SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KRIM EKSTRAK DAUN BINAHONG

(Anredera cordifolia (TEN.) Steenis) TERHADAP BAKTERI Staphylococus aureus SECARA IN VITRO



ILVIANI

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG
TAHUN 2018

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KRIM EKSTRAK DAUN BINAHONG

(Anredera cordifolia (TEN.) Steenis) TERHADAP BAKTERI Staphylococus aureus SECARA IN VITRO



ILVIANI

NIM: 1413206024

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG
TAHUN 2018

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KRIM EKSTRAK DAUN BINAHONG

(Anredera cordifolia (TEN.) Steenis) TERHADAP BAKTERI Staphylococus

aureus SECARA IN VITRO

SKRIPSI

Dibuat Untuk Memenuhi Syarat Mencapai Gelar Sarjana Farmasi Pada Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

2018

Oleh:

ILVIANI

NIM: 1413206024

Skripsi ini telah disetujui Tanggal 14 Juli 2018 oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,

Alman

Afidatul Muadifah, M.Si

NP. 18.91.01.16

Sri Rahayu Dwi P., M.Kes, Apt

NP. 0715047201

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa Ketua Program Studi S1 Farmasi

dr. Denok Sri Utami, M.H.

NIDN. 07.050966.01

Tri Anita Sari, S.Farm, Apt

NP. 15.86.01.03

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama

: ILVIANI

NIM

: 1413206024

Program Studi

: S1 FARMASI

menyatakan bahwa sesungguhnya skripsi yang saya tulis dengan judul:

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KRIM EKSTRAK DAUN BINAHONG

(Anredera cordifolia (TEN.) Steenis) TERHADAP BAKTERI Staphylococus

aureus SECARA IN VITRO

adalah benar-benar merupakan hasil karya sendiri. Apabila dikemudian hari diketahui bahwa skripsi ini menggunakan data fiktif atau merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Tulungagung, 13 Juli 2018

ILVIANI

NIM: 1413206024

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadirat Allah SWT, yang telah memberikan rahmat serta hidayahnya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi saya yang berjudul "Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Bakteri Staphylococus Aureus Secara In Vitro". Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk kelulusan program study S-1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung. Penulis menyadari bahawa banyak pihak yang terlibat membantu dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini. Oleh karena itu ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

- Ibu dr. Denok Sri Utami, M.H selaku ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
- Ibu Tri Anita Sari S.Farm., Apt selaku ketua program studi S-1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
- 3. Ibu Afidatul Muadifah, M.Si selaku dosen pembimbing 1 atas bimbingan, motivasi dan saran yang diberikan
- 4. Ibu Sri Rahayu Dwi P., M.Kes, Apt selaku dosen pembimbing 2 yang telah memberikan bimbingan, motivasi dan saran yang diberikan
- 5. Seluruh civitas akademika STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang telah memberikan dukungan moril kepada penulis.
- 6. Bapak dan ibu saya yang selalu mendo'akan serta senantiasa memberikan dukungan dan motivasi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca. Semoga skripsi dapat bermanfaat dan dapat menambah ilmu pengetahuan bagi pembaca.

Tulungagung, 13 Juli 2018

Penulis

RINGKASAN

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KRIM EKSTRAK DAUN BINAHONG (Anredera cordifolia (TEN.) Steenis) TERHADAP BAKTERI Staphylococus aureus SECARA IN VITRO

Tanaman binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) merupakan suatu tanaman obat potensial yang dapat digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit. Tanaman binahong mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin yang dapat digunakan sebagai zat antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) berdasarkan konsentrasi hambat minimum (KHM) terhadap bakteri Staphylococcus aureus serta aktivitas antibakteri krim ektrak daun binahong dan stabilitas krim selama penyimpanan satu bulan.

Ekstrak daun binahong didapat dengan cara ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Konsentrasi ekstrak daun binahong yang digunakan yaitu 25%, 40%, 55% dan 70%. Kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik gentamisin dan kontrol negatif yang digunakan yaitu aquadest.

Hasil penelitian didapatkan konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong pada konsentrasi 25%, 40%, 55% dan 70% sebesar 10.1mm, 11.3mm, 12.1mm dan 14mm. Hasil konsentrasi hambat minimum ekstrak yang optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pada konsentrasi 70% yang ditandai dengan adanya diameter zona hambat sebesar 14mm. Sedangkan pada krim ekstrak binahong diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan adanya diameter zona hambat pada media agar sebesar 12 mm serta krim stabil selama penyimpanan satu bulan.

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF CREAM EXTRACT BINAHONG LEAF ((Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) AGAINST Staphylococus Aureus BACTERIA IN VITRO

Binahong plant (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) is a potential medicinal plant that contains flavonoid compounds, saponins and alkaloids that can be used as antibacterial agents against Staphylococcus aureus bacteria. The maceration method was used to obtain ethanolic extract of binahong leaf by using 70% ethanol solvent. The obtained leaf extract of binahong was then subjected to phytochemical screening test and minimum inhibitory concentration (MIC) test and made into cream preparation and tested for antibacterial activity and stability. Cream is a semisolid dosage of a viscous emulsion containing no less than 60% water and is intended for external use.

The result showed that the positive binahong leaf extract contained alkaloid, flavonoid and saponin compounds and obtained minimum inhibition concentration (MIC) of binahong leaf extract on Staphylococcus aureus bacteria at 70% concentration of 14mm. While the results of cream extract of binahong leaf is known to provide antibacterial activity against Staphylococcus aureus bacteria characterized by the presence of inhibitory zone diameter at 12mm media and stable cream preparation for one month storage. The results are then analyzed data using *one way* ANOVA test.

Keywords: Binahong plant, *Staphylococus aureus*, maceration, cream and antibacterial activity.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDULi
LEMBAR PENGESAHANii
HALAMAN PERNYATAANiii
KATA PENGANTAR iv
RINGKASANv
ABSTRACTvi
DAFTAR ISIvii
DAFTAR TABEL xii
DAFTAR GAMBARxiii
DAFTAR LAMPIRAN xiv
BAB I PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang1
1.2 Rumusan Masalah4
1.3 Tujuan Penelitian
1.4 Hipotesa
1.5 Manfaat Penelitian5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Obat Tradisional6
2.2 Binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis)6
2.2.1 Klasifikasi Tanaman
2.2.2 Morfologi
2.2.3 Kandungan 8
2.2.4 Khasiat
2.3 Simplisia9
2.3.1 Syarat Simplisia
2.3.2 Penyiapan Simplisia
2.4 Ekstraksi
2.4.1 Metode Ekstraksi
2.4.2 Pelarut Ekstraksi

2.5 Krim	13
2.5.1 Formulasi Krim	14
2.6 Bakteri	16
2.6.1 Penggolongan Bakteri	16
2.7 Staphylococus aureus	17
2.7.1 Klasifikasi	17
2.7.2 Morfologi	18
2.8 Antibakteri	19
2.8.1 Mekanisme Zat Antibakteri	19
2.9 Uji Aktivitas Antibakteri	21
2.9.1 Metode Difusi	21
2.9.2 Metode Dilusi	22
2.10 Antibiotik Pembanding	23
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Bahan	24
3.2 Alat	24
3.3 Sampel Penelitian	24
3.3.1 Determinasi Tanaman	24
3.3.2 Tempat Pengambilan Sampel	24
3.3.3 Tempat Penelitian	24
3.4 Variabel Penelitian	25
3.4.1 Variabel Bebas	25
3.4.2 Variabel Terikat	25
3.4.3 Variabel Terkendali	25
3.5 Metode Penelitian	25
3.5.1 Penyiapan Sampel	25
3.5.2 Pembuatan Ekstrak	25
3.5.3 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak	26
3.5.4 Identifikasi Senyawa Aktif Pada Daun Binahong	27
3.6 Pembuatan Sediaan Krim	27
3.6.1 Pemeriksaan Karakteristik Krim	28

	3.7 Uji Aktifitas Antibakteri	. 30
	3.7.1 Sterilisasi	. 30
	3.7.2 Pembuatan Media Nutrient Broth (NB) Dan Media Nutrier	ıt
	Agar (NA)	. 30
	3.7.3 Peremajaan biakan bakteri	. 30
	3.8 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong	. 30
	3.8.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	. 30
	3.9 Analisis Hasil	. 31
	3.10 Alur Penelitian	. 32
BAE	B IV HASIL PENELITIAN	
	4.1 Determinasi Tanaman	. 33
	4.2 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak	. 33
	4.2.1 Organoleptis	. 33
	4.2.2 Uji Kadar Air	. 33
	4.2.3 Susut Pengeringan	. 34
	4.2.4 Rendemen Ekstrak	. 34
	4.2.5 Uji Bebas Etanol	. 34
	4.3 Identifikasi Senyawa Aktif Pada Daun Binahong	. 35
	4.3.1 Uji Alkaloid	. 35
	4.3.2 Uji Flavonoid	. 35
	4.3.3 Uji Saponin	. 36
	4.4 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong	. 36
	4.4.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	. 36
	4.5 Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Binahong	. 47
	4.6 Evaluasi Sediaan Krim	. 38
	4.6.1 Organoleptis	. 38
	4.6.2 Pengujian pH	. 38
	4.6.3 Uji Homogenitas	. 38
	4 6 4 Hii Viskositas	39

4.6.5 Uji Daya Lekat	39
4.6.6 Uji Daya Sebar	40
4.6.7 Uji Daya Proteksi	40
4.7 Analisis Hasil	41
4.7.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	41
4.7.2 Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Binahong	41
BAB V PEMBAHASAN	
5.1 Determinasi Tanaman	43
5.2 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak	43
5.2.1 Organoleptis	43
5.2.2 Uji Kadar Air	43
5.2.3 Susut Pengeringan	44
5.2.4 Rendemen Ekstrak	44
5.2.5 Uji Bebas Etanol	45
5.3 Identifikasi Senyawa Aktif Pada Daun Binahong	45
5.3.1 Uji Alkaloid	45
5.3.2 Uji Flavonoid	47
5.3.3 Uji Saponin	47
5.4 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong	48
5.4.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	48
5.5 Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Binahong	49
5.6 Evaluasi Sediaan Krim	50
5.6.1 Organoleptis	50
5.6.2 Pengujian pH	51
5.6.3 Uji Homogenitas	51
5.6.4 Uji Viskositas	51
5.6.5 Uji Daya Lekat	52
5.6.6 Uji Daya Sebar	52
5.6.7 Uji Daya Proteksi	53
5.7 Analisis Hasil	53

LAMPIRAN	61
DAFTAR PUSTAKA	
6.2 Saran	55
6.1 Kesimpulan	55
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	
5.7.2 Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Binahong	54
5.7.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	53

DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
III.1 Respon Daya Hambat Bakteri	23
III.2 Formula Standart Krim	27
III.3 Formula Modifikasi Krim Ekstrak Daun Binahong	28
IV.1 Uji Organoleptis	33
IV.2 Uji Kadar Air	33
IV.3 Uji Bebas Etanol	34
IV.4 Uji Alkaloid	35
IV.5 Uji Flavonoid	35
IV.6 Uji Saponin	36
IV.7 Hasil Uji KHM Ekstrak Daun Binahong	36
IV.8 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Binahong	37
IV.9 Uji Organoleptis	38
IV.10 Pengujian pH	38
IV.11 Uji Homogenitas	39
IV.12 Uji Viskositas	39
IV.13 Uji Daya Lekat	39
IV.14 Uji Daya Sebar	40
IV.15 Uji Daya Proteksi	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
2.1 Tanaman Binahong	6
2.2. Staphylococcus aureus	17
4.1 Hasil Uji Alkaloid Ekstrak Daun Binahong	35
4.2 Hasil Uji Flavonoid Ekstrak Daun Binahong	35
4.3 Hasil Uji Saponin Ekstrak Daun Binahong	36
4.4 Hasil Uji KHM Ekstrak Daun Binahong	37
4.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Binahong	37
5.1 Reaksi alkaloid dengan pereaksi Dragendrof	46
5.2 Reaksi alkaloid dengan pereaksi Mayer	46
5.3 Reaksi flavonoid dengan HCl dan Mg	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal
1. Surat Determinasi Tanaman Binahong	61
2. Surat Bukti Pembelian Bakteri	62
3. Penyiapan Simplisia dan Ekstraksi	63
4. Uji Skrining Fitokimia.	64
5. Uji KHM Ekstrak Daun Binahong	65
6. Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Binahong	66
7. Uji Stabilitas Sediaan Krim	67
8. Analisis Data Dengan <i>one way</i> ANOVA	68

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis yang terkenal akan keanekaragaman hayatinya. Negara Indonesia memiliki kawasan hutan tropis terkaya di dunia setelah negara Brazil serta masih menyimpan begitu banyak potensi sumber daya alam sebagai sumber bahan makanan dan obat-obatan (Kinho *et al.*, 2011). Terdapat 35.000 jenis tumbuhan tingkat tinggi di Indonesia dimana 3.500 jenis diantaranya telah dilaporkan sebagai tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat. Tanaman obat tumbuh menyebar di seluruh kepulauan Indonesia serta beberapa diantara tanaman tersebut tumbuh sebagai tanaman endemik (Suryanto dan Setiawan, 2013).

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat (Permenkes RI, 2012). Menurut WHO, hampir 20 tahun obat tradisional telah digunakan di dunia. Penggunaan obat tradisional di Negara Ghana, Mali, Nigeria dan Zambia mencapai 60% dan sekitar 80% di berbagai negara menggunakan obat tradisional sebagai perlindungan kesehatan (Kayne, 2010). Berdasarkan data hasil SUSENAS (Survei Sosial Ekonomi Nasional) tahun 2001, prosentase penggunaan obat tradisional di Indonesia meningkat dari angka 15,6% menjadi 30,2% (Supardi *et al.*, 2003) dan terus mengalami peningkatan dari tahun ke tahun hingga pada tahun 2006 prosentasenya mencapai 38,30% (Supardi *et al.*, 2010).

Salah satu tanaman berkhasiat obat yang sering digunakan di masyarakat yaitu binahong. Tanaman binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) merupakan suatu tanaman obat potensial yang telah diketahui mampu mengobati berbagai macam jenis penyakit. Tanaman binahong termasuk kedalam famili Basellaceae (suku anggota tumbuhan berbunga) yang mempunyai potensi besar untuk dilakukan sebuah penelitian karena pada tanaman ini banyak mengandung

berbagai zat yang dapat digunakan sebagai obat (Manoi, 2009). Bagian tanaman binahong yang bermanfaat sebagai obat pada umumnya adalah umbi, akar dan daunnya. Penelitian mengenai aktifitas antibakteri daun binahong dan kandungan metabolit sekundernya pernah dilakukan sebelumnya, bahwa dalam simplisia daun binahong terkandung senyawa alkaloid, polifenol dan saponin (Annisa dan nurul, 2007). Untuk mendapatkan senyawa yang terkandung dalam daun binahong maka harus dilakukan proses ekstraksi.

Ekstraksi adalah suatu proses yang dilakukan untuk memperoleh kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan dengan pelarut yang sesuai dan dalam standar prosedur ekstraksi (Ditjen POM, 2000). Dalam penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi. Maserasi merupakan proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai dan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruang (Depkes RI, 2000). Ekstrak yang diperoleh kemudian dibuat menjadi sediaan obat.

Salah satu bentuk sediaan obat yang sering digunakan dimasyarakat adalah krim. Krim merupakan sediaan setengah padat berupa emulsi kental yang mengandung air tidak kurang dari 60% dan dimaksudkan untuk pemakaian luar (DepKes RI, 1978). Adapun keuntungan dari sediaan krim yaitu memiliki nilai estetika yang baik serta nyaman untuk digunakan. Selain itu, krim merupakan sediaan yang mudah dicuci, memiliki kemampuan penyebaran yang baik pada kulit, tidak lengket serta mampu memberi kelembapan pada kulit. Hasil krim yang dibuat akan dijadikan obat untuk penyakit infeksi.

Penyakit infeksi masih menjadi masalah terbesar dalam dunia kesehatan baik di negara maju maupun di negara berkembang. Di Amerika Serikat kejadian penyakit infeksi sebanyak 30% yang berasal dari rumah sakit (nosocomial infection). Adapun bakteri yang berperan dalam menyebabkan penyakit infeksi adalah bakteri Gram negatif maupun Gram positif. Di Indonesia, bakteri Gram negatif sering menjadi penyebab infeksi dirumah sakit serta resisten terhadap antibiotik (Bela, 2011). Bakteri patogen yang sering menyebabkan penyakit infeksi salah satunya adalah *Staphylococus aureus*.

Staphylococus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat (cocus), tidak bergerak, tidak memiliki spora serta dapat membentuk kapsul. Bakteri Staphylococus aureus jika ditumbuhkan pada suatu media agar akan memiliki diameter 0,5-1,0 mm dengan koloni yang berwarna kuning. Dinding sel dari bakteri ini mengandung asam teikoat sebanyak 40%. Asam teikoat merupakan sekelompok antigen dari Staphylococus yang mengandung suatu aglutinogen dan N-asetilglukosamin (Jawetz et al, 2008). Banyak penyakit yang ditimbulkan akibat infeksi bakteri Staphylococus aureus seperti endokarditis, meningitis, serta infeksi paru. Bakteri ini juga dapat mengakibatkan keracunan pada makanan,sindrom syok toksik, infeksi folikel rambut serta kontaminasi langsung pada luka (Jawetz et al, 2010). Staphylococus aureus juga bertanggung jawab sebanyak 80% atas penyakit supuratif dengan habitat alaminya pada permukaan kulit (Nickerson et al., 2009). Oleh karena itu, untuk mengatasi infeksi yang disebabkan karena bakteri dibutuhkan antibiotik yang diharapkan mampu mengeliminasi bakteri penyebab infeksi.

Pengujian bakteri dilakukan menggunakan metode difusi. Metode difusi digunakan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri yang dalam hal ini adalah ekstrak daun binahong. Cara kerja metode ini adalah piringan yang telah berisi ekstrak daun binahong diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri *Staphylococus aureus* kemudian dilihat daya hambat antibakteri ekstrak daun binahong yang ditandai dengan adanya area jernih pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008)

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti ingin mengembangkan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong terhadap bakteri *Staphylococus aureus* dan ekstrak akan dibuat menjadi krim. Pemilihan sediaan krim disini karena krim hanya akan diaplikasikan pada daerah yang luka serta tidak meninggalkan bekas ketika diaplikasikan pada kulit.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut:

- 1. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) terhadap bakteri Staphylococus aureus?
- 2. Berapakah konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) terhadap bakteri Staphylococus aureus?
- 3. Bagaimana aktivitas antibakteri dan stabilitas krim ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) terhadap bakteri Staphylococus aureus?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas maka penelitian ini bertujuan untuk:

- 1. Mengetahui aktivitas antibateri ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) terhadap bakteri Staphylococus aureus.
- 2. Mengetahui konsentraasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) terhadap bakteri Staphylococus aureus.
- 3. Mengetahui aktivitas antibakteri dan stabilitas krim ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) terhadap bakteri Staphylococus aureus.

1.4 Hipotesis

- 1. Ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri Staphylococus aureus yang dilakukan secara in vitro.
- 2. Ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) mempunyai konsentraasi hambat minimum (KHM) terhadap bakteri Staphylococus aureus yang dilakukan secara in vitro.

3. Krim ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) mempunyai aktivitas antibakteri serta stabil selama penyimpanan satu bulan terhadap bakteri Staphylococus aureus yang dilakukan secara in vitro.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah untuk:

- 1. Memberikan informasi kepada masyarakat bahwa ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) dapat digunakan sebagai zat antibakteri.
- 2. Memperluas ilmu pengetahuan khususnya tentang tanaman obat yang dapat digunakan sebagai zat antibakteri.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obat Tradisional

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat (Permenkes RI, 2012). Obat tradisional akan bermanfaat dan aman jika digunakan dengan memperhatikan sekurang-kurangnya enam aspek ketepatan, yaitu tepat takaran, tepat waktu, tepat cara penggunaan, tepat pemilihan bahan, tepat telaah informasi serta sesuai dengan indikasi penyakit tertentu. Adapun kelebihan dari obat tradisional adalah tidak menimbulkan efek samping yang besar, cara pembuatan lebih mudah, bahan obat lebih mudah ditemukan, harga lebih murah serta dapat dikonsumsi dalam jangka waktu yang panjang (Katno, 2008).

Disamping berbagai kelebihan tersebut, tidak dapat dipungkiri lagi bahwa obat tradisional juga memiliki beberapa kelemahan yang merupakan kendala dalam pengembangan obat tradisional, termasuk dalam upaya agar bisa diterima dalam pelayanan kesehatan formal. Adapun beberapa kelemahan obat tradisional antara lain efek farmakologisnya lemah, bahan baku belum terstandar dan bersifat higroskopis serta volumines, belum dilakukan uji klinik dan mudah tercemar berbagai jenis mikroorganisme (Katno, 2008)

2.2 Binahong



Gambar 2.1. Daun Binahong (A) dan Umbi Binahong (B) (Sumartinigsih, 2011).

2.2.1 Klasifikasi

Klasifikasi tanaman binahong menurut Sumartinigsih (2011):

Kingdom : Plantae

Subkingdom: Tracheobionta
Superdifisi: Spermatophyta
Divisi: Magnoliophyta
Kelas: Magnoliopsida

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Caryophyllales

Family : Basellaceae

Genus : Anredera

Spesies : Anredera cordifolia (Ten) Steenis

: Hamamelidae

2.2.2 Morfologi

Subkelas

Tanaman binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) adalah tanaman obat potensial yang dapat digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit. Tanaman ini berasal dari dataran Cina dengan nama Dheng shan chi, sedangkan di Inggris tanaman ini disebut dengan Madeira vine. Tanaman binahong termasuk kedalam family Basellaceae yang merupakan salah satu kelompok tanaman obat (Manoi, 2009).

Tanaman binahong merupakan tanaman yang menjalar bisa mencapai panjang ± 5 m dan berumur panjang. Akar dari tanaman ini berbentuk rimpang, berbatang lunak, silindris, berwarna merah, permukaan halus, kadang membentuk umbi yang melekat pada ketiak daun. Daun tunggal, bertangkai pendek, berseling, berwarna hijau, bentuk seperti jantung dengan panjang 5-10cm, lebar daun 3-7cm, helaian daun tipis, berujung runcing, tepi daun rata dan permukaan daun licin. Bunga majemuk berbentuk tandan, bertangkai panjang, muncul diketiak daun, mahkota daun berwarna krem keputihan, panjang helai mahkota 0,5-1 cm dan berbau harum. Perbanyakan dari tanaman ini dapat dilakukan dengan dua cara yaitu secara generatif dan vegetatif. Perbanyakan generatif yaitu dengan cara menanam biji dari tanaman binahong, namun yang lebih sering dikembangkan

adalah perbanyakan dengan cara vegetatif yaitu melalui akar rimpangnya (Manoi, 2009).

2.2.3 Kandungan

Kandungan senyawa dari tanaman binahong yang berfungsi sebagai zat antibakteri diantaranya adalah flavonoid, saponin, alkaloid (Umar *et al.*, 2012).

2.2.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan sumber warna alami pada tanaman yang dapat berfungsi sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi maupun sebagai *soothing agent*. Flavonoid dibagi menjadi 6 grup utama yaitu *flavanols*, *flavones*, *flavonols*, *flavones*, dan *anthocyanidins* (Dweck, 2008).

Mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bekteri yang diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Flavonoid juga dapat berperan dalam inhibisi sintesis DNA dan RNA bakteri melalui ikatan hidrogen yang terbentuk. Senyawa ini juga mengganggu proses metabolisme energi dengan cara menghambat sistem respirasi dari sel bakteri. Sistem respirasi ini diperlukan bakteri untuk menghasilkan energi yang cukup. Energi dibutuhkan bakteri untuk menyerap berbagai metabolit dan biosintesis makromolekul. Jika terjadi gangguan regulasi tersebut maka dapat menyebabkan sel bakteri menjadi lisis (Ngajow, 2013).

2.2.3.2 Saponin

Saponin merupakan glikosida dalam tanaman yang terdiri dari gugus sapogenin, gugus heksosa, pentosa, atau asam uronat. Senyawa ini memiliki rasa pahit dan berbusa bila dilarutkan (Winarno, 2004). Saponin dibedakan menjadi dua yaitu saponin triterpenoid dan saponin steroid. Sapoin triterpenoid pada umumnya tersusun atas cincin oleana atau cincin ursana yang glikosidanya mengandung 1-6 unit monosakarida (Glukosa, Galaktosa, Ramnosa) dan aglikonnya disebut dengan sapogenin yang mengandung satu atau dua gugus karboksil. Saponin merupakan glikosida yang larut dalam air dan etanol, tetapi senyawa ini tidak larut dalam eter (Louis, 2004).

Mekanisme kerja saponin sebagai zat antibakteri yaitu dengan berdifusi melalui membran luar dan dinding sel dari bakteri kemudian merusak membran sitoplasma. Hal inilah yang menyebakan membran sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan bakteri menjadi mati (Ngajow, 2013).

2.2.3.3 Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan senyawa yang banyak tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Secara umum alkaloid bersifat basa karena adanya atom N yang pada umumnya atom ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Ciri khas dari alkaloid yaitu tidak terlalu stabil karena alkaloid biasanya mengalami degradasi atau dekomposisi akibat terpapar oleh cahaya, udara, kelembapan dan panas. Alkaloid diketahui larut dalam pelarut alkohol seperti etanol dan metanol. Alkaloid dalam tumbuhan berfungsi sebagai zat beracun sehingga dapat melindungi tumbuhan dari serangan hewan herbivora atau serangga, sebagai senyawa pelindung metabolik dari reaksi detoksifikasi, sebagai faktor pertumbuhan dan sebagai zat yang berguna untuk menyuplai nitrogen atau unsur penting lainnya pada tumbuhan (Kar, 2007).

Senyawa alkaloid sebagai antibakteri mempunyai dua mekanisme kerja yaitu dengan menyisip pada DNA bakteri sehingga merubah struktur ikatan DNA bakteri dan dengan mengahmbat sintesis DNA bakteri dengan cara menghambat kerja enzim topoisomerase (Karou, 2005).

2.2.4 Khasiat

Khasiat dari tanaman binahong yaitu melancarkan peredaran darah, menormalkan tekanan darah, mencegah penyakit stroke, asam urat, asam lambung, menambah dan mengembalikan vitalitas daya tahan tubuh, melancarkan buang air kecil dan buang air besar, mengobati penyakit diabetes, reumatik atau asam urat dan mengobati sariawan (Umar *et al.*, 2012).

2.3 Simplisia

Simplisia adalah bahan dari alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk proses pengobatan dan belum mengalami proses pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60 °C (BPOM, 2014).

Simplisia dibedakan menjadi tiga yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia. Sedangkan simplisia mineral atau pelican adalah simplisia yang berupa bahan mineral atau pelican yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (BPOM, 2014).

2.3.1 Syarat Simplisa

Syarat simplisia yaitu meliputi kadar air tidak lebih dari 10%, angka lempeng total tidak lebih dari 10, angka kapang dan khamir tidak lebih dari 10, mikroba patogen negatif dan aflatoksin tidak lebih dari 30 bagian (BPOM, 2004)

2.3.2 Penyiapan Simplisia

Penyiapan simplisia meliputi pemanenan tanaman, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, penggilingan, dan pengayakan simplisia (BPOM, 2011).

Sampel yang digunakan disini adalah bagian daun dimana pemanenan sampel dilakukan pada saat daun tumbuhan telah berwarna hijau sempurna dimana pada saat itu kadar senyawa aktif paling tinggi sehingga diperoleh mutu simplisia yang baik. Setelah itu sampel dilakukan sortasi basah untuk memisahkan zat pengotor yang menempel pada daun dan membuang bagian-bagian yang tidak diperlukan kemudian sampel dicuci. Pencucian simplisia ini dilakukan untuk menghilangkan pengotor yang masih melekat pada simplisia setelah disortasi basah. Pencucian dilakukan dengan air mengalir dan waktu yang sesingkat mungkin dengan tujuan agar zat yang berkhasiat pada tanaman tersebut tidak hilang. Selanjutnya dilakukan perajangan pada simplisia yang bertujuan untuk memperkecil ukuran dan memperluas permukaan simplisia agar memudahkan dalam proses ekstraksi. Setelah itu, simplisia dilakukan pengeringan dengan cara diangin-anginkan atau tidak terkena cahaya matahari langsung. Kemudian

dilakukan penggilingan untuk menjadikan sampel dalam bentuk serbuk dan dilakukan pengayakan untuk menyamakan ukuran partikel dari serbuk simplisia (Rivai *et al.*, 2014).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi akan dihentikan ketika telah tercapai suatu kesetimbangan antara senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Mukhriani, 2014).

Prinsip kerja dari ektraksi yaitu zat padat akan mengalami kontak dengan pelarut sehingga senyawa dalam zat padat akan berpindah kedalam pelarut. Dengan demikian akan terjadi suatu transfer massa senyawa dari zat aktif kedalam pelarut dan proses tersebut berlangsung pada gradient konsentransi. Kecepatan transfer massa akan menurun ketika konsentrasi senyawa dalam pelarut meningkat sehingga keseimbangan akan tercapai yaitu konsentrasi dalam zat padat dan pelarut sama. Jika kesetimbangan telah tercapai maka transfer massa senyawa dari zat padat ke dalam pelarut akan berhenti (Depkes RI, 2002).

Pemilihan metode ekstraksi bergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode ekstraksi, target ekstraksi harus ditentukan terlebih dahulu. Sarker SD, dkk (2006) mengemukakan bahwa terdapat beberapa target ekstraksi, diantaranya adalah senyawa bioaktif yang tidak diketahui, senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme dan sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural. Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan meliputi pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dll), pengeringan dan penggilingan bahan tumbuhan, pemilihan pelarut yaitu, pelarut polar (air, etanol, metanol dll), pelarut semipolar (etil asetat, diklorometan dll), pelarut nonpolar (n-hekasan, petroletum eter, kloroform dll).

Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan metode penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan kedalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhirani, 2014).

2.4.1 Metode Ekstraksi

Menurut Depkes RI (2000), metode esktraksi dibedakan menjadi dua cara yaitu cara dingin (maserasi dan perkolasi) dan cara panas (refluks, soxhlet, digesti dan infus). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi.

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Metode ekstraksi ini sesuai untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2007). Prinsip dari metode maserasi yaitu serbuk simplisia akan kontak dengan pelarut sehingga pelarut akan masuk kedalam rongga sel simplisia yang mengandung zat aktif. Komponen aktif simplisia akan larut dan akan berpindah kepelarut. Komponen aktif yang larut bergantung pada kelarutannya dalam pelarut dan kemudian akan terjadi transfer massa komponen aktif dari simplisia menuju kepelarut. Transfer massa terjadi karena adanya gradien konsentrasi atau perbedaan konsentrasi antara komponen aktif didalam sel atau diluar sel. Kecepatan transfer massa komponen senyawa aktif akan berkurang jika konsentrasi senyawa aktif di dalam pelarut meningkat sampai mencapai titik keseimbangan. Titik keseimbangan diperoleh jika konsentrasi komponen aktif di dalam sel simplisia dan di dalam pelarut sama (*United Nations Industrial Development Organization And The International Centre For Science And High Technology*, 2008).

Keuntungan dari metode maserasi adalah praktis, menggunakan alat yang sederhana, dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak. Selain itu, senyawa dalam simplisia relatif terhindar dari perubahan kimia oleh senyawa lain serta cocok untuk senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan (Pratiwi, 2008). Sedangkan kerugian dari metode maserasi yaitu waktu yang diperlukan lama, pelarut yang digunakan banyak, kemungkinan beberapa senyawa dapat hilang dan beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar (Mukhriani, 2014).

2.4.2 Pelarut Ekstraksi

Perlarut merupakan suatu zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Sifat pelarut yang baik untuk ekstraksi yaitu memiliki toksisitas pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu yang rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dapat mengawetkan serta tidak menyebabkan ekstrak terdisosiasi (Tiwari *et al.*,2011).

Pemilihan pelarut juga akan tergantung pada senyawa yang akan diambil. Faktor-faktor yang mempengaruhi pemilihan pelarut antara lain adalah jumlah senyawa yang di ekstraksi, laju ekstraksi, keragaman senyawa yang akan diekstraksi, toksisitas pelarut, potensial bahaya bagi kesehatan dari pelarut (Tiwari *et al.*,2011). Adapun pelarut yang digunakan dalam ekstraksi adalah etanol 70%.

Etanol sering digunakan sebagai pelarut dalam laboratorium karena mempunyai kelarutan yang relatif tinggi dan bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lainnya. Etanol memiliki titik didih yang rendah sehingga memudahkan pemisahan minyak dari pelarutnya dalam proses destilasi (Susanti *et al.*, 2012).

Etanol 70% digunakan sebagai pelarut karena memiliki banyak keuntungan antara lain bersifat netral, absorbsi baik, sulit ditumbuhi oleh kapang, tidak beracun, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk memekatkan sedikit (Susanti dan Kusmiyarsih, 2011).

2.5 Krim

Krim adalah sediaan setengah padat berupa emulsi kental yang mengandung tidak kurang dari 60% air dan dimaksudkan untuk pemakaian luar. Tipe krim dibedakan menjadi dua yaitu tipe krim air dalam minyak (A/M) atau tipe krim minyak dalam air (M/A). Untuk membuat sediaan krim digunakan zat pengemulsi yang umumnya berupa surfaktan anionik, kationik dan nonionik (Anief, 2008).

Sebagai obat luar, krim harus memenuhi beberapa persyaratan yang meliputi harus stabil selama masih dipakai, lunak dimana semua zat harus dalam keadaan halus serta homogen, mudah dipakai serta terdistribusi secara merata dimana obat harus terdispersi merata melalui dasar krim padat atau dasar krim cair pada penggunaannya. Adapun keuntungan dari sediaan krim yaitu mudah menyebar secara rata, praktis, mudah dibersihkan atau dicuci, bekerja langsung pada jaringan setempat serta tidak lengket terutama tipe krim minyak dalam air (M/A). Sedangkan kerugian dari sediaan krim yaitu susah dalam hal pembuatannya karena pembuatan krim harus dalam keadaan panas, mudah pecah dalam pembuatannya, mudah kering dan rusak khususnya tipe krim air dalam minyak (A/M) karena terganggunya sistem campuran yang disebabkan oleh penurunan suhu dan komposisi yang diakibatkan oleh penambahan salah satu fase secara berlebihan (Widodo, 2013).

2.5.1 Formulasi

Tipe krim yang digunakan dalam formulasi ini adalah tipe krim minyak dalam air (M/A) dengan menggunakan basis *vanishing cream*. Bentuk krim ini lebih mudah disukai karena mudah dicuci dengan air dan tidak membekas. Bahan dasar pembuatan basis *vanishing cream*antara lain : asam stearat, cera alba, vaselin album, propilenglikol, aquadest dan trietanolamin sebagai emulgator. Untuk bahan pengawet yang digunakan yaitu metilparaben dan propilparaben (Voight, 1994).

Asam stearat dalam sediaan topikal digunakan sebagai emulsifying agent dan solubilizing agent. Asam stearat merupakan bubuk putih keras, berwarna putih atau agak kuning, sedikit mengkilap, kristal padat putih atau kekuningan. Bahan ini sangat larut dalam benzene, kloroform, eter dan larut dalam etanol (95%), heksana dan propilenglikol, praktis tidak larut dalam air. Konsentrasi asam stearat yang biasa digunakan yaitu 1-20% (*Handbook Of Pharmaceutical Excipient*, 2001).

Cera alba digunakan sebagai stabilisator emulsi pada sediaan kosmetik. Cera alba berbentuk padatan putih kekuningan, sedikit tembus cahaya, bau khas lemah dan bebas bau tengik. Bahan ini tidak larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol, larut sempurna dalam kloroform dan eter dan juga minyak lemak. Konsentrasi cera alba yang digunakan pada sediaan topikal yaitu 1-20% (*Handbook Of Pharmaceutical Excipient*, 2001).

Vaselin album digunakan sebagai emolien dan fase minyak pada sediaan kosmetik. Bahan ini berwarna putih atau kuning pucat dan massa berminyak. Vaselin album tidak larut dalam air, sukar larut dalam etanol, mudah larut dalam benzene, kloroform dan karbondisulfida, larut dalam heksana dan minyak lemak. Konsentrasi vaselin album yang digunakan pada sediaan topikal adalah 10-30% (FI Edisi IV, 1995).

Trietanolamin (TEA) merupakan cairan kental, tidak berwarna, sampai kuning pucat, higroskopik dan bau lemah mirip amoniak. TEA digunakan sebagai emulgator pada sediaan kosmetik. Bahan ini mudah larut dalam air dan dalam etanol 90%, larut dalam kloroform. Konsentrasi TEA yang biasa digunakan dalam sediaan topikal adalah 2-4% (*Handbook Of Pharmaceutical Excipient*, 2001).

Propilenglikol digunakan sebagai humektan pada sediaan kosmetik. Bahan ini bersifat nontoksik dan sedikit mengiritasi. Propilenglikol merupakan larutan jernih, tidak berwarna, paraktis tidak berbau. Propilenglikol pada sediaan topikal digunakan pada konsentrasi hingga 15% (*Handbook Of Pharmaceutical Excipient*, 2001).

Metilparaben digunakan sebagai bahan pengawet dengan aktivitas paling efektif untuk jamur dan kapang. Metilparaben larut dalam air, etanol 95%, eter dan metanol. Bahan ini dapat digunakan tunggal maupun kombinasi dengan jenis paraben lain. Efektivitas pengawet ini memiliki rentang pH 4-8 dan dalam sediaan topikal konsentrasi yang umum digunakan adalah 0,02-0,3% (*Handbook Of Pharmaceutical Excipient*, 2001).

Propilparaben digunakan sebagai bahan pengawet dengan aktivitas antimikroba yang ditunjukkan pada pH antara 4-8. Propilparaben sangat efektif terhadap jamur dan kapang. Di samping itu, propilparaben lebih aktif tehadap bakteri gram positif dari pada bakteri gram negatif. Penggunaan kombinasi paraben dapat meningkatkan aktivitas antimikroba. Bahan ini sangat larut dalam aseton, eter dan minyak, mudah larut dalam etanol dan metanol, sangat sedikit larut dalam air. Konsentrasi yang biasa digunakan dalam sediaan topikal adalah 0,001-0,6% (*Handbook Of Pharmaceutical Excipient*, 2001).

Aquadest merupakan air murni yang diperoleh dengan cara penyulingan, pertukaran ion, osmosis terbalik dan cara lain yang sesuai. Air murni lebih bebas dari kotoran maupun mikroba. Air murni digunakan dalam sediaan yang membutuhkan air terkecuali untuk sediaan parenteral aquadest tidak dapat digunakan (Ansel, 1989).

2.6 Bakteri

Bakteri merupakan organisme prokariot yang memiliki kromosom tunggal tetapi tidak mempunyai nukleus (Gillespie *et al.*, 2007). Bakteri sebagai makhluk hidup memiliki informasi genetik berupa DNA tetapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus yaitu nukleus dan tidak mempunyai membran inti. Bentuk DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoi. Pada DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas akson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Jawetz *et al.*, 2010).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri diantaranya adalah nutrisi (garam mineral, sumber karbon dan sumber nitrogen), suhu, kelembapan, udara, pH, cahaya, tekanan osmotik dan bahan pertumbuhan (Jawetz *et al.*, 2010).

2.6.1 Penggolongan Bakteri

Menurut Jawetz et al (2010), bakteri digolongkan menjadi dua yaitu bakteri aerob dan bakteri anaerob. Bakteri aerob adalah mikroorganisme yang melakukan metabolisme dengan adanya bantuan oksigen untuk kelangsungan hidupnya. Bakteri aerob menggunakan glukosa atau zat organik lainnya seperti etanol untuk dioksidasi menjadi CO2, H2O, dan sejumlah energi. Berdasarkan identifikasi bakteri dengan menggunakan pewarna gram, maka didapatkan bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri yang termasuk gram positif yaitu genus Staphylococcus, Streptococus, Basillus, Corynebacterium dan Actinomycetes. Sedangkan yang termasuk kedalam bakteri gram negatif adalah Pseudomonas, Enterobacteriaceae, Eschericia, Shigella, Klebsiella, Enterobacter, Proteus dan Alcaligenes (Brooks, 2010).

Bakteri anerob adalah bakteri yang tidak membutuhkan oksigen untuk kelangsungan hidupnya. Bakteri anaerob terdiri atas dua yaitu bakteri anaerob fakultatif dan bakteri anaerob obligat. Bakteri Anaerob fakultatif adalah tipe bakteri yang mampu bertahan hidup dengan kondisi ada maupun tidak ada oksigen. Contoh bakteri anaerob diantaranya adalah bakteri *Micrococcus denitrificans*, *Clostridium botulinum*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Neiserria gonorrhea*, *Lactobacillus*, *Salmonella*, *Micrococcus denitrificans*, *Staphylococcus pyogenes*. Sedangkan bakteri anaerob obligat adalah bakteri yang tidak membutuhkan oksigen dalam hidupnya. Jika ada oksigen maka bakteri tersebut akan mati. Contoh dari bakteri ini adalah *Clostridium tetani*, *Preyotella melaninogenica*, *Methano bacterium dan Bacteroides fragilis* (Jawetz *et al.*, 2010).

2.7 Staphylococus Aureus



Gambar 2.2. Staphylococcus aureus dalam mikroskop electron (Carr, 2014).

2.7.1 Klasifikaasi

Klasifikasi bakteri *Staphylococus aureus* menurut *National Microbial Pathogen Data Resources* (2008) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria

Divisi : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Bangsa : Bacillales

Suku : Staphylococcaceae

Genus : Staphylococcus

Spesies : Staphylococcus aureus

2.7.2 Morfologi

Staphylococus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat atau cocus, tidak bergerak, tidak memiliki spora dan mampu membentuk kapsul. Bakteri Staphylococus aureus jika ditumbuhkan pada suatu media agar akan memiliki diameter 0,5-1,0 mm dengan koloni yang berwarna kuning. Dinding sel dari bakteri ini mengandung asam teikoat sebanyak 40%. Asam teikoat merupakan sekelompok antigen dari Staphylococus yang mengandung suatu aglutinogen dan N-asetilglukosamin (Jawetz et al., 2010).

Struktur antigen dari bakteri *Staphylococus aureus* yaitu mengandung polisakarida antigenik dan protein serta susbtansi penting lainnya yang berada dalam struktur dinding sel dari bakteri tersebut. Peptidoglikan merupakan suatu polimer polisakarida yang mengandung sub unit yang terangkai seperti eksoskelet yang kaku pada dinding sel. Asam teikoat yang berikatan dengan peptidoglikan dapat membuat sel dari bekteri tersebut menjadi antigenik. Sedangkan protein A merupakan komponen dinding sel bakteri yang terdapat pada banyak strain *Staphylococus aureus* (Umar *et al.*, 2012).

Bakteri *Staphylococus aureus* mudah tumbuh pada berbagai pembenihan dan mempunyai metabolisme aktif, meragikan karbohidrat, serta menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua. Bakteri ini dapat tumbuh dengan baik pada suhu 37°C dengan kisaran pH 4,0-7,5. Bakteri *Staphylococus aureus* membutuhkan asam nikotinat untuk tumbuh dan akan distimulir pertumbuhannya dengan adanya tiamin (Jawetz *et al.*, 2010).

Staphylococus aureus dapat menginfeksi manusia terutama pada membran mukosa daerah nasal, saluran pernafasan bagian atas dan saluran pencernaan. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini antara lain, meningitis, endokarditis, perikarditis dan bisul. Infeksi yang disertai penanahan akan sembuh dengan cepat bila nanah dikeluarkan. Untuk terapi infeksi Staphylococus aureus digunakan antibiotika. Adapun antibiotik yang sering digunakan yaitu sefalosporin, vankomisin dan tetrasiklin (Jawetz et al., 2010).

2.8 Antibakteri

Antibakteri merupakan suatu zat yang memiliki sifat membunuh bakteri (toksik), terutama bakteri yang merugikan bagi manusia yang biasanya menyebabkan terjadinya penyakit infeksi. Zat yang digunakan sebelumnya ditentukan harus bersifat toksisitas selektif yaitu suatu zat berbahaya bagi bakteri atau parasit tetapi tidak membahayakan inang (host). Toksisitas selektif bersifat relatif yaitu suatu zat (obat) pada konsentrasi tertentu dapat ditoleransi oleh host yang dapat merusak bakteri(Suwandi, 2012).

Menurut Priyanto (2010), bahwa suatu zat yang dapat berguna sebagai antibakteri harus mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri patogen serta mempunyai sifat toksisitas selektif tetapi tanpa membahayakan manusia. Berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, sifat antibakteri terbagi menjadi dua antara lain bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) dan bakterisid (membunuh bakteri). Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) sedangkan konsentrasi minimal yang diperlukan untuk membunuh mikroba disebut dengan Kadar Bunuh Minimal (KBM).

Adapun faktor-faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas dari suatu zat antibakteri diantaranya adalah pH lingkungan, komponen perbenihan bakteri, stabilitas zat aktif, besarnya inokolum, inkubasi dan aktifitas metabolik bakteri (Suwandi, 2012).

2.8.1 Mekanisme Zat Antibkteri

Zat anti bakteri dalam melakukan tugasnya harus dapat mempengaruhi bagian-bagian sel seperti membran sel, enzim dan protein struktural dari sel. Mekanisme kerja zat antibakteri diantaranya adalah merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran sel, kerusakan sitoplasma, menghambat kerja enzim dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Pleczar, 1988)

2.8.1.1 Merusak Dinding Sel

Pada umumnya bakteri mempunyai suatu lapisan luar yang kaku disebut dengan dinding sel (peptidoglikan). Sintesis dari dinding sel ini melibatkan sejumlah enzim yang banyak namun hal ini dapat dihambat dengan pemberian zat

antibakteri. Pemberian antibakteri ini akan merusak dinding sel dari bakteri sehingga sel bakteri menjadi lisis. Kerusakan dinding sel ini akan mengakibatkan terjadinya perubahan yang mengarah pada kematian dari sel bakteri karena dinding sel yang berfungsi sebagai pengatur pertukaran zat-zat dari luar dan kedalam sel telah rusak (Pleczar, 1988).

2.8.1.2 Mengubah Permeabilitas Membran Sel

Membran sel merupakan suatu selaput yang membatasi sitoplasma sel yang tersusun atas fosfolipid dan protein. Membran sel berfungsi untuk mengatur keluar masuknya zat antar sel dengan lingkungan luar, melakukan pengangkutan zat-zat yang diperlukan dan mengendalikan susunan dalam sel. Rusaknya dinding sel akibat pemberian zat antibakteri secara otomatis akan berpengaruh pada membran sel. Zat antibakteri akan menyerang dan merusak membran sel sehingga fungsi dari permeabilitas membran mengalami kerusakan. Kerusakan pada membran sel inilah yang mengakibatkan terhambatnya sel bakteri dan bakteri lama kelamaan akan mati (Pleczar, 1988).

2.8.1.3 Kerusakan sitoplasma

Sitoplasma atau biasa disebut dengan cairan sel terdiri atas 80% air, asam nukleat, protein, karbohidrat, lipid dan senyawa anorganik lainnya. Pemberian zat antibakteri akan mengakibatkan terjadinya koagulasi dan denaturaasi dari komponem-komponen sitoplasma tersebut sehingga bakteri akan menjadi lisis (Pleczar, 1988).

2.8.1.4 Menghambat Kerja Enzim

Dalam suatu sel terdapat enzim dan protein yang berfungsi dalam membantu proses metabolisme. Banyak zat kimia yang diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia seperti logam berat, golongan tembaga, perak, air raksa dan senyawa logam berat lainnya yang umumnya efektif sebagai bahan antibakteri. Bahan tersebut akan mengikat gugus enzim sulfihidril yang berakibat terhadap perubahan protein yang terbentuk. Penghambatan inilah yang dapat menyebabkan terganggunya metabolisme dari sel bakteri sehingga sel lama kelamaan akan mati (Pleczar, 1988).

2.8.1.5 Menghambat Sintesis Asam Nukleat Dan Protein

DNA, RNA dan protein memegang peran yang sangat penting dalam sel. Beberapa zat antimikroba dalam bentuk antibiotik seperti kloramfenikol, tetrasiklin dapat menghambat sintesin protein. Sedangkan sintesis dari asam nukleat dapat dihambat oleh senyawa antibiotik. Pemberiaan zat tersebut akan megakibatkan pembentukan sel menjadi terhambat dan mengakibatkan kerusakan total pada sel bakteri (Pleczar, 1988).

2.9 Uji Aktivitas Antibakteri

2.9.1 Metode Difusi

Metode difusi dilakukan dengan menggunakan kertas disk yang berisi antibiotik yang telah diketahui konsentrasinya. Pada metode difusi media yang digunakan adalah agar Mueller Hinton. Ada beberapa cara yang digunakan pada metode difusi diantaranya yaitu cara Kirby-Bauer, cara sumuran dan cara Pour Plate (Jawetz *et al.*, 2001).

Kirby-Bauer merupakan suatu metode uji aktivitas antibakteri yang dilakukan dengan cara membuat suspensi bakteri pada media *Brain Heart Infusion* (BHI) cair dari koloni pertumbuhan kuman yang selanjutnya disuspensikan dalam 0,5 ml BHI cair dan diinkubasi selama 4-8 jam pada suhu 37°C. Hasil dari inkubasi bakteri diencerkan sampai sesuai dengan standar konsentrasi kuman 10⁸ CFU/ml. Suspensi bakteri kemudian diuji sensitivitasnya dengan meratakan suspensi bakteri tersebut pada permukaan media agar dan meletakkan disk yang berisi antibiotik di atas media tersebut dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 19-24 jam kemudian dibaca hasilnya yang meliputi zona radikal (Suatu daerah disekitar disk dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri) dan zona irradikal (Suatu daerah disekitar disk yang menunjukkanpertumbuhan bakteri dihambat oleh antibiotik tersebut) (Jawetz *et al.*, 2001).

Cara sumuran merupakan suatu metode uji aktivitas antibakteri yang dilakukan dengan cara suspensi bakteri sebanyak 10⁸CFU/ml diratakan pada media agar, kemudian media agar tersebut dibuat sumuran lalu antibiotik yang

digunakan diteteskan kedalam sumuran tersebut dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan dibaca hasilnya, seperti pada cara Kirby-Bauer (Jawetz *et al.*, 2001).

Pour Plate merupakan suatu metode uji aktivitas antibakteri yang dilakukan dengan cara setelah dibuat suspensi kuman dengan larutan BHI sampai konsentrasi standar (108CFU/ml), lalu diambil satu mata ose dan dimasukkan kedalam 4ml agar base 1,5% dengan temperatur 50°C. Suspensi kuman tersebut dibuat homogen dan dituang pada media agar Mueller Hinton. Setelah beku, kemudian dipasang disk antibiotik dan diinkubasi selama 15-20 jam pada suhu 37°C kemudian dibaca hasilnya dan disesuaikan dengan standar masing-masing antibiotik (Jawetz et al, 2001).

2.9.2 Metode Dilusi

Metode dilusi dilakukan dengan menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik pada media cair atau media padat. Kemudian media diinokulasi dengan bakteri uji dan dilihat daya hambat dari antimikroba (Jawetz *et al.*, 2010).

Menurut Pratiwi (2008), metode dilusi dibagi menjadi dua yaitu metode dilusi cair dan metode dilusi padat. Metode dilusi cair berfungsi untuk mengukur konsentrasi hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM) dengan cara membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM sedangkan larutan yang ditetapkan sebagai KHM selanjutkan di kultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang akan terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM. Sedangkan metode dilusi padat serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat. Keuntungannya yaitu dapat digunakan untuk beberapa mikroba uji.

Tabel II.1.Respon Daya Hambat Bakteri (Mulyani et al., 2017)

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
> 20 mm	Sangat Kuat
10-19 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
> 5 mm	Lemah

2.10 Antibiotik Pembanding

Antibiotik ialah suatu bahan kimia yang dikeluarkan oleh jasad renik atau hasil sintesis atau semisintesis yang mempunyai struktur yang sama dan zat ini dapat merintangi atau memusnahkan jasad renik yang lainnya. Antibiotik dibagi menjadi dua golongan berdasar kegiatannya, yaitu antibiotik yang memiliki kegiatan luas (*Broad Spectrum*) dan antibiotik yang memiliki kegiatan sempit (*narrow spectrum*) (Suwandi, 2012).

Pada penelitian ini, antibiotik yang digunakan yaitu gentamisin. Gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida. Adapun pemilihan Antibiotik ini dikarenakan mekanismenya yang sama dengan zat antibakteri yang terdapat dalam daun binahong. Mekanisme kerja gentamisin adalah dengan mengikat secara ineversibel sub unit ribosom 30s dari kuman, yaitu dengan menghambat sintesis protein dan menyebabkan kesalahan translokasi kode genetik. Gentamisin bersifat bakterisidal. Gentamisin efektif terhadap berbagai strain kuman gram negatif termasuk *Citrobacter*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Vibrio dan Yersinia* (Hardjasaputra, 2002). Terhadap mikroorganisme Gram positif, gentamisin juga efektif terutama terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Listeria monocytogenes* serta beberapa strain *Staphylococcus epidermis* (Hardjasaputra, 2002).

Tabel II.2. Sesitifitas Antibiotik Gentamisin (Clinical and Laboratory Standarts Institute, 2011).

Antibiotik	Standar Kepekaan Antibiotik (mm)					
	Sensitif Intermediet Resisten					
Gentamisin	>21	16-21	<16			

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis), kultur bakteri Staphylococus aureus, Nutrient Agar (NA), media cair Nutrient Broth (NB), aquades, etanol 70%, asam stearat, cera alba, vaselin album, TEA, propilenglikol, metilparaben dan propilparaben, reagen Dragendrof, reagen Mayer, metanol, HCl pekat.

3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan analitik, botol maserasi, tabung rekasi, oven, erlemeyer, gelas ukur, batang pengaduk, blender, ayakan no 100, kertas saring, autoklaf, inkubator, bunsen, erlemeyer, cawan petri, tabung reaksi, *peper disk*, kapas, gelas ukur, kawat ose, mikro pipet, kertas label, *colony counter*, mortir, stamper, beaker glass.

3.3 Sampel Penelitian

3.3.1 Determinasi Tanaman

Dilakukan oleh lembaga peneliti di Kebun Raya Purwodadi untuk mengetahui identitas tanaman yang digunakan berdasarkan klasifikasi ilmiahnya.

3.3.2 Tempat Pengambilan Sampel

Sampel yaitu daun binahong diambil dari Desa Klurahan, Kecamatan Ngronggot, Kabupaten Nganjuk.

3.3.3 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium fitofarmasi yang dilanjutkan di laboratorium teknologi sediaan dan laboratorium mikrobiolongi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia (Ten) Steenis*) pada konsentrasi 25%, 40%, 55% dan 70%.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis).

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah suhu, waktu, alat, pH dan media.

3.5 Metode Penelitian

3.5.1 Penyiapan Sampel

Daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) dipanen dengan cara manual yaitu dipetik dengan tangan kemudian dilakukan sortasi basah untuk memisahkan zat pengotor yang melakat pada daun. Kemudian daun dicuci dengan menggunakan air yang mengalir. Setelah itu daun binahong dilakukan perajangan untuk memperkecil ukuran partikel, lalu daun binahong dikeringkan dengan cara diangin-anginkan atau tidak terkena cahaya matahari langsung. Daun binahong yang sudah kering kemudian dilakukan penggilingan dengan menggunakan blender dan diayak untuk menyamakan ukuran partikel (Rivai et al., 2014).

3.5.2 Pembuatan Ekstrak

Serbuk daun binahong sebanyak 500 gram dimasukan kedalam bejana maserasi dan ditambah etanol 70% sampai terendam lalu diaduk hingga homogen, tutup segera kemudian disimpan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari selama 3 hari. Selama perendaman setiap hari dilakukan pengadukan selama 15 menit. Setelah direndam selama 3 hari, disaring dengan menggunakan kertas saring lalu diuapkan dengan *oven* pada temperatur 60°C sehingga diperoleh ekstrak kental (Depkes RI, 2000).

3.5.3 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

3.5.3.1 Organoleptik

Pengujian dilakukan dengan mengamati bentuk, warna, dan bau dari ekstrak yang dihasilkan (Depkes RI, 2002).

3.5.3.2 Rendemen ekstrak

Menurut Depkes RI (2002), rendemen ekstrak dihitung dengan membandingkan bobot awal ekstrak yang dihasilkan dengan bobot awal simplisia.

% rendemen =
$$\frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilakan}}{\text{bobot awal simplisia}} x 100\%$$

3.5.3.3 Susut Pengeringan

Menurut Depkes RI (2002), susut pengeringan dihitung dengan caramembandingkan bobot kering simplisia dengan bobot basah simplisia yang digunakan.

% susut pengeringan =
$$\frac{\text{bobot kering simplisia}}{\text{bobot basah simplisia}} x 100\%$$

3.5.3.4 Uji Kadar Air

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukkan lebih kurang 10 g ekstrak dan timbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Keringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Lanjutkan pengeringan dan timbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes RI, 2000).

3.5.3.5 Uji Kadar Etanol

Uji bebas etanol ekstrak dilakukan dengan memasukkan sejumlah ekstrak kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml asam asetat glasial dan 1 ml asam sulfat pekat. Campuran tersebut dihomogenkan dan dipanaskan, kemudian tabung ditutup dengan kapas. Hasil positif bebas etanol ditunjukkan dengan tidak terdapat bau ester (Depkes RI, 1995)

3.5.4 Identifikasi Senyawa Aktif Pada Daun Binahong

3.5.4.1 Uji Alkaloid

Ekstrak pekat sebanyak 0.5 gram ditambahkan 0,5 HCl 2%. Larutan dibagi dalam 2 tabung. Tabung 1 ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendrof, tabung 2 ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Terbentuknya endapan jingga pada tabung 1 dan endapan putih pada tabung 2 menunjukkan adanya alkaloid (Khunaifi, 2010).

3.5.4.2 Uji Flavonoid

Ekstrak daun binahong dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1-2 ml metanol panas 50%. Setelah itu ditambah serbuk Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk, menunjukkan adanya flavonoid (Mojab *et al.*, 2003).

3.5.4.3 Uji Saponin

Ekstrakpekat daun binahong sebanyak 0,5 gram dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml aquadest lalu dikocok selama 30 detik kemudian diamati busa yang terbentuk (Marliyana *et al.*, 2005)

3.6 Pembuatan Sediaan Krim

Tabel III.1. Formula Standart Krim (Susanti dan Kusmiyarsih, 2011).

Bahan	Penimbangan (gram)
Ekstrak daun bayam duri	5%
Asam stearat	11,4
Cera alba	1,9
Vaselin album	8,74
TEA	1,52
Propilenglikol	6,84
Metilparaben	0,1
Propilparaben	0,05
Aquadest	ad 100

Tabel III.2. Formula Modifikasi Krim Ekstrak Daun Binahong

Bahan	Penimbangan (gram)
Ekstrak daun binahong 70%	2.5%
Asam stearat	11,4
Cera alba	1,9
Vaselin album	8,74
TEA	1,52
Propilenglikol	6,84
Metilparaben	0,1
Propilparaben	0,05
Aquadest	ad 100

Fase minyak (asam stearat, cera alba, vaselin album) di masukkan kedalam cawan porselin, ditambah nipasol kemudian dilebur di atas waterbath. Fase air (Propilenglikol, TEA, Aquadest) dimasukkan ke dalam beaker glass, ditambah nipagin aduk sampai homogen. Fase minyak dituang ke dalam mortir hangat, kemudian diaduk sampai homogen. Fase air ditambahkan sedikit demi sedikit sambil diaduk perlahan-lahan hingga terbentuk masa krim. Ekstrak kental daun binahong dimasukkan ke dalam massa krim di atas, kemudian diaduk sampai homogen. Krim dimasukkan ke dalam wadah (Susanti dan Kusmiyarsih, 2011).

3.6.1 Pemeriksaan Karakteristik Krim

3.6.1.1 Organoleptis

Pengujian dilakukan dengan mengamati bentuk, warna, dan bau (Juwita *et al.*, 2013).

3.6.1.2 Pegujian pH

Pengujian pH dilakukan dengan menggunakan pH stik yang dimasukkan ke dalam sediaan krim, didiamkan beberapa saat sampai timbul warna, untuk mengetahui besarnya pH, warna yang timbul tersebut dicocokkan dengan pH indikator (Susanti dan Kusmiyarsih, 2011).

3.6.1.3 Uji Homogenitas

Diambil sediaan krim secukupnya, dioleskan pada objek glass kemudian diratakan. Dilakukan pengamatan susunan sediaan krim pada objek glass. Massa krim yang homogen ditunjukkan dengan tidak adanya bahan padat atau butiran-butiran partikel pada obyek glass (Dewantari dan Sugihartini, 2015).

3.6.1.4 Uji Viskositas

Uji viskositas krim dilakukan dengan menggunakan alat viskometer *Cup* and Bob. Rotor dipasang pada viskometer dengan menguncinya berlawanan arah dengan jarum jam. *Cup* diisi sampel krim yang akan diuji setelah itu tempatkan rotor tepat berada ditengah-tengah *cup* yang berisi krim, kemudian alat dihidupkan. Rotor mulai berputar dan jarum penunjuk viskositas secara otomatis akan bergerak menuju ke kanan, kemudian setelah stabil viskositas dibaca pada skala dari rotor yang digunakan (Juwita *et al.*, 2013).

3.6.1.5 .Uji Daya Lekat

Sampel ditimbang sebanyak 0,25 gram diletakkan diantara 2 objek gelas pada alat uji daya lekat, ditekan dengan beban 10g selama 5 menit, kemudian beban diangkat dan pada alat uji beban dilepaskan serta dicatat waktu pelepasan krim (Dewantari dan Suguhartini, 2015).

3.6.1.6 Uji Daya Sebar

Uji ini dilakukan dengan menggunakan alat—alat seperti sepasang lempeng kaca bundar (extensometer) dan anak timbang gram. Sediaan krim ditimbang sebanyak 500 mg, diletakkan di tengah kaca bulat berskala dan diletakkan kaca bulat lainnya yang telah ditimbang di atas krim selama 1 menit. Diukur diameter krim yang menyebar, kemudian ditambahkan beban 5 g didiamkan selama 1 menit. Dicatat diameter krim yang menyebar dan setelah penambahan beban 10 g dan 15 g (Fujiastutik dan Sugihartini, 2015).

3.6.1.7 Uji Daya Proteksi

Sediaan krim dioleskan pada kertas saring yang sebelumnya telah ditetesi fenolftalein. Kertas tersebut ditempelkan pada kertas saring lain dan kemudian ditetesi larutan KOH 0.1 N. Diamati munculnya warna merah pada kertas saring (Widyantoro dan Sugihartini, 2015).

3.7. Uji Aktivitas Antibakteri

3.7.1 Sterilisasi

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yang meliputi seperangkat alat gelas disterilkan terlebih dahulu dalam oven pada suhu 170°C selama kurang lebih 1 jam. Untuk media disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Sally *et al.*, 2016).

3.7.2 Pembuatan Media Nutrient Broth (NB) Dan Media Nutrient Agar (NA)

Serbuk NB sebanyak 0,08 g dilarutkan dalam 10 ml *aqua destilata*, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan kedalam tabung reaksi (Atlas, 2010).

Serbuk NA sebanyak 4,2 g dilarutkan dalam 210 ml *aqua destilata*, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan kedalam cawan petri dan dibiarkan mengeras (Atlas, 2010).

3.7.3 Peremajaan Biakan Bakteri

Biakan murni bakteri diremajakan pada media agar padat dengan cara bakteri diambil satu ose lalu jarum ose yang mengandung bakteri *Staphylococus aureus*digoreskan secara aseptis pada media nutrient agar pada cawan yaitu dengan mendekatkan cawan pada nyala api saat menggoreskan jarum ose. Kemudian cawan petri ditutup kembali dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 27°C dalam incubator, kemudian diambil satu koloni dan ditanam pada media NB, kemudian divortek supaya homogen, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 27°C dalam incubator, jika media keruh maka terdapat pertumbuhan bakteri, kemudian dibandingkan dengan media NB tanpa bakteri (Sally *et al.*, 2016).

3.8 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong

3.8.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong menggunakan metode difusi. Disiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri. Disiapkan dan disterilkan kertas cakram diameter 6 mm. Ekstrak daun binahong dengan berbagai konsentrasi 25%, 40%, 55%, 70% ditambahkan pada masing-masing cakram sejumlah 10 mikroliter. Kertas cakram steril yang telah diresapi dengan ekstrak daun binahong ditempatkan pada permukaan media dengan pinset steril dan ditekan dengan lembut kebawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam gentamisin. Kontrol negatif disiapkan dengan mencelupkan kertas cakram dalam *aqua destilata*. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diukur diameter zona hambat (Jayaprakash & Nagarajan, 2016).

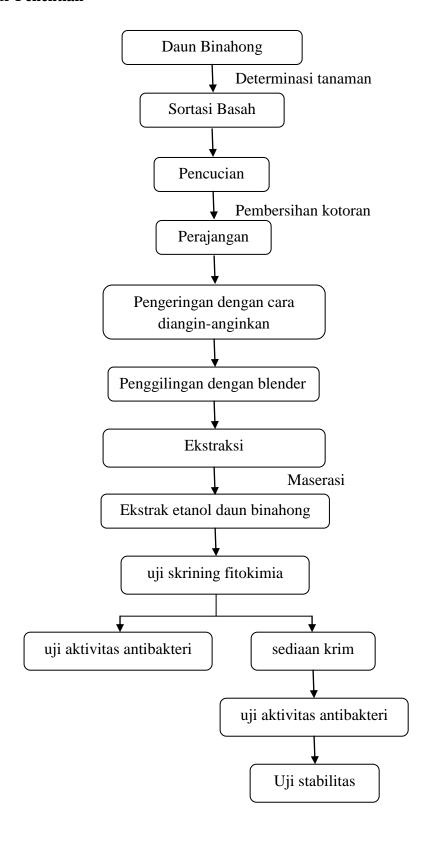
3.9 Analisis Hasil

Analisis yang digunakan adalah uji statistik *one way* ANOVA, uji korelasi dan uji regresi linier sederhana. Uji *one way* ANOVA digunakan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococus aureus*. Analisis data dilakukan dengan menggunaan progam SPSS. Distribusi akan dikatakan normal bila nilai p > 0,05 (memenuhi asumsi normalitas) dan jika nilai p < 0,05 maka distribusi dikatakan tidak normal. Apabila data berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji Independent test. Jika data berdistribusi tidak normal maka uji statistik yang akan digunakan adalah Mann-Whitney (Notoatmaja, 2010).

Interpretasi ujistatistik yang dilakukan adalah sebagai berikut :

- 1. Bila p value $< \alpha$ (0,05) Ho ditolak, hasil bermakna/signifikan, artinya ada hubungan bermakna antara variabel independen dan dependen
- 2. Bila P value $> \alpha$ (0,05) Ho diterima, hal ini berarti bahwa data sampel tidak mendukung adanya perbedaan yang bermakna.
- 3. Bila p value $> \alpha$, maka perlu dilakukan analisis post-hoc, untuk melihat perbedaan antar kelompok (Notoatmaja, 2010).

3.10 Alur Penelitian



BAB IV HASIL PENELITIAN

4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan oleh lembaga peneliti di Kebun Raya Purwodadi, Jawa Timur untuk mengetahui identitas tanaman yang digunakan berdasarkan klasifikasi ilmiahnya. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian adalah tanaman binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) yang merupakan famili Basellaceae dengan kunci determinasi 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43b-54b-59b-61b-62b-63a-64b. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

4.2 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

4.2.1Organoleptik

Tabel IV.1. Hasil uji organoleptis ekstrak daun binahong

Organoleptis	Hasil
Bentuk	Ekstrak Kering
Bau	Khas Tanaman Binanong
Warna	Coklat Tua

4.2.2 Uji Kadar Air

Tabel IV.2. Hasil uji uji kadar air serbuk daun binahong

Persyaratan	Selisih Penimbangan			
Kadar Air	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Rata-Rata
	I	II	III	
10 %	0.5%	0.4%	0.4%	0.43%

Pada uji kadar air serbuk simplisia daun binahong didapatkan kadar air rata-rata sebesar 0.43%.

4.2.3 Susut Pengeringan

% susut pengeringan =
$$\frac{\text{bobot kering simplisia}}{\text{bobotbasah simplisia}} x 100\%$$

% susut pengeringan =
$$\frac{1.6 \text{ kg}}{25 \text{ kg}} x 100\%$$

$$= 6.4\%$$

4.2.4 Rendemen Ekstrak

% rendemen =
$$\frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilakan}}{\text{bobotawal simplisia}} x 100\%$$

% rendemen =
$$\frac{82,87 \text{ g}}{500 \text{ g}} x 100\%$$

$$= 16,57\%$$

4.2.5 Uji Bebas Etanol

Tabel IV.3. Hasil uji kadar etanol pada simplisia

Uji Kadar Etanol	Hasil
Ekstrak + asam asetat glasial +	Tidak terdapat bau ester
asam sulfat pekat dan	
dipanaskan	

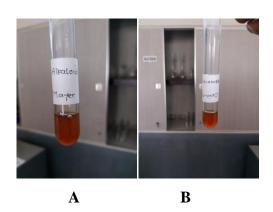
Pada uji kadar etanol dengan penambahan asam asetat glasial dan asam sulfat pekat dan dipanaskan didapatkan hasil positif bebas etanol yang ditandai dengan tidak terdapat bau ester pada ekstrak.

4.3 Identifikasi Senyawa Aktif Pada Daun Binahong

4.3.1 Uji Alkaloid

Tabel IV.4. Hasil uji uji alkaloid ekstrak daun binahong

Uji Alkaloid	Hasil	Keterangan
Reagen Dragendrof	Endapan Jingga	+
Reagen Mayer	Endapan Putih	+



Gambar 4.1. Alkaloid Mayer (A), Alkaloid Dragendrof (B)

Pada uji alkaloid dengan penambahan reagen dragendrof dan mayer didapatkan hasil positif yang ditandai dengan adanya endapan jingga dan putih pada ekstrak.

4.3.2 Uji Flavonoid

Tabel IV.5. Hasil uji uji flavonoid ekstrak daun binahong

Uji Flavonoid	Hasil	Keterangan
Ekstrak + metanol panas 50%	Perubahan warna	+
+ serbuk Mg + HCL pekat	ekstrak menjadi merah	



Gambar 4.2. Hasil uji flavonoid ekstrak daun binahong

Pada uji flavonoid dengan penambahan metanol panas 50%, serbuk Mg dan HCL pekat pada ekstrak didapatkan hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna ekstrak menjadi merah.

4.3.3 Uji Saponin

Tabel IV.6. Hasil uji saponin ekstrak daun binahong

Uji saponin	Hasil	Keterangan
Ekstrak + aquadest	Terbentuk busa	+



Gambar 4.3. Hasil uji saponin ekstrak daun binahong

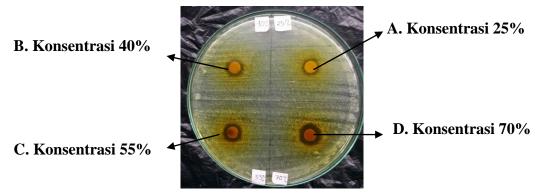
Pada uji saponin dengan penambahan aquadest dan pengocokan didapatkan hasil positif yang ditandai dengan timbulnya busa pada ekstrak.

4.4Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong

4.4.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Tabel.IV.7.Hasil uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong

Repli	Kontrol	Kontrol	Konsentrasi			
Kasi	(+)	(-)	25%	40%	55%	70%
1	15 mm	0 mm	9.5 mm	11.5 mm	12 mm	13.5 mm
2	15 mm	0 mm	10.5 mm	11 mm	12 mm	14.5 mm
3	15 mm	0 mm	10.5 mm	11.5 mm	12.5 mm	14 mm
Rata-rata	15 mm	0 mm	10.1 mm	11.3 mm	12.1 mm	14 mm

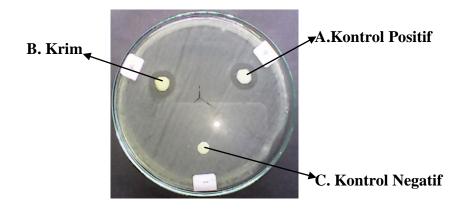


Gambar.4.4. Hasil uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong

4.5 Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Binahong

Tabel.IV.8. Hasil uji aktivitas antibakteri krim ekstrak daun binahong.

Replikasi	kontrol (+)	kontrol (-)	Konsentrasi 70%
1	15 mm	0 mm	12 mm
2	15 mm	0 mm	11.5 mm
3	15 mm	0 mm	12.5 mm
Rata – rata	15 mm	0 mm	12 mm



Gambar.4.5. Hasil uji konsentrasi hambat minimum (KHM) krim ekstrak daun binahong.

4.6 Evaluasi Sediaan Krim

4.6.1 Organoleptis

Pengujian stabilitas fisik dari krim ekstrak daun binahong adalah dengan memperhatikan ada atau tidaknya perubahan secara fisik setelah penyimpanan selama satu bulan.

Tabel IV.9. Hasil uji bentuk, bau dan warna krim ekstrak daun binahong

Pemeriksaan	Penyimpanan					
	Minggu	Minggu	Minggu	Minggu		
	ke-1	ke-2	ke-3	ke-4		
Bentuk	Setengah	Setengah	Setengah	Setengah		
	Padat	Padat	Padat	Padat		
Bau	Khas daun	Khas daun	Khas daun	Khas daun		
	binahong	binahong	binanong	binanong		
Warna	Coklat Muda	Coklat Muda	Coklat Muda	Coklat Muda		

4.6.2 Pengujian pH

Pengujian pH krim ekstrak daun binahong dilakukan dengan menggunakan pH stik yang kemudian dicocokkan dengan warna indikator.

Tabel IV.10. Hasil uji pH krim ekstrak daun binahong

Replikasi	Penyimpanan					
	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4		
1	6	6	6	6		
2	6	6	6	6		
3	6	6	6	6		
Rata-rata	6	6	6	6		

4.6.3 Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan secara visual dengan mengoleskan krim pada lempeng kaca secara merata. Homogenitas dapat dilihat dengan tidak adanya partikel-partikel yang memisah atau fase terdispersi terdistribusi merata pada fase pendispers.

Tabel IV.11. Hasil uji homogenitas krim ekstrak daun binahong

Replikasi	Penyimpanan				
	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4	
1	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	
2	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	
3	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	

4.6.4 Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer dan didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel IV.12. Hasil uji viskositas krim ekstrak daun binahong

Replikasi	Viskositas (dpas)					
	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4		
1	140 dpas	140 dpas	140 dpas	140 dpas		
2	140 dpas	140 dpas	140 dpas	140 dpas		
3	140 dpas	140 dpas	140 dpas	140 dpas		
Rata-rata	140 dpas	140 dpas	140 dpas	140 dpas		

4.6.5 Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dilakukan dengan menggunakan alat uji daya lekat krim. Hasil pengujian daya lekat krim adalah sebagai berikut :

Tabel IV.13. Hasil uji daya lekat krim ekstrak daun binahong

Replikasi	Daya Lekat (detik)					
	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4		
1	0.87	0.79	0.91	0.86		
2	0.83	0.81	0.86	0.81		
3	0.81	0.83	0.79	0.87		
Rata-rata	0.84	0.84	0.84	0.84		

4.6.6 Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan menggunakan alat extensometer. Hasil pengujian daya sebar krim ekstrak daun binahong adalah sebagai berikut :

Tabel IV.14. Hasil uji daya sebar krim ekstrak daun binahong

Beban	Daya Sebar (cm)				
(g)	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4	
0	3.8	3.7	3.7	3.7	
5	4.2	4.1	4.1	4.1	
10	4.9	4.9	4.8	4.9	
15	5.3	5.3	5.4	5.3	

4.6.7 Uji Daya Proteksi

Uji daya proteksi dilakukan untuk mengetahui kemampuan krim dalam melindungi kulit. Hasil pengujian daya proteksi krim ekstrak daun binahong adalah sebagai berikut:

Tabel IV.15. Hasil uji daya proteksi krim ekstrak daun binahong

Uji	Penyimpanan				
	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4	
Daya	Tidak terdapat	Tidak terdapat	Tidak terdapat	Tidak terdapat	
Proteksi	warna merah	warna merah	warna merah	warna merah	
	pada kertas uji	pada kertas uji	pada kertas uji	pada kertas uji	

4.7 Analisi Hasil

4.7.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		konsentrasi
Ν		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.50
	Std. Deviation	1.757
Most Extreme Differences	Absolute	.137
	Positive	.137
	Negative	137
Test Statistic		.137
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200°.d

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.
- c. Lilliefors Significance Correction.
- d. This is a lower bound of the true significance.

Homogeneous Subsets

dayahambat

			Subset for alpha = 0.05				
	konsentrasi	Ν	1	2	3	4	5
Tukey HSD ^a	kontrol negatif	3	.000				
	konsentrasi 25%	3		10.167			
	konsentrasi 40%	3			11.333		
	konsentrasi 55%	3			12.167		
	konsentrasi 70%	3				14.000	
	kontrol positif	3					15.000
	Sig.		1.000	1.000	.109	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

4.7.2 Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Binahong

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		konsentrasi
N		9
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2.00
	Std. Deviation	.866
Most Extreme Differences	Absolute	.209
	Positive	.209
	Negative	209
Test Statistic		.209
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.
- c. Lilliefors Significance Correction.
- d. This is a lower bound of the true significance.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Test of Homogeneity of Variances

dayahambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.000	2	6	.079

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman yang dilakukan pada lembaga peneliti di kebun raya purwodadi untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan adalah benar-benar tanaman yang dimaksud untuk digunakan dalam penelitian. Morfologi tanaman binahong yaitu tumbuhan menjalar, panjang lebih dari 6 m, batang lunak, silindris, daun tunggal, warna hijau, berbentuk jantung, bnga majemuk, bentuk tandan. Tanaman binahong mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, minyak atsiri.

5.2 Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

5.2.1 Uji Organoleptis

Uji organoleptis bertujuan untuk memberikan karakteristik dari ekstrak daun binahong yang meliputi bentuk, bau dan warna ekstrak. Hasil uji organoleptis ini dapat digunakan sebagai dasar untuk menguji ekstrak selama penyimpanan dan hal tersebut tentu saja dapat mempengaruhi khasiat dari ekstrak (Kartikasari *et al.*, 2012). Hasil uji organoleptis dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahawa ekstrak daun binahong memiliki bentuk ekstrak kering, warna coklat tua dan memiliki bau khas seperti tanaman binahong. Dalam hal ini ekstrak tidak mengalami perubahan selama penyimpanan yang menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong stabil dalam penyimpanan dan tidak menurunkan khasiatnya.

5.2.2 Uji Kadar Air

Uji kadar air digunakan untuk menetapkan jumlah semua jenis bahan yang mudah menguap selama kondisi tertentu atau selama proses pemanasan (Depkes RI, 1995). Penetapan uji kadar air ini dilakukan karena tidak diketahui didalam serbuk simplisia hanya mengandung air atau mengandung senyawa lain yang mudah menguap. Uji kadar air dapat digunakan sebagai salah satu parameter untuk melihat kualitas simplisia daun binahong yang digunakan. Menurut Menkes

RI (2009), kadar air yang dipersyaratkan yaitu tidak melebihi 10 %. Jika susut pengeringan sesuai dengan yang dipersyaratkan maka dapat meminimalisir kandungan air dalam simplisia yang dapat mencegah pertumbuhan dan aktivtas enzim mikroorganisme pada simplisia sehingga simplisia daun binahong tahan lama serta kandungan zat aktif didalamnya tidak berubah.

Uji kadar air dilakukan dengan menggunakan metode gravimetri dengan suhu 105°C selama 5 jam. Penggunaan suhu yang tinggi disini bertujuan untuk menjamin agar seluruh kandungan air dan bahan menguap lain yang ada pada serbuk menguap seluruhnya. Hasil uji kadar air dapat dilihat pada Tabel IV.2. Pada uji kadar air ini dilakukan 3 kali replikasi dan didapatkan rata-rata kadar air sebesar 0.43%. Hasil yang diperoleh ini menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan telah memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan.

5.2.3 Uji Susut Pengeringan

Uji susut pengeringan merupakan indikator tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Uji ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar susut bahan yang digunakan dalam membuat simplisia. Uji susut pengeringan dapat dilakukan dengan membandingkan berat bahan yang telah kering dibagi bahan awal yang digunakan dan dikalikan 100% (Kartikasari *et al.*, 2012).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan hasil susut pengeringan daun binahong sebesar 6.4 %. Hal tersebut dikarenakan daun binahong banyak mengandung kadar air sehingga susut pengeringan bahan yang digunakan dalam penelitian ini besar.

5.2.4 Rendemen Ekstrak

Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir ekstrak yang digunakan dengan berat awal ekstrak yang digunakan dikalikan 100%. Hasil rendemen ekstrak daun binahong sebesar 16.57%. Hal ini karena pelarut yang digunakan juga berperan penting dalam menghasilkan rendemen ekstrak. Dalam penelitian ini pelarut yang digunakan yaitu etanol 70% karena pelarut ini memiliki sifat kepolaran yang sama dengan sebagian besar komponen yang terdapat pada simplisia daun binahong. Etanol 70% juga dapat melarutkan senyawa fitokimia

lebih maksimal karena etanol 70% masih mengandung air yang cukup banyak yaitu 30% yang dapat membantu proses ekstraksi sehingga sebagian senyawa tersebut ada yang dapat tertarik dalam etanol dan ada pula yang tertarik dalam air. Beberapa senyawa fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, dan glikosida flavonoid serta klorofil terlarut dalam pelarut polar sehingga senyawa yang terekstrak dengan pelarut etanol 70% ini cukup banyak sehingga menghasilkan rendemen ekstrak yang tinggi (Sani *et al.*, 2014).

5.2.5 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk membebaskan atau untuk membuktikan bahwa tidak ada kandungan etanol yang terdapat pada ekstrak daun binahong sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa adanya kontaminasi etanol. Etanol bersifat sebagai antibakteri dan antifungi, oleh karena itu uji ini perlu dilakukan agar hasil yang didapatkan dari daya antibakteri murni karena pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak daun binahong yang digunakan bukan karena senyawa pelarut etanol pada ekstrak daun binahong (Kurniawati, 2015).

Hasil uji bebas etanol ekstrak daun binahong menunjukkan bahwa ekstrak tersebut positif bebas etanol yang tidandai dengan tidak terciumnya bau ester pada ekstrak seperti yang ditunjukkan pada Tabel IV.3.

5.3 Identifikasi Senyawa Aktif Pada Daun Binahong

5.3.1 Uji Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan yang sebagian besar berupa garam organik. Pada uji alkaloid ekstrak daun binahong ditambahkan dengan asam klorida (HCl). Penambahan HCl disini bertujuan untuk mengubah alkaloid yang bersifat basa menjadi garam alkaloid yang dapat larut dalam air. Kemudian larutan dibagi menjadi dua tabung. Pada tabung pertama ditambahkan dengan 3 tetes pereaksi Dragendrof dan pada tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer (Sangi *et al.*, 2008). Berdasarkan hasil skrining fitokimia setelah penambahan pereaksi Dragendrof terbentuk endapan berwarna jingga dan terbentuk endapan putih setelah penambahan pereaksi Mayer

seperti yang terlihatpada Gambar 4.1. Hal ini menunjukkan bahwa daun binahong positif mengandung senyawa alkaloid.

Pada prinsipnya uji alkaloid terjadi reaksi pengendapan karena adanya pergantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan electron bebas pada alkaloid akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logan K⁺ yang berasal dari pereaksi Dragendrof seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5.1.

Gambar 5.1 Reaksi alkaloid dengan pereaksi Dragendrof

Sedangkan pada penambahan pereaksi Mayer terbentuk endapan putih, hal ini disebabkan karena nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K⁺ dari pereaksi Mayer. Penambahan pereaksi tersebut akan membentuk kopleks kalium-alkaloid yang akan mengendap seperti yang tijunkkan pada Gambar 5.2 (Sangi *et al.*, 2008).

Gambar 5.2 Reaksi alkaloid dengan pereaksi Mayer

5.3.2 Uji Flavonoid

Uji golongan senyawa flavonoid dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak daun binahong. Uji flavonoid dilakukan dengan cara mengambil sedikit ekstrak daun binahong kemudian ditambahkan metanol panas 50%, serbuk Mg dan HCl pekat. Penambahan metanol panas 50% bertujuan untuk melarutkan ekstrak sedangkan penambahan HCl pekat digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya yaitu dengan cara menghidrolisis O-glikosil. Flavonoid yang tereduksi dengan serbuk Mg dan HCl dapat memberikan perubahan warna merah, kuning atau jingga (Desmara *et al.*, 2017).

Gambar 5.3 Reaksi Flavonoid dengan HCl dan Mg

Berdasarkan hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong positif mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan andanya perubahan warna merah yang ditunjukkan pada Gambar 4.2.

5.3.3 Uji Saponin

Pada uji saponin yang dilakukan dengan menambahkan ekstrak daun binahong dengan aquadest kemudian dikocok kuat menghasilkan terbentuknya busa, seperti yang terlihat pada Gambar 4.3. Busa yang terbentuk ini akan bertahan lama dan tidak hilang. Hal ini menunjukkan bahwa daun binahong positif mengandung senyawa saponin. Senyawa saponin jika terhidrolisis akan

menghasilkan ikatan glikosida. Ikatan ini mempunyai sifat seperti sabun dalam air yang membentuk busa. Glikosida yang terbentuk tersusun atas bagian gula (glikon) dan bagian non gula (aglikon). Busa ini merupakan komponen aktif yang dapat mengganggu permeabilitas membran luar pada dinding sel bakteri (Sarker dan Nahar, 2007).

5.4Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong

5.4.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) dilakukan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum dari ekstrak daun binahong terhadap bakteri *Staphylococus aureus*. Uji ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi dengan menaruh kertas disk yang telah diberi ekstrak kedalam media agar. Prinsip metode difusi yaitu ekstrak daun binahong akan berdifusi kedalam media yang telah diinokulasi bakteri uji sehingga ekstrak daun binahong akan menghambat pertumbuhan bakteri yang ditunjukkan dengan parameter zona hambat disekitar kertas disk yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Kurniawati, 2015).

Pada pengujian ini dibuat menjadi 6 plate yaitu 4 plate konsentrasi ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 25%, 40%, 55% dan 70%, kontrol negatif (aquadest) dan kontrol positif (gentamisin). Kontrol negatif bertujuan untuk melihat apakah pelarut mempunyai aktivitas sebagai antibakteri yang nantinya dapat menyebabkan bias pada hasil penelitian. Kontrol positif digunakan sebagai kontrol metode yang bertujuan untuk memastikan metode yang dilakukan sudah benar atau belum yang ditunjukkan dengan adanya diameter zona hambat. Selain itu, kontrol positif juga membantu melihat wujud adanya aktivitas penghambatan bakteri. Data diameter zona hambat ekstrak daun binahong dapat dilihat pada Gambar 4.4.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong menunjukkan bahwa gentamisin yang digunakan sebagai kontrol positif memiliki kemampuan sebagai antibakteri yang ditunjukkan dengan adanya diameter zona hambat sebesar 15 mm dan berwarna jernih. Gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida

yang memiliki spektrum kerja yang luas dan efektif untuk melawan infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram negatif maupun gram positif. Adapun pemilihan Antibiotik ini dikarenakan mekanismenya yang sama dengan zat antibakteri yang terdapat dalam daun binahong. Mekanisme kerja gentamisin adalah dengan mengikat secara ineversibel sub unit ribosom 30s dari kuman, yaitu dengan menghambat sintesis protein dan menyebabkan kesalahan translokasi kode genetik (Hardjasaputra, 2002). Hasil yang diperoleh pada kontrol negatif (aquadest) tidak menunjukkan zona hambat pada sekitar kertas disk. Hal ini menunjukkan bahwa aquadest yang digunakan sebagai pelarut untuk melarutkan ekstrak daun binahong tidak memiliki kemampuan sebagai zat antibakteri.

Pada hasil seri konsentrasi ekstrak (25%, 40%, 55% dan 70%), zona hambat antibakteri terbesar didapatkan pada seri konsentrasi ekstrak 70% yaitu sebesar 14 mm. Hal ini dikarenakan semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan maka zona hambat yang dihasilkan akan semakin besar. Aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong terhadap bakteri *Staphylococus aureus* dimungkinkan karena adanya kandungan senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin yang bersifat polar. Hal ini menyebakan senyawa polar tersebut dapat dengan mudah masuk kedalam menembus barier membrane sel bakteri. Hasil tersebut juga didukung oleh penelitian yang dilakukan Umar *et al* (2012) yang menyatakan bahwa ekstrak daun binahong dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococus aureus*.

5.5 Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Binahong

Uji aktivitas antibakteri krim ekstrak daun binahong dilakukan untuk mengetahui daya antibakteri krim ekstrak daun binahong terhadap bakteri *Staphylococus aureus*yang dapat dilihat dengan adanya diameter zona hambat pada kertas disk. Diameter zona hambat krim terhadap bakteri *Staphylococus aureus*sangat dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak yang digunakan. Dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka diameter zona hambat yang dihasilkan akan semakin besar dan sebaliknya semakin kecil konsentrasi ekstrak yang digunakan makan diameter zona hambat yang dihasilkan akan semakin kecil.

Pengukuran zona hambat antibakteri dapat dilihat dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas disk (Kurniawati, 2015).

Uji ini dilakukan menggunakan metode difusi. Dimana Prinsip metode difusi yaitu krim ekstrak daun binahong akan berdifusi kedalam media yang telah diinokulasi bakteri uji sehingga krim ekstrak daun binahong akan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococus aureus*. Kontrol negatif yang digunakan yaitu aquadest steril karena telah diketahui bahwa aquadest tidak memiliki aktivitas antibakteri *Staphylococus aureus*sedangkan kontrol positif yang digunakan yaitu gentamisin yang mekanisme kerjanya sama dengan mekanisme kerja senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun binahong. Krim ekstrak daun binahong yang digunakan disini mengandung ekstrak daun binahong dengan konsentrasi 70%. Hasil uji daya hambat krim ekstrak daun binahong dapat dilihat pada Gambar 4.5.

Pengukuran diameter zona hambat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong. Pada hasil uji tersebut didapatkan diameter zona hambat rata-rata krim ekstrak daun binahong sebesar 12 mm. Hasil diameter zona hambat krim ekstrak daun binahong lebih kecil dibandingkan dengan hasil diameter zona hambat ekstrak daun binahong. Hal ini dikarenakan adanya penambahan berbagai bahan pembuatan sediaan krim yaitu pada fase minyak (asam stearat, cera alba dan vaselin) sehingga berpengaruh dalam daya menghambat antibakterinya. Namun begitu, berdasarkan tabel zona hambat antibakteri krim ekstrak daun binahong masuk kedalam range zona hambat yang kuat (Mulyani et al., 2017). Sehingga dapat dikatakan bahwa krim ekstrak daun binahong memiliki kemampuan daya hambat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococus aureus*.

5.6 Evaluasi Sediaan Krim

5.6.1 Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan untuk melihat tampilan fisik dari suatu sedian krim ekstrak daun binahong yang meliputi bentuk, warna dan bau. Berdasarkan hasil yang didapat bentuk sediaan berupa sediaan setengah padat, warna yang dihasilkan coklat muda dan bau yang dihasilkan adalah khas bau daun binahong seperti yang ditunjukkan pada Tabel IV.9. Warna dan bau yang dihasilkan krim

ekstrak daun binahong tergantung dari konsentrasi ekstrak daun binahong yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka bau khas daun binahong yang dihasilkan akan semakin meningkat dan warna krim yang dihasilkan akan menjadi coklat kehitaman. Berdasarkan hasil pengujian dari minggu ke-1 sampai minggu ke-2 dapat disimpulkan bahwa krim ekstrak daun binahong tersebut stabil berdasarkan pengujian bentuk, warna dan bau (Juwita *et al.*, 2013).

5.6.2 Pengujian pH

Pengujian pH krim ekstrak daun binahong dilakukan dengan menggunakan pH stik, kemudian pH stik dicocokkan dengan warna indikator. Berdasarkan Tabel IV.10, krim ekstrak daun binahong stabil selama penyimpanan 1 bulan (minggu ke-1 sampai minggu ke-4) yaitu dengan pH 6. pH tersebut telah memenuhi persyaratan Ph untuk suatu sediaan topikal yang sama dengan pH kulit yaitu berkisar antara 4,5-7. pH sediaan yang stabil ini dapat membantu menghindari atau mencegah kerusakan produk selama penyimanan atau penggunaan. Jika pH yang dihasilkan terlalu asam atau terlalu basa maka akan dapat mengiritasi kulit jika digunakan (Susanti dan Kusmiyarsih, 2011).

5.6.3 Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan secara visual dengan mengoleskan sediaan krim ekstrak daun binahong pada lempeng kaca atau obyek glass secara merata. Uji homegenitas bertujuan untuk melihat dan mengetahui tercampurnya bahanbahan dalam sediaan krim. Homogenitas sediaan krim ekstrak daun binahong dapat dilihat dengan tidak adanya partikel-partikel yang memisah atau fase terdispersi terdistribusi merata pada fase pendispersi. Berdasarkan Tabel IV.11, Hasil pengujian dari homogenitas menunjukkan bahwa sediaan krim ekstrak daun binahong selama penyimpanan suhu kamar (27-30 °C) dalam waktu 1 bulan tidak mengalami perubahan fisik dalam hal homogenitasnya (Susanti dan Kusmiyarsih, 2011).

5.6.4 Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan untuk mengetahui kekentalan dari suatu sediaan krim. Viskositas merupakan suatu ukuran kekentalan yang menyatakan besar atau kecilnya gesekan dalam fluida. Semakin besar viskositas suatu fluida maka

semakin sulit suatu benda bergerak dalam fluida. Dalam hal ini semakin kental suatu sediaan krim, maka akan semakin besar kekuatan yang diperlukan suatu sediaan krim tersebut untuk dapat mengalir dengan kecepatan tertentu. Selain itu, dengan semakin tingginya viskositas sediaan krim, maka laju pemisahan fase terdispersi semakin kecil sehingga sediaan krim akan semakin stabil (Juwita *et al.*, 2013).

Pengujian viskositas dilakukan dengan menggunakan alat *viscometer*. Hasil pengujian viskositas dapat dilihat pada Tabel IV.12. Berdasarkan dari tabel tersebut, hasil viskositas menunjukkan bahwa sediaan krim kstrak daun binahong selama penyimpanan pada suhu kamar tidak mengalami perubahan fisik dalam hal viskositasnya yaitu 140 dpas. Hal ini disebabkan karena pada proses pembuatan, penyimpanan dan pengujian sedian krim ekstrak daun binahong pada suhu yang sama yaitu pada suhu kamar.

5.6.5 Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dilakukan untuk mengetahui kemampuan sediaan krim melekat ketika dioleskan pada kulit. Semakin besar nilai daya lekat sediaan ketika diujikan maka kemampuan melekat pada kulit semakin kuat dan absorbsi dikulit semakin lama. Daya lekat yang baik yaitu dapat melapisi kulit secara menyeluruh serta tidak mengganggu fungsi fisiologis kulit. Daya lekat suatu sediaan dipengaruhi oleh viskositas suatu sediaan tersebut. Semakin tinggi viskositas suatu sediaan maka daya lekat yang dihasilkan akan semakin tinggi dan semakin rendah suatu viskositas sediaan maka daya lekat yang dihasilkan semakin rendah (Rahmawati *et al.*, 2010).

Pengujian daya lekat krim ekstrak daun binahong setelah pembuatan sampai satu bulan pada suhu kamar dilakukan dengan menggunakan alat uji daya lekat dan stop watch untuk mengukur waktu. Daya lekat krim yang baik yaitu tidak lebih dari 4 detik. Hasil pengujian daya lekat dapat dilihat pada Tabel IV.13. Berdasarkan tabel tersebut dapat diketahui bahwa krim ekstrak daun binahong memiliki waktu rata-rata daya lekat sebesar 0.84 detik sehingga dapat diketahui bahwa krim esktrak daun binahong memenuhi persyaratan daya lekat krim dan memiliki hasil yang stabil selama penyimpanan.

5.6.6 Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui daya penyebaran sediaan krim pada permukaan kulit sehingga dapat diketahui penyebaran zat aktif dari sediaan krim tersebut. Pengujian daya sebar merupakan salah satu syarat dari suatu sediaan semisolid, apabila sediaan semisolid memiliki daya sebar yang tinggi maka akan memberikan daerah penyebaran yang luas pada kulit sehingga zat aktif yang terkandung dalam sediaan semisolid akan tersebar secara merata. Pengujian daya sebar krim dilakukan dengan alat extensometer dengan penambahan beban 5g dan dilanjutkan dengan kelipatannya (Susanti dan Kusmiyarsih, 2011).

Hasil uji daya lekat dapat dilihat pada Tabel IV.14. Daya lekat krim yang baik yaitu antara 5-7 cm. Berdasarkan tabel tersebut, pengujian daya sebar krim ekstrak daun binahong dari minggu ke-1 sampai minggu ke-4 memperlihatkan hasil yang sama dilihat dari penurunan dan peningkatan luas yang tidak jauh berbeda. Sehingga dapat dikatakan bahwa krim ekstrak daun binahong memiliki daya sebar yang stabil selama penyimpanan.

5.6.7 Uji Daya Proteksi

Uji daya proteksi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan sediaan krim dalam memproteksi atau memberikan perlindungan kulit terhadap pengaruh asing dari luar. Pengujian ini dilakukan dengan penambahan KOH.Sediaan krim dapat memberikan proteksi terhadap cairan KOH bila tidak timbul noda merah pada bekas tetesan KOH pada kertas saring. Munculnya noda merah pada kertas saring disebabkan karena adanya suatu interaksi antara indikator PP dan KOH (Rahmawati *et al.*, 2010).

Hasil uji daya proteksi dapat dilihat pada Tabel IV.15. Berdasarkan tabel tersebut, krim ekstrak daun binahong memberikan daya proteksi yang stabil dari penyimpanan minggu ke-1 sampai dengan minggu ke-4.

5.7 Analisi Hasil

4.7.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Untuk mengetahui adanya pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococus aureus* maka

digunakan uji statistik parametric *one way* ANOVA, akan tetapi sebelum dilakukan analisis data dengan uji *one way* ANOVA, data terlebih dahulu harus dilakukan uji normalitas data dan homogenitas data. Dari hasil uji normalitas menggunakan uji Kolmogrov-Sminornov didapatkan nlai 0.02>p (0,05) yang artinya data berdistribusi normal. Setelah itu dilakukan uji homogenitas menggunakan uji Levene dan didapatkan nilai signifikansi 1.00>p (0,05) yang artinya bahwa varian data homogen. Dengan hasil tersebut maka dapat dilakukan pengujian lebih lanjut dengan menggunakan *one way* ANOVA.

Berdasarkan *one way* ANOVA, diketahui bahwa nilai signifikansi 0.00>p (0,05) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakana atau terdapat pengaruh perlakuan konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap jumlah koloni bakteri *Staphylococus aureus*.

4.7.2 Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Binahong

Untuk mengetahui adanya pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococus aureus* maka digunakan uji statistik parametric *one way* ANOVA, akan tetapi sebelum dilakukan analisis data dengan uji *one way* ANOVA, data terlebih dahulu harus dilakukan uji normalitas data dan homogenitas data. Dari hasil uji normalitas menggunakan uji Kolmogrov-Sminornov didapatkan nlai 0.20>p (0,05) yang artinya data berdistribusi normal. Setelah itu dilakukan uji homogenitas menggunakan uji Levene dan didapatkan nilai signifikansi 0.79>p (0,05) yang artinya bahwa varian data homogen. Dengan hasil tersebut maka dapat dilakukan pengujian lebih lanjut dengan menggunakan *one way* ANOVA.

Berdasarkan *one way* ANOVA, diketahui bahwa nilai signifikansi 0.00>p (0,05) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakana atau terdapat pengaruh perlakuan konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap jumlah koloni bakteri *Staphylococus aureus*.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- 1. Ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) mempunyai aktivitas antibakteri Staphylococus aureus yang ditandai dengan adanya diameter zona hambat pada media.
- 2. Ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia (Ten) Steenis*) mempunyai aktivitas antibakteri *Staphylococus aureus* pada uji KHM pada konsentrasi 70% yang ditandai dengan adanya diameter zona hambat sebesar 14 mm.
- 3. Krim ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri Staphylococus aureus yang ditandai dengan adanya diameter zona hambat sebesar 12 mm serta memiliki sediaan yang stabil selama penyimpanan dalam waktu satu bulan.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik beberapa saran sebagai berikut:

- Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan bakteri lain yang dapat menyebabkan infeksi.
- 2. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut secara praklinis pada hewan coba untuk mengetahui lebih luas tentang khasiat daun binahong.
- Perlu dilakukan variasi sediaan lain dengan berbagai seri konsentrasi untuk lebih mengetahui manfaat daun binahong dalam hal menghambat pertumbuhan bakteri

Daftar Pustaka

- Agoes, G., 2007, Teknologi Bahan Alam, ITB Press Bandung
- Anief, Moh. 2008. *Ilmu Meracik Obat*. Yogyakarta: Gadjah Mada University. Press.Hal 78, 98.
- Ani, Umar., Dwi Krihariyani., Diah, Titik.M. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) Terhadap Kesembuhan Luka Infeksi Staphylococcus aureus Pada Mencit. Jurnal Analisis Kesehatan Sains Vol. 01 No. 02.
- Anisa Puspa Juwita, Paulina V.Y Yamlean, Hosea Jaya Edi. 2013. Formulasi Krim Ekstrak Etanol Daun Lamun (*Syringodium isoetifolium*). *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT* Vol. 2 No. 02. ISSN 2302-2493.
- Ansel, H. C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi IV*. Jakarta. Universitas Indonesia Press. Hal 98-99
- Akiyama, H., Fuji, K., Osamu Y., Oono, T., And Itwasuki, K., 2001, Antibacterial Action Of Several Tannin Against *Staphylococcus aureus, Journal Of Antimicrobial Chemotherapy*, (48) Hal 487-491.
- Atlas, R.M., 2010. *Handbook of Microbiological Media*. 4th Ed. Washington, D.C.: CRC Press.
- BPOM, 2011. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Tentang Persyaratan Teknis Cara Pembuatan Obat Tradisional Yang Baik. Jakarta.
- BPOM, 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. Jakarta: BPOM RI.
- Brooks, G.F., Carrol, K.C., Butel, J.C., Morse, S.A dan Mietzner, T.A., 2010, Jawetz, Melnick dan Adelberg *Mikrobiologi Kedokteran*, 25 ed, diterjemahkan oleh Adityaputri, A., dkk, EGC. Jakarta.
- Carr, 2014, centers for disease control and prevention, *CDC,Staphylococcus* aureus electron microscopy.

- Departemen Kesehatan RI. 1978. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Direktorat Jendral Pengawasan obat dan Makanan : Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakoe Indonesia Edisi IV*. Direktorat Jendral Pengawasan obat dan Makanan : Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan obat dan Makanan : Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2002. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jendral POM-Depkes RI.
- Desmara, S., Rezeki, S., Sunnati. 2017. Konsentrasi Hambat Minimum Dan Konsentrasi Bunuh Minimum Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum L*) Terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans. Journal Caninus Denstistry*. Vol 2, No.1, P.31-39.
- Fujiastuti & Sugihartini, 2015.Sifat Fisik dan Daya Iritasi Gel Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica L.*) dengan Variasi Jenis *Gelling agent*. *PHARMACY*, 12(1), pp.11-20
- Ghosal, M. & Mandal, p. 2012. Phytochemical Screening And Antioxidant Activities Of Two Selected 'Bihi' Fruitd Used As Vegetables In Darjeeling Himalaya. *International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*. ISSN: 0975-1491. 4(2).
- Harborne, J.B.1998. *Phytochemical Methods: A Guide To Modern Techniques Of Plants Analysis 3nd Edition*. Chapman And Hall, London.
- Jawetz, E. Melnick, J.L dan Adelberg, E.A. 2001. *Medical Microbiology Twenty Second Ed.* Buku 1.Terjemahan Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika.
- Jawetz, E. Melnick, J.L dan Adelberg, E.A. 2010. *Mikrobiologi KedokteranJawetz, Melnick & Adelberg* 25th ed., Jakarta, Indonesia: EGC.
- Jayaprakash, S.B. & Nagarajan, N., 2016. Studies on The Bioactive Compounds and Antimicrobial Activities of Medicinal Plant *Centella asiatica* (Linn). *Journal of Medicinal Plants Studies*, 4(5), pp.181-85.

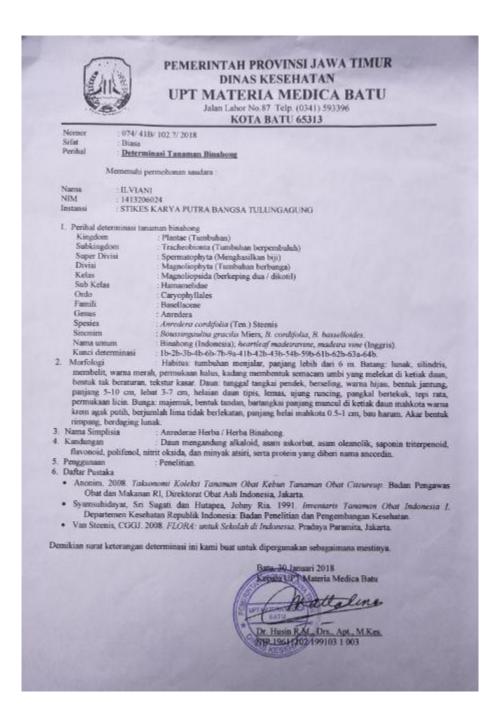
- Kar, A., 2007, Pharmacognosy And Pharmacobiotechnology, 2rd edition, diterjemahkan oleh Shinta Rachmawati dan Ryeska Fajar Respaty, hal, 827, 833, 427, 429, 431, 433, Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Karou, D., Savadogo, A., Canini, A., Yameogo, S., Montesano, S., Simpore, J., Colizzi, V., Traore, S.A., 2005, Antibacterial Activity Of Alkaloids From Sida acuta, African Journal Of Biotechnology, 4 (12), 1452-1457.
- Kartikasari, D., Nurkhasanah., Pramono. S., 2012. Karakterisasi Simplisia Dan Ekstrak Etanol Daun Bertoni (*Stevia rebaudiana*) Dari Tiga Tempat Tumbuh.UGM Press. Yogyakarta
- Kurniawati, D.A., 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Petai (*Parkia speciosa Hassk*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococus aureus*. IPB Press. Bandung.
- Katno. 2008. Tingkat Manfaat, Keamanan, dan Efektifitas Tanaman Obat dan Penelitian obat Tradisional. Diterbitkan Oleh Balai Besar Penelitian dan Pengembangan. Jawa Tengah.
- Kurniawati Evi. 2015. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata*, P-ISSN 2355-6498.
- Lina Susanti dan Pipid Kusmiyarsih. 2011. Formulasi Dan Uji Stabilitas Krim Ekstrak Etanolik Daun Bayam Duri (*Amaranthus spinosus L.*) *Jurnal Farmasi USB*, Vol. 12, No. 2
- Louis, F.G. 2004. Saponin Glicosides. Georges luis
- Marliyana, S.D., Suryanti, V., dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatorafi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Apel (*Sechium edule jacq* . *Swartz*.)Dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi UNS*, 3 (1): 26-31.
- Manoi, F. 2009. Binahong (Anredera cordifolia (Ten) Steenis) Sebagai Obat. *Jurnal Warta Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Industry*. Volume 15 nomor 1: 3.
- Menteri Kesehatan Republic Indonesia, 2009, Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 261/Menkes/SK/IV/2009, Farmakope Herbal Indonesia Edisi Pertama, Jakarta.

- Mojab, F., Kamalinejad, M., Ghaderi, N., & Vahidipour, H. R. (2003). Phytochemical Screening Of Some Species Of Iranian Plants. *Iranian Journal Of Pharmaceutical Research*. p. 77-8
- Mukhriani, 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, Volume VII No.2.
- National Microbial Pathogen Data Resources, 2008, Staphylococcus aureus.
- Ngajow, M., Abidjjulu, J., dan Kamu, V.S., 2013, Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro, *Jurnal MIPA UNSRAT*,2(2), hal 128-132.
- Notoatmojo, Soekidjo. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta, Indonesia: Rineka Cipta
- Pratiwi, T.S., 2008. Mikrobiologi Farmasi, Erlangga, Jakarta, Hal 188-190
- Pelczar, M dan Chan.1988.*Dasar-Dasar Mikrobiologi (Jilid1)* Jakarta: Universitas Indonesia (UI Press).
- Rahmawati, D.,Sukmawati, A., Indrayudha, P. 2010. Formulasi Krim Minyak Atsiri Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana Val & Zijp*): Uji Sifat Fisik Dan Daya Antijamur Terhadap *Candida albicans* Secara In Vitro. Jurnal Obat Tradisional, Vol. 2, No. 15, P.56-63.
- Rowe, Raymon Dkk. 2001. *Handbook Of Pharmaceutical Excipient*. London. Pharmaceutical Press.
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*, diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB: Bandung.
- Sani, R.N., Nisa, F.C., Andriani, R.D., dan Maligan, J.M., 2014. Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Tetraselmis chuii. Journal Pangan dan Agroindustri*, Vol.2, P.121-126.
- Seidel V., 2006. Initial and bulk extraction In: Sarker SD, Latif Z, & Gray AI, editors. *Natural Products Isola-tion*.2nd ed. Totowa (New Jersey).Humana Press Inc. hal.31-5.
- Sharker, S.D dan Nahar L., 2007, Chemistry For Pharmacy Student: General Organic And Natural Product Chemistry, Diterjemahkan Oleh Rohman, A., Pustaka Pelajar, Yogyakarta, hal 465-466.

- Sumartinigsih, Sri., 2011. The Effect Binahong To Hematoma. *International Journal of Medical, Health, Biomedical, Bioengineering and Pharmaceutical Engineering* Vol:5, No:6.
- Tiwari, Kumar, Kaur Mandeep, Kaur Gurpreet & Kaur Harleem. 2011.

 Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Sciencia* vol. 1: issue 1.
- Voight. R. 1994. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi (Terjemahan Sendari Noerono) Edisi V. Gadjah Mada University Press. Yogyaarta
- Wardhani, LK. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (Anredera scandes L.) Terhadap Shigella flexneri Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2.p 14.
- Yuli wahyu, T.M., Dadan, H., Isbiyantoro Dan Yeny, F., 2017.Ekstrak Daun Katuk (Sauropus androgynus (L) Merr) Sebagai Antibakteri Terhadap Propionibacterium acnes dan Staphylococcus epidermidis. *Jurnal Farmasi Lampung (JFL)*. No. 2

Lampiran 1. Surat Determinasi Tanaman Binahong



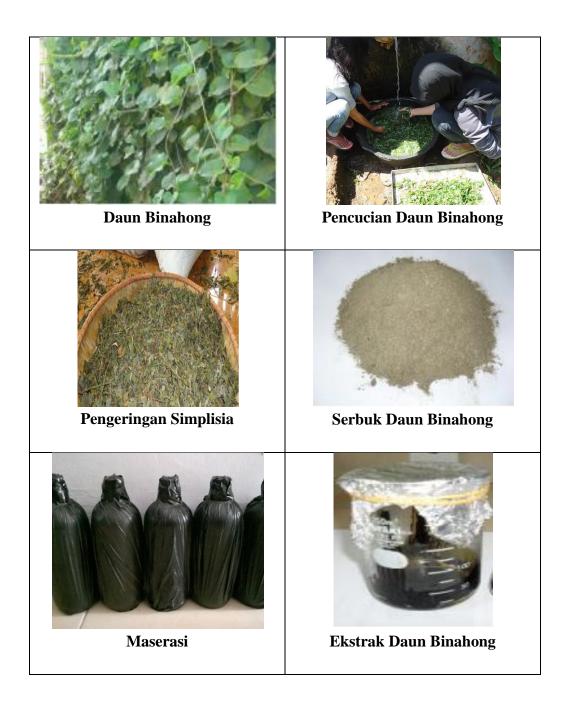
Lampiran 2. Surat Bukti Pembelian Bakteri

SURAT PERNYATAAN

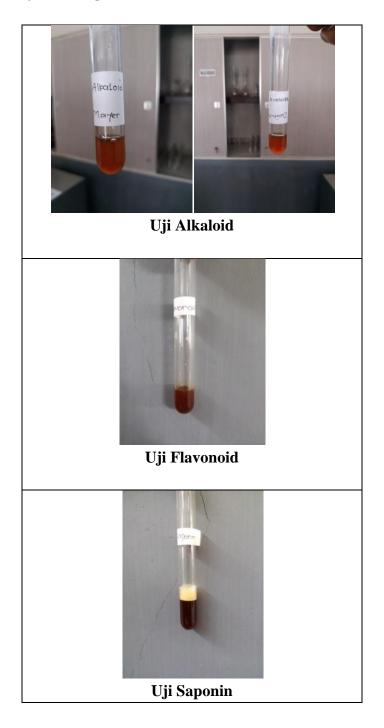
SAYA YANG BERTANDA TANGAN DIBAWAH INI :
NAMA : ANGGIATI AMBARSARI
ALAMAT KANIGORO, BLITAR
INSTITUSI : STIKES KARYA PUTRA DANGSA TULUNGAGUNG
DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA SAYA MENGERTI DAN MEMAHAMI AKIBAT DARI ISOLAT BAKTERI / JAMUR*) 1. Staphylococcos aureus 2. Eschericia coli 3. Clostridium pereperingens 4. 5. TERHADAP SAYA, ORANG DISEKITAR SAYA DAN LINGKUNGAN SAYA. SAYA MENGGUNAKAN ISOLAT BAKTERI / JAMUR*) DIATAS HANYA UNTUK KEPERLUAN. PENEUTIAN DENGAN INI SAYA MENYATAKAN BAHWA SAYA AKAN MEMPERLAKUKAN ISOLAT BAKTERI / JAMUR*) TERSEBUT DENGAN SANGAT MEMPERHATIKAN
BIOSAFETY DAN BIOSECURITY SELAMA ISOLAT BAKTERI TERSEBUT ADA PADA
SAYA.
YANG MEMBUAT PERNYATAAN (ANGGIATI AMBARSARI) (ANGGIATI AMBARSARI)
Ket : *) Coret yang tidak perlu

Surat pertnyataan harus dibubuhi dengan stempel resmi institusi

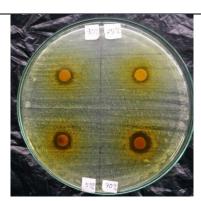
Lampiran 3. Penyiapan Simplisia dan Ekstraksi



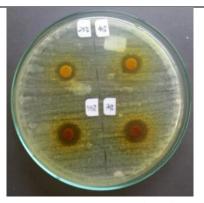
Lampiran 4. Uji Skrining Fitokimia



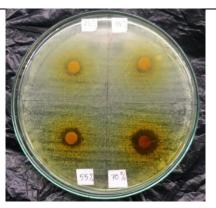
Lampiran 5. Uji KHM Ekstrak Daun Binahong



KHM Ekstrak Replikasi I

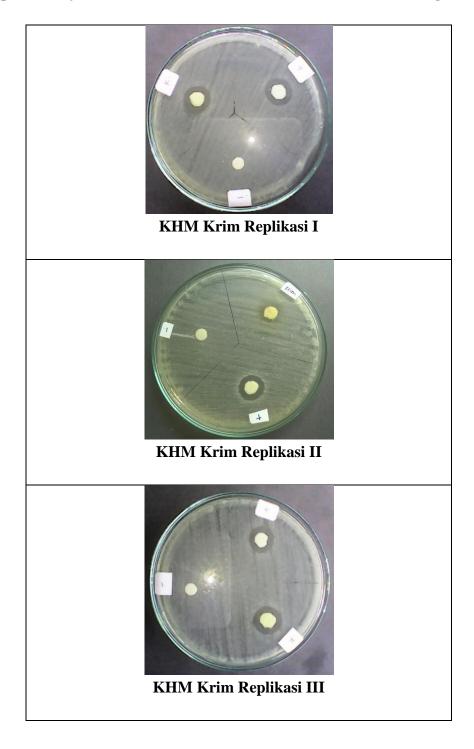


KHM Ekstrak Replikasi II

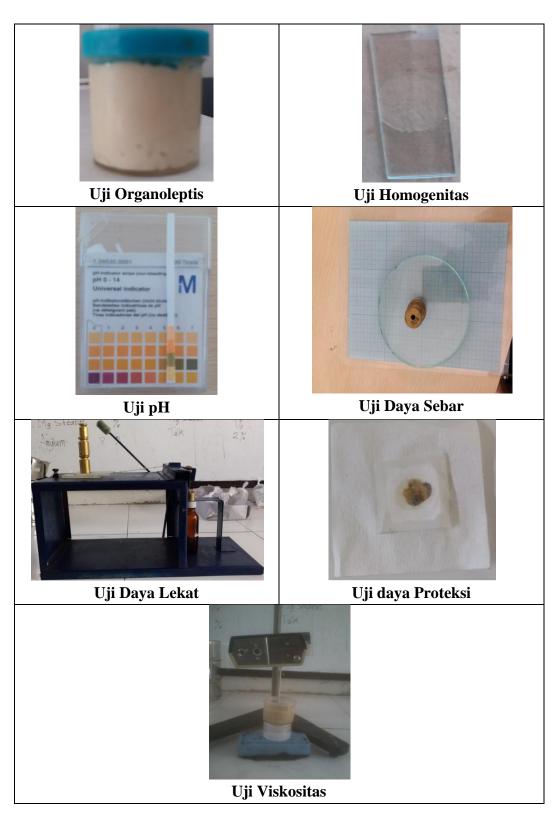


KHM Ekstrak Replikasi III

Lampiran 6. Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Binahong



Lampiran 7. Uji Stabilitas Sediaan Krim



Lampiran 8. Analisis Data Dengan *one way* ANOVA 8.1 KHM Ekstrak Daun Binahong

NPAR TESTS

/K-S(NORMAL)=konsentrasi
/STATISTICS DESCRIPTIVES
/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

[DataSet0]

Descriptive Statistics

	И	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
konsentrasi	18	3.50	1 757	1	6

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		konsentrasi
Ν		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.50
	Std. Deviation	1.757
Most Extreme Differences	Absolute	.137
	Positive	.137
	Negative	137
Test Statistic		.137
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200°.d

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.
- c. Lilliefors Significance Correction.
- d. This is a lower bound of the true significance.

ONEWAY dayahambat BY konsentrasi
/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC=LSD ALPHA(0.05).

Oneway

Descriptives

dayahambat

					95% Confiden Me			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
konsentrasi 25%	3	10.167	.5774	.3333	8.732	11.601	9.5	10.5
konsentrasi 40%	3	11.333	.2887	.1667	10.616	12.050	11.0	11.5
konsentrasi 55%	3	12.167	.2887	.1667	11.450	12.884	12.0	12.5
konsentrasi 70%	3	14.000	.5000	.2887	12.758	15.242	13.5	14.5
kontrol positif	3	15.000	.0000	.0000	15.000	15.000	15.0	15.0
kontrol negatif	3	.000	.0000	.0000	.000	.000	.0	.0
Total	18	10.444	5.0900	1.1997	7.913	12.976	.0	15.0

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: dayahambat

			Mean Difference (I-			95% Confide	ence Interval
	(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	konsentrasi 25%	konsentrasi 40%	-1.1667 [*]	.2887	.016	-2.136	197
		konsentrasi 55%	-2.0000 [*]	.2887	.000	-2.970	-1.030
		konsentrasi 70%	-3.8333	.2887	.000	-4.803	-2.864
		kontrol positif	-4.8333 [*]	.2887	.000	-5.803	-3.864
		kontrol negatif	10.1667	.2887	.000	9.197	11.136
	konsentrasi 40%	konsentrasi 25%	1.1667	.2887	.016	.197	2.136
		konsentrasi 55%	8333	.2887	.109	-1.803	.136
		konsentrasi 70%	-2.6667	.2887	.000	-3.636	-1.697
		kontrol positif	-3.6667	.2887	.000	-4.636	-2.697
		kontrol negatif	11.3333	.2887	.000	10.364	12.303
	konsentrasi 55%	konsentrasi 25%	2.0000*	.2887	.000	1.030	2.970
		konsentrasi 40%	.8333	.2887	.109	136	1.803
		konsentrasi 70%	-1.8333 [*]	.2887	.000	-2.803	864
		kontrol positif	-2.8333 [*]	.2887	.000	-3.803	-1.864
		kontrol negatif	12.1667	.2887	.000	11.197	13.136
	konsentrasi 70%	konsentrasi 25%	3.8333	.2887	.000	2.864	4.803
		konsentrasi 40%	2.6667	.2887	.000	1.697	3.636
		konsentrasi 55%	1.8333	.2887	.000	.864	2.803
		kontrol positif	-1.0000 [*]	.2887	.042	-1.970	030
		kontrol negatif	14.0000 [*]	.2887	.000	13.030	14.970
	kontrol positif	konsentrasi 25%	4.8333 [*]	.2887	.000	3.864	5.803
		konsentrasi 40%	3.6667	.2887	.000	2.697	4.636
		konsentrasi 55%	2.8333	.2887	.000	1.864	3.803
		konsentrasi 70%	1.0000	.2887	.042	.030	1.970
ļ		kontrol negatif	15.0000 [*]	.2887	.000	14.030	15.970
	kontrol negatif	konsentrasi 25%	-10.1667 [*]	.2887	.000	-11.136	-9.197
		konsentrasi 40%	-11.3333 [*]	.2887	.000	-12.303	-10.364
		konsentrasi 55%	-12.1667 [*]	.2887	.000	-13.136	-11.197
		konsentrasi 70%	-14.0000 [*]	.2887	.000	-14.970	-13.030
		kontrol positif	-15.0000 [*]	.2887	.000	-15.970	-14.030

Bonferroni	konsentrasi 25%	konsentrasi 40%	-1.1667 [*]	.2887	.025	-2.220	113
		konsentrasi 55%	-2.0000 [*]	.2887	.000	-3.053	947
		konsentrasi 70%	-3.8333	.2887	.000	-4.887	-2.780
		kontrol positif	-4.8333 [*]	.2887	.000	-5.887	-3.780
		kontrol negatif	10.1667	.2887	.000	9.113	11.220
	konsentrasi 40%	konsentrasi 25%	1.1667	.2887	.025	.113	2.220
		konsentrasi 55%	8333	.2887	.205	-1.887	.220
		konsentrasi 70%	-2.6667 [*]	.2887	.000	-3.720	-1.613
		kontrol positif	-3.6667*	.2887	.000	-4.720	-2.613
		kontrol negatif	11.3333 [*]	.2887	.000	10.280	12.387
	konsentrasi 55%	konsentrasi 25%	2.0000*	.2887	.000	.947	3.053
		konsentrasi 40%	.8333	.2887	.205	220	1.887
		konsentrasi 70%	-1.8333 [*]	.2887	.001	-2.887	780
		kontrol positif	-2.8333 [*]	.2887	.000	-3.887	-1.780
		kontrol negatif	12.1667 [*]	.2887	.000	11.113	13.220
	konsentrasi 70%	konsentrasi 25%	3.8333 [*]	.2887	.000	2.780	4.887
		konsentrasi 40%	2.6667*	.2887	.000	1.613	3.720
		konsentrasi 55%	1.8333	.2887	.001	.780	2.887
		kontrol positif	-1.0000	.2887	.070	-2.053	.053
		kontrol negatif	14.0000*	.2887	.000	12.947	15.053
	kontrol positif	konsentrasi 25%	4.8333 [*]	.2887	.000	3.780	5.887
		konsentrasi 40%	3.6667	.2887	.000	2.613	4.720
		konsentrasi 55%	2.8333*	.2887	.000	1.780	3.887
		konsentrasi 70%	1.0000	.2887	.070	053	2.053
		kontrol negatif	15.0000 [*]	.2887	.000	13.947	16.053
	kontrol negatif	konsentrasi 25%	-10.1667	.2887	.000	-11.220	-9.113
		konsentrasi 40%	-11.3333 [*]	.2887	.000	-12.387	-10.280
		konsentrasi 55%	-12.1667	.2887	.000	-13.220	-11.113
		konsentrasi 70%	-14.0000 [*]	.2887	.000	-15.053	-12.947
		kontrol positif	-15.0000 [*]	.2887	.000	-16.053	-13.947

^{*.} The mean difference is significant at the 0.05 level.

8.1 KHM Krim Ekstrak Daun Binahong

NPAR TESTS

/K-S(NORMAL)=konsentrasi

/STATISTICS DESCRIPTIVES

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

[DataSet0]

Descriptive Statistics

	N	Mean	Mean Std. Deviation		Maximum
konsentrasi	9	2.00	.866	1	3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		konsentrasi
N		9
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2.00
	Std. Deviation	.866
Most Extreme Differences	Absolute	.209
	Positive	.209
	Negative	209
Test Statistic		.209
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200°,d

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.
- c. Lilliefors Significance Correction.
- d. This is a lower bound of the true significance.

ONEWAY dayahambat BY konsentrasi
/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC=LSD ALPHA(0.05).

→ Oneway

Descriptives

dayahambat

					95% Confiden Me			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
konsentrasi 70%	3	12.000	.5000	.2887	10.758	13.242	11.5	12.5
kontrol positif	3	15.000	.0000	.0000	15.000	15.000	15.0	15.0
kontrol negatif	3	.000	.0000	.0000	.000	.000	.0	.0
Total	9	9.000	6.8784	2.2928	3.713	14.287	.0	15.0

Test of Homogeneity of Variances

dayahambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.000	2	6	.079

ANOVA

dayahambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	378.000	2	189.000	2268.000	.000
Within Groups	.500	6	.083		
Total	378.500	8			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: dayahambat

LSD

		Mean Difference (l-			95% Confide	ence Interval
(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
konsentrasi 70%	kontrol positif	-3.0000 [*]	.2357	.000	-3.577	-2.423
	kontrol negatif	12.0000*	.2357	.000	11.423	12.577
kontrol positif	konsentrasi 70%	3.0000*	.2357	.000	2.423	3.577
	kontrol negatif	15.0000 [*]	.2357	.000	14.423	15.577
kontrol negatif	konsentrasi 70%	-12.0000 [*]	.2357	.000	-12.577	-11.423
	kontrol positif	-15.0000	.2357	.000	-15.577	-14.423

^{*.} The mean difference is significant at the 0.05 level.

8.3 Uji Stabilitas Krim Ekstrak Daun Binahong

8.3.1 Uji Daya Lekat

NPAR TESTS

/K-S(NORMAL)=zonahambat

/STATISTICS DESCRIPTIVES

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
zonahambat	15	3.0699	4.62186	.79	12.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		zonahambat
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	3.0699
	Std. Deviation	4.62186
Most Extreme Differences	Absolute	.480
	Positive	.480
	Negative	311
Test Statistic		.480
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000°

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.
- c. Lilliefors Significance Correction.

ONEWAY zonahambat BY Dayalekat /STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY /MISSING ANALYSIS /POSTHOC=LSD ALPHA(0.05).

→ Oneway

Descriptives

zonahambat

					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
minggu 1	3	.8367	.03055	.01764	.7608	.9126	.81	.87
minggu 2	3	.8100	.02000	.01155	.7603	.8597	.79	.83
minggu 3	3	.8563	.05559	.03210	.7182	.9944	.80	.91
minggu 4	3	.8467	.03215	.01856	.7668	.9265	.81	.87
krim	3	12.0000	.00000	.00000	12.0000	12.0000	12.00	12.00
Total	15	3.0699	4.62186	1.19336	.5104	5.6294	.79	12.00

Test of Homogeneity of Variances

zonahambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.204	4	10	.142

ANOVA

zonahambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	299.051	4	74.763	68501.793	.000
Within Groups	.011	10	.001		
Total	299.062	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: zonahambat

LSD

		Mean Difference (I-			95% Confide	ence Interval
(I) Dayalekat	(J) Dayalekat	J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
minggu 1	minggu 2	.02667	.02697	.346	0334	.0868
	minggu 3	01967	.02697	.483	0798	.0404
	minggu 4	01000	.02697	.719	0701	.0501
	krim	-11.16333 [*]	.02697	.000	-11.2234	-11.1032
minggu 2	minggu 1	02667	.02697	.346	0868	.0334
	minggu 3	04633	.02697	.117	1064	.0138
	minggu 4	03667	.02697	.204	0968	.0234
	krim	-11.19000 [*]	.02697	.000	-11.2501	-11.1299
minggu 3	minggu 1	.01967	.02697	.483	0404	.0798
	minggu 2	.04633	.02697	.117	0138	.1064
	minggu 4	.00967	.02697	.728	0504	.0698
	krim	-11.14367 [*]	.02697	.000	-11.2038	-11.0836
minggu 4	minggu 1	.01000	.02697	.719	0501	.0701
	minggu 2	.03667	.02697	.204	0234	.0968
	minggu 3	00967	.02697	.728	0698	.0504
	krim	-11.15333 [*]	.02697	.000	-11.2134	-11.0932
krim	minggu 1	11.16333 [*]	.02697	.000	11.1032	11.2234
	minggu 2	11.19000	.02697	.000	11.1299	11.2501
	minggu 3	11.14367	.02697	.000	11.0836	11.2038
	minggu 4	11.15333 [*]	.02697	.000	11.0932	11.2134

^{*.} The mean difference is significant at the 0.05 level.

8.3.2 Uji Daya Sebar

NPAR TESTS

/K-S(NORMAL)=dayasebar

/STATISTICS DESCRIPTIVES

/MISSING ANALYSIS.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	Ν	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
dayasebar	20	6.0100	3.12610	3.70	12.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		dayasebar
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.0100
	Std. Deviation	3.12610
Most Extreme Differences	Absolute	.377
	Positive	.377
	Negative	230
Test Statistic		.377
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000°

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.
- c. Lilliefors Significance Correction.

```
ONEWAY dayasebar BY beban

/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY

/MISSING ANALYSIS

/POSTHOC=LSD ALPHA(0.05).
```

→ Oneway

Descriptives

dayasebar

					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
beban 0	4	3.7250	.05000	.02500	3.6454	3.8046	3.70	3.80
beban 5	4	4.1250	.05000	.02500	4.0454	4.2046	4.10	4.20
beban 10	4	4.8750	.05000	.02500	4.7954	4.9546	4.80	4.90
beban 15	4	5.3250	.05000	.02500	5.2454	5.4046	5.30	5.40
krim	4	12.0000	.00000	.00000	12.0000	12.0000	12.00	12.00
Total	20	6.0100	3.12610	.69902	4.5469	7.4731	3.70	12.00

Test of Homogeneity of Variances

dayasebar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.250	4	15	.112

ANOVA

dayasebar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	185.648	4	46.412	23206.000	.000
Within Groups	.030	15	.002		
Total	185.678	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: dayasebar

LSD

		Mean Difference (l-			95% Confide	ence Interval
(I) beban	(J) beban	J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
beban 0	beban 5	40000 [*]	.03162	.000	4674	3326
	beban 10	-1.15000 [*]	.03162	.000	-1.2174	-1.0826
	beban 15	-1.60000 [*]	.03162	.000	-1.6674	-1.5326
	krim	-8.27500 [*]	.03162	.000	-8.3424	-8.2076
beban 5	beban 0	.40000*	.03162	.000	.3326	.4674
	beban 10	75000 [*]	.03162	.000	8174	6826
	beban 15	-1.20000 [*]	.03162	.000	-1.2674	-1.1326
	krim	-7.87500 [*]	.03162	.000	-7.9424	-7.8076
beban 10	beban 0	1.15000*	.03162	.000	1.0826	1.2174
	beban 5	.75000*	.03162	.000	.6826	.8174
	beban 15	45000 [*]	.03162	.000	5174	3826
	krim	-7.12500 [*]	.03162	.000	-7.1924	-7.0576
beban 15	beban 0	1.60000*	.03162	.000	1.5326	1.6674
	beban 5	1.20000*	.03162	.000	1.1326	1.2674
	beban 10	.45000*	.03162	.000	.3826	.5174
	krim	-6.67500 [*]	.03162	.000	-6.7424	-6.6076
krim	beban 0	8.27500 [*]	.03162	.000	8.2076	8.3424
	beban 5	7.87500*	.03162	.000	7.8076	7.9424
	beban 10	7.12500 [*]	.03162	.000	7.0576	7.1924
	beban 15	6.67500*	.03162	.000	6.6076	6.7424

^{*.} The mean difference is significant at the 0.05 level.