# UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) TERHADAP *Propionibacterium acnes* ATCC 6919 DAN *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048

**SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia


**Oleh :**

**ALISA JANU PRIJAYANTI**

**07613077**


**JURUSAN FARMASI**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA**

**YOGYAKARTA**

**NOVEMBER 2011**

PERNYATAAN

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

Yogyakarta, 07 November 2011

Penulis,

**Alisa Janu Prijayanti**

## KATA PENGANTAR



***Assalamualaikum Wr. Wb.***

Puji syukur Alhamdulillahi rabbil'alamin ke hadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) TERHADAP *Propionibacterium acnes* ATCC 6919 DAN *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048".

Skripsi ini diajukan untuk memenuhi syarat guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis tidak lepas dari bimbingan, dorongan serta bantuan dari berbagai pihak, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Yandi Syukri, M.Si., Apt. selaku Dekan Fakultas Matematia dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
2. Bapak Muhammad Hatta Prabowo, M.Si., Apt. selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Matematia dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
3. Ibu Asih Triastuti, M.Pharm., Apt. selaku pembimbing utama dan dosen pembimbing akademik yang telah memberikan ide-ide dasar, bimbingan, saran, motivasi dan masukan hingga terselesaikannya skripsi ini.
4. Bapak Hady Anshory, S.Si., Apt, selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan dan masukan hingga terselesaikannya skripsi ini
5. Seluruh laboran dari Laboratorium Terpadu Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan ijin serta membantu jalannya penelitian ini

6. Ibu, ayah dan adik-adikku tercinta untuk waktu yang telah diberikan dalam tuangan cinta, kasih sayang, doa,serta semangatnya.
7. Sahabat-sahabatku, Nadia Pudiarifanti, Kinan Riastuti, Ririn Winanti Rahayu, Relia Puspita Sari, Bekti Wulandari, Probosini Endrowari Rayahu serta seluruh teman-teman lainnya yang selalu memberikan semangat, motivasi, dan bantuannya, semoga persahabatan dan tali silaturahmi yang telah kita jalin tidak akan luntur sampai kapanpun.
8. Seluruh civitas akademika Program Studi Farmasi Fakultas Matematikan dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan banyak bekal ilmu dan membantu penulis selama kuliah.
9. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, baik secara langsung maupun tidak langsung yang telah membantu jalannya hingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.

Hanya Allah yang mampu memberikan balasan yang mulia terhadap semua hamba-Nya. Penulis sadar bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna dan banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran dari pembaca dan semua pihak yang bersifat membangun sangat diharapkan. Semoga skripsi ini bermanfaat untuk masyarakat pada umumnya dan perkembangan ilmu kefarmasian pada khususnya. Amin.

***Wassalamualaikum Wr. Wb.***

Yogyakarta, 07 November 2011

Penulis,

**Alisa Janu Prijayanti**

**DAFTAR ISI**


HALAMAN JUDUL…… i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING…… ii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI …… iii
HALAMAN PERNYATAAN ……..…..… iv
KATA PENGANTAR……..……..…. v
DAFTAR ISI ……..…. vi
DAFTAR GAMBAR ……..… ix
DAFTAR TABEL ……..…. x
DAFTAR LAMPIRAN…… xi
INTISARI ……..……..…… xii
*ABSTRACT* ……..…. xiii
BAB I. PENDAHULUAN……..…… 1
A. Latar Belakang Masalah……..……... …….. 1
B. Rumusan Masalah…….…… 2
C. Tujuan Penelitian……...……. 3
D. Manfaat Penelitian…….…… 3
BAB. II STUDI PUSTAKA……..…….…….. 4
A. Tinjauan Pustaka……..……..……. 4
1. Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen)…….. 4
2. Jerawat (*Acne vulgaris*)……...…. 6
3. Bakteri…….. 6
a. *Propionibacterium acnes*…… 8
b. *Staphylococcus epidermidis*……..……..… 9
4. Antimikroba……..…… 10
5. Mekanisme kerja obat antimikroba…….…. 10
6. Metode pengukuran aktivitas antibakteri…….…… 11
7. Metode ekstraksi……... 14

8. Kromatografi…… 14
B. Landasan teori……. 16
C. Hipotesis …… 16
BAB III. METODE PENELITIAN…….……..…… 17
A. Bahan dan Alat……..……. 17
B. Cara Penelitian…… 18
1. Determinasi tanaman binahong…….…….. 18
2. Penyiapan simplisia daun binahong……...……. 18
3. Penyiapan ekstrak dan fraksi petroleum eter, kloroform, etil asetat serta methanol-air dari daun binahong…… 18
4. Proses sterilisasi, peremajaan dan pembuatan inokulum bakteri……..…… 19
5. Uji pendahuluan fraksi daun binahong..……...…….. 20
6. Penentuan KHM dan KBM fraksi aktif daun binahong….. 20
7. Identifikasi senyawa antibakteri dan uji bioautografi fraksi terkatif dari daun binahong…..…….. 21
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN……. 25
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN…….…. 44
DAFTAR PUSTAKA……...…. 45
LAMPIRAN……. 48

## DAFTAR GAMBAR


| | | |
|---|---|---|
| Gambar 1. | Binahong (*Anredera cordifolia*(Tenore) Steen)…... ..…….. | 5 |
| Gambar 2. | *Propionibacterium acnes*…….……..…..…….…. | 8 |
| Gambar 3. | *Staphylococcus epidermidis*……..…….……...….. | 9 |
| Gambar 4. | Skema proses fraksinasi…….... | 23 |
| Gambar 5. | Skema langkah penelitian…… | 24 |
| Gambar 6. | Hasil uji pendahuluan fraksi daun binahong dengan metode difusi sumuran……. | 29 |
| Gambar 7. | Hasil uji KBM fraksi kloroform dan etil asetat pada *S.epidermidis*…….. | 33 |
| Gambar 8. | Hasil uji KBM fraksi kloroform dan etil asetat pada *P.acnes*. | 35 |
| Gambar 9. | Diagram nilai kadae bunuh minimum fraksi daun binahong terhadap bakteri penyebab jerawat…….. | 36 |
| Gambar 10. | Hasil identifikasi senyawa fraksi kloroform dengan fase gerak n-heksan :etil asetat (2:1)…….…….. | 37 |
| Gambar 11. | Hasil uji bioautografi fraksi kloroform terhadap *S.epidermidis*……... | 41 |
| Gambar 12. | Hasil uji bioautografi fraksi klororoform terhadap *P.acnes*… | 41 |

## DAFTAR TABEL


| | | |
|---|---|---|
| Tabel I. | Hasil fraksinasi daun binahong……..……. | 27 |
| Tabel II. | Hasil uji pendahuluan aktivitas antibakteri fraksi daun binahong dengan konsentrasi fraksi 5% (b/v)…….….. | 28 |
| Tabel III. | Hasil KBM fraksi kloroform terhadap *S.epidermidis*…… | 32 |
| Tabel IV. | Hasil uji KBM fraksi etil asetat terhadap *S.epidermidis*……..…..… | 32 |
| Tabel V. | Hasil uji KBM fraksi kloroform terhadap *P.acnes*.....…...…….... | 34 |
| Tabel VI. | Hasil uji KBM fraksi etil asetat terhadap *P.acnes*……..…... | 34 |
| Tabel VII. | Hasil pengamatan bercak KLT fraksi kloroform setelah diuji dengan pereaksi semprot…….…….….. | 38 |

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil determinasi tumbuhan……..49
Lampiran 2. Hasil maserasi……50
Lampiran 3. Uji pendahuluan fraksi daun binahong pada *S.epidermidis*….. 50
Lampiran 4. Uji pendahuluan fraksi daun binahong pada *P.acnes*.....50
Lampiran 5. Hasil uji KBM fraksi daun binahong terhadap *S.epidermidis*...51
Lampiran 6. Hasil uji KBM fraksi daun binahong terhadap *P.acnes*…… 52
Lampiran 7. Perhitungan rendemen fraksi daun binahong…….……... 53

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI**
**FRAKSI DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen)**
**TERHADAP *Propionibacterium acnes* ATCC 6919 DAN**
***Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048**

## INTISARI

Binahong (*Anredera cordifolia*) secara empiris digunakan untuk mengatasi luka, pembengkakan jantung, pembengkakan liver, rematik, nyeri otot, diabetes dan untuk mencegah stroke serta digunakan untuk mengobati jerawat. Secara ilmiah ektrak kloroform dan air dari akar binahong terbukti memiliki efek menghambat pertumbuhan sebagian bakteri baik Gram positif maupun Gram negatif. Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh fraksi daun binahong terhadap pertumbuhan *S.epidermidis* dan *P.acnes* dengan menentukan nilai konsentrasi daya hambat fraksi daun binahong terhadap *S.epidermidis* dan *P.acnes*. Serbuk daun binahong kering diekstraksi menggunakan pelarut metanol dan selanjutnya dipekatkan untuk mendapatkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat daun binahong kemudian difraksinasi dengan menggunakan pelarut petroleum eter, kloroform, etil asetat dan metanol-air. Nilai konsentrasi daya hambat ditentukan dengan menguji aktivitas antibakterial fraksi daun binahong secara in vitro menggunakan metode dilusi dengan seri kadar dilusi yang dipergunakan adalah 5%-0,3125% (b/v), pengujian dilanjutkan dengan uji bioautografi untuk mengetahui senyawa yang memiliki tanggung jawab dalam melawan *S.pidermidis* dan *P.acnes*. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fraksi daun binahong memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P.acnes* dan *S.pidermidis* dengan nilai KBM untuk fraksi kloroform adalah 2,5% (b/v) terhadap *S.epidermidis* dan 1,25% (b/v) terhadap *P.acnes* serta nilai KBM untuk fraksi etil asetat adalah 5% (b/v) terhadap *S.epidermidis* dan 2,5 % (b/v) terhadap *P.acnes*. Pada hasil uji bioautografi menunjukkan bahwa senyawa aktif yang bertanggung jawab sebagai antibakteri dalam fraksi kloroform daun binahong terhadap *S.epidermidis* diduga adalah senyawa saponin, fenol dan flavonoid sedangkan terhadap *P.acnes* diduga adalah senyawa flavonoid.

Kata kunci : Antibakteri, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*,
*Anredera cordifolia*

**ANTIBACTERIAL ASSAY OF BINAHONG FRACTION (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen on *Propionibacterium acnes* ATCC 6919 and *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048**


## Abstract

Binahong (*Anredera cordifolia*) empirically has been used for management of injury, cardiac inflamation, liver inflamation, rhematic, muscle pain, diabetic and to prevent of stroke, and also for management of acne vulgaris. Scientifically, chloroform and water extract of binahong 's roots had an antibacterial effect to positive and negative Gram bacteria. The aim of research was to know the influence of binahong leaves fraction on *P.acnes* and *S.epidermidis* growth by determining the MIC (Minimum Inhibitory Consentration) and MBC (Minimum Bactericidal Concentration). Binahong's leaves powders were extracted by maseration used methanol solvent and then it was evaporated to get a crude extract. The crude extract was fractionated successively with, petroleum eter, chloroform, ethyl acetate and methanol-water. Inhibitory concentration value has determined by in vitro antibacterial activity assay of binahong's leaves fractions with dilution method and used the concentration 5%-0,3125% (b/v), and followed by bioautography to know the compounds which has a responsibility to against of *S.epidermidis* and *P.acnes.* The result of antibacterial activity assay showed that Binahong's leaves fraction had an antibacterial activity against *S.epidermidis* and *P.acnes* with MBC value of chloroform fraction are 2,5% (b/v) on *S.epidermidis* and 1,25% (b/v) on *P.acnes* and also MBC value of ethyl acetate are 5% (b/v) on *S.epidermidis* and 2,5% (b/v) on *P.acnes*. In bioautography assay the result showed that the compounds which assesment has a responsibility as antibacterial against *S.epidermidis* are saponins, phenols and flavonoids, where as the compounds which assesment has a responsibility as antibacterial against *P.acnes* is flavonoid.



Key word : Antibacterial, *Propionibacterium acnes, Staphylococcus epidermidis, Anredera cordifolia*

# BAB I
# PENDAHULUAN

## A. Latar Belakang Masalah

Jerawat merupakan penyakit umum pada kulit yang terjadi di seluruh dunia terutama pada anak remaja yang menjelang dewasa. Pengobatan jerawat yang dilakukan dengan penggunaan antibakteri dapat meningkatkan peluang terjadinya resistensi terhadap beberapa antibakteri[(1)]. Penelitian terhadap penggunaan antibiotik pada pasien jerawat yang telah dilaksanakan di Perancis menunjukkan hasil bahwa pasien mengalami resistensi terhadap eritromisin (75,1%) dan tetrasiklin (9,5%) yang juga resisten terhadap *doxycycline*[(2)], sedangkan hasil penelitian di Meksiko terhadap *P.acnes* yang diisolasi dari lesi jerawat menunjukan adanya resistensi terhadap *azithromycin* (82%), *trimethoprim/ sulfamethoxazole* (68%) dan eritromisin (46%) serta terhadap tetrasiklin dan levofloxacin meskipun dengan prevalensi yang rendah[(3)].

*Propionibacterium acnes* merupakan bakteri *bacillus* Gram positif anaerobik yang pada umumnya ditemukan pada kulit manusia dan memiliki hubungan dengan *acne vulgaris*, *P.acnes* biasanya berkolonisasi dibawah lapisan kulit dalam dimana ketersediaan oksigen sedikit[(4)]. *Lipase* dari bakteri mendegradasi sebum dan melepaskan asam lemak dan gliserol yang dibutuhkan organisme tersebut untuk tumbuh. Produk metabolisme dari *P.acnes* dapat menyebabkan respon peradangan pada jerawat[(5)]. *Staphylococcus epidermidis* merupakan *Staphylococci* koagulase-negatif yang secara luas berdistribusi di atas permukaan tubuh manusia dimana merupakan mayoritas dari bakteri mikroflora yang dapat hidup dengan spesies yang lain, diantara *Staphylococci* koagulase-negatif, *S.epidermidis* adalah spesies yang paling sering diisolasi dan spesies yang umumnya bertanggung jawab atas terjadinya infeksi. *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri Gram positif, yang merupakan bagian dari flora normal pada tubuh, *S. epidermidis* adalah bakteri yang tumbuh dengan baik pada kondisi aerobik, bakteri ini merupakan pencetus salah satu penyakit infeksi *nosocomial*[(6)]. Pada

kasus jerawat, *P.acnes* dan *S.epidermidis* adalah dua bakteri utama yang diisolasi dari luka jerawat[7].

Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia*) adalah tanaman obat yang termasuk dalam familia *Basellaceae*, hampir semua bagian dari tumbuhan tersebut secara empiris dapat digunakan dalam terapi herbal untuk menangani berbagai gangguan kesehatan antara lain seperti penyebuhan luka luar, radang, disentri dan berbagai khasiat yang lainnya[8]. Secara empiris sebagian masyarakat mempercayai dan menggunakan daun binahong untuk menagani jerawat. Beberapa penelitian sebelumnya membuktikan bahwa, ekstrak kloroform dan air dari akar binahong dapat melawan bakteri Gram positif secara in vitro, seperti *B. subtilis* dan *S. aureus* dan juga dapat melawan bakteri Gram negatif seperti *E.cloacae, E.coli, K.pneumoniae, P.aeruginosa, S.marcescens,* dan *E.aerogenes* dengan pencapaian nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) sebesar 60 mg/ml dan ekstrak airnya juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif yang lain yaitu *B.pumilus*[9]. Ekstrak dari daun binahong terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* dengan nilai KHM 25% dan nilai KBM 50%, sedangkan terhadap bakteri *P.aeruginosa* ekstrak daun binahong menunjukkan aktivitas antibakteri dengan nilai KHM 50% dan nilai KBM 100%[10].

Dikarenakan beberapa alasan tersebut, maka peneliti terdorong untuk melakukan pengujian aktivitas antibakteri daun binahong pada bakteri lain, terutama pada *P.acnes* dan *S.epidermidis* yaitu merupakan golongan bakteri Gram positif yang diduga memiliki peranan dalam timbulnya jerawat.

## B. Rumusan Masalah

1. Apakah fraksi daun binahong memiliki aktivitas antibakteri yang berpotensi melawan *P.acnes* dan *S.epidermidis*?
2. Berapakah konsentrasi daya hambat dari fraksi daun binahong yang berpotensi melawan *P.acnes* dan *S.epidermidis*?
3. Termasuk golongan apakah senyawa yang terkandung dalam fraksi daun binahong yang dapat menghambat *P.acnes* dan *S.epidermidis*?

## C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang diatas, maka penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk:

1. Untuk mengetahui apakah fraksi daun binahong memiliki aktivitas antibakteri yang berpotensi untuk melawan *P.acnes* dan *S.epidermidis.*
2. Untuk mengetahui konsntrasi daya hambat fraksi daun binahong terhadap *P.acnes* dan *S.epidermidis.*
3. Untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi daun binahong yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P.acnes* dan *S.epidermidis.*

## D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk mengetahui cakupan efek antibakteri dari tanaman binahong dan juga dapat sebagai dasar pemilihan alternatif terapi herbal untuk pengobatan jerawat yang merupakan gangguan kulit yang sering terjadi pada remaja yang beranjak dewasa.

# BAB II
# STUDI PUSTAKA

## A. Tinjauan Pustaka

### 1. Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen)

a. Klasifikasi

Kingdom : Plantae
Sub kingdom : Tracheobionta
Super divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub kelas : Caryophyllidae
Orde : Caryophyllales
Famili : Basellaceae
Genus : *Anredera*
Species : *Anredera cordifolia* (Tenore) Steen[11].

b. Nama lain :

*Bridal wreath* (Inggris), *madeira vine* (Inggris), *madeiraranker* (Afrika), *luo kui shu* (China), *enredadera del mosquito* (Spanyol), p*arra de madeira* (Spanyol)[12].

c. Deskripsi Tanaman

Merupakan tumbuhan merambat, daun berbentuk hati dengan permukaan daun yang mengkilap dengan panjang 3-12 cm. Tepi daun dan tangkainya terkadang sedikit bewarna merah dan tumbuh berurutan pada batangnya. Batang muda barwarna hijau atau hijau-kemerahan, dan seperti kawat. Pada usia dewasa terlihat seperti tambang, dan dapat menebal dengan diameter beberapa sentimeter. Bunga mekar pada bulan Maret-April. Setangkai bunga kecil bewarna putih-kekuningan berbentuk panjang terkulai dengan panjang 6-20 cm dan beraroma manis. Binahong tumbuh secara merambat dari akar yang berada dibawah tanah dan terdapat akar yang membentuk batang dewasa. Akar yang berada dibawah tanah dapat berkembang mencapai ukuran 30 x 13 cm[13].

d. Khasiat dan penggunaan

Daun binahong secara empiris dipercaya dan dipergunakan untuk menagani gangguan kesehatan antara lain kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, muntah darah, tifus, stroke, wasir, rematik, pemulihan paska operasi, pemulihan paska melahirkan, menyembuhkan segala luka dalam, radang usus, melancarkan dan menormalkan peredaran dan tekanan darah, sembelit, sesak napas, sariawan berat, pusing-pusing, sakit perut, menurunkan panas tinggi, menyuburkan kandungan, maag, asam urat, keputihan, pembengkakan hati, meningkatkan vitalitas dan daya tahan tubuh[8].

Secara ilmiah ekstrak kloroform dan air dari akar binahong dapat melawan bakteri Gram positif secara in vitro, seperti *B. subtilis* dan *S. aureus* dan juga dapat melawan bakteri Gram negatif seperti *E.cloacae, E.coli, K.pneumoniae, P.aeruginosa*, *S.marcescens*, dan *Enterobacter aerogenes* dengan pencapaian nilai MIC sebesar 60 mg/ml dan ekstrak airnya juga dapat menghambat bakteri Gram positif lain yaitu *B.pumilus*[9]. Penelitian yang lain juga membuktikan bahwa ekstrak daun binahong memiliki nilai KHM terhadap *S.aureus* pada konsentrasi 25%, sedangkan pada bakteri *P.aeruginosa* konsentrasi 50% dan nilai KBM terhadap bakteri *S.aureus* pada konsentrasi 50%, sedangkan pada bakteri *P.aeruginosa* pada konsentrasi 100%[10].



**Gambar 1**. Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen)[10].

e. Kandungan senyawa

Dari hasil penelitian pendahuluan dinyatakan bahwa pada kultur *in vitro* daun binahong terkandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, terpenoid dan saponin[8].

f. Distribusi tanaman

Amerika selatan (Brazil - Parana, Rio Grande do Sul, Santa Catarina). Barat daya Amerika (Bolivia). Amerika Selatan bagian wilayah selatan (Argentina : Buenos Aires, Catamarca, Chaco, Cordoba, Corrientes, Entre Rios, Federal District, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta, San Luis, Santa Fe, Santiago del Estero, Tucuman, Paraguay, Uruguay). Amerika Utara (Meksiko dan Amerika Serikat). Australia, New Zealand, Asia, Macaronesia, Eropa, Pasifik (Hawaii) dan Afrika[12].

**2. Jerawat (*Acne vulgaris*)**

a. Definisi

Jerawat merupakan suatu proses peradangan kronik kelenjar-kelenjar *subasea*, yang dapat bersifat minor dengan hanya komedo atau peradangan dengan pustula atau kista. Jerawat diklasifikasikan sebagai komedonal (yaitu komedo hitam dan putih), papulopustular (papula dan pastula), atau kistik, selain itu terdapat beberapa varian dari jerawat yang meliputi:

(1) *Acne ekskoriata*, yaitu jerawat yang terjadi pada individu yang memanipulasi jerawat tersebut,

(2) *Acne konglobata*, merupakan bentuk dari jerawat kistik yang paling berat dengan kista profunda, komedo yang berlipat ganda dan jaringan parut,

(3) *Acne keloidalis*, yaitu jerawat yang memiliki jaringan parut dan beragam keloid ditempat dimana terdapat lesi jerawat[14].

b. Patologi

Mengenai patologi dari jerawat masih belum dimengerti secara lengkap, namun beberapa faktor yang memicu perkembangaan jerawat antara lain peningkatan produksi sebum, kolonisasi bakteri dipembuluh

*pilosebaceus*, dan peradangan[15]. Pada kasus jerawat, *P.acnes* dan *S.epidermidis* adalah dua bakteri utama yang diisolasi dari luka jerawat[7].

### 3. Bakteri

Bakteri termasuk dalam golongan prokariot yang memiliki ukuran sangat kecil. Meskipun memiliki bentuk yang beraneka ragam, namun pada dasarnya memiliki struktur yang terdiri dari dinding sel, membran sitoplasma, sitoplasma, serta inti sel, disamping itu bakteri juga memiliki struktur tambahan berupa fili, kapsul, flagela serta spora yang tidak selalu dimiliki oleh tiap bakteri. Ukuran bakteri barvariasi baik penampilan maupun panjangnya, tetapi pada umumnya ukuran penampang bakteri sekitar 0,7 μm dan memiliki panjang sekitar 1-6 μm. Bentuk bakteri antara lain adalah sferis (kokus), batang (basil) dan spiral[16].

Pertumbuhan mikroorganisme memerlukan faktor pendukung, selain faktor pertumbuhan organik yang meliputi nutrisi yang yang terdapat pada media pertumbuhan, pertumbuhan mikroorganisme juga dipengaruhi faktor fisik yaitu:

(1) Temperatur

Temperatur dapat menetukan aktivitas enzim yang terlibat dalam aktivitas kimia. Pada temperatur yang sangat tinggi akan meyebabkan denaturasi protein yang bersifat *irreversible*, sedangkan pada temperatur yang sangat rendah dapat menghentikan aktivitas enzim yang ada. Kecepatan pertumbuhan akan optimal pada suhu pertumbuhan yang optimal[17].

(2) pH

pH merupakan indikasi suatu konsentrasi ion hidrogen. Peningkatan dan penurunan ini hidrogen dapat menimbulkan ionisasi gugus-gugus dalam protein, amino dan karboksilat sehingga dapat menyebabkan denaturasi protein yang berakibat pertumbuhan sel menjadi terganggu[17].

(3) Tekanan Osmosis

Pada suasana lingkungan yang hipertonis maupun hipotonis dapat menyebabkan sel tidak aktif secara metabolik[17].

(4) Oksigen

Berdasarkan akan kebutuhan oksigen, mikroorganisme dapat dibagi menjadi mikroorganisme aerob dan anaerob[17].

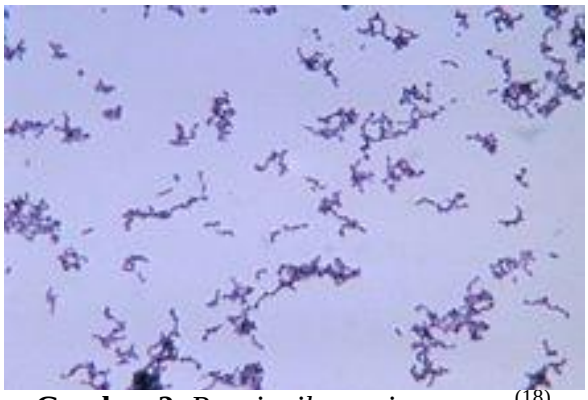
(5) Radiasi

Radiasi yang membahayakan mikroorganisme adalah berupa radiasi pengionisasi. Pada tingkatan yang rendah radiasi pengionisasi dapat menyebabkan mutasi sel sedangkan pada tingkatan yang tinggi radiasi pengionisasi dapat besifat letal bagi mikroorganisme[17].

a. *P.acnes*

Kingdom : Bacteria
Phylum : Actinobacteria
Famili : Propionibacteriaceae
Genus : *Propionibacterium*
Spesies : *P.acnes*[18].

*Propionibacterium acnes* merupakan bakteri *bacillus* Gram positif yang tidak membentuk spora, bersifat anaerobik yang pada umumnya ditemukan pada kulit manusia dan memiliki hubungan dengan jerawat. *P.acnes* biasanya berkolonisasi dibawah lapisan kulit dalam dimana ketersediaan oksigen sedikit[4]. *Lipase* dari bakteri mendegradasi sebum dan melepaskan asam lemak dan gliserol yaitu suatu senyawa yang dibutuhkan organisme tersebut untuk tumbuh. Produk metabolisme dari *P.acnes* dapat menyebabkan respon peradangan pada jerawat[5].



**Gambar 2**. *Propionibacterium acnes*[18]

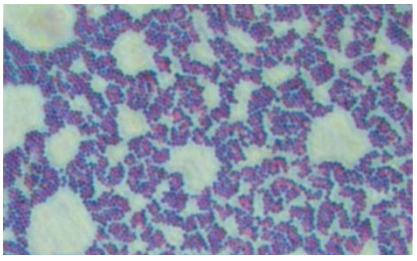
b. *S.epidermidis*

Kingdom : Bacteria
Phylum : Firmicutes
Kelas : Cocci
Orde : Bacillales
Famili : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *S. epidermidis*[19].

*Staphylococcus epidermidis* secara mikroskopis morfologi tidak dapat dibedakan dengan *S.aureus*, *S.epidermidis* adalah bakteri *coccus* Gram positif patogen berbentuk bola yang terbentuk pada kelompok mikroskopik menyerupai anggur dan pada umumnya tidak menghasilkan pigmen dan berwarna putih pucat[16,20].

*Staphylococcus epidermidis* merupakan flora normal pada manusia yang ditemukan pada saluran hidung, kulit dan membran mukus. Dapat memfermentasi gula, menghasilkan asam laktat dan memiliki warna kuning emas pada media agar[20].

*Staphylococcus epidermidis* bertanggung jawab terhadap pertumbuhan jumlah infeksi pasien selama di rumah sakit yang memiliki sistem imun yang lemah dan merupakan penyebab penting dari bakterial endokarditis. Beberapa infeksi sering berawal dari kulit yang terluka yang disebabkan oleh kateter. Patogenesis infeksi dari *S.epidermidis* masih sedikit diketahui. Karakteristik patogenesis dari strain *S.epidermidis* adalah pembentukan sebuah lendir yang menghasilkan formasi biofilm. Lendir tersebut sebagian besar adalah sekresi *teicoic acid*, yang pada umumnya ditemukan pada dinding sel *staphylococci*[16,21].



**Gambar 3.** *Staphylococcus epidermidis*[20].

**4. Antimikrobia**

Senyawa antimikrobia dapat membunuh mikroorganisme atau menghambat pertumbuhannya. Senyawa yang dapat menhambat petumbuhan disebut senyawa bakteriostatik, senyawa ini tergantung pada pertahanan dari *host* untuk membunuh atau mengeliminasi patogen, setelah pertumbuhan dari patogen tersebut dihambat. Sedangkan senyawa yang dapat membunuh mikroorganisme disebut senyawa bakterisidal, senyawa ini terutama digunakan pada situasi dimana pertahanan *host* tidak dapat menghilangkan atau memusnahkan patogen[(5)]. Secara umum obat antimikroba sebaiknya memiliki sifat sebagai berikut :

(1) Menghambat atau membunuh patogen tanpa merusak hospes,
(2) Memiliki sifat bakterisidal dan bukan bersifat bakterostatik,
(3) Tidak menyebabkan resisitensi pada kuman,
(4) Memiliki spektrum yang luas,
(5) Tidak memiliki sifat alergenik ataupun menimbulkan efek samping jika digunakan dalam jangka waktu lama,
(6) Stabil dan larut dalam air,
(7) Kadar bakterisidal didalam tubuh capat tercapai dan bertahan untuk waktu yang lama, serta tetap aktif pada cairan plasma[(16)].

**5. Mekanisme Kerja Obat Antimikrobia**

a. Menghambat sintesis dinding sel

Dasar dari selektifitas obat ini adalah terletak pada perbedaan struktur dinding sel prokariot yang terdiri dari peptidoglikan sedangkan pada sel eukariot tidak terdapat peptidoglikan, sehingga aman jika dipergunakan sebagai obat antibakteri. Obat antimikrobia yang menghambat pembentukan diding sel efektif ketika suatu bakteri sedang aktif untuk membelah[(16)].

b. Merusak membran sel

Membran sel menjaga komposisi internal dari suatu sel dengan cara mengatur permeabilitas selektif dan transport aktif. Rusaknya suatu membran sel dapat mengakibatkan metabolit penting yang berada

dalam sel dapat keluar dari sel dan mengakibatkan kematian dari sel tersebut[16].

c. Menghambat sintesis asam amino

Antimikrobia ini dapat bekerja dengan menghambat sintesis mRNA pada proses transkripsi[16].

d. Antagonis metabolit

Mekanisme dari senyawa antagonis metabolit adalah dengan cara menghambat secara kompetitif terhadap sintesis metabolit esensial, dan pada umumnya, senyawa antagonis metabolit memiliki sifat bakteriostatik[16].

**6. Metode Pengukuran Aktivitas Antibakteri**

a. Metode *disc diffusion*

Suspensi dari kultur bakteri disesuaikan sekitar $10^6$ cfu/ml kemudian disebarkan pada media agar (misal Mueller-Hinton broth). Sedangkan *disc paper* (6mm) yang ditambahkan senyawa antibakterial, diletakkan diatas permukaan media. Plate didiamkan selama 30 menit pada suhu ruangan hingga senyawa antibakterial berdifusi dan kemudian diikubasi pada suhu 37$^o$C. Pada akhir periode, zona hambat disekitar *disc* kemudian diukur[22].

b. E-Test

Permukaan agar diinokulasi dengan menggunakan sebuah alat yang bersifat non-toksik, selanjutnya dicelupkan pada suspensi sel bakteri yang telah diperkirakan, hingga mencapai standar kekeruhan 0,5 Mc Farland. Setelah kelebihan dari kelembapan diserap kedalam agar dan permukaan telah sepenuhnya kering, strip E-test diletakkan pada masing-masing *plate* yang kemudian dilakukan inkubasi. Kadar hambat minimum dibaca pada konsentrasi terendah dimana batas zona hambat berbentuk elips terlihat[23].

c. Cup-plate (*Agar well diffusion*)

Mikroorganisme diinokulasi pada media agar dengan teknik *spread plate*. Empat lubang sumuran dibuat pada masing-masing *plate* dan

sampel senyawa antimikroba ditambahkan pada *plate* sumuran, kemudian diinkubasi pada suhu 37$^{o}$C. Aktivitas antimikroba dievaluasi dengan mengukur zona hambat[24].

d. *Micro-well dilution*

Inkulasi mikroorganisme dipersiapkan dari kultur cair dan suspensi bakteri disesuaikan hingga mencapai standar kekeruhan 0,5 McFarland. Senyawa antimikroba dilarutkan dalam 10% dimetilsulfoksida (DMSO) yang dicairkan awal hingga konsentrasi tertinggi yang akan diujikan, dan selanjutnya dibuat dalam beberapa seri kadar dari konsentrasi terkecil hingga konsentrasi terbesar dalam 10 ml tabung uji steril dengan *nutrient broth*. Nilai MIC ditentukan dengan metode *micro-well dilution*, 96 *plate* sumuran disiapkan dengan membagi kedalam masing-masing sumuran 95 µl *nutrient broth* dan lima mikroliter inokulum, 100 µl ekstrak awal dipersiapkan pada konsentrasi 5 mg/ml yang ditambahkan ke dalam sumuran pertama. Kemudian 100 µl dari seri dilusinya dipindahkan ke dalam enam sumuran yang berurutan. Pada sumuran terakhir di masukkan 195 µl *nutrient broth* tanpa kandungan senyawa dan lima mikroliter inokulum pada masing-masing pita digunakan sebagai kontrol negatif. Total volume akhir pada masing-masing sumuran adalah 200 µl. Senyawa pembanding digunakan sebagai kontrol positif. Kemudian *plate* ditutup dengan segel, isi masing-masing sumuran dicampur pada sebuah *plate shaker* dengan kecepatan 300 rpm selama 20 detik kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan mikrobia ditemtukan dengan absorbansi pada panjang gelombang 600 nm dan dikonfirmasikan dengan lima mikroliter sampel dari sumuran yang jerbih pada media agar Muller Hinton. MIC ditegaskan sebagai konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme[22].

e. *Agar dilution method*

Senyawa antimikrobial ditambahkan pada media kultur yang telah diautoklaf hingga total volume mencapai 20 ml, kemudian dikocok dan dituangkan ke dalam masing-masing cawan petri steril sekitar 6,6 ml. Bakteri kemudian ditanam dengan teknik pola radial streak pada lapisan agar. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali dan sebagai pelarut kontrol, DMSO (1%) ditambahkan pada cawan petri, kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 37°C dan diobservasi setelah masa inkubasi[(9)].

f. *Broth dilution assay*

Semalaman kultur bakteri tumbuh dalam kultur *nutrient broth,* dimana dicairkan 100µl kultur bakteri dalam 10 ml *nutrient broth* yang mrngandung bakeri $10^5$ cfu, volume ekstrak yang ditingkatkan secara bengangsur-angsur ditambahkan pada tabung uji yang mengandung kultur bakteri untuk mengetahui konsentrasi daya hambat terhadap adanya bukti pertumbuhan bakteri. Tabung kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Tabung kemudian diperiksa untuk melihat kekeruhan yang tampak, *optical density* ditentukan pada 620 nm yang menggunakan *nutrient broth* sebagai kontrol. Konsentrasi dengan pertumbuhan terkecil yang terlihat pada mikroorganisme uji dicatat debagai MIC (*Minimum inhibitory concentration)*[(25)].

g. MIC dan MBC

*Minimum inhibitory concentration* (MIC) adalah konsentrasi terendah dari suatu antimikrobia yang diperlukan untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme. Ini ditentukan oleh pengujian kemampuan pertumbuhan bakteri pada kultur cair yang mengandung konsentrasi antibakteri yang berbeda-beda. Urutan konsentrasi dilusi pada umumnya menurun dari senyawa antibiotik yang pertama kali disiapkan pada media tumbuh yang sesuai[(5).]

*Minimum bactericidal concentration* (MBC) adalah konsentrasi terendah dari senyawa antimikrobia yang dapat membunuh 99,9% sel bakteri. MBC ditentukan oleh pengujian terhadap organisme hidup

yang diambil dari uji MIC yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. MBC dinyatakan jika tidak terdapat bakteri yang hidup pada suatu konsentrasi antibiotik[5].

**7. Metode Ekstraksi**

a. Maserasi

Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang telah dihaluskan sesuai persyaratan farmakope, disatukan dengan bahan pengekstraksi. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengentraksi, semakin banyak yang diperoleh. Cairan maserasi dan cairan yang diperoleh melalui perasaan disatukan, yang selanjutnya diatur hingga kadar dan jumlah yang diinginkan[26].

b. Perkolasi

Perlokasi dilakukan dalam suatu wadah (perkulator). Bahan pengekstraksi yang dialirkan secara terus menerus dari atas kemudian akan mengalir turun secara lambat dan melintasi simplisia yang pada umumnya berupa serbuk kasar [26].

c. Destilasi

Metode destilasi mencakup penempatan bagian tumbuhan atau obat yang telah dihancurkan akan disuling menggunakan alat destilasi[27].

**8. Kromatografi**

Kromatografi merupakan teknik pemisahan yang menggunakan fase diam (*stationary phase*) dan fase gerak (*mobile phase*). Teknik kromatografi telah berkembang dan telah digunakan untuk memisahkan dan mengkuantifikasi berbagai macam komponen yang kompleks, baik komponen organik maupun komponen anorganik[28].

a. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi kertas merupakan bagian dari “kromatografi planar”, dari keseluruhan metode

kromatografi secara luas KLT adalah metode yang paling sederhana untuk dilakukan. Peralatan yang diperlukan adalah sebuah bejana tertutup yang cocok dan berisi pelarut serta lempengan berlapis untuk melakukan pemisahan serta analisis kualitatif dan kuantitatif. Pengumpulan sampel, preservasi dan purifikasi adalah masalah utama dalam KLT dan metode kromatografi yang lain. KLT dapat mengatasi kontaminasi sampel yang tinggi, dan sepenuhnya kromatogram dapat dievaluasi, penurunan derajat pembersihan (*clean up*) dibutuhkan dan dapat menghemat waktu dan biaya[29]. Parameter dasar yang digunakan dalam KLT adalah nilai $R_f$, dimana :

$$R_f = \frac{\text{Jarak perpindahan solut}}{\text{jarak perpindahan fase gerak}}$$

Fase diam yang dipergunakan dalam KLT merupakan penjerap yang memiliki ukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm. Semakin kecil ukuran partikel suatu fase diam dan semakin sempit ukuran dari fase diam, maka kinerja KLT akan semakin baik. Penjerap yang paling sering dipergunakan adalah silika dan serbuk selulosa[28]. Pada metode KLT senyawa dideteksi pada lapisan fase diam (*layer*) dengan berdasar pada warna alami senyawa tersebut, pemendaran warna dibawah sinar UV atau zona pemendaran setelah bereaksi dengan reagen yang tepat[29].

b. *TLC-bioautography*

Sekitar 10 μl ekstrak ditotolkan pada plat silika gel 60 (Merck) kromatografi prepraratif berukuran 3 x 8 cm. Satu mikroliter dari ($10^5$ cfu/ml) kultur cair digunakan untuk setiap 10 ml nutrient agar, pengembangan kromatogram di letakkan pada wadah plat yang steril. Kultur ditambahkan pada nutrient agar dengan suhu 42°C, dicampur dan dituang di atas kromatografi lapis tipis (KLT). Plat diinkubasi pada suhu 37 °C selam. Zona hambat dari bakteri dapat dilihat disekitar spot kromatogram yang aktif[30].

## B. Landasan Teori

Jerawat merupakan penyakit umum pada kulit, sedangkan *P.acnes* dan *S.epidermidis* adalah dua bakteri utama yang diisolasi dari luka jerawat, sehingga dimungkinkan kedua bakteri tersebut memiliki peranan dalam patologi jerawat. Dalam sebagian masyarakat tanaman binahong secara empiris dipercaya dan digunakan untuk mengobati jerawat.

Pada penelitian Tshikalange *et al.*,[9] menunjukkan bahwa ekstrak kloroform dan air dari akar binahong dapat melawan bakteri Gram positif, seperti *B. subtilis* dan *S. aureus* dan juga dapat melawan bakteri Gram negatif seperti *E. cloacae, E.coli, K.pneumoniae, P.aeruginosa, S. marcescens,* dan *Enterobacter aerogenes* dengan pencapaian nilai MIC sebesar 60 mg/ml dan ekstrak airnya juga dapat menghambat bakteri Gram positif lain yaitu *B.pumilus*. Sedangkan pada penelitian yang telah dilaksanakan Khunaifi.,[10] menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong memiliki nilai KHM terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 25% (b/v), sedangkan pada bakteri *P.aeruginosa* konsentrasi 50% (b/v) dan nilai KBM terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 50% (b/v), sedangkan pada bakteri *P.aeruginosa* pada konsentrasi 100% (b/v). Dengan demikian kemungkinan besar binahong dapat melawan *P.acnes* dan *S.epidermidis* yang kemungkinan berperan dalam patologi jerawat. Dari alasan tersebut maka dilakukan pengujian aktivitas antibakteri daun binahong terhadap *P.acnes* dan *S.epidermidis* serta mencari tahu senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri tersebut.

## C. Hipotesis

Fraksi-fraksi dari daun binahong memiliki aktivitas antibakteri yang berpotensi untuk melawan *P.acnes* dan *S.epidermidis.*

# BAB III
# METODE PENELITIAN

## A. Bahan dan Alat

### 1. Bahan

a. Untuk proses ekstraksi : Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen), metanol, aquadest, petroleum eter, kloroform dan etil asetat.
b. Untuk uji aktivitas antibakteri : media TSA (*Trypton Soya Agar*), TSB (*Trypton Soya Broth),* NA(*Nutrient Agar*), NB (*Nutrient Broth*), DMSO (*Dimethyl sulphoxide*).
c. Untuk uji KLT- bioautografi : Etil asetat, n-Heksan serta pereaksi Dragendorff, uap amoniak, Anesaldehid-asam sulfat dan pereaksi $FeCl_3$.

### 2. Alat

a. Untuk proses ekstraksi bahan : oven, timbangan digital, *rotary evaporator*, dan cawan evaporasi.
b. Untuk pengujian aktivitas bakteri : autoklaf, inkubator, lampu spritus, LAF (*Laminar Air Flow*), peralatan gelas (Iwaki Pyrex), *microplate 96-well* (Iwaki), cawan petri, ose, alat pembuat lubang sumuran, *anaerob chamber,anaerogen* dan indikator *anaerob*, *yellow tip*, *blue tip* serta *micropipet*.
c. Untuk pengujian kandungan senyawa dengan metode KLT-bioautografi : bejana pengembang, plat silika gel $60F_{254}$, pinset dan lampu UV 254 nm dan 366 nm.

### 3. Bakteri

Kultur bakteri *P.acnes* ATCC 6919 (American Type Culture Collection) yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi UII dan *S.epidermidis* FNCC 0048 (Food and Nutrition Culture Collection) yang dibeli dari Pusat Antar Universitas (PAU)-Universitas Gajah Mada.

## B. Cara Penelitian

Penelitian dilakukan secara in vitro dengan metode eksperimental di Laboratorium Terpadu UII.

### 1. Determinasi tanaman binahong

Tumbuhan binahong diambil dari daerah Purwosari, Sinduadi, Mlati, Sleman dan kemudian dilaksanakan proses dideterminasi tanaman di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Islam Indonesia dengan cara mengamati bagian-bagian tumbuhan yang akan dipergunakan dalam penelitian dan kemudian dibandingkan dengan data pada literatur *Flora of Java*.

### 2. Penyiapan simplisia daun binahong

Daun segar binahong yang telah dikumpulkan sebanyak 5 kg dipisahkan antara daun dan tangkainya, kemudian dicuci dengan air mengalir. Daun yang telah dicuci diangin-anginkan selama 1½ hari kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40-50°C selama 2-3 hari. Selanjutnya daun dihancurkan dengan blender hingga menjadi serbuk.

### 3. Penyiapan ekstrak dan fraksi petroleum eter, kloroform, etil asetat serta metanol-air dari daun binahong.

Proses ekstraksi yang dipergunakan dalam penelitian ini mengacu pada metode Abdelkader *et al*[(22)]. Serbuk kering daun binahong sebanyak 100g diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan (1:3) dan diaduk secara berkala, hasil ekstraksi disaring dan dipekatkan dengan proses penguapan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu pemanasan 40-41°C untuk mendapatkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat selanjutnya difraksinasi menggunakan metode fraksinasi cair-cair secara berturut-turut dengan menggunakan petroleum eter, kloroform, etil asetat dan metanol-air. Tahapan proses fraksinasi adalah sebagai berikut, ekstrak pekat dilarutkan dalam pelarut metanol-air (7:3 v/v) dan dimasukkan dalam labu pemisah, kemudian ditambahkan petroleum eter dengan perbandingan (1:1v/v), campuran tersebut digojog dan didiamkan hingga pelarut terpisah dan

membentuk dua bagian, selanjutnya fraksi methanol-air yang berada bagian lapisan bawah dipisahkan dari fraksi petroleum eter yang berada dilapisan bagian atas, sisa metanol-air ditambahkan kembali dengan kloroform, sesuai dengan proses fraksinasi sebelumnya fraksi kloroform yang berada dibagian bawah dipisahkan dengan fraksi metanol-air yang berada dilapisan bagian atas. Fraksi metanol-air kemudian dipekatkan dan ditambahkan dengan etil asetat dan dipisahkan kembali menjadi fraksi etil asetat yang terletak dilapisan bagian atas dan fraksi metanol-air yang terletak dibagian bawah. Masing-masing fraksi kemudian dipekatkan dan dibuat dalam larutan stok, dari proses fraksinasi tersebut akan didapatkan empat fraksi yaitu fraksi petroleum eter, fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air.

**4. Proses sterilisasi, peremajaan dan pembuatan inokulum bakteri**

Media pertumbuhan ditimbang dan dilarutkan dengan aquadest dalam labu elemyer sebanyak yang akan diperlukan. Penimbangan media disesuaikan dengan ketentuan untuk masing-masing media (28 g/liter untuk NA, 40 g/liter untuk TSA, 30 g/liter untuk TSB dan 13 g/liter untuk NB), selanjutnya media disterilkan bersama dengan peralatan kaca yang telah dibungkus menggunakan kertas payung dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121$^{o}$ C selama 15 menit. LAF dibersihkan menggunakan etanol 70%, LAF kemudian disterilisasi menggunakan sinar UV selama ± dua jam.

Bakteri diremajakan dengan menggunakan media agar yang telah disterilkan (NA untuk *S.epidermidis* dan TSA untuk *P.acnes*) sedangkan pada pembuatan inokulum bakteri, media yang dipergunakan adalah media cair (TSB untuk *P.acnes* dan NA untuk *S.epidermidis*). Setelah proses sterilisasi seliesai, media pertumbuhan bakteri kemudian dituangkan dalam tabung reaksi dan ditunggu hingga media dingin (untuk peremajaan tabung diletakkan dalam posisi miring). Ose selanjutnya dipanaskan dengan api spritus hingga terlihat membara, dan setelah dirasakan cukup dingin biakan bakteri diambil dengan menggunakan ose tersebut dan digoreskan pada media yang telah disediakan (proses penggoresan dilaksanakan didalam LAF dan didekatkan dengan nyala api). Biakan bakteri kemudian diikubasi pada suhu 37°C (*S.epidermidis* dalam

suasana aerob selama 24 jam dan untuk *P.acnes* diinkubasi pada suasana anaerob selama 72 jam dengan menggunakan *anaerob jar*) dan anaerogen yang berfungsi untuk menghilangkan kandungan oksigen yang terdapat di dalam lingkungan *anaerob jar* sehingga menciptakan suasana anaerob dalam *anaerob jar,* keadaan tersebut ditandai dengan berubahnya kertas indikator anaerob dari warna merah muda menjadi putih. Setelah inkubasi biakan bakteri selanjutnya disimpan pada lemari pendingin hingga digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri.

**5. Uji pendahuluan fraksi daun binahong**

Uji pendahuluan aktivitas antibakterial masing-masing fraksi daun binahong mengacu pada metode Velmurugan *et al*[(24)]. Uji pendahuluan dilaksanakan dengan menggunakan metode sumuran dengan teknik *pour plate* yaitu mencampurkan 200 µl inokulum bakteri yang telah disesuaikan dengan standar Mc Farland ($0,5x10^8$ cfu/ml) pada 20 ml media (NA untuk *S.epidermidis* dan TSA untuk *P.acnes*) dan didiamkan hingga menjadi padat sehingga didapatkan konsentrasi akhir bakteri sebesar $0,5x10^6$ cfu/ml, kemudian lubang sumuran dibuat dengan ukuran diameter sebesar 6 mm, 20 µl larutan masing-masing fraksi dengan konsentrasi (5% -10 % b/v) selanjutnya dituangkan ke dalam lubang sumuran yang telah dibuat dan diinkubasi selama 24 jam pada suasana aerob untuk *S.epidermidis* dan selama 72 jam pada suasana anaerob untuk *P.acnes,* setelah itu dilakukan proses pengamatan terhadap zona hambat yang terbentuk. Kontrol positif yang dipergunakan sebagai kontrol pembanding yang menunjukkan adanya zona hambat pada koloni bakteri adalah sediaan krim benzoil peroksida sedangkan kontrol negatif yang dipergunakan sebagai kontrol pembanding yang menunjukkan tidak adanya zona hambat yang terbentuk pada koloni bakteri adalah DMSO (*Dimethyl sulphoxide*).

**6. Penentuan KHM dan KBM fraksi aktif daun binahong**

Pengujian terhadap aktivitas antibakterial kemudian dilanjutkan dengan menggunakan metode dilusi cair untuk menentukan konsentrasi fraksi daun

binahong yang dapat menghambat pertumbuhan *P.acnes* dan *S.epidermidis*. Proses pengujian secara dilusi cair dilaksanakan dengan tahapan sebagai berikut, fraksi yang terbukti dapat menghambat pertumbuhan *P.acnes* dan *S.epidermidis* dilarutkan menggunakan DMSO (*Dimethyl sulphoxide*) hingga didapatkan konsentrasi fraksi 5% (b/v) hingga 0,3125% (b/v) pada *96-well microplate*.

Volume sampel yang digunakan adalah 95 µl media cair, 100 µl larutan fraksi ekstrak, dan 5 µl inokulum bakteri yang telah disesuaikan dengan standar Mc Farland $0{,}5x10^8$ cfu/ml pada masing-masing lubang sehingga didapatkan konsentrasi suspensi bakteri akhir $1{,}25 \times 10^6$ cfu/ml. Kontrol positif yang sebagai pembanding adanya pertumbuhan bakteri adalah media cair dengan inokulum bakteri, sedangkan kontrol negatif sebagai pembanding tidak adanya pertumbuhan bakteri adalah media cair dengan larutan fraksi[(31)].

Sampel dalam lubang *microplate* dicampur dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan kondisi masing-masing bakteri (proses inkubasi sama dengan perlakuan pada uji pendahuluan). KHM (Kadar hambat Minimum) ditentukan dengan konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri secara pengamatan visual, dan untuk mengetahui nilai KBM (Kadar Bunuh Minimum) selajutnya hasil pengenceran digoreskan pada media padat yang sesuai dan dilaksanakan proses inkubasi pengamatan pertumbuhan bakteri yang terjadi.

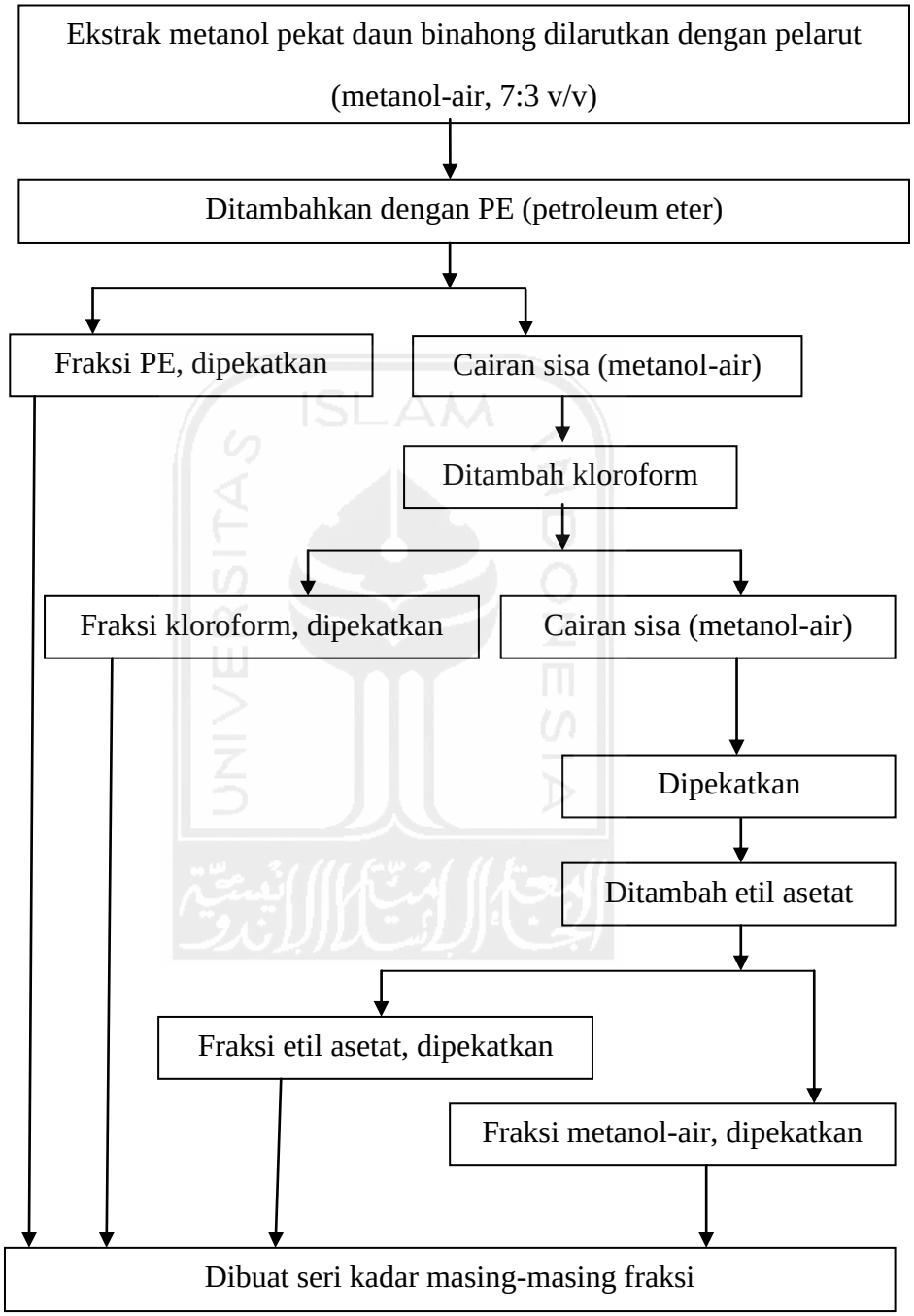
**7. Identifikasi senyawa antibakteri dan uji bioautografi fraksi terkaktif dari daun binahong**

Pengujian dengan metode bioautografi dan identifikasi senyawa dilaksanakan untuk fraksi daun binahong yang menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling besar. Uji bioautografi dan identifikasi senyawa dilaksanakan dengan tahapan awal penyiapan dua plat KLT berukuran 2 x 10 cm (satu plat untuk uji bioautografi dan satu plat untuk identifikasi senyawa). Kadar fraksi yang digunakan dalam uji ini adalah kadar fraksi yang dapat menunjukkan aktivitas antibakteri. Sampel ditotolkan pada plat silika gel $60F_{254}$, kemudian dielusi pada bejana pengembang dengan menggunakan

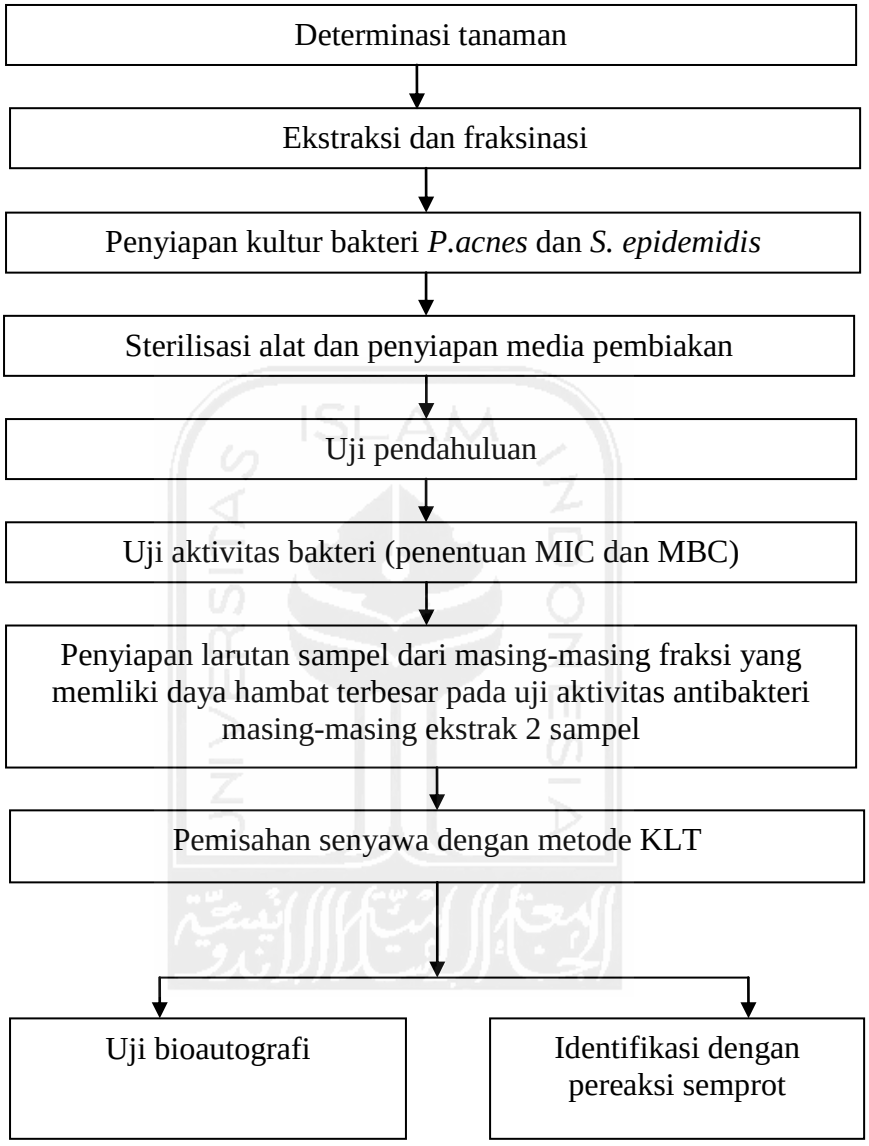
perbandingan pelarut yaitu n-heksan : etil asetat (2:1)[32]; Kloroform : etil asetat (8:2)[33]. Bercak hasil elusi diamati pada sinar Ultraviolet (UV) dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm dan kemudian tandai tempat spot yang terlihat serta dilakukan perhitungan nilai hRf. Untuk menentukan golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi, dilaksanakan proses identifikasi senyawa dengan menggunakan perekasi semprot.

a. Untuk identifikasi senyawa alkaloid pereaksi yang digunakan adalah pereaksi Dragendorff[25],
b. Untuk identifikasi senyawa flavonoid pereaksi adalah uap amoniak[25],
c. Untuk identifikasi senyawa saponin yang digunakan adalah pereaksi anisaldehid-asam sulfat[25].
d. Untuk identifikasi senyawa fenol yang digunakan adalah pereaksi $FeCl_3$[33].

Uji bioautografi dilaksanakan dengan sedikit memodifikasi metode yang telah dipaparkan oleh Ahmad dan Beg[30]. Pengujian bioautografi dilaksanakan dengan menggunakan fraksi yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang paling besar dengan tahapan sebagai berikut, 20 µl larutan fraksi ditotolkan pada plat silika gel $60F_{254}$ berukuran 2 x 10 cm, pengembangan kromatogram dilakukan pada tempat yang steril dengan fase gerak yang sama dengan fase gerak yang dipergunakan dalam identifikasi kandungan senyawa. Plat hasil elusi kemudian ditempelkan plat pada media yang telah dicampur dengan inokulum bakteri dan didiamkan selama 20-30 menit supaya fraksi dapat berdifusi kedalam media padat, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam pada suasana aerob untuk *S.epidermidis* dan selama 72 jam dalam suasana anaerob untuk *P.acnes*. Zona hambat yang tampak pada tempat tiap-tiap bercak KLT dibandingkan denga nilai hRf dari bercak yang telah diidentifikasi dengan pereaksi semprot untuk mengetahui senyawa yang berperan sebagai antibakterial.




**Gambar 4**. Skema proses fraksinasi




**Gambar 5**. Skema langkah penelitian

# BAB IV

# HASIL DAN PEMBAHASAN

## A. Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilaksanakan di Laboratorium Biologi Farmasi UII. Pelaksanaan determinasi tanaman bertujuan untuk menyesuaikan spesies tanaman yang akan dipergunakan dalam penelitian dengan data yang terdapat dalam literatur. Determinasi dilaksanakan dengan cara mengamati bagian-bagian tumbuhan secara morfologis dan dibandingkan dengan data pada literatur yang ada. Hasil determinasi tumbuhan yang berdasarkan pada pada literatur *Flora* adalah 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a……..(golongan 4 (tumbuhan membelit atau memanjat)) 41b-42b-43b-54b-59b-61b-62b-63a-64b……..…….(famili 45(*Basellaceae*), dan pada sumber *Flora of Java* menunjukkan hasil bahwa tanaman yang akan dipergunakan untuk penelitian termasuk dalam famili *Basellaceae*-1b (genus: Anredera)-1a (spesies: *Anredera cordifolia* (Tenore) Steen[(34)]. Data hasil determinasi tanaman selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 1.

## B. Hasil Penyiapan Simplisia Daun Binahong

Pengeringan adalah suatu proses pengurangan kadar air dari suatu bahan dengan menggunakan energi panas. Tujuan dari pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air dalam daun binahong sehingga dapat menghambat terjadinya proses pembusukkan dan mencegah tumbuhnya jamur. Pengaturan suhu pengeringan diantara 40-50°C, dimaksudkan agar senyawa yang terkandung di dalam daun tidak menjadi rusak. Hasil proses pengeringan dan penyerbukkan daun binahong didapatkan serbuk daun binahong yang berwarna hijau kecoklatan sebanyak 100 gram. Penyerbukan daun dilakukan dengan tujuan supaya pelarut akan lebih mudah masuk ke dalam pori-pori simplisia ketika dilakukan proses ekstraksi, sehingga dapat menarik senyawa-senyawa yang terkandung dalam simplisia secara maksimal.

## C. Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Binahong

Proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dipilih dikarenakan maserasi merupakan proses ekstraksi yang sederhana, sedangkan alasan penggunaan pelarut metanol dalam proses ekstraksi adalah dikarenakan metanol merupakan pelarut yang memiliki sifat universal sehingga dimungkinkan senyawa-senyawa dalam daun binahong dapat terambil seluruhnya oleh metanol baik senyawa yang bersifat polar hingga senyawa yang memiliki sifat non-polar, selain itu metanol memiliki sifat volatil (mudah menguap) sehingga cairan hasil maserasi akan mudah dipekatkan dengan cepat. Hasil dari proses maserasi yang didapatkan berupa ekstrak cair yang memiliki warna hijau tua.

Pemekatan ekstrak bertujuan untuk menghilangkan pelarut metanol telah yang dipergunakan pada proses ekstraksi sampel. Pengaturan suhu pemanasan antara 40-41°C pada proses evaporasi dimaksudkan untuk mencegah rusaknya kandungan senyawa terutama untuk senyawa-senyawa yang tidak tahan terhadap suhu pemanasan yang tinggi, dengan demikian dari proses ekstraksi daun binahong didapatkan ekstrak pekat daun binahong sebanyak 15,92 gram dengan karakteristik sedikit lengket dan memiliki warna hijau kehitaman.

Fraksinasi merupakan proses pemisahan sampel uji, hal ini berfungsi untuk memisahkan senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda sehingga akan mempermudah dalam proses identifikasi senyawa. Pelarut yang dipergunakan dalam proses fraksinasi adalah petroleum eter, kloroform etil asetat dan methanol-air. Perbedaan tingkat polaritas pelarut yang digunakan tersebut akan memisahkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun binahong berdasar pada tingkat kepolarannya, dengan kata lain senyawa non-polar akan tertarik oleh pelarut petroleum eter, senyawa yang bersifat sedikit non-polar akan tertarik oleh kloroform, senyawa semi polar akan tertarik oleh pelarut etil asetat dan senyawa polar akan tertarik oleh pelarut methanol-air. Proses fraksinasi ekstrak menghasilkan bobot fraksi pekat petroleum eter (2,95 gram), kloroform (1,31 gram), etil asetat (0,16 gram) dan methanol-air (4,73 gram). Perhitungan rendemen dilakukan berdasarkan pada perbandingan antara berat masing-masing fraksi dengan berat ekstrak pekat yang telah

didapatkan, dari perhitungan rendemen maka didapatkan presentase rendemen masing-masing fraksi sesuai dengan yang tercantum pada tabel I.

**Tabel I**. Hasil fraksinasi daun binahong

| Fraksi | Bobot fraksi (gram) | Rendemen (%) |
|---|---|---|
| **Petroleum eter (PE)** | 2,95 | 18,53 |
| **Kloroform** | 1,31 | 8,23 |
| **Etil asetat** | 0,16 | 1,01 |
| **Metanol+air** | 4,73 | 29,71 |

### D. Hasil Uji Pendahuluan Fraksi Daun Binahong

Pada penelitian yang pernah dilaksanakan sebelumnya telah membuktikan bahwa ekstrak dari bagian tanaman binahong memiliki aktivitas antibakteri tehadap beberapa spesies bakteri[9,10]. Ekstrak metanol daun binahong dibuktikan memiliki aktivitas melawan bakteri *S.aureus* dengan nilai kadar 20.000 – 25.000 ppm[35]. Ekstrak etil asetat daun binahong juga terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* dan *P.aeruginosa*[10]. Dikarenakan ekstrak dari daun binahong telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri maka untuk pengujian aktivitas antibakteri daun binahong terhadap *P.acnes* dan *S.epidermidis* dilaksanakan dengan menggunakan fraksi-fraksi dari ekstrak daun binahong tersebut. Fraksi-fraksi yang dipergunakan dalam pengujian antara lain fraksi petroleum eter, fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air.

Uji pendahuluan dilaksanakan dengan tujuan untuk mengetahui fraksi apa saja yang memiliki efek antibakteri terhadap *P.acnes* dan *S.epidermidis*. Uji pendahuluan dilaksanakan dengan menggunakan metode sumuran, yaitu dengan membuat lubang sumuran dengan diameter sebesar 6 mm pada media padat yang sebelumnya telah ditambahkan inokulum bakteri. Uji pendahuluan menggunakan fraksi dari daun binahong dengan konsentrasi awal yang digunakan adalah 5% b/v -10%b/v. Pembuatan sampel uji dilakukan dengan cara melarutkan masing-masing fraksi-fraksi pekat daun binahong dengan menggunakan pelarut DMSO. Alasan penggunaan pelarut DMSO dikarenakan pelarut tersebut merupakan pelarut yang memiliki kemampuan melarutkan

yang tinggi dan tidak memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bekteri, hal tersebut diperkuat dari hasil penelitian yang telah dilaksanakan sebelumnya bahwa pelarut DMSO tidak menunjukkan adanya zona hambat pada bakteri *S.epidermidis* maupun *P.acnes*[36,37,38,39], dengan demikian DMSO dapat dipergunakan sebagai kontrol negatif yaitu sebagai kontrol pembanding yang menunjukkan tidak adanya zona hambat yang terbentuk pada koloni bakteri. Kontrol positif yang dipergunakan sebagai kontrol pembanding yang menunjukkan adanya zona hambat pada koloni bakteri adalah sediaan krim benzoil peroksida yang tersedia dipasaran. Krim benzoil peroksida pada umumnya dipergunakan untuk mengatasi masalah jerawat dengan kata lain dapat mengatasi bakteri penyebab jerawat, dalam hal ini *P.acnes* dan *S.epidermidis* dikarenakan kedua bakteri tersebut merupakan bakteri yang ditemukan pada luka jerawat[7].

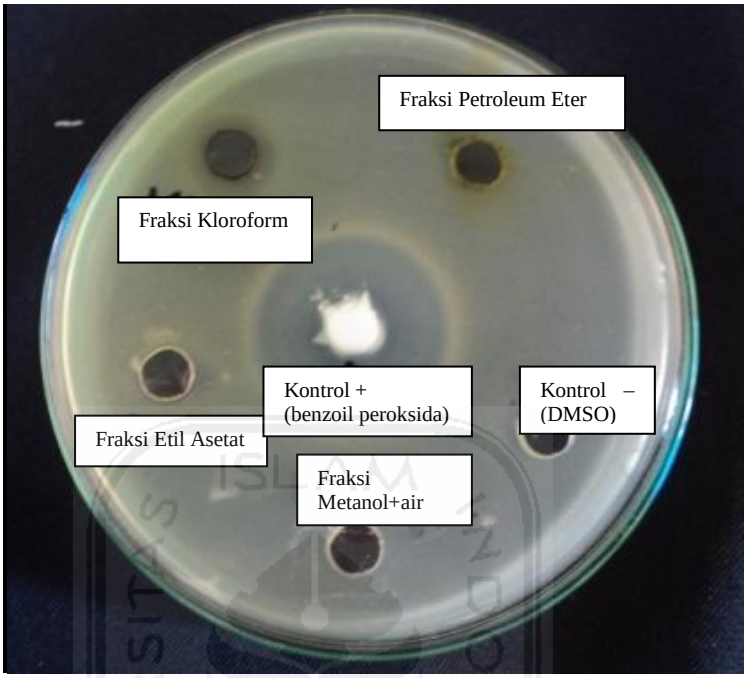
**Tabel II**. Hasil uji pendahuluan aktivitas antibakteri fraksi daun binahong dengan konsentrasi 5 % (b/v).

| **Bakteri** | **Replikasi** | **Diameter zona hambat (mm)** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | PE | Etil Asetat | Kloroform | Metanol + Air | (+) | (-) |
| ***S.epidermidis*** | 1 | 6 | 8 | 11 | 6 | 10 | 6 |
| | 2 | 6 | 9 | 12,5 | 6 | 11 | 6 |
| | 3 | 6 | 9 | 12,5 | 6 | 11 | 6 |
| ***P.acnes*** | 1 | 6 | 10 | 15 | 6 | 11 | 6 |
| | 2 | 6 | 7 | 14 | 6 | 10 | 6 |
| | 3 | 6 | 7 | 14 | 6 | 11 | 6 |

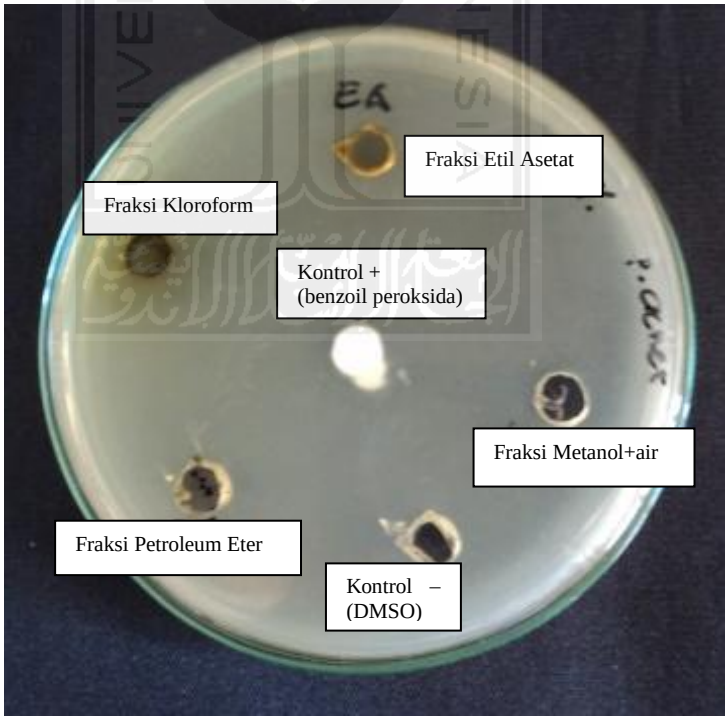
Keterangan : diameter sudah termasuk lubang sumuran (6 mm)
tanda (+) : Kontrol positif (Benzoil peroksida)
tanda ( - ) : Kontrol negatif (DMSO)

Hasil uji pendahuluan menunjukkan bahwa selain kontrol positif (benzoil peroksida), fraksi yang menunjukkan adanya zona hambat terhadap inokulum *P.acnes* dan *S.epidermidis* adalah fraksi kloroform dan fraksi etil asetat dengan konsentrasi fraksi yang digunakan adalah 5% (b/v), dan pada fraksi petroleum eter dan fraksi metanol-air tidak menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi tersebut (Gambar 4). Berdasar pada hasil uji pendahuluan dapat disimpulkan bahwa fraksi yang terbukti memiliki aktivitas

antibakteri melawan *P.acnes* dan *S.epidermidis* adalah fraksi kloroform dan etil asetat, sedangkan untuk fraksi metanol-air dan petroleum eter tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada inokulum kedua bakteri.




a




b

**Gambar 6**. Hasil uji pendahuluan fraksi daun binahong dengan metode difusi sumuran

Keterangan : a : terhadap *S.epidermidis*;
b : terhadap *P.acnes*.

## E. Hasil Penentuan Nilai KHM dan KBM fraksi aktif dari daun binahong

Uji aktivitas antibakteri dapat ditentukan dengan melihat nilai MIC atau KHM (Kadar Hambat Minimum). KHM adalah konsentrasi terendah dari suatu antimikrobia yang diperlukan untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme. Kadar hambat minimum pada bakteri dapat ditentukan dengan pengujian kemampuan pertumbuhan bakteri pada kultur cair yang mengandung konsentrasi antibakteri yang berbeda-beda[5]. Berdasarkan pada uji pendahuluan dari empat fraksi yang diujikan fraksi yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri melawan *P.acnes* dan *S.epidermidis* hanya fraksi kloroform dan etil asetat, dengan demikian dalam uji aktivitas antibakteri untuk menentukan KHM dan KBM fraksi yang diujikan adalah fraksi kloroform dan etil asetat dengan konsentrasi awal yang dipergunakan adalah 5% (b/v), dikarenakan pada uji pendahuluan yang telah dilaksanakan sebelumnya kedua fraksi telah memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi tersebut. Penentuan nilai KHM ditentukan dengan menggunakan metode dilusi, namun dikarenakan bobot masing-masing fraksi aktif yang diperoleh dari proses fraksinasi relatif sedikit maka untuk menanggulangi masalah tersebut uji dilusi dilaksanakan dengan menggunakan bantuan *mikroplate 96-well*. Dalam penentuan nilai aktivitas antibakteri ini masing-masing fraksi dilarutkan dengan DMSO dan didilusikan secara bertahap dalam media cair sehingga didapatkan konsentrasi fraksi uji 5% (b/v) hingga konsentrasi 0,3125% (b/v), proses ini dilaksanakan dengan tiga kali replikasi untuk meminimalisasi kesalahan yang ada. Penggunaan DMSO sebagai pelarut dalam pengujian ini dikarenakan selain tidak menunjukkan daya hambat terhadap *P.acnes* dan *S.epidermidis*[36,37,38,39], dalam uji aktivitas antibakterial dari DMSO, menunjukkan bahwa DMSO tidak menghambat semua spesies bakteri[40], dalam hal ini *P.acnes* dan *S.epidermidis* tidak dicantumkan dalam daftar mikroorganisme yang dapat dihambat oleh DMSO. Pada hasil penelitian yang lain menyatakan bahwa pemberian DMSO dengan konsentrasi yang tinggi pada luka tidak memberikan perbedaan jumlah bakteri dibandingkan

dengan luka yang tidak diobati[41], selain itu terdapat beberapa golongan bakteri yang toleran terhadap kadar DMSO yang tinggi[42].

Pengamatan secara visual dilakukan terhadap hasil inkubasi uji dilusi cair dan didapatkan hasil bahwa nilai kadar hambat minimum sulit untuk ditentukan, dikarenakan fraksi yang diujikan memiliki warna yang pekat sehingga sulit untuk mangamati tingkat kejernihan pada masing-masing konsentrasi pada larutan sampel secara visual sehingga penentuan nilai aktivitas antibakteri dari fraksi daun binahong dilanjutkan dengan uji penentuan nilai Kadar bunuh minimum (KBM). KBM adalah konsentrasi terendah dari senyawa antimikrobia yang dapat membunuh 99,9% sel bakteri. KBM ditentukan oleh pengujian terhadap organisme hidup yang diambil dari uji KHM yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri[5]. Pada penelitian ini nilai KBM ditentukan dengan cara menggoreskan suspensi dari hasil uji dilusi pada media padat NA untuk *S.epidermidis* dan TSA untuk *P.acnes*. Hasil uji gores pada media padat menunjukkan bahwa dari kloroform, pertumbuhan bakteri pada media yang digoreskan mulai tidak tampak pada konsentrasi 2,5% b/v terhadap *S.epidermidis* dan 1,25% terhadap *P.acnes*, sedangkan untuk fraksi etil asetat pertumbuhan bakteri mulai tidak tampak pada konsentrasi 5% b/v terhadap *S.epidermidis* dan 2,5 % b/v terhadap *P.acnes*, hasil tersebut dibandingkan dengan kontrol positif yang menunjukkan positif adanya pertumbuhan bakteri pada media dan kontrol negatif yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media (Gambar.6,7), dengan kata lain nilai KBM untuk fraksi klororform adalah 2,5% b/v terhadap *S.epidermidis* dan 1,25% terhadap *P.acnes*, sedangkan nilai KBM untuk fraksi etil asetat adalah 5% b/v terhadap *S.epidermidis* dan 2,5 % b/v terhadap *P.acnes* (Tabel III-VI). Nilai KBM fraksi kloroform dan etil asetat memiliki nilai yang lebih kecil terhadap pertumbuhan *P.acnes* dibandingkan dengan pertumbuhan *S.epidermidis*, hal tersebut dimungkinkan karena *S.epidermidis* memiliki ketahanan yang lebih kuat dibandingkan dengan *P.acnes*, dengan demikian kadar yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan *S.epidermidis* lebih besar dibandingkan dengan kadar yang diperlukan untuk melawan *P.acnes* namun hasil tersebut dimungkinkan juga dipengaruhi oleh

penggunaan DMSO sebagai pelarut fraksi, dikarenakan DMSO dapat memberikan efek antibakterial terhadap beberapa spesies beakteri dengan konsentrasi yang berbeda-beda[40] sehingga diperlukan sampel pembanding pelarut (DMSO) terhadap *P.acnes* dan *S.epidermidis* untuk mengetahui adanya kemungkinan pengaruh pelarut terhadap efek antibakterial dari masing-masing fraksi yang dipergunakan.

**Tabel III**. Hasil uji KBM fraksi kloroform terhadap *S.epidermidis*

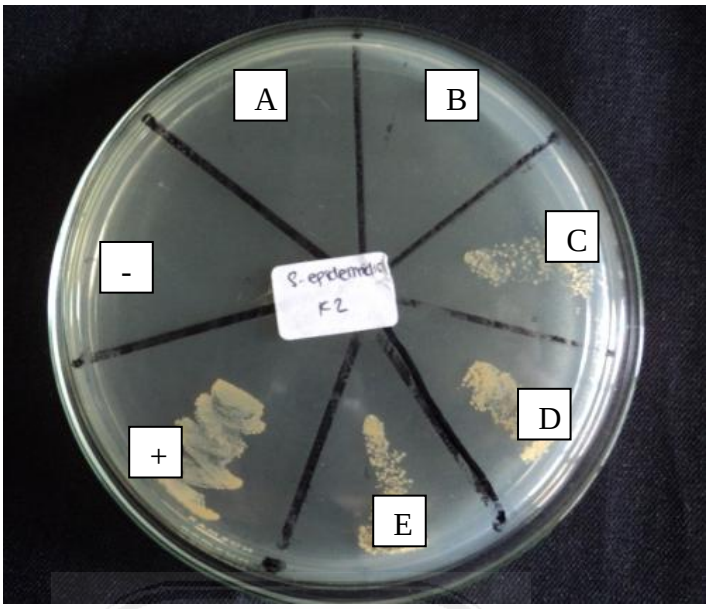
| Konsentrasi | Replikasi | | |
|---|---|---|---|
| | I | II | III |
| A : 5 % | - | - | - |
| B : 2,5 % | - | - | - |
| C : 1,25 % | + | + | + |
| D : 0,625 % | + | + | + |
| E : 0,3125 % | + | + | + |
| Kontrol positif (media dan inokulum bakteri) | + | + | + |
| Kontrol negatif (media, fraksi) | - | - | - |

Keterangan (+) : Tumbuh; (-) : Tidak tumbuh

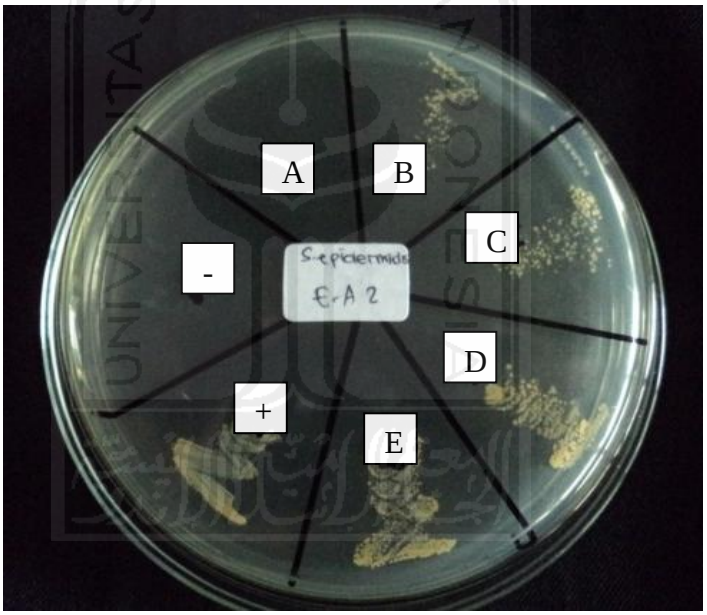
**Tabel IV**. Hasil uji KBM fraksi Etil asetat terhadap *S.epidermidis*

| **Konsentrasi** | **Replikasi** | | |
|---|---|---|---|
| | I | II | III |
| A : 5 % | - | - | - |
| B : 2,5 % | + | + | + |
| C : 1,25 % | + | + | + |
| D : 0,625 % | + | + | + |
| E : 0,3125 % | + | + | + |
| Kontrol positif (media dan inokulum bakteri) | + | + | + |
| Kontrol negatif (media, fraksi) | - | - | - |

Keterangan (+) : Tumbuh; (-) : Tidak tumbuh




a




b

**Gambar 7**. Hasil uji KBM fraksi kloroform dan etil asetat pada *S.epidermidis*

Keterangan :
a = Fraksi kloroform;
b = Fraksi etil asetat;
(+)= Kontrol positif (media dan inokulum bakteri);
(- )= Kontrol negatif (media, fraksi);
A = Konsentrasi fraksi 5% (b/v);
B = Konsentrasi fraksi 2,5 % (b/v);
C = Konsentrasi fraksi 1,25% (b/v);
D = Konsentrasi fraksi 0,625% (b/v);
E = Konsentrasi fraksi 0,325% (b/v).

**Tabel V**. Hasil uji KBM fraksi kloroform terhadap *P.acnes*

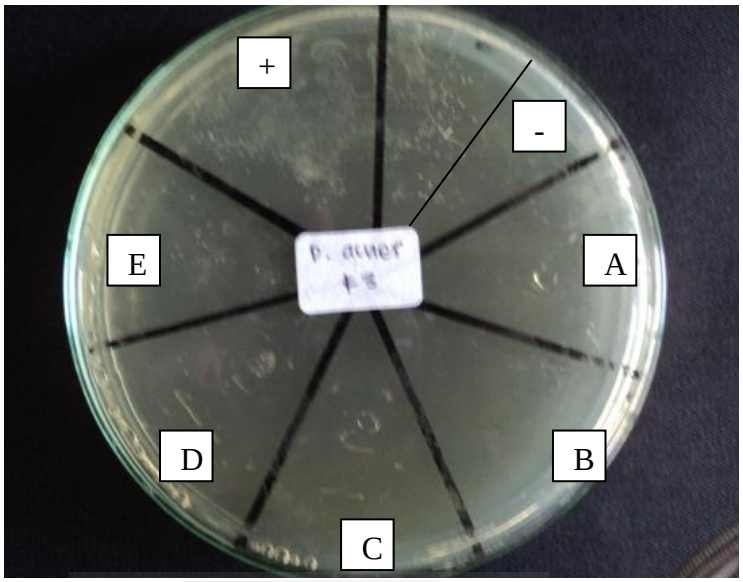
| **Konsentrasi** | **Replikasi** | | |
|---|---|---|---|
| | **I** | **II** | **III** |
| A : 5 % | - | - | - |
| B : 2,5 % | - | - | - |
| C : 1,25 % | - | - | - |
| D : 0,625 % | + | + | + |
| E : 0,3125 % | + | + | + |
| Kontrol positif (media dan inokulum bakteri) | + | + | + |
| Kontrol negatif (media, fraksi) | - | - | - |

Keterangan (+) : Tumbuh; (-) : Tidak tumbuh

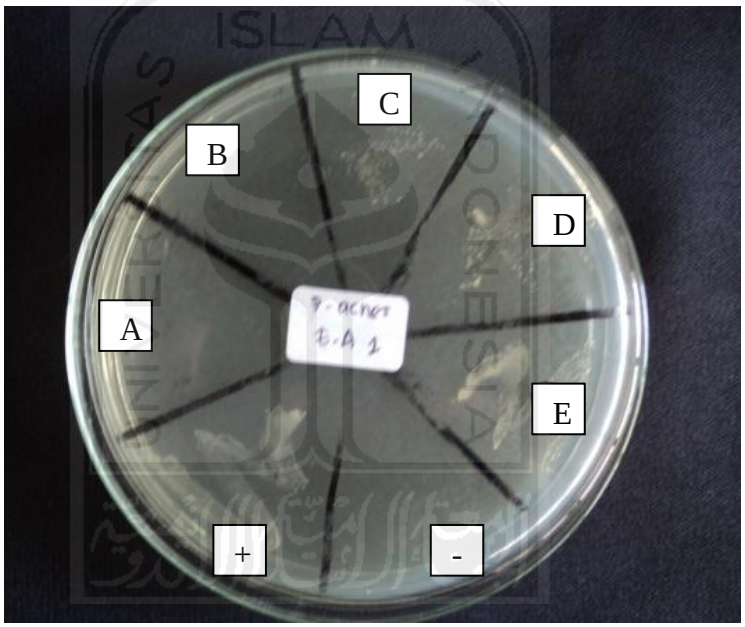
**Tabel VI**. Hasil uji KBM fraksi etil asetat terhadap *P.acnes*

| **Konsentrasi** | **Replikasi** | | |
|---|---|---|---|
| | **I** | **II** | **III** |
| A : 5 % | - | - | - |
| B : 2,5 % | - | - | - |
| C : 1,25 % | + | + | + |
| D : 0,625 % | + | + | + |
| E : 0,3125 % | + | + | + |
| Kontrol positif (media dan inokulum bakteri) | + | + | + |
| Kontrol negatif (media, fraksi) | - | - | - |

Keterangan (+) : Tumbuh; (-) : Tidak tumbuh




a

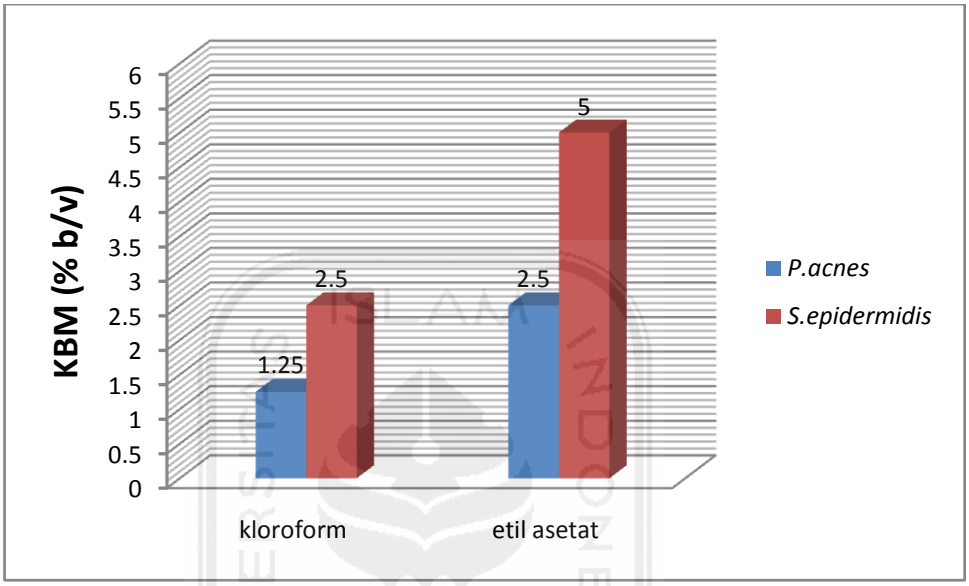



b

**Gambar 8**. Hasil uji KBM fraksi kloroform dan etil asetat pada *P.acnes*

Keterangan :
a = Fraksi kloroform;
b = Fraksi etil asetat
(+)= Kontrol positif (media dan inokulum bakteri);
(- )= Kontrol negatif (media dan fraksi);
A = Konsentrasi fraksi 5% (b/v);
B = Konsentrasi fraksi 2,5 % (b/v);
C = Konsentrasi fraksi 1,25% (b/v);
D = Konsentrasi fraksi 0,625% (b/v);
E = Konsentrasi fraksi 0,325% (b/v).

Berdasarkan pada uji KBM seperti yang telah dipaparkan di atas dapat dilihat bahwa fraksi yang paling aktif melawan *P.acnes* dan *S.epidermidis* adalah fraksi kloroform dikarenakan fraksi klororform memiliki nilai KBM yang lebih kecil dibandingkan dengan nilai KBM fraksi etil asetat baik untuk melawan *P.acnes* dan *S.epidermidis*.

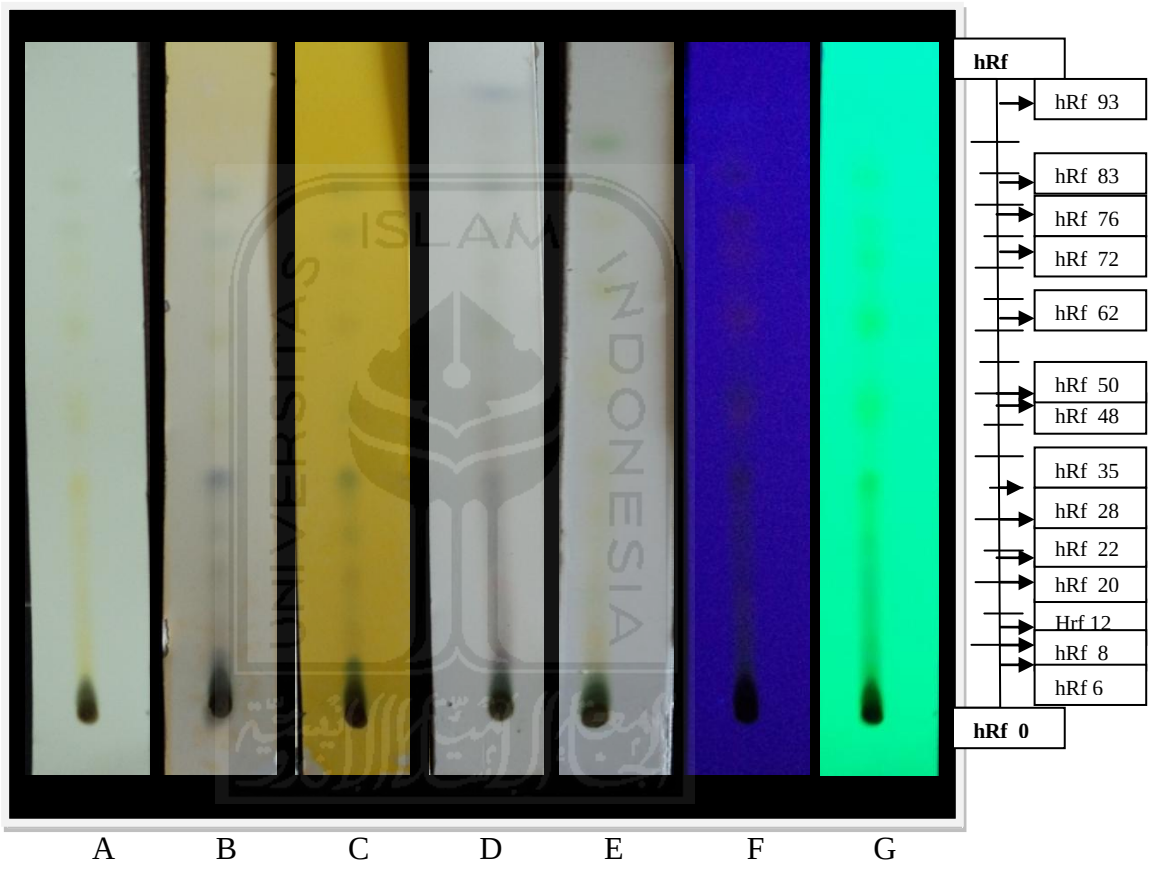



**Gambar 9.** Diagram nilai kadar bunuh minimum fraksi daun binahong terhadap bakteri penyebab jerawat.

## F. Hasil Identifikasi Senyawa Fraksi Kloroform Daun Binahong dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi senyawa dilakukan pada fraksi teraktif dengan tujuan untuk mencari tahu golongan senyawa yang memiliki peranan sebagai antibakteri pada fraksi tersebut. Proses identifikasi senyawa dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dikarenakan metode KLT adalah metode pemisahan senyawa yang paling sederhana dan mudah untuk dilakukan. Penentuan fase gerak yang akan digunakan dalam proses elusi dilakukan dengan memilih antara fase gerak kloroform : etil asetat (8:2)[32] dan n-heksan:etil asetat[33], dari hasil pengujian elusi menggunakan kedua fase gerak tersebut, dipilih fase gerak n-heksan : etil asetat (2:1) untuk pengujian bioautografi dan identifikasi senyawa dikarenakan hasil elusi dianggap lebih baik dengan menghasilkan sembilan bercak yang terlihat terpisah dengan sinar

UV 366nm (Gambar.10). Kesembilan bercak tersebut memiliki nilai hRf sebagai berikut: 6 (bercak ke-1); 17 (bercak ke-2); 35 (bercak ke-3); 48(bercak ke-4); 60(bercak ke-5); 72(bercak ke-6); 76 (bercak ke-7); 83(bercak ke-8); dan 93(bercak ke-9). Identifikasi senyawa dilaksanakan dengan menggunakan pereaksi semprot yang spesifik. Golongan suatu senyawa dapat ditentukan dengan perubahan kompleks warna yang terbentuk antara senyawa yang terkandung dengan pereaksi semprot yang digunakan.




**Gambar 10**. Hasil identifikasi senyawa fraksi kloroform dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (2:1)

Keterangan : A: Pereaksi uap amoniak
B: Pereksi semprot $FeCl_3$
C: Perekasi semprot Dragendorff
D: Pereksi semprot Anisaldehid-asam sulfat
E: Sinar tampak
F: UV 366 nm
G: UV 254 nm

**Tabel VII**. Hasil pengamatan bercak KLT fraksi kloroform setelah diuji dengan pereaksi semprot

| hRf | Perlakuan | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Uap amoniak | $FeCl_3$ | Dragendorff | Anisaldehid-as.sulfat | Sinar tampak |
| 0 | Coklat | Coklat | Hijau | Coklat | Hijau gelap |
| 6 | Hijau | Hijau tua | Hijau | Hijau | Hijau |
| 8 | - | Biru | - | - | - |
| 12 | Kuning | Hijau tua | Hijau | - | Hijau |
| 20 | - | - | - | Merah muda | - |
| 21 | Kuning | Biru | - | - | - |
| 35 | Kuning | Biru | - | - | - |
| 40 | Hijau muda | - | Hijau | - | Kuning redup |
| 48 | - | - | - | Merah muda | - |
| 50 | - | - | - | Ungu | Kuning redup |
| 52 | Kuning | - | - | - | Kuning redup |
| 83 | Hijau | - | - | - | Hijau |
| 93 | - | - | | Biru | - |

Pendeteksian senyawa alkaloid sesuai dengan sumber Wagner[43], senyawa alkaloid dapat diidentifikasi dengan menggunakan pereaksi Dragendorff dengan menimbulkan warna bercak coklat atau jingga kecoklatan tetapi pada uji semprot pada KLT fraksi kloroform yang telah dilakukan menunjukkan hasil yang berbeda yaitu timbul bercak bewarna hijau pada hRf 6 dan 40 (Tabel VII), dengan kata lain tidak terdapat senyawa alkaloid dalam fraksi kloroform daun binahong.

Saponin sebagian besar adalah glikosida triterpen dan senyawa saponin dapat dideteksi dengan sinar UV 365 nm dengan menunjukkan bercak berpendar bewarna biru, ungu atau hijau, dan jika disemprot dengan pereaksi Anisaldehid-asam sulfat akan menghasilkan bercak bewarna biru, biru-keunguan dan kadang-kadang menunjukkan zona bewarna merah atau kuning kecoklatan[43]. Hasil penyemprotan pada plat KLT menggunakan pereaksi Anesaldehid-asam sulfat disertai pemanasan pada suhu 100 - 120°C dalam

oven menunjukkan adanya bercak biru dengan nilai hRf 93, warna merah muda pada bercak dengan nilai hRf 20 dan 48 serta bercak warna ungu tampak pada nilai hRf 50 (Tabel VII) dengan demikian dalam fraksi kloroform daun binahong dapat diduga memiliki kandungan senyawa saponin.

Senyawa fenol meliputi beraneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan yang memiliki ciri yang sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil[44]. Pendeteksian senyawa fenol dengan menggunakan pereaksi semprot $FeCl_3$ dapat dinyatakan positif mengandung senyawa fenol jika ditandai dengan adanya perubahan warna pada bercak yang disemprot menjadi biru[45], hijau tua[33], atau hitam [46]. Hasil uji fraksi kloroform dengan pereaksi $FeCl_3$ menunjukkan adanya perubahan warna bercak pada hRf 8 dan 12 menjadi hijau tua dan hRf 22, 28, 35 menjadi biru namun bercak biru yang terlihat sangat jelas hanya ditunjukkan pada bercak dengan nilai hRf 8 dan 35, dengan demikian dapat disimpulkan bahwa fraksi kloroform daun binahong diduga mengandung senyawa fenol. Senyawa fenol meliputi beraneka ragam senyawa yang terdapat dalam tumbuhan, salah satu golongan terbesar adalah flavonoid[44]. Pendeteksian senyawa flavonoid berdasar pada sumber *Wagner and Baldt*[43], senyawa flavonoid akan menunjukkan bercak berpendar bewarna kuning pekat, hijau atau biru pada sinar UV 365 nm. Hasil uji elusi KLT pada fraksi kloroform menunjukkan bahwa terdapat bercak yang berpendar dengan warna kuning – hijau yang dapat dilihat dengan sinar UV 366 nm pada nilai hRf bercak adalah 8 dan 35 (Tabel VII) selain itu bercak kuning berpendar juga tampak terlihat pada tempat penotolan dengan nilai hRf bercak 35. Hasil identifikasi senyawa dengan uap amoniak menunjukkan terdapat bercak yang memiliki warna kuning pada nilai hRf 12,21 dan 35, dengan demikian dapat disimpulkan dalam fraksi kloroform daun binahong diduga mengandung senyawa flavonoid.

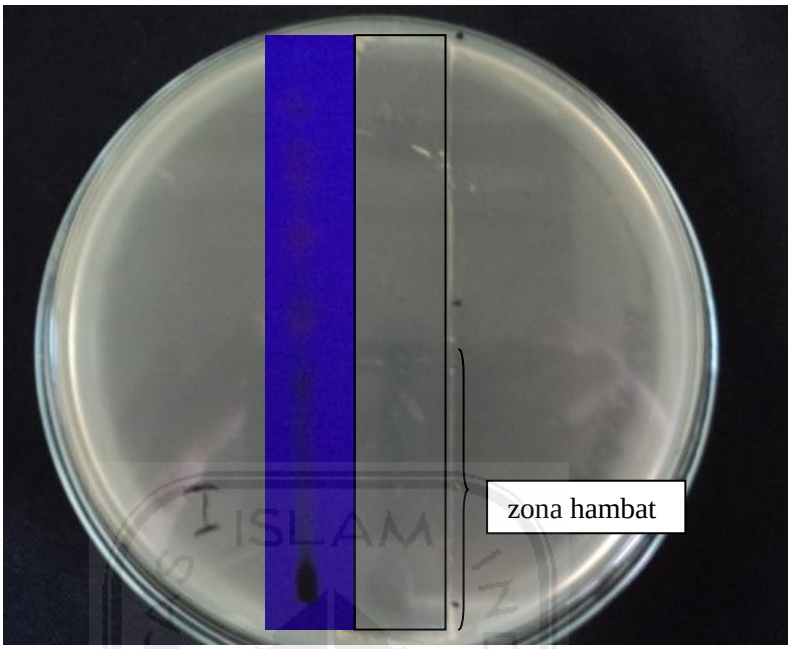
Berdasarkan pada hasil identifikasi senyawa seperti yang telah diuraikan di atas maka dapat diketahui bahwa senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun binahong khususnya pada bagian fraksi kloroform antara lain adalah senyawa golongan saponin, fenol, dan flavonoid. Senyawa-senyawa yang

terkandung dalam fraksi klororofom tersebut sesuai dengan hasil uji pendahuluan yang pernah dilakukan sebelumnya yang menyatakan bahwa daun binahong mengandung senyawa golongan saponin dan flavonoid[8].

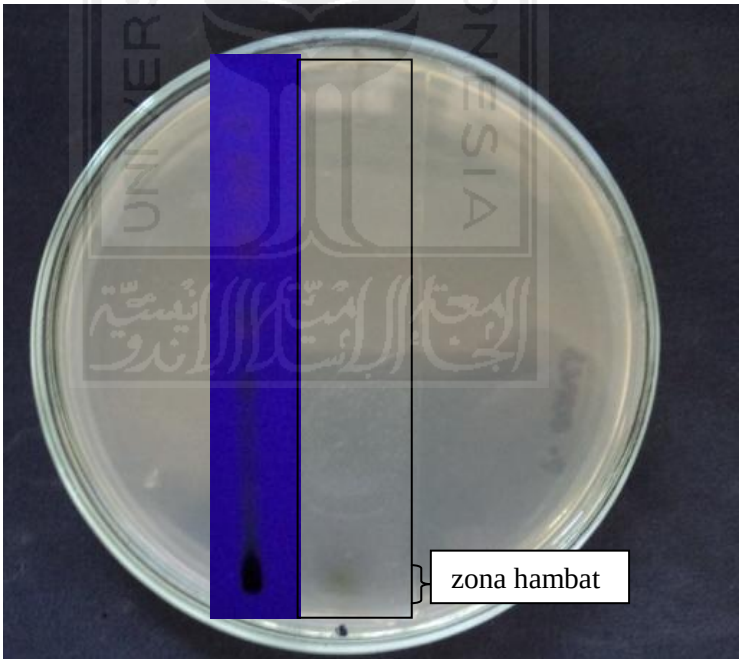
## G. Hasil Uji Bioautografi Fraksi Kloroform

Uji bioautografi merupakan metode yang spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil KLT yang memiliki aktivitas antibakteri. Keuntungan dari metode ini adalah efisien dalam mendeteksi adanya senyawa antimikroba dikarenakan letak bercak dapat ditentukan meskipun berada dalam campuran yang kompleks, sedangkan kekurangan dari metode ini adalah metode ini tidak dapat dipergunakan untuk menentukan KHM dan KBM[17]. Dalam penelitian ini metode bioautografi yang dipergunakan adalah metode bioautografi langsung yaitu dengan menyentuhkan plat KLT yang mengandung senyawa antimikrobial pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme dan senyawa aktif akan terlihat sebagai zona jernih[17]. Fraksi yang digunakan dalam uji biautografi ini adalah fraksi kloroform, dikarenakan pada uji dilusi fraksi kloroform adalah fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling besar, hal tersebut ditunjukkan dengan nilai KBM fraksi kloroform yang lebih kecil dibandingkan dengan nilai KBM fraksi etil asetat dalam melawan *P.acnes* dan *S.epidermidis*, pada pengujian bioautografi konsentrasi sampel yang dipergunakan adalah 5% b/v dengan volume penotolan pada plat KLT sebanyak 20 µl, konsentrasi fraksi dan volume penotolan tersebut disesuaikan dengan volume dan konsentrasi sampel yang dipergunakan pada uji pendahuluan, dikarenakan pada konsentrasi tersebut fraksi kloroform dapat berdifusi kedalam media dan menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *P.acnes* dan *S.epidermidis*. Pada uji biautografi, plat KLT yang telah dielusi dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (2:1) diangin-anginkan dengan tujuan untuk menghilangkan pelarut yang digunakan sebagai fase gerak untuk menghindari fase gerak yang digunakan dapat menghambat pertumbuhan bekteri. Peletakan plat KLT pada media padat yang dilakukan secara perlahan dengan menggunakan pinset dimaksudkan untuk mengurangi timbulnya gelembung udara pada media agar sehingga tidak akan mengganggu pengamatan zona hambat yang terbentuk. Plat KLT didiamkan selama 20-30

menit supaya senyawa dalam plat KLT dapat berdifusi kedalam media agar, sehingga dapat kontak dengan bakteri yang ditanam.




**Gambar 11.** Hasil uji bioautografi fraksi kloroform terhadap *S.epidermidis*




**Gambar 12**. Hasil uji bioautografi fraksi kloroform terhadap *P.acnes*

Hasil uji biautografi menunjukkan bahwa pada media pertumbuhan bakteri terlihat adanya zona hambat yang terlihat jernih pada tempat bercak hasil elusi dari fraksi kloroform baik terhadap inokulum *P.acnes* maupun *S.epidermidis*.

Hasil uji bioautografi terhadap pada *S.epidermidis* terlihat adanya zona hambat yang jelas tampak mamanjang dari titik totolan hingga mencapai 4 cm di atas tempat penotolan setara dengan nilai hRf 0-50 (Gambar 11) sedangkan pada hasil uji bioautografi terhadap *P.acnes* terlihat adanya zona hambat yang jelas pada titik totolan awal tetapi pada bercak-bercak yang terletak sepanjang 4cm dari tempat penotolan tidak terlihat jelas adanya zona hambat yang terbentuk (Gambar 12), selain itu zona hambat yang terbentuk pada uji bioautografi terhadap *P.acnes* terlihat tidak sejelas jika dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk pada uji bioautografi terhadap *S.epidermidis*, hal tersebut dimungkinkan karena pertumbuhan *P.acnes* pada media TSA tampak tipis sehingga antara zona jernih dan zona pertumbuhan bakteri sulit untuk dibedakan dengan pengamatan secara visual.

Hasil uji bioautografi yang tampak pada gambar 11 dan gambar 12, kemungkinan juga disebabkan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri memiliki sifat yang lebih polar dibandingkan dengan senyawa lain yang terkandung dalam fraksi kloroform daun binahong sehingga masih belum dapat terpisahkan secara maksimal dengan penggunaan fase gerak n-heksan : etil asetat (2:1) yang memiliki sifat yang cenderung non-polar, hal tersebut juga dimungkinkan karena fase diam yang digunakan adalah plat silika gel $60GF_{254}$ yang cenderung bersifat polar sehingga memungkinkan senyawa yang bersifat cenderung lebih polar dibandingkan senyawa lain akan lebih lama tertahan oleh fase diam.

Perbandingan antara hasil uji bioautografi dengan plat KLT yang telah diuji dengan pereaksi semprot menunjukkan hasil bahwa tempat bercak fraksi kloroform yang menimbulkan zona hambat terhadap *P.acnes* dan sesuai dengan tempat bercak senyawa yang teridentifikasi sebagai senyawa flavonoid, sedangkan pada hasil uji terhadap *S.epidermidis* zona hambat yang terbentuk berada diantara bercak yang teridentifikasi sebagai fenol, flavonoid maupun saponin.

Berdasarkan dari hasil uji yang didapatkan dapat ditarik kesimpulan bahwa fraksi daun binahong memiliki potensi melawan *P.acnes* dan *S.epidermidis* dengan fraksi yang paling aktif memiliki aktivitas antibakteri

adalah fraksi kloroform dan golongan senyawa yang diduga berperan sebagai antibakterial pada *P.acnes* adalah golongan senyawa flavonoid sedangkan senyawa yang diduga berperan dalam menghambat pertumbuhan *S.epidermidis* tidak hanya flavonoid namun kemungkinan senyawa saponin dan fenol juga ikut berperan. Berdasarkan pada hasil pemisahan senyawa yang terlihat belum maksimal, maka untuk hal itu perlu dilaksanakan pemisahan senyawa dengan menggunakan fase gerak dengan variasi perbandingan pelarut yang lain untuk mendapatkan hasil pemisahan senyawa yang lebih baik.

# BAB V

# KESIMPULAN DAN SARAN

## A. Kesimpulan

1. Fraksi daun binahong terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab jerawat yaitu *P.acnes* dan *S.epidermidis* dengan fraksi aktif yaitu fraksi kloroform dan etil asetat.
2. Fraksi daun binahong memiliki nilai KBM melawan *P.acnes* untuk fraksi kloroform adalah 1,25% (b/v) dan untuk fraksi etil asetat 2,5 % (b/v), serta melawan *S.epidermidis* dengan nilai KBM 2,5% (b/v) untuk fraksi kloroform dan 5% (b/v) untuk fraksi etil asetat.
3. Senyawa aktif dari fraksi kloroform daun binahong yang berperan sebagai antibakteri terhadap *P.acnes* diduga merupakan senyawa golongan flavonoid sedangkan senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri terhadap *S.epidermidis* diduga merupakan senyawa saponin, fenol dan flavoinoid.

## B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang isolasi senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap *P.acnes* dan *S.epidermidis*.
2. Perlu dilakukan optimasi perbandingan fase gerak sehingga senyawa yang terkandung dalam tanaman binahong dapat terpisah dengan baik.
3. Perlu dilakukan penambahan variasi kontrol pembanding (DMSO).

## DAFTAR PUSTAKA


(1) Gübelin, W., Martínez,M.A., Molina, M.T., Zepata, S., Valenzuela, M.E., 2006, Antimicrobial susceptibility of strains of *Propionibacterium acnes* isolated from inflammatory acne, *Rev Latinoam Microbiol*., 48 (1): 14-16

(2) Wallon, G., Moyse, D., Blouin, E., Dréno, B., Bacterial resistance in French acne patients, *International Journal of Dermatology*., 49:283-288

(3) González, R., Welsh, O., Ocampo, J., Hinojosa-Robles, R. M., Vera, C. L., Delaney, M.L, Gómez, M.,2010, In vitro antimicrobial susceptibility of Propionibacterium acnes isolated from acne patients in northern Mexico, *J. Dermatol.*,49(9):1003-107

(4) Docherty, J.J., McEwen, H.A., Sweet, T.J., Bailey, E., and Booth, T.D., 2007, Resveratrol inhibition of *Propionibacterium acnes*, *J. Antimicrobial Chemotherapy*., 59, 1182–1184

(5) Nester, E.W., Anderson, D.G., Roberts, C.E.Jr., and Nester,M.T.,2009, *Microbiology : A Human Prespective sixth edition*, Mc Graw Hill, New York, USA.

(6) O'gara, J.p., Humpreys, H.,2001, Staphylococcus Biofilms: Importance and Implocations, *J.Med.Microbiol*.,50: 582-587.

(7) Nishijima, S., Kurokawa, I., Katoh, N., Watanabe, K., 2000, The bacteriology of acne vulgaris and antimicrobial susceptibility of *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from acne lesions, *J. Dermatol*.,5:318

(8) Anonim.,2009, Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri volume 15 N omor 1: Binahong (*Anredera cordifolia)* Sebagai Obat, http://perkebunan.litbang.deptan.go.id/upload.files/File/publikasi/warta/warta%202009/perkebunan_Warta-15_1_09.pdf (diakses tanggal 18 Febuari 2011).

(9) Tsikalage, T.E and Meyer, J.J.M., Hussein, A.A.. 2005, Antimicrobial activity, toxicity and the isolation of a bioactive compound from plants used to treat sexually transmitted diseases. *J. Ethnopharmcol.* 96:515–519

(10) Khunaifi, M. 2010, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas aeruginosa*, *Skripsi*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

(11) Anonim.,2011, Plant profil : Anredera cardifolia (Ten.) Steenis (heartleaf madeiravine), United State Departement of Agriculture, http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=ANCO6 (diakses 06 Januari 2011).

(12) Anonim., 2011, *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, United State Departement of Agriculture, Germplasm Resources Information Network, http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?3522 (diakses 06 Januari 2011).

(13) Anonim., 2008, Weed Facts: *Anredera cordifolia* ( Madeira vine), Sutherland Shire Council.

(14) Stawiski, M.A., 2002, Akne dan Keadaan Terkait, Dalam Price, S.A., Wilson, L.M., (Eds.), *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit, Volume Kedua, Edisi Keenam*, diterjemahkan oleh Pendit,

(15) B.U., Hartanto, H.,Wulansari, P., dan Mahanani, D.A., Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 1422-1429.
(16) Jappe, U., 2003, Pathological Mechanisms of Acne with Special Emphasis on Propionibacterium acnes and Related Therapy, *Acta Derm Venereol*., 83: 241–248
(17) Anonim., 2003, *Bakteriologi Medik*, Bayumedia Publishing, Jawa Timur, 24-26 dan 131-141
(18) Pratiwi, S.T., 2008, Mikrobiologi Farmasi, Erlangga, Jakarta.
(19) Anonim., 2011, *Propionibacterium acnes*, http://www.wikipedia.org (diakses tanggal 18 Januari 2011).
(20) Anonim., 2011, *Staphylococcus epidermidis*, http://www.wikipedia.org (diakses tanggal 18 Februari 2011).
(21) Anonim., 2011, Biomaker: *Staphylococcus epidermidis*, Infection Diesease Biomaker database, http://biomarker.korea.ac.kr:80/pathogen/pathogen_view_en.jsp?pclass=1&id=81 (diakses 18 januari 2011).
(22) Anonim., 2011. Bacteria Genomes: *Staphylococcus epidermidis*, EMBL-EBI,http://www.ebi.ac.uk/2can/genomes/bacteria/Staphylococcus_epidermidis.html (diakses 18 Januari 2011).
(23) Abdelkader, H.B., Salah,K.H.J., Liouane,L., Boussaada, O.,Gafsi, K., Mahjoub, M.Ali., Mahjoub,A., Hellal, A.N., Mighri, Z., 2010, Antimicrobial activity of *Rhaponticum acaule* and *Scorzonera undulata* growing wild in Tunisia, *African J.Microbiology Research.*,4(19):1954-1958
(24) Pfaller, M.A., Messer, S. A., Mills,K.,Bolmström, A., Jones, R. N., 2001, Evaluation of Etest Method for Determining Posaconazole MIC's for 314 Clinical Isolates of *Candida* Species, *J. Clinical Microbiology*.,39(11): 3952–3954
(25) Velmurugan, V., Arunachalam, G., Ravichandran, V., 2010, Antibacterial activity of stem bark of *Prosopis cineraria* (Linn.) druce, *Archives of Applied Science Research*., 2 (4): 147-150
(26) Kamal, A., Arif , J.M., Ahmad, I.Z., 2010, Potential of *Nigella sativa* L. seed during different phases of germination on inhibition of bacterial growth, *J.Biotechnology and Pharmaceutical Research*., 1(1): 9-13
(27) Voight, R., 1984, Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, diterjemahkan oleh Soewandhi, S.N., Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 564-573.
(28) Ansel, C.H.,1989, Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi edisi keempat, diterjemahkan oleh Ibrahim, F., Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press), Jakarta, 607-621.
(29) Gandjar, I. G dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 323 dan 353-419.
(30) Sherma, J and Fried, B., 2003, *Handbook of of Thin-Layer Chromatography Third Edition, Revised and Expanded*, Marcell Dekker Inc,New York.
(31) Ahmad, I., Beg, A.Z., 2001, Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens, *J. Ethnopharmacology.*, 74: 113–123
(32) Yang., E.-J., S,-s. Kim, T.-H. Oh., J. S. Baik., N. H. Lee and C.-G. Hyun, 2009. Esential Oil of citrus fruit waste attenuates LPS-induced nitric

(33) oxide production and inhibites the growth of skin pathogens *Int.J.Agric. Biol*., 11: 781-794
(34) Muhtadi., 2008, Pemisahan Fraksi dan Senyawa-Senyawa yang BerkhasiatAntiplasmodium dari Ekstrak Metanol Kulit Kayu Mimba (*Azadirachta indica Juss*),*J. Penelitian Sains & Teknologi*, 9(2):117 – 136
(35) Allimuddin.A.H dan Masriani, 2008, Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Kloroform Kulit Batang Tumbuhan *Shorea foxworthyl Sym*, *Indo.J.Chem*.,8(1):114-118
(36) Backer, C.A., Bakhuizen van den Brink, R.C., 1965, *Flora of Java: Spermatophytes onl)*, P.Noordhoff.
(37) Alifin, M., 2011, *Separation of terpenoid compound leaves of Anredera cardifolia*, Abstract, available at http://alumni.unair.ac.id/ kumpulanfile/4330829966.abs.pdf/ diakses tanggal 4 Oktober 2011.
(38) Mattana, C.M., Satorres, S.E., Sosa, A, Fusco., M, Alcaráz L.E., 2010, Antibacterial activity of extracts of *Acacia aroma* Againts Methicilin-Resistent and Methicillin-Sensitive Staphylococcus. *Brazilian J.Microbiologi*, 41: 581-587
(39) Wijayanti, T., 2010, *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang Mimba (Azadirachta indicab A. juss) Terhadap P.acnes ATCC 6919*, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
(40) Kusumawati, I., 2010, *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Teki (Cyperus rotundus L.) Terhadap S.epidermidis*. *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
(41) Liu, W.,Liu, X.,Knaebel.D.,Luck.L.,Li.Y., 1998, Synthesis and Antibacterial Evaluation of Novel Water-Soluble Organic Peroxides, *Antimicrobial Agents and Chemotheraphy*, 42(4): 911–915
(42) Basch, H and Gadebusch, H.H., 1968, In Vitro Antimicrobial Activity of Dimethylsufoxide, Applied Microbiology, 16(12):1953-1954
(43) Goldblum, O.M., Alvarez, O.M., Mertz, P.M and Eaglstein, W.H., 1983, Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Does Not Affect Epidermal Wound Healing, Abstracs, *Exp Biol Med*,172(3):301-307
(44) Hubalek, Z., 2009, Protectants used in the cryopreservation of microorganisms, *Cryobiology*, 46:205–229
(45) Wagner., H., Bladt. S., 1996, *Plant Drug Analysis : Thin Layer Chromatography Altas 2nd*, Springer, New York.
(46) Harbone, J.B, Metode Fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan, Penertbit ITB, Bandung.
(47) Amini,K. N., dan Wahyono., 1998, Karakterisasi Senyawa Antimikroba Isolat *Arpergillus sp* Hasil Isolasi dari Tanah, *Majalah Farmasi Indonesia, 9(4)*: 166-173
(48) Marliana,E., 2007, Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang Berfungsi Sebagai Antioksidan, *J. Penelitian MIPA*, 1(1):23-29

# LAMPIRAN



UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JURUSAN FARMASI FMIPA UII
BAGIAN BIOLOGI FARMASI

**SURAT KETERANGAN**
Nomor:51/UII/Jur Far/det/IV/2011

Yang bertanda tangan di bawah ini,Kepala Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi FMIPA UII menerangkan bahwa:

| | | |
|---|---|---|
| Nama | : | Alisa Janu Prijayanti |
| NIM | : | 076130077 |
| Pada tanggal | : | 28 April 2011 |

Telah mendeterminasi 1 ( satu ) species tanaman dengan bimbingan Dra.Iyok Budiarti,di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII.

Tanaman tersebut: *Anredera cordifolia* (Tenore) Steen (binahong)

Demikian surat keterangan ini di buat untuk dipergunakan semestinya.

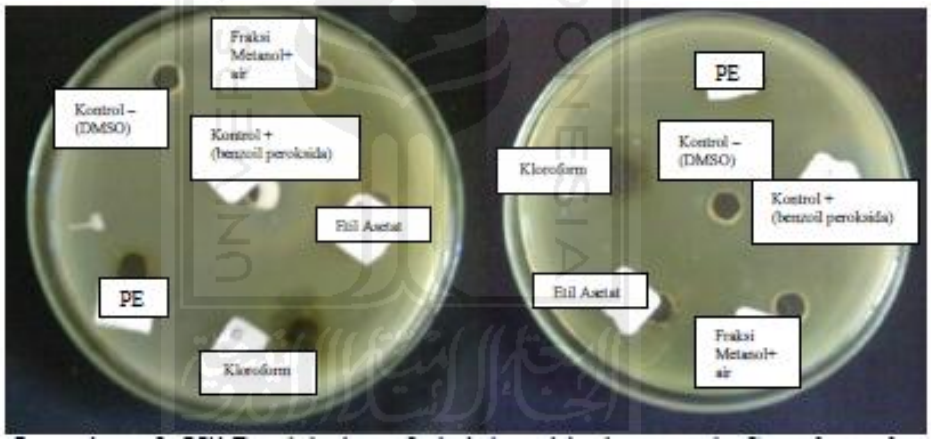
Yogyakarta,28 April 2011
Bagian Biologi Farmasi
Kepala,

Hady Anshory T.S.Si.,Apt.
NIP.056130703

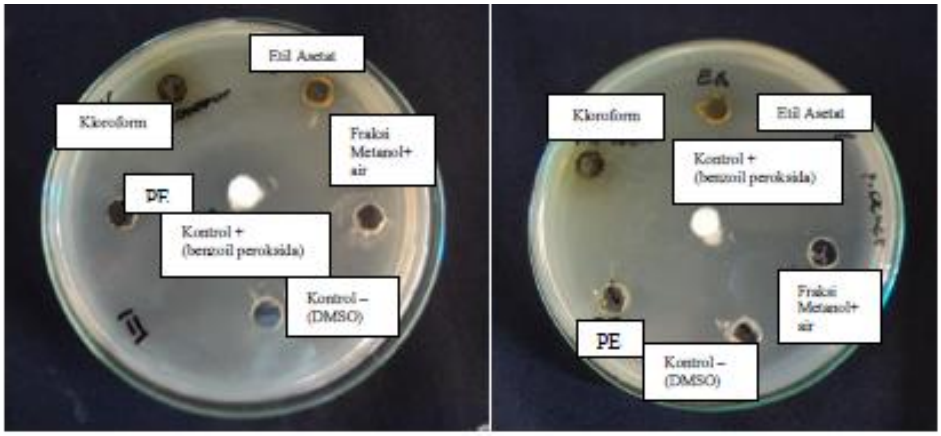
Lampiran 1. Hasil determninasi tumbuhan



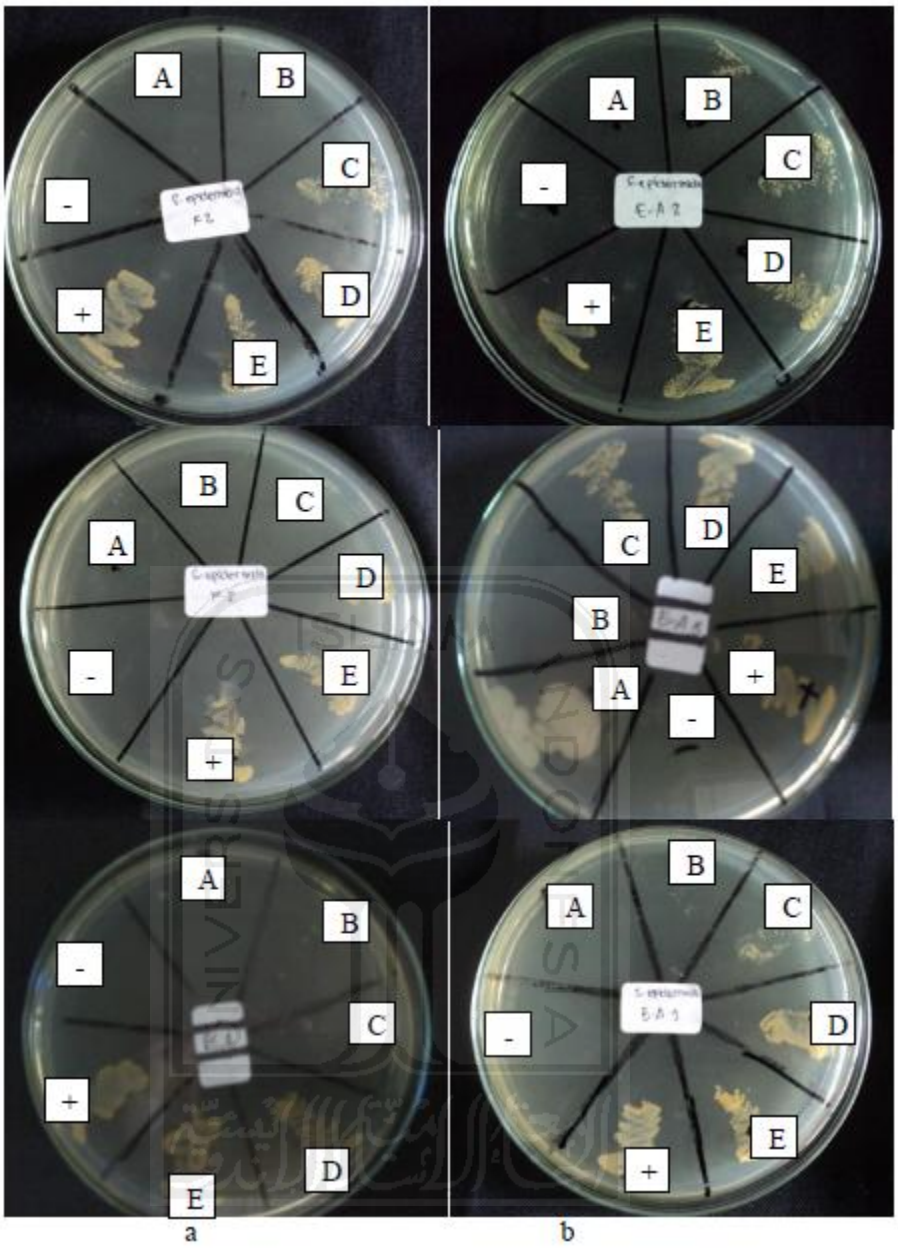

Lampiran 2. Hasil Maserasi




Lampiran 3. Uji Pendahuluan fraksi daun binahong pada *S.epidermidis*




Lampiran 4. Uji pendahuluan fraksi daun binahong pada *P.acnes*




Lampiran 5. Hasil uji KBM fraksi daun binahong pada *S.epidermidis*

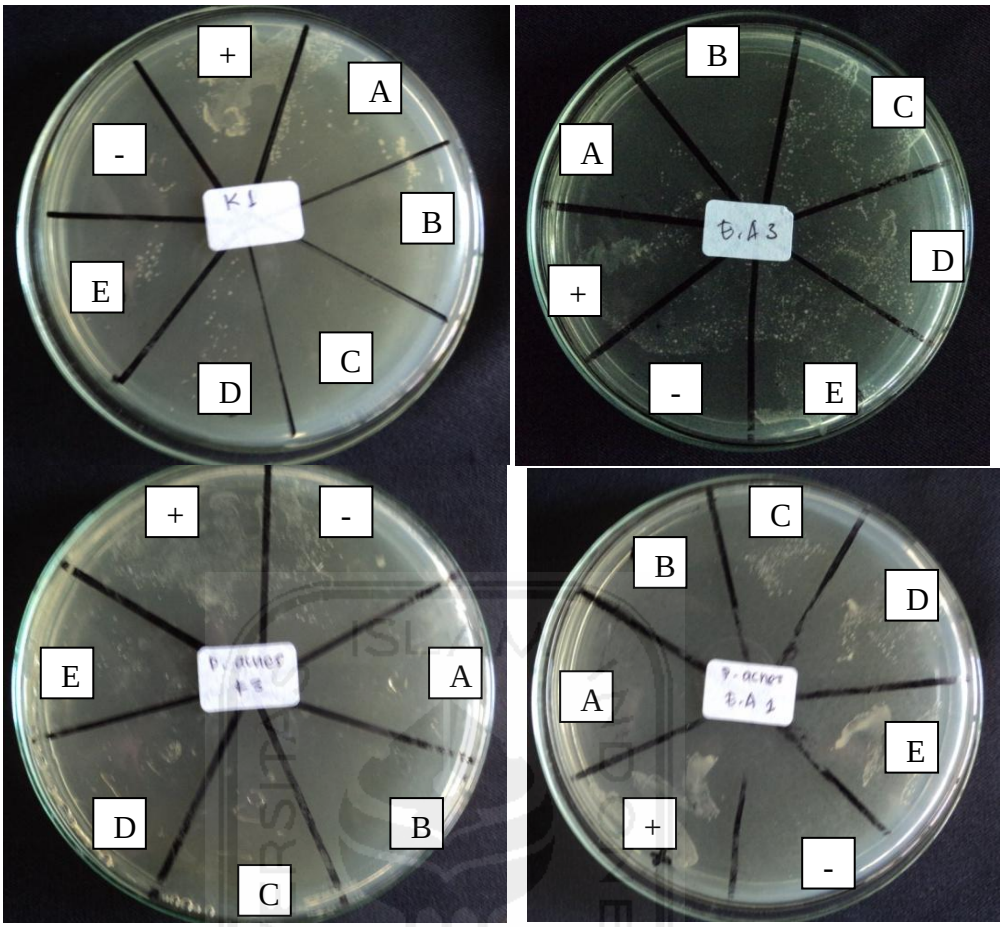
Keterangan :

a = Fraksi kloroform; b= Fraksi etil asetat;

(+)= Kontrol positif (media dan inokulum bakteri);

(- )= Kontrol negatif (media, fraksi);

A = Konsentrasi fraksi 5% (b/v); B = Konsentrasi fraksi 2,5 % (b/v); C = Konsentrasi fraksi 1,25% (b/v); D = Konsentrasi fraksi 0,625% (b/v); E = Konsentrasi fraksi 0,325% (b/v).




a b

Lampiran 6. Hasil uji KBM fraksi daun binahong pada *P.acnes*

a = Fraksi kloroform; b = Fraksi etil asetat;

(+)= Kontrol positif (media dan inokulum bakteri);

(- )= Kontrol negatif (media, fraksi);

A = Konsentrasi fraksi 5% (b/v); B = Konsentrasi fraksi 2,5 % (b/v);

C = Konsentrasi fraksi 1,25% (b/v); D = Konsentrasi fraksi 0,625% (b/v); E = Konsentrasi fraksi 0,325% (b/v).

E = Konsentrasi fraksi 0,325% (b/v)

- Berat ekstrak methanol pekat : 15,92 g

| Fraksi | Bobot fraksi (gram) |
|---|---|
| **Petroleum eter (PE)** | 2,95 |
| **Kloroform** | 1,31 |
| **Etil asetat** | 0,16 |
| **Metanol+air** | 4,73 |

Rendemen fraksi = $\frac{\text{Bobot fraksi pekat}}{\text{bobot ekstrak pekat}}$ x 100%

- Rendemen Fraksi petroleum eter = $\frac{2,95\text{g}}{15,92\text{g}}$ x 100% = 18,53 %
- Rendemen Fraksi Kloroform = $\frac{1,31\text{g}}{15,92\text{g}}$ x 100% = 8,23 %
- Rendemen Fraksi Etil Asetat = $\frac{0,16\text{g}}{15,92\text{g}}$ x 100% = 1,01 %
- Rendemen Fraksi Metanol-air = $\frac{4,73\text{g}}{15,92\text{g}}$ x 100% = 29,71 %

Lampiran 7. Perhitungan rendemen fraksi daun binahong