	,824
	perbandingan 2:1	-9,222*	,133	,000	-9,490	-8,954
	kontrol positif kombinasi	-9,222*	,133	,000	-9,490	-8,954
kontrol positif kombinasi	ekstrak etanol daun binahong tunggal	12,778*	,133	,000	12,510	13,046
	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	13,556*	,133	,000	13,288	13,824
	kontrol positif tunggal	-1,222*	,133	,000	-1,490	-,954
	perbandingan 1:1	4,333*	,133	,000	4,065	4,601
	perbandingan 1:2	9,778*	,133	,000	9,510	10,046
	perbandingan 2:1	9,222*	,133	,000	8,954	9,490
	kontrol positif kombinasi	9,222*	,133	,000	8,954	9,490

3. Konsentrasi * Sampel uji

Dependent Variable: Daya hambat

Konsentrasi	Sampel uji	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
50%	ekstrak etanol daun binahong tunggal	10,000	,163	9,672	10,328
	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	9,667	,163	9,338	9,995
	kontrol positif tunggal	23,000	,163	22,672	23,328
	perbandingan 1:1	19,333	,163	19,005	19,662
	perbandingan 1:2	14,000	,163	13,672	14,328
	perbandingan 2:1	14,667	,163	14,338	14,995
	kontrol positif kombinasi	22,000	,163	21,672	22,328
25%	ekstrak etanol daun binahong tunggal	9,000	,163	8,672	9,328
	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	8,000	,163	7,672	8,328
	kontrol positif tunggal	23,000	,163	22,672	23,328
	perbandingan 1:1	17,000	,163	16,672	17,328
	perbandingan 1:2	12,000	,163	11,672	12,328
	perbandingan 2:1	13,000	,163	12,672	13,328
	kontrol positif kombinasi	22,667	,163	22,338	22,995
12,5%	ekstrak etanol daun binahong tunggal	8,000	,163	7,672	8,328
	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	7,000	,163	6,672	7,328
	kontrol positif tunggal	23,000	,163	22,672	23,328
	perbandingan 1:1	16,000	,163	15,672	16,328
	perbandingan 1:2	10,000	,163	9,672	10,328
	perbandingan 2:1	10,000	,163	9,672	10,328
	kontrol positif kombinasi	20,667	,163	20,338	20,995

Multiple Comparisons

Tukey HSD

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
50%	25%	1,1429*	,08694	,000	,9316	1,3541
	12,5%	2,5714*	,08694	,000	2,3602	2,7826
25%	50%	-1,1429*	,08694	,000	-1,3541	-,9316
	12,5%	1,4286*	,08694	,000	1,2174	1,6398
12,5%	50%	-2,5714*	,08694	,000	-2,7826	-2,3602
	25%	-1,4286*	,08694	,000	-1,6398	-1,2174

HOMOGENUS SUBSETS

Daya hambat

Tukey HSD^{a,b}

Konsentrasi	N	Subset		
		1	2	3
12,5%	21	13,5238		
25%	21		14,9524	
50%	21			16,0952
Sig.		1,000	1,000	1,000

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Daya hambat
Tukey HSD

(I) Sampel uji	(J) Sampel uji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol daun binahong tunggal	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	,7778*	,13280	,000	,3667	1,1889
	kontrol positif tunggal	-14,0000*	,13280	,000	-14,4111	-13,5889
	perbandingan 1:1	-8,4444*	,13280	,000	-8,8555	-8,0333
	perbandingan 1:2	-3,0000*	,13280	,000	-3,4111	-2,5889
	perbandingan 2:1	-3,5556*	,13280	,000	-3,9667	-3,1445
	kontrol positif kombinasi	-12,7778*	,13280	,000	-13,1889	-12,3667
ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	ekstrak etanol daun binahong tunggal	-,7778*	,13280	,000	-1,1889	-,3667
	kontrol positif tunggal	-14,7778*	,13280	,000	-15,1889	-14,3667
	perbandingan 1:1	-9,2222*	,13280	,000	-9,6333	-8,8111
	perbandingan 1:2	-3,7778*	,13280	,000	-4,1889	-3,3667
	perbandingan 2:1	-4,3333*	,13280	,000	-4,7444	-3,9222
	kontrol positif kombinasi	-13,5556*	,13280	,000	-13,9667	-13,1445
kontrol positif tunggal	ekstrak etanol daun binahong tunggal	14,0000*	,13280	,000	13,5889	14,4111
	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	14,7778*	,13280	,000	14,3667	15,1889
	perbandingan 1:1	5,5556*	,13280	,000	5,1445	5,9667
	perbandingan 1:2	11,0000*	,13280	,000	10,5889	11,4111
	perbandingan 2:1	10,4444*	,13280	,000	10,0333	10,8555
	kontrol positif kombinasi	1,2222*	,13280	,000	,8111	1,6333
perbandingan 1:1	ekstrak etanol daun binahong tunggal	8,4444*	,13280	,000	8,0333	8,8555
	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	9,2222*	,13280	,000	8,8111	9,6333
	kontrol positif tunggal	-5,5556*	,13280	,000	-5,9667	-5,1445
	perbandingan 1:2	5,4444*	,13280	,000	5,0333	5,8555
	perbandingan 2:1	4,8889*	,13280	,000	4,4778	5,3000
	kontrol positif kombinasi	-4,3333*	,13280	,000	-4,7444	-3,9222
perbandingan 1:2	ekstrak etanol daun binahong tunggal	3,0000*	,13280	,000	2,5889	3,4111
	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	3,7778*	,13280	,000	3,3667	4,1889
	kontrol positif tunggal	-11,0000*	,13280	,000	-11,4111	-10,5889
	perbandingan 1:1	-5,4444*	,13280	,000	-5,8555	-5,0333
	perbandingan 2:1	-,5556*	,13280	,003	-,9667	-,1445
	kontrol positif kombinasi	-9,7778*	,13280	,000	-10,1889	-9,3667
perbandingan 2:1	ekstrak etanol daun binahong tunggal	3,5556*	,13280	,000	3,1445	3,9667
	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	4,3333*	,13280	,000	3,9222	4,7444
	kontrol positif tunggal	-10,4444*	,13280	,000	-10,8555	-10,0333
	perbandingan 1:1	-4,8889*	,13280	,000	-5,3000	-4,4778
	perbandingan 1:2	,5556*	,13280	,003	,1445	,9667
	kontrol positif kombinasi	-9,2222*	,13280	,000	-9,6333	-8,8111
kontrol positif kombinasi	ekstrak etanol daun binahong tunggal	12,7778*	,13280	,000	12,3667	13,1889
	ekstrak etanol daun lidah buaya tunggal	13,5556*	,13280	,000	13,1445	13,9667
	kontrol positif tunggal	-1,2222*	,13280	,000	-1,6333	-,8111

