

Inhibition Activity of Ethanolic Extract of Binahong Leaf (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) on *Staphylococcus aureus* Bacteria

Herrialfian^{1*}, Mizla Maulia Nisya Lubis², Darmawi³, Maryulia Dewi³, Erina³, Hennivanda⁴, Abdul Harris⁴

¹Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

²Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

³Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

⁴Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

*Alamat Korespondensi: herrialfian77@unsyiah.ac.id

ABSTRACT

This research aimed to investigate the inhibition activity of ethanolic extract of binahong leaf (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) on *Staphylococcus aureus*. Bacteria were obtained from the Microbiology Laboratory of Faculty of Veterinary Medicine Unsyiah, isolated from the honey bear (*Helarctos malayanus*) wound area. This experiment was conducted with re-identification of the bacteria before treatment. Afterward, the bacteria were treated with ethanolic extract of binahong leaf with a concentration of 20%, 40%, 60%, and 80% by using the disc diffusion (Kirby-Bauer) method. The data were analyzed descriptively by measuring and comparing the inhibition zone among treatments. The results showed that the treatment could inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*, however, the inhibition zone was narrow with a mean diameter of 20% was 6.8 mm, 40% was 7.4 mm, 60% was 8.2 mm, and 80% was 8.1 mm. It can be concluded that ethanolic extract of binahong leaf had comparative inhibition activity toward *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Ethanolic extract, binahong leaf, *Staphylococcus aureus*, Inhibition zone.

PENDAHULUAN

Pengobatan dengan menggunakan berbagai jenis tanaman obat telah dilakukan rakyat Indonesia sejak zaman dahulu, pengobatan tersebut diperoleh berdasarkan pengetahuan secara empiris dan dipraktekkan secara turun temurun. Selain itu pengobatan dengan menggunakan berbagai jenis tanaman obat sangat mudah dilakukan dan juga tidak perlu mengeluarkan biaya yang mahal. Masyarakat juga meyakini pengobatan dengan tanaman obat lebih baik dibandingkan harus mengkonsumsi obat kimia yang dikhawatirkan akan menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan (Makalalag *et al.*, 2013).

Salah satu bahan alami yang dimanfaatkan sebagai bahan obat ialah tanaman binahong (*Anredera Cordifolia* Steenis). Binahong memiliki akar, umbi,

batang, bunga, daun yang mengandung senyawa aktif yaitu flavonoid, alkanoid, terpenoid dan saponin. Senyawa aktif flavonoid dapat berperan langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri dan virus. Binahong juga mengandung antimikroba yang aktif sehingga dapat digunakan dalam mencegah pertumbuhan bakteri (Rimporok *et al.*, 2015). Adanya aktivitas dari senyawa fitokimia yang berfungsi menghancurkan mikroba terutama pada kelompok bakteri Gram positif (Rios dan Rico, 2005).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul. Berbentuk kokus dan tersusun seperti buah anggur (Jawetz *et al.*, 2008). Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen terpenting dan berbahaya diantara genus *Staphylococcus*. Bakteri ini sering resisten terhadap berbagai

jenis obat, sehingga mempersulit pemilihan antimikroba yang sesuai untuk terapi (Dwijoseputro, 2005).

Terjadinya resistensi ini disebabkan karena penggunaan obat yang tidak terkontrol sehingga obat tersebut tidak mampu menghambat atau membunuh bakteri yang bersangkutan, akibatnya pengobatan akan sia-sia (Besung, 2009). Pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan bakteri yang resisten terhadap antibiotika memerlukan produk baru yang memiliki potensial tinggi (Rachmawati, 2007).

Antibiotika diharapkan mampu mengeleminasi bakteri penyebab infeksi. Tetapi perlu disadari bahwa upaya mengeliminasi bakteri penyebab saja tidak cukup memadai, hal tersebut antara lain dimungkinkan akibat kurang tepatnya pemilihan antibiotika, munculnya resistensi, efek dari berbagai mediator dan sitokin, ikut mempengaruhi laju perjalanan infeksi (Dzen, 2003). Antibiotik terdiri atas antibiotik alami dan sintesis. Namun, pada umumnya antibiotik sintesis memiliki efek buruk jika digunakan secara sembarangan. Sedangkan antibiotik alami pada umumnya berasal dari metabolit sekunder yang diperoleh dari ekstrak suatu tanaman tertentu, yang ditengarai memiliki khasiat untuk obat (Siswandono dan Soekardjo, 2004).

Mekanisme senyawa aktif dalam ekstrak daun binahong dengan penghambatan pertumbuhan mikroorganisme dapat dilakukan melalui penghambatan sintesis dinding sel, penghambatan fungsi membran sel, penghambatan sintesis protein dan penghambatan pertumbuhan sel bakteri. Kerusakan dinding sel menyebabkan permeabilitas membran sel akan berubah sehingga menghambat kerja enzim intraseluler dan menyebabkan masuknya air secara tidak terkontrol ke dalam sel bakteri

yang pada akhirnya mengakibatkan kematian (Robinson, 1995). Oleh karena itu, resistensi terhadap antibakteri menjadi masalah, sehingga diperlukan usaha untuk mengembangkan obat tradisional berasal dari tanaman yang dapat membunuh bakteri untuk menghindari terjadinya resistensi seperti dalam penggunaan antibakteri (Setiaji, 2009). Berdasarkan permasalahan diatas, maka perlu dilakukan penelitian tentang daya hambat ekstrak daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

MATERI DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong yang diperoleh dari tanaman perkarangan rumah di Stabat Sumatra Utara. Bakteri *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala pada isolat bakteri beruang madu (*Helarctos malayanus*).

Penelitian ini dilakukan dengan melakukan re-identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dan menggunakan metode *disc diffusion* (Kirby-Bauer). Metode *disc diffusion* adalah penentuan sensitivitas dari bakteri dengan suatu zat tertentu yang kemungkinan memiliki aktivitas antibakteri dengan menggunakan *paper disk* (Prayoga, 2013). Pengukuran dilakukan pada diameter zona bening yang terbentuk disekitar *paper disk*.

Re-identifikasi Bakteri

Sebelum melakukan re-identifikasi bakteri yang akan digunakan, dilakukan penyegaran isolat bakteri beruang madu yang sudah ada menggunakan media NB. Kemudian bakteri di tanam dalam media MSA dan diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengamatan untuk morfologi bakteri yang tumbuh dan dilakukan pewarnaan Gram dan juga

dilakukan uji katalase, uji hemolisis dan penanaman pada NA miring untuk re-identifikasi bakteri.

Ekstrak Daun Binahong

Daun binahong yang sudah kering dihaluskan menjadi serbuk lalu serbuk daun binahong ditimbang sebanyak 100 gr dan dimasukkan kedalam toples kaca. Kemudian ditambahkan 1500 ml pelarut etanol 96% kedalam toples kaca yang terdapat serbuk daun binahong. Rendam ekstrak daun binahong selama 5 hari. Saring rendaman ekstrak daun binahong dengan menggunakan kapas dan kertas saring. Ampas yang didapat diremas sampai hasil filtrat maserasi tersaring dengan sempurna. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C.

Analisa dari fitokimia pada penelitian ini menggunakan metode kualitatif untuk mengetahui kandungan aktif yang terdapat dalam ekstrak daun binahong. Tanaman binahong mengandung fenol, flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid dan alkaloid, selain itu memiliki aktifitas sebagai antioksidan (Manoi, 2009).

Alkaloid diuji dengan cara menambahkan 1 ml amoniak dan 10 ml kloroform pada 3 gr ekstrak daun binahong kemudian divorteks sampai homogen. Filtrat yang terbentuk ditambahkan 10 ml H₂SO₄2N lalu dikocok dan diamkan sampai larutan asam sulfat dan kloroform terpisah. Lapisan asam sulfat yang terbentuk dipisahkan menjadi tiga bagian ke dalam test plate. Untuk mengetahui adanya alkaloid maka bagian pertama ditambahkan dengan reagen Meyer, bila terjadi endapan putih maka positif alkaloid. Bagian kedua ditambahkan dengan reagen Wagner, bila terjadi endapan berwarna coklat maka positif terdapat alkaloid. Bagian ketiga ditambahkan dengan reagen Dragendroff, bila terjadi endapan berwarna kemerahan

maka positif alkaloid. Kandungan saponin dan flavonoid ekstrak daun binahong dengan 3 jenis pereaksi yang berbeda yaitu NaOH, asam sulfat pekat dan MgHCl. Ekstrak daun binahong sebanyak 3 gr di masukkan dalam tabung reaksi yang sudah berisi air suling dengan perbandingan 1:1 kemudian dipanaskan sampai mendidih kemudian dimasukkan ke dalam 2 buah tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditambahkan 0,5 Mg dan HCl 0.5 mg. Flavonoid positif jika terbentuk endapan orange sampai merah muda atau ungu, sedangkan tabung reaksi kedua dikocok kuat-kuat beberapa saat. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa permanen ± 15 menit dan hilang dengan penambahan satu tetes asam klorida.

Uji Triterpenoid dan Steroid dilakukan dengan cara ekstrak daun binahong dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform lalu dipanaskan dan didinginkan. Diambil 1 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi lalu diteteskan pereaksi Lieberman-burchard. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.

Pengenceran

Pengenceran bertujuan untuk menghasilkan beberapa konsentrasi yang akan digunakan dari ekstrak daun binahong yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan zona hambatnya. Pengenceran dibuat 20%, 40%, 60% dan 80%.

Uji Daya Hambat

Untuk uji daya hambat, siapkan 3 cawan petri berisi MHA yang telah dioleskan dengan bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah di re-identifikasi. Kemudian panaskan ujung pinset dengan

menggunakan bunsen agar steril. Siapkan 6 *paper disk* dalam setiap cawan petri untuk menguji masing-masing konsentrasi daun binahong. Rendam sejenak *paper disk* tersebut kedalam ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% sedangkan kontrol negatif kedalam aquadest dan kontrol positif menggunakan *amoxicillin*. Lalu tempelkan *paper disk* yang berisi ekstrak daun binahong dalam setiap media MHA. Kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C.

Zona Inhibisi dan Teknik Pengukuran

Daya hambat dapat diketahui berdasarkan pengukuran diameter zona hambat (zona bening atau daerah jernih tanpa pertumbuhan mikroorganisme) yang terbentuk disekitar *paper disk*. Pengukuran tersebut menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam millimeter. Pengukuran dilakukan dengan mengukur radius zona hambat yang dilakukan sebanyak 4 kali yaitu secara vertikal (diameter I), horizontal (diameter II), diagonal 1 (diameter III), dan diagonal 2 (diameter IV) sehingga diperoleh 4 nilai dalam satuan millimeter (mm) lalu dijumlah dan di bagi 4. Hasil dari 3 kali pengulangan tersebut kemudian di rata-ratakan (Hidayat *et al.*, 2015).

Analisis Data

Data hasil penelitian ini dianalisis secara deskriptif dengan melihat dan membandingkan zona hambat antar perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Re-identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan hasil re-identifikasi bakteri pada pewarnaan Gram menunjukkan bakteri berwarna ungu, berbentuk kokus, berkelompok dan bergerombol seperti buah anggur yang menandakan bahwa bakteri

tersebut termasuk kedalam kelompok bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* yang disajikan pada Gambar 1. Hal ini sesuai dengan pendapat Foster (2008), menambahkan bahwa *Staphylococcus* adalah bakteri berbentuk kokus, Gram-positif dan memiliki diameter 0,5-1,0 mm, berkelompok, berpasangan dan kadang berantai pendek.

Lay (1994), menyatakan bahwa bakteri Gram positif berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat. Perbedaan struktur luar dinding sel bakteri Gram positif dan negatif mengakibatkan terjadinya perbedaan warna pada akhir prosedur pewarnaan Gram. Dinding sel terluar bakteri Gram positif terdiri dari peptidoglikan tebal tanpa lapisan lipoprotein atau lipopolisakarida sedangkan bakteri Gram negatif memiliki dinding selnya terdiri dari peptidoglikan tipis yang dibungkus oleh lapisan lipoprotein atau lipopolisakarida (Ijong, 2015). Retnowati *et al.*, (2011), menyatakan *Staphylococcus aureus* merupakan Gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan tebal.

Setelah dilakukan pewarnaan Gram selanjutnya dilakukan penanaman pada media *Manitol Salt Agar* (MSA), untuk memperkuat dugaan bahwa bakteri tersebut merupakan *Staphylococcus aureus*. *Manitol Salt Agar* (MSA) media ini sering digunakan untuk mengisolasi bakteri patogen, khususnya *Staphylococcus aureus* media selektif untuk mengisolasi bakteri *Staphylococcus aureus* (Salamena, 2015).

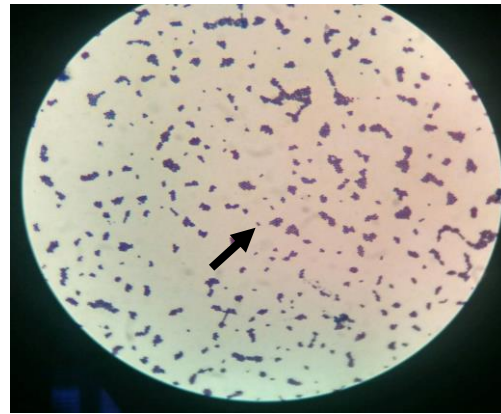
Hasil positif dari uji ini terlihat perubahan warna media MSA dari warna merah menjadi kuning dengan morfologi koloni berbentuk bulat, berukuran kecil, rata, halus, cembung dan padat yang dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 1. Hal ini sesuai dengan pendapat Tambayong (2009), *Staphylococcus aureus* positif tumbuh pada media MSA, media dan koloni berwarna

kuning karena terjadi fermentasi manitol menjadi asam. Produk yang dihasilkan bakteri ini adalah asam organik yang mengubah indikator pH di MSA, merubah warna merah media MSA menjadi kuning cerah.

Kemudian setelah dilakukan re-identifikasi pada media MSA, selanjutnya dilakukan uji katalase. Uji katalase bertujuan untuk membedakan antara *staphylococcus* dan *streptococcus*. Hasil uji katalase isolat bakteri menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya gelembung udara setelah ditetaskan H_2O_2 3% pada *object glass*, disajikan pada Gambar 3, yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut termasuk *staphylococcus*. Hal ini sesuai dengan pendapat Lay (1994), dimana Uji katalase berguna dalam identifikasi kelompok bakteri tertentu. Uji katalase pada bakteri bentuk kokus digunakan untuk membedakan *Staphylococcus* dan *Streptococcus*. Kelompok *Streptococcus* memberi reaksi negatif, sedangkan *Staphylococcus* memberikan reaksi positif. Uji katalase merupakan uji untuk mengidentifikasi mikroba yang mampu menghasilkan enzim katalase, digunakan untuk memecah hydrogen peroksida yang terbentuk dari proses respirasi aerob dan bersifat toksik terhadap bakteri, menjadi dihidrogen oksida (H_2O) dan oksigen (O_2) (Djide dan Sartini, 2006).

Hasil yang didapat pada uji hemolisis adalah β -hemolisin yang dapat dilihat pada Gambar 4, dimana biasa disebut dengan hemolisis total yang didefinisikan sebagai lisis seluruh sel darah merah. Hemolisin merupakan toksin yang dapat membentuk suatu zona hemolisis disekitar koloni bakteri. Hemolisin pada *Staphylococcus aureus* terdiri atas α -hemolisin, β -hemolisin, dan γ -hemolisin. *Staphylococcus aureus* yang menghasilkan α -hemolisin akan membentuk zona terang disekitar koloni, yang menghasilkan β -hemolisin akan

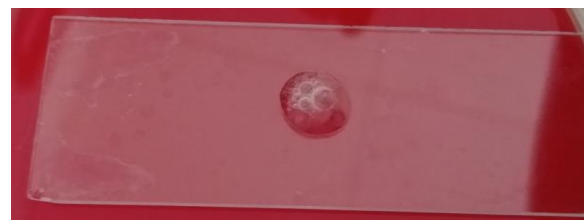
membentuk zona gelap agak bening disekitar koloni dan yang menghasilkan gama hemolisin tidak membentuk hemolisin (Khusnan *et al.*, 2008). Setelah melakukan re-identifikasi didapatkan hasil bahwa bakteri tersebut benar bakteri *Staphylococcus aureus*.



Gambar 1. Hasil pewarnaan Gram pada isolasi beruang madu (1000x)



Gambar 2. Morfologi koloni bakteri di media MSA



Gambar 3. Uji katalase



Gambar 4. Uji hemolisis

Tabel 1. Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri pada media MSA

Karakter	Morfologi Koloni
Bentuk	Bulat
Ukuran	Kecil
Pinggiran Koloni	Rata
Permukaan Koloni	Halus
Warna	Kuning
Elevasi	Cembung
Kepadatan	Padat
Pewarnaan Gram	Gram Positif

Hasil Ekstraksi

Hasil maserasi ekstrak daun binahong dengan etanol 96% berupa filtrat berwarna hijau kehitaman (hijau tua) sebanyak 2400 ml. Filtrat yang didapat lalu di ekstraksi dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental sebanyak 26 gr. Ekstrak daun binahong yang diperoleh akan digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dan dibagi kedalam 4 konsentrasi (20%, 40%, 60% dan 80%).

Teknik ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi karena metode ini mudah dilakukan dan tidak memerlukan alat khusus. Pelarut yang dipilih yakni pelarut

etanol karena mudah diperoleh dan pelarut ini dapat mengeskrak hampir semua senyawa bahan alam yang terdapat pada tumbuhan (Kuntorini dan Astuti, 2010).

Uji Fitokimia

Setelah dilakukan identifikasi terhadap daun di bagian Laboratorium Herbarium Departemen Biologi FMIPA Universitas Syiah Kuala, diketahui bahwa karakteristik tersebut merupakan karakteristik dari tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Adapun hasil uji fitokimia ekstrak daun binahong ditunjukkan pada Tabel 2 dan Gambar 5.

Tabel 2. Hasil pengamatan uji fitokimia terhadap ekstrak daun binahong

Kandungan kimia	Reagen	Ekstrak daun binahong	Hasil pengamatan
Alkaloid	Mayer	-	Tidak Terdapat Endapan Putih
	Wagner	+	Endapan Coklat
	Dragendorff	+	Endapan Merah
Steroid	Lieberman-Burchard	+	Warna Hijau
Terpenoid	Lieberman-Burchard	+	Warna Ungu
Saponin	Asam klorida	+	Busa Stabil
Flavonoid	0,5 Mg dan HCl	+	Warna Orange
Fenolik	FeCl ₃	+	Warna Hijau Kehitaman

Keterangan: (+): Adanya kandungan kimia (-): Tidak adanya kandungan kimia.

Berdasarkan uji fitokimia, ekstrak daun binahong mengandung alkaloid, steroid, terpenoid, saponin, flavonoid dan fenolik. Uji alkaloid ekstrak daun binahong menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuknya endapan putih saat diberikan reagen Mayer. Pada kedua pelarut menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya endapan coklat saat diberikan reagen Wagner dan endapan merah saat diberikan reagen Dragendorff. Hal ini sesuai dengan pendapat Santi *et al.*, (2008), Prinsip dari metode analisis ini adalah reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya pergantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iodo dalam pereaksi-pereaksi. Pereaksi Meyer mengandung kalium iodida dan merkuri klorida [Kalium tetraiodomerkurat (II)], pereaksi Dragendorff mengandung bismuth nitrat dan kalium iodide dalam larutan asam asetat galsial [Kalium tetraiodobismutat (III)], sedangkan pereaksi Wagner mengandung iod dan kalium iodida. Reagen Mayer diperuntukan untuk identifikasi alkaloid turunan xanthin (Kafein), golongan alkaloid narkotika seperti kokain, katinon dan heroin, serta alkaloid golongan opium

seperti morfin dan codein (David *et al.*, 1992).

Alkaloid adalah zat aktif dari tanaman yang berfungsi sebagai obat dan aktivator kuat bagi sel imun yang dapat menghancurkan bakteri, virus, jamur, dan sel kanker (Olivia *et al.*, 2004). Alkaloid mempunyai aktivitas antimikroba dengan menghambat esterase, DNA, RNA polimerase, dan respirasi sel serta berperan dalam interkalasi DNA (Aniszewki, 2007).

Uji steroid ekstrak daun binahong menunjukkan hasil positif karena terbentuknya warna hijau kebiruan saat ditambahkan dengan reagen Lieberman-burchard. Begitu juga dengan terpenoid yang menunjukkan hasil positif karena terbentuknya warna ungu saat ditambahkan dengan reagen reagen Lieberman-burchard. Hasil positif pada analisis ini ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna menjadi merah atau ungu yang menandakan adanya triterpenoid, sedangkan terjadi perubahan warna menjadi hijau yang menandakan adanya steroid (Harborne, 1987). Prinsip ini berdasarkan pada kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna jika direaksikan dengan H₂SO₄ pekat dalam pelarut asam asetat anhidrat (pereaksi

Lieberman Burchard) (Sangi *et al.*, 2008). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa terpenoid dapat menghambat pertumbuhan dengan mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel, membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Ajizah, 2004).

Uji saponin ekstrak daun binahong menunjukkan hasil positif karena terbentuknya busa stabil saat dikocok kuat-kuat beberapa saat. Saponin mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofob, saat di kocok gugus hidrofil akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk buih. Penambahan asam berguna untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan buih yang terbentuk menjadi stabil (Kumalasari dan Sulistyani, 2011).

Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis, jadi mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, sehingga mengakibatkan kerusakan membran sel dan keluarnya berbagai komponen penting dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida (Ganiswarna, 1995).

Uji flavonoid ekstrak daun binahong menunjukkan hasil positif karena terbentuknya warna orange saat ditambahkan 0,5 Mg dan HCl. Menurut Robinson (1995), tujuan penggunaan logam Mg dan HCl adalah untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung dua cincin aromatik dengan gugus hidroksil lebih dari satu. Flavonoid dapat berperan langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi kerja dari

mikroorganisme seperti bakteri (Manoi, 2009). Senyawa flavonoid memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein sel bakteri melalui ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen dan flavonoid menyebabkan struktur dinding sel dan membran sel bakteri tidak stabil dan sel lisis (Harborne, 1987).

Uji fenolik ekstrak daun binahong menunjukkan hasil positif karena terbentuknya warna hijau kehitaman saat ditambahkan FeCl_3 . Uji fitokimia dengan menggunakan FeCl_3 bertujuan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna biru tua atau biru kehitaman setelah ditambahkan dengan FeCl_3 , sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl_3 memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol. Terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan FeCl_3 karena adanya ion Fe^{3+} sebagai atom pusat dan tanin memiliki atom O yang mempunyai pasangan elektron bebas yang bisa mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligannya (Parwati dkk., 2014). Senyawa fenol bekerja dengan cara mendenaturasi protein sel dan merusak dinding sel bakteri tanpa dapat diperbaiki lagi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat (Pelczar dan Chan, 1988).

Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Binahong

Hasil uji aktivitas antibakteri menggunakan metode *disc diffusion* (Kirby-Bauer) dapat diamati dengan pengukuran diameter zona hambat pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* disajikan pada Gambar 6 dan Tabel 3.

Berdasarkan data diatas didapatkan hasil bahwa keempat konsentrasi ekstrak etanol daun bianhong dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, maupun 80% tidak dapat memberikan daya hambat yang besar pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Kemampuan suatu bahan antimikroba dalam meniadakan kemampuan hidup mikroorganisme tergantung pada konsentrasi bahan mikroba itu (Schlegel, 1994). Menurut Ajizah (2004), selain faktor konsentrasi, jenis bahan antimikroba juga menentukan kemampuan menghambat pertumbuhan kuman.

Adapun faktor-faktor teknis yang mempengaruhi ukuran daya hambat pada metode difusi cakram, antara lain: kepekatan inokulum, waktu pemasangan cakram, suhu inkubasi, waktu inkubasi, ukuran lempeng, ketebalan media agar, dan pengaturan jarak cakram antimikroba, potensi cakram antimikroba, komposisi media (WHO, 2003).

Menurut Davis dan Stout (1971), kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut: diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Berdasarkan kriteria tersebut, maka diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang terbentuk pada konsentrasi ekstrak 20% (6,8 mm), 40% (7,4 mm), 60% (8,2 mm), dan 80% (8,1 mm) yang dikategorikan sedang. Pengukuran daya hambat pada kertas cakram yang tidak mengandung ekstrak daun bianhong (kontrol negatif dengan aquades) tidak terhambat, terbukti dari diameter zona hambat 0 mm diakibatkan karena aquades tidak memiliki zat aktif yang mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini berbanding terbalik dengan daya hambat kontrol positif

(*amoxicillin*) yang dikategorikan sangat kuat.

Amoxicillin merupakan antibakteri spektrum luas yang bersifat bakterisid dan efektif terhadap sebagian bakteri Gram positif dan beberapa Gram negatif yang patogenik. *Staphylococci* merupakan salah satu bakteri patogenik yang sensitif terhadap amoxicillin (Werckenthin, 2001; Pengov, 2003). Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilaporkan oleh Gitawati (2007), yaitu hasil resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antimikroba golongan beta laktam adalah 0%, namun penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat menimbulkan resistensi. Resistensi bakteri terhadap antibiotika dapat terjadi lewat mekanisme mutasi, transformasi transduksi maupun konjugasi (Timoney *et al.*, 1991).

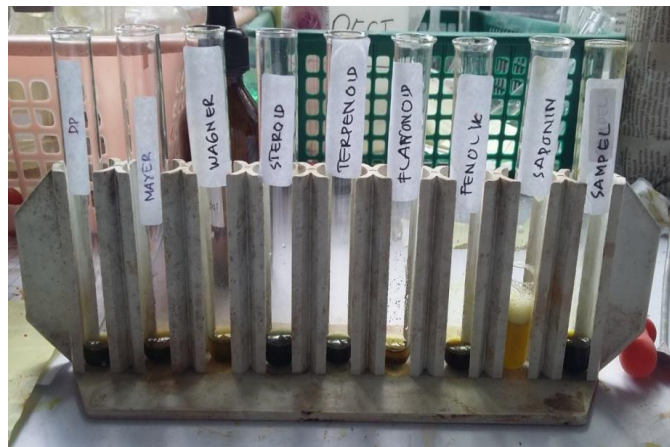
Pada penelitian Jazilah *et al.* (2014), Pada daun bianhong kandungan metabolit sekunder yang tinggi adalah flavonoid, alkaloid dan saponin. Kandungan senyawa ini mempunyai aktifitas sebagai antioksidan dan antimikroba/antibiotik, sehingga sangat baik dipakai bahan baku untuk obat tradisional. Hasil penelitian yang dilakukan oleh (Astuti *et al.*, 2011) menunjukkan bahwa tumbuhan bianhong mengandung senyawa fenol, flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid dan alkaloid. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang berpotensi sebagai antioksidan.

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri daun bianhong dan kandungan metabolit sekundernya pernah dilakukan, bahwa dalam simplasia daun bianhong terkandung senyawa alkaloid, polifenol dan saponin (Annisa, 2007). Uchida (2003), telah meneliti bahwa kandungan daun bianhong terdapat aktivitas antioksidan, asam karbonat dan total fenol yang cukup tinggi. Kandungan asam karbonat dapat meningkatkan daya tahan terhadap infeksi

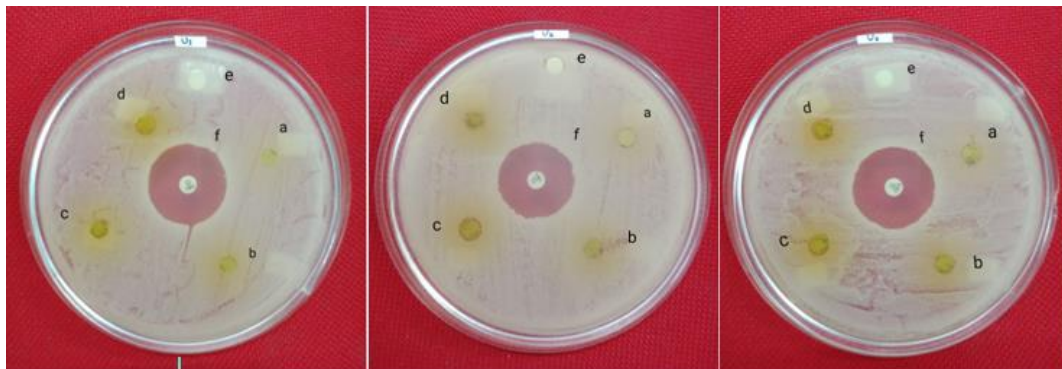
dan berfungsi dalam pemeliharaan membran mukosa. Asam karbonat juga meningkatkan daya tahan tubuh terhadap infeksi serta mempercepat penyembuhan.

Selanjutnya Titis *et al.* (2013), mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa alkaloid pada ekstrak daun binahong. Selanjutnya Umar *et al.* (2012), juga meneliti tentang pengaruh pemberian ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap kesembuhan luka

infeksi *Staphylococcus aureus* pada mencit. Hasil yang diperoleh yaitu ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dapat mempercepat kesembuhan luka infeksi *Staphylococcus aureus* pada mencit. Selain itu Sanarto *et al.* (2010) juga menyatakan bahwa daun binahong berpotensi sebagai antioksidan alami karena mengandung asam askorbat (vitamin C) dan total fenol yang cukup tinggi.



Gambar 5. Uji fitokimia ekstrak daun binahong



Gambar 6. Zona hambat ekstrak etanol daun binahong a) 20%, b) 40%, c) 60%, d) 80%, e) kontrol negatif (aquades) dan f) kontrol positif (*amoxicillin*)

Tabel 3. Rata-rata diameter zona hambat (mm) yang terbentuk

Konsentrasi	Zona hambat (mm)			Rata-rata (mm)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
20%	7,1	7,2	6,2	6,8
40%	6,9	8,05	7,3	7,4
60%	7,7	8,8	8,3	8,2
80%	7,4	10,05	7,1	8,1
K (-)	0	0	0	0
K (+)	28,6	29,0	30,5	29,3

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) steenis) kurang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter rata-rata zona hambat dengan kosentrasi 20% (6,8 mm), 40% (7,4 mm), 60% (8,2 mm), dan 80% (8,1 mm). Dari rata-rata zona hambat yang terbentuk, ekstrak etanol daun binahong memiliki kekuatan daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dalam kategori sedang.

DAFTAR PUSTAKA

Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimorium* terhadap ekstrak daun *Psidium guajavo* L. *Bio Selective*. 1(1):31-38.

Aniszewki, T. 2007. *Alkaloid Secrets of Life*. Amsterdam: Elsevier.

Annisa, N. 2007. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten)Steenis) terhadap bakteri *Klebsiella penumonia* dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633 beserta skrining fitokimia dengan uji tabung. *Skripsi* Tidak diterbitkan.

Astuti, S.M., S.A.M. Mimi, A.B.M. Retno and R. Awalludin. 2011. Determination of saponin compound from *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis (binahong) to potential treatment for several diseases. *J. Agric. Scie. Canadian Center of Science and Education*. 3(4):224 -232.

Besung, I.N.K. 2009. Pengaruh pemberian ekstrak kunyit pada anak babi yang menderita *Colibacillosis*

<http://ejournal.unud.ac.id/abstrak/kerta%20besung%20120302009.pdf>. Diakses tanggal 16 April 2013.

David,R.F., R.A.Michael and M.H.Cullen. 1992. P-Glycoprotein possesses A 1,4 dihydropyridine-selective drugs acceptor site which is alloserically coupled to a vinca alkaloid selective binding site. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 188(1):440-445.

Davis, W.W and T.R. Stout. 1971. Disc plate method of microbiological assay. *Journal of microbiology*.22(4):659-665.

Djide, N dan Sartini. 2006. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Makasar: Universitas Hasanuddin.

Dwijoseputro. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Malang: Djambatan.

Dzen, M.R. 2003. *Bakteriologi Medik:Edisi Pertama*. Malang: Bayumedia.

Foster, T. 2008. *Staphylococcus*. Diakses melalui <http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch012.htm>. Medmicro Chapter 12. [20/1/2016].

Ganiswarna, S.G. 1995. *Farmakologi dan terapi, edisi IV* (cetak ulang 2006). Jakarta: Gaya Baru.

Gitawati, R. 2008. Interaksi obat dan beberapa implikasinya. *Media Litbang Kesehatan*. 18(4):175-184.

Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Padmawinata & Soediro. Bandung: ITB.

Hidayat, S., F. Hanum dan A. Ismail. 2015. Efektifitas daya hambat dan daya bunuh bakteri ulkus trauma tikus pada mukosa mulut dengan berbagai konsentrasi propolis (*Trigona sp.*). *Medali Jurnal*. 2(1):79-80.

Ijong, F.G. 2015. *Mikrobiologi Perikanan dan Kelautan*. Jakarta (ID): Rineka Cipta.

Jawetz., Melnick dan Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Jazilah, N., A.G. Fasya. R. Ningsih dan A. Abtokhi. 2014. Uji toksisitas ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan metode brine

- shrimp lethality test (BSLT). *Alchemy*. 3(2):118-124.
- Khusan., W. Pritiyantoro dan M. Slipranata. 2012. Identifikasi dan karakteristik fenotipe *Staphylococcus aureus* asal kasus bumblefoot dan arthritis pada broiler. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 6(2):155-160.
- Kumalasari, E dan N. Sulistyani. 2011. Aktivitas atfungi ekstrak etanol batang binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) terhadap *Candida albicans* serta skrining fitokimia. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 1(2):51-62.
- Kuntorini, E.M. dan M.D. Astuti. 2010. Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol bulbus bawang dayak (*Eleutherine americana* merr.). *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*. 4(1):15-22.
- Lay, B.W. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*. Jakarta (ID): Raja Grafindo Persada.
- Makalalag, I.W., A.Wullur dan W.Wiyono. 2013. Uji ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* Steen.) terhadap kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksikan sukrosa. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(1):28-35.
- Manoi, F. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia* (ten) steenis) sebagai obat. *Jurnal Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. 15(1):3-5.
- Olivia, F., S.Alam dan I.Hadibroto. 2004. *Seluk Beluk Food Suplemen*. Jakarta: Gramedia.
- Parwati, N.K. F., M.Napitupulu dan A.W.M. Diah. 2014. Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dengan 1,1-defenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) menggunakan spektrofotometer UV-VIS. *Jurnal Akademika Kimia*. 3(4):206-213.
- Pelczar, M. J. Jr dan E.C.S.Chan. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2:Cetakan 1*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Pengov, A and S.Ceru. 2003. Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine and ovine mammary glands. *J. Dairy Scie*. 8(6):3157-3163.
- Prayoga, E. 2013. Perbandingan efek ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan metode difusi disk dan sumuran terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Rachmawati, S. 2007. Studi makroskopi, dan skrining fitokimia daun *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Surabaya: Fakultas Farmasi UNAIR Surabaya.
- Retnowati, Y., B. Nurhayati dan W.P. Nona. 2011. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media yang diekspos dengan infus daun sambiloto (*Andrographis Paniculata*). *Jurnal Sainstek*. 6(2):4-6.
- Rimporok, S., J.K.Billy. Krista dan V. Siagian. 2015. Uji efektivitas ekstrak daun binahong (*Anredera Cordifolia* Steenesis) terhadap pertumbuhan *Streptococcus* secara in vitro. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 4(4):15-21.
- Rios,J.L. dan M.C.Rico. 2005. *Medicinal Plants and Antimicrobial Activity*. Respective paper. Available online 17 June 2005. pp 80-83.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB-Press.
- Rostinawati, T. 2008. Skrining dan identifikasi bakteri penghasil enzim kitinase dari air laut di perairan pantai pondok Bali. *Penelitian Mandiri*. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran Jatinangor.
- Salamena, R.P. 2015. Deteksi dan resistensi *Staphylococcus aureus* patogen pada daging ayam. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran, Program Studi Kedokteran Hewan. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Sanarto, Prijadi dan Tanjaya. 2010. Uji efektivitas ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* secara in vitro. *Jurnal Penelitian*. 1(1):1-11.
- Sangi, M., R.J.R. Max. E.I.S. Henry dan M.A.M. Veronica. 2008. Analisis fitokimia tumbuhan obat di kabupaten minahasa utara. *J. Progres in Chemistry*.1(1):47-53.
- Schlegel, H.G dan K.Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum Ed. Ke-6*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Setiaji, A. 2009. Uji aktivitas antibakteri ekstrak petroleum eter, etil asetat dan etanol 70% rhizoma binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steen) terhadap *Staphylococcus aureus* Atcc 25923 dan *Escherichia coli* Atcc 11229 serta skrining fitokimianya. *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Indonesia.
- Siswandono dan B. Soekardjo. 2004. *Kimia Medisinal*. Surabaya: Erlangga.
- Tambayong, J. 2009. *Mikrobiologi untuk Keperawatan*. Jakarta: Widya Medika.
- Timoney, J.F., J.H. Gillespie. F.W. Scott and J.E. Barlough. 1991. *Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals. 8th Ed*. Ithaca and London, United Kingdom: Cornell University Press.
- Titis, M., E. Fachriyah dan D.Kusrini. 2013. Isolasi, identifikasi dan uji aktivitas senyawa alkaloid daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore)Steenis). *Journal of Chemical Information*. 1(1):196-201.
- Uchida, S. 2003. *Production of a digital map of the hazardous condition of soil erosion for the sloping lans west java, Indonesian using geographic information system (GIS)*. Indonesia: JIRCAS.
- Umar, A., D.Krihariyani dan D.T.Mutiawati. 2012. Pengaruh pemberian ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap kesembuhan luka infeksi *Staphylococcus aureus* pada mencit. *Jurnal Analisis Kesehatan*. 2(1):122-128.
- Werckenthin, C., M.Cardoso. J.Louismartel and S.Schwarz. 2001. Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine

S. aureus, porcine *S. hyicus* and Canine *S. intermedius*. *J. Vet. Res.* 3(2):341-362.
WHO. 2003. *Basic Laboratory Procedures In Clinical Bacteriology*, 2nd Ed. Terdapat pada

http://whqlibdoc.who.int/publications/2003/9241545453_ind.pdf. Diakses pada tanggal 6 April 2011.