

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Sampel

Ekstraksi merupakan proses penarikan komponen aktif menggunakan pelarut tertentu. Komponen aktif yang diambil adalah senyawa aktif dalam daun binahong *Anredera cordifolia* (Ten) steenis. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi adalah metode perendaman, dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam pelarut. Pemilihan metode maserasi dikarenakan senyawa polifenol rentan terhadap panas sehingga tidak bagus menggunakan metode soxhlet. Penggunaan ekstraksi dengan metode soxhlet dapat merusak senyawa polifenol dalam daun binahong.

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat, karena etil asetat merupakan pelarut semi polar dan dapat melarutkan senyawa semipolar pada dinding sel seperti aglikon flavanoid (Harbone, 1987). Etil asetat juga adalah pelarut polar menengah yang volatil, tidak beracun, dan tidak higroskopis. Etil asetat dapat menyaring senyawa-senyawa yang dapat memberikan aktivitas antibakteri diantaranya flavonoid polihidroksi dan fenol yang lain, (Anonymous, 2005) berdasarkan penelitian Setiaji (2009) telah melakukan ekstraksi pada rhizome binahong dengan pelarut etil asetat di dapatkan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol.

Maserasi dilakukan selama 1x24 jam dan di ulang 3 kali dengan pengadukan menggunakan *Shaker water bath* pada kecepatan 120 rpm (rotation

per minutes). Pengadukan ini bertujuan untuk mempercepat kontak antara sampel dengan pelarut. Larutan kemudian di saring menggunakan penyaring buchner dan diperoleh filtrat dengan warna hijau tua kehitaman. Filtrat hasil penyaringan dipekatkan dengan menggunakan *rotary vakum evaporator*. Tujuannya adalah untuk memekatkan ekstrak dan memisahkan antara pelarut dengan senyawa aktif dalam daun binahong. Hasil dari pemekatan adalah ekstrak pekat yang berbau seperti jamu, dengan warna hijau kehitaman sebagaimana pada (lampiran 9)

4.2 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif.

Uji fitokimia adalah uji kualitatif kandungan senyawa aktif dalam suatu sampel. Analisis kandungan kimia daun binahong dilakukan Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang, dengan melihat ada tidaknya reaksi pengendapan dan perubahan warna yang terjadi pada uji tabung. Uji fitokimia dengan metode tabung serta pendeteksian dengan menggunakan Spectrofotometer, dari hasil uji didapatkan hasil bahwa ekstrak etil asetat daun binahong mengandung senyawa Flavanoid, Alkaloid dan Polifenol.

Tabel 4.1. Hasil Uji Fitokimia Secara Kualitatif

Golongan senyawa	Pereaksi				
	Mayer	Dragendrof	Mg	HCL pekat	feCl ₃ 1%.
Alkaloid	+	+			
flavonoid			+	+	
Polifenol					+

Keterangan: (+) Menunjukkan Positif

Hasil uji kualitatif alkaloid dilakukan dengan menggunakan reagen mayer memberikan hasil positif. Ekstrak yang mengandung alkaloid menurut Harbone (1995) akan membentuk endapan jingga dengan reagen dragendroff membentuk endapan putih dengan reagen mayer. Endapan terbentuk karena terjadi pembentukan kompleks antara ion logam dari reagen dengan senyawa alkaloid. Hasil uji kualitatif golongan senyawa flavanoid dilakukan dengan menggunakan reagen atau pereaksi. Terjadinya perubahan warna berarti ekstrak positif mengandung senyawa yang termasuk dalam golongan flavanoid. Reduksi dengan Mg dan HCL pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton (Robinson, 1985) sedangkan uji fitokimia positif menunjukkan adanya senyawa polifenol ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna hijau kehitaman ketika ditambahkan FeCl_3 1 %.

Tabel 4.2 Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong secara Kuantitatif

a. Uji Flavanoid

Sampel	UI	m smpl	abs	Flavonoid (ppm)	Flavonoid (%)
Ekstrak Daun binahong	1	0,213	0,426	96137,33906	9,614
	2	0,211	0,422	96137,33906	9,614

b. Alkaloid

Sampel	UI	m smpl	abs	Alkaloid (ppm)	Alkaloid (%)
Ekstrak Daun Binahong	1	0,203	0,362	31283,000	3,128
	2	0,205	0,357	30501,614	3,050

c. Uji Polifenol

Sampel	UI	m smpl	abs	Total Polifenolat (ppm)	Total Polifenolat (%)
Ekstrak Daun Binahong	1	0,213	0,463	110005,512	11,001
	2	0,207	0,466	113927,517	11,393

4.3. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong

4.3.1 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Binahong Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Hasil uji pendahuluan penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong metode dilusi tabung secara serial dengan perlakuan konsentrasi yang telah ditambahkan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dan ekstrak daun binahong setelah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan dibandingkan dengan kontrol bakteri dan kontrol media dengan melihat kekeruhan sampel uji, setelah dilakukan pengamatan secara kualitatif didapatkan hasil (lihat lampiran 12A) sebagai berikut:

Tabel. 4.3. Tingkat kekeruhan yang dihasilkan pada media Nutrient Agar oleh koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dalam konsentrasi ekstrak daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis)

Konsentrasi	Tingkat Kekeruhan Media Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>
100%	Bening/ Tidak ada bakteri yang tumbuh
50%	Bening/ Tidak ada bakteri yang tumbuh
25%	Bening/ Tidak ada bakteri yang tumbuh
12.5%	Keruh/ Ada bakteri yang tumbuh
6,25%	Keruh/ Ada bakteri yang tumbuh
3,125%	Keruh/ Ada bakteri yang tumbuh

Tabel 4.4 Tingkat kekeruhan yang dihasilkan pada media Nutrient Agar oleh koloni bakteri *Pseudomonas aureginosa* dalam konsentrasi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis)

Konsentrasi	Tingkat Kekeruhan Media Pertumbuhan Bakteri <i>Pseudomonas aureginosa</i>
100%	Bening/ Tidak ada bakteri yang tumbuh
50%	Bening/ Tidak ada bakteri yang tumbuh
25%	Agak keruh/ Ada bakteri yang tumbuh
12.5%	Keruh/ Ada bakteri yang tumbuh
6,25%	Keruh/ Ada bakteri yang tumbuh
3,125%	Keruh/ Ada bakteri yang tumbuh

Hasil pengamatan ini sulit untuk dievaluasi, karena hasil dari pengenceran secara dilusi tabung pada konsentrasi 100% sampai dengan 3,125%, menunjukkan tingkat kekeruhan yang sama pada semua tabung, hal ini dikarenakan warna dasar dari ekstrak daun binahong adalah hijau kehitaman. Maka Untuk mengetahui pengaruh pemberian konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan *Streaking* (penggoresan) pada media Nutrient Agar dengan menanamkan I Ose dari hasil uji dilusi tabung. Setelah dilakukan *Streaking* didapatkan konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pada konsentrasi 25%(250mg/ml), sedangkan konsentrasi hambat minimum (KHM) pada bakteri *Pseudomonas aureginosa* pada konsentrasi 50% (500mg/ml) yang ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada cawan. Menurut Taslihan (1986) bahwa pada medium yang keruh berarti bakteri masih dapat tumbuh, berarti antibiotik tidak efektif, sedangkan bila medium jernih berarti antibiotik efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Dari hasil uji pendahuluan kemudian dilakukan uji lanjut untuk mengetahui konsentrasi bunuh minimum (KBM). Dengan menggunakan Konsentrasi ekstrak daun binahong dari hasil uji KHM yaitu pada konsentrasi 25% (250 mg/ml) sampai dengan 50% (500mg/ml) untuk bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dimulai dari konsentrasi 50%(500mg/ml) sampai dengan konsentrasi 100% (1000mg/ml). Untuk pengenceran konsentrasi ekstrak daun binahong (lihat lampiran 2.2.4). Shulman, *et al.*,(1994) menjelaskan konsentrasi bunuh minimum (KBM) ditentukan jika pada plate didapatkan penurunan jumlah koloni bakteri sampai 99,9% dari bakteri asal sub-biakan

Pada uji konsentrasi bunuh minimum (KBM) perlakuan konsentrasi ekstrak diberi suspensi bakteri sebanyak 1 ml (10^6) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian diencerkan, Pengenceran di lakukan dengan melihat terlebih dahulu kepadatan sel bakteri pada kamar hitung (*Haemocytometer*) dan diamati dengan menggunakan Mikroskop. Sampel diencerkan sebanyak 10^1 10^2 10^3 sampai 10^5 dengan cara mengambil 1 ml sampel kemudian dicampur kedalam larutan NaCL fisiologis 09% sebanyak 9 ml, kemudian divortek. Hasil pengenceran di *Streaking* (gores) pada media NAP dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, kemudian dihitung jumlah koloniya dengan menggunakan *colony counter*.

4.3.2. Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Daun Binahong Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

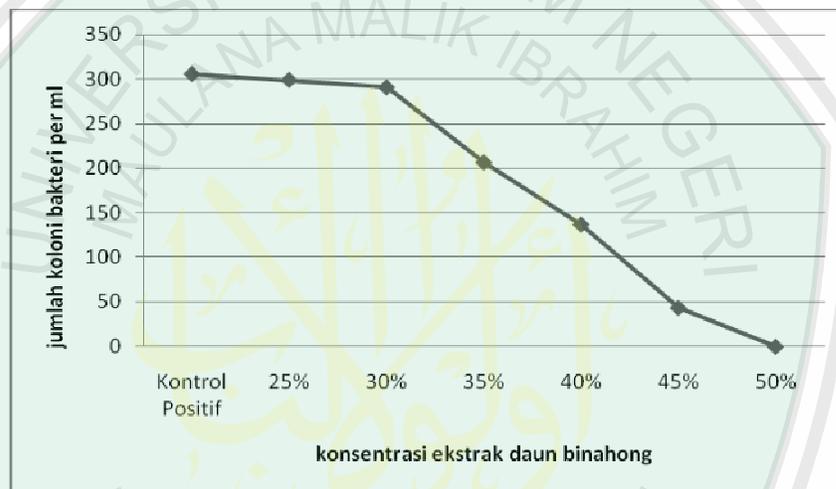
Hasil pengamatan pengaruh konsentrasi ekstrak daun Binahong terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media Nutrien Agar plate (NAP) pada tiap perlakuan konsentrasi ekstrak daun binahong (lihat lampiran 12B). Sedangkan pengaruh konsentrasi ekstrak daun Binahong terhadap jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* per ml (10^6) ditunjukkan pada tabel 4.5. sebagai berikut:

Tabel 4.5 Pengaruh konsentrasi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis terhadap jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* per ml (10^6)

Konsentrasi Ekstrak Daun Binahong	Replikasi/Ulangan			Rerata	Cfu/ml
	I	II	III		
Kontrol Positif(0%)	301.10 ⁵	311.10 ⁵	305.10 ⁵	305.7717	3,0.10 ⁷
25%	300.10 ³	303.10 ³	294.10 ³	299.103	3,0.10 ⁵
30%	297.10 ²	285.10 ²	290.10 ²	290.7687	2,9.10 ⁴
35%	186.10 ¹	179.10 ¹	155.10 ¹	173.4343	1,7.10 ³
40%	144	129	138	137	1,4.10 ²
45%	37	51	43	43.66667	4,4.10 ¹
50%	0	0	0	0	0
Kontrol Negatif	0	0	0	0	0

Dari tabel 4.5 dapat dilihat bahwa rata-rata jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* per ml (10^6) yang dihasilkan pada media NAP berbeda pada tiap perlakuan konsentrasi. Pada konsentrasi 0% rata-rata jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* per ml (10^6) adalah sebesar 305.7717. jumlah rata-rata koloni bakteri *Staphylococcus aureus* per ml (10^6) terus mengalami penurunan. Mulai dari konsentrasi 25%, 30%, 35%, 40%, 45% sampai pada konsentrasi 50%. Pada konsentrasi 50% tidak didapatkan pertumbuhan bakteri

Staphylococcus aureus per ml (10^6), ditunjukkan pada media NAP tidak ada bakteri yang tumbuh.. Pada penelitian ini KBM ekstrak daun Binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ditentukan pada konsentrasi 50%. Shulman, *et al.*, (1994) menyatakan bahwa konsentrasi bunuh minimum (KBM) ditentukan jika pada plate tidak menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri atau ada penurunan 99,9% dari inokulum asal pada sub-biakan.



Gambar 4.1 Grafik rerata jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* Per ml (10^6) dengan perlakuan konsentrasi ekstrak daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis)

Gambar 4.1 menunjukkan variasi konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap jumlah koloni bakteri yang terbunuh memberikan pengaruh yang berbeda. Pada konsentrasi 30%(300 mg/ml) sampai dengan konsentrasi 50% (500mg/ml) terjadi penurunan jumlah koloni, dengan rata-rata 29066,670 CFU/ml sampai dengan 0,000 CFU/ml. Sedangkan pada konsentrasi 25% (250 mg/ml) terjadi perbedaan dengan konsentrasi 30% sampai dengan konsentrasi

50%, jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada konsentrasi 25% rata-rata 299.103 CFU/ml, mendekati jumlah koloni pada kontrol (0%).

Untuk mengetahui adanya pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* maka digunakan uji statistik parametric *one way* ANOVA, tetapi sebelum dilakukan analisa data dengan uji *one way* ANOVA, maka data terlebih dahulu harus dilakukan uji kenormalan data dan homogenitas data. Dari hasil uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Sminornov (lampiran 7A) didapatkan nilai signifikansi $0,901 > p(0,05)$ yang artinya data berdistribusi normal, setelah itu dilakukan uji homogenitas menggunakan uji Lavene (lampiran 7A) didapatkan nilai signifikansi $(0,076 > p(0,05))$ yang artinya bahwa varian data homogen, dengan hasil tersebut maka dapat dilakukan pengujian lebih lanjut dengan menggunakan uji *one way* ANOVA, Kerelasi dan Regresi.

Berdasarkan uji *one way* ANOVA (lampiran 7A) diketahui bahwa pada variabel terikat jumlah koloni per ml (10^6) nilai sig $(0,000 < p(0,05))$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna atau ada pengaruh perlakuan konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* per (10^6) yang dihasilkan pada media agar plate (NAP)

Setelah mengetahui bahwa ada perbedaan yang bermakna pada jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* per ml (10^6) yang dihasilkan pada media nutrient agar plate (NAP) akibat pengaruh perlakuan dari ke-7 variasi konsentrasi ekstrak daun binahong yang diberikan, kemudian untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun binahong mana saja yang berbeda dan tidak berbeda pengaruhnya

terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* tersebut maka dilakukan uji LSD/BNT (Lampiran7A) dari hasil uji LSD/BNT didapatkan hasil bahwa ekstrak daun binahong dengan perlakuan kontrol konsentrasi (0%) berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi 30%, 35%, 40%, 45% dan 50%. Sedangkan pada konsentrasi 25% berbeda nyata dengan konsentrasi perlakuan yang lain tetapi tidak berbeda dengan konsentrasi kontrol (0%)

Untuk mengetahui adanya arah, kuat, dan pola hubungan antara pemberian konsentrasi ekstrak daun binahong dengan jumlah koloni bakteri per ml (10^6), maka dilakukan uji Korelasi-Regresi. Dari hasil uji Korelasi-Regresi didapatkan ($r = -0,860$) yang artinya terdapat hubungan/korelasi negatif yang kuat antara ke-7 konsentrasi ekstrak daun binahong dengan pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* per ml (10^6). Artinya semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun binahong maka jumlah koloni bakteri akan semakin rendah. Besarnya pengaruh konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* per ml (10^6) didapat nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,740 artinya kontribusi pemberian ekstrak daun binahong dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebesar 74% sedangkan 26% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil penelitian, kemungkinan dapat berasal dari jumlah mikroorganisme, suhu, keasaman (pH) dan bahan-bahan organik lain.

4.3.3. Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Daun Binahong Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

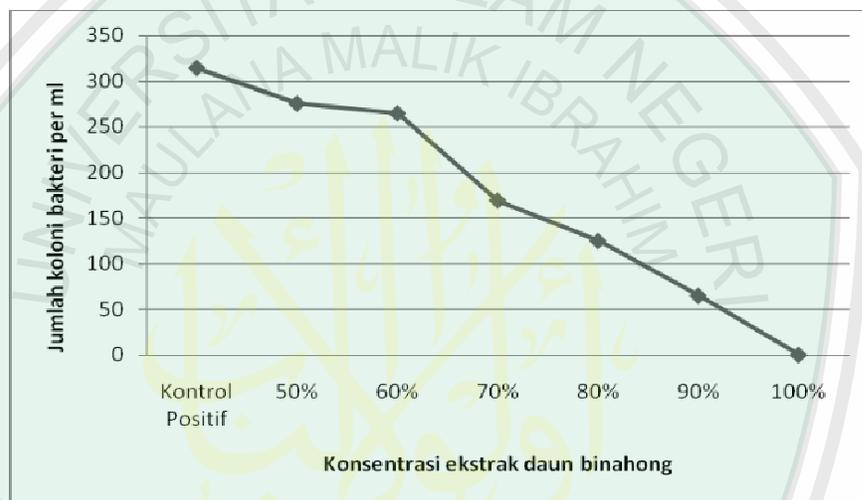
Hasil pengamatan pengaruh konsentrasi ekstrak daun Binahong terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media Nutrien Agar plate (NAP) pada tiap perlakuan konsentrasi ekstrak daun binahong (lihat lampiran 12C). Sedangkan pengaruh konsentrasi ekstrak daun Binahong terhadap jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* per ml (10^6) ditunjukkan pada tabel 4.6. sebagai berikut:

Tabel 4.6. Pengaruh konsentrasi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis terhadap jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* per ml (10^6)

Konsentrasi Ekstrak Daun Binahong	REPLIKASI/ ULANGAN			RERATA	CFU/ml
	I	II	III		
Kontrol Positif(0%)	308.10 ⁵	333.10 ⁵	301.10 ⁵	314.10 ⁵	3,1.10 ⁷
50%	295.10 ³	273.10 ³	257.10 ³	275.10 ³	2,8.10 ⁵
60%	253.10 ²	257.10 ²	283.10 ²	264.435	2,6.10 ⁴
70%	162.10 ¹	169.10 ¹	176.10 ¹	169.10 ¹	1,7.10 ³
80%	121.10 ¹	118.10 ¹	135.10 ¹	124.7677	1,2.10 ³
90%	56	61	77	64.66667	6,5.10 ¹
100%	0	0	0	0	0
Kontrol Negatif	0	0	0	0	0

Dari tabel 4.6 dapat dilihat bahwa rata-rata jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* per ml (10^6) yang dihasilkan pada media NAP berbeda pada tiap perlakuan konsentrasi. Pada konsentrasi 0% rata-rata jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* per ml (10^6) adalah sebesar 314.10⁵ CFU/ml. jumlah rata-rata koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* per ml (10^6) terus mengalami penurunan. Mulai dari konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90% sampai dengan konsentrasi 100%. Pada konsentrasi 100% tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* per ml (10^6) pada media NAP. ditunjukkan

dengan jumlah bakteri yang tumbuh adalah (0). Pada penelitian ini KBM ekstrak daun Binahong terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ditentukan pada konsentrasi 100%, dimana pada konsentrasi ini jumlah koloni bakteri sebanyak 0 (tidak ada bakteri yang tumbuh). KBM ditentukan jika pada media nutrient agar plate tidak menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri atau ada penurunan 99,9% dari inokulum asal pada sub-biakan (Shulman *et al*, 1994)



Gambar 4.2 Grafik rerata jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Per ml (10^6) dengan perlakuan konsentrasi ekstrak daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis)

Gambar 4.2 menunjukkan variasi konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap jumlah koloni bakteri yang terbunuh memberikan pengaruh yang berbeda . Pada konsentrasi 60%(600 mg/ml) sampai dengan konsentrasi 100% (1000mg/ml) terjadi penurunan jumlah koloni, dengan rata-rata 264.435 CFU/ml sampai dengan 0 CFU/ml. Sedangkan pada konsentrasi 50% (500mg/ml) rata-rata jumlah koloninya adalah 275.10^3 CFU/ml. mendekati jumlah koloni pada kontrol (0%).

Untuk mengetahui adanya pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak daun Binahong terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* maka digunakan uji statistik parametric *one way* ANOVA, tetapi sebelum dilakukan analisa data dengan uji *one way* ANOVA, maka data terlebih dahulu harus di lakukan uji kenormalan data dan homogenitas data. Dari hasil uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Sminornov (lampiran7B) didapatkan nilai signifikansi $0,904 > p(0,05)$ yang artinya data berdistribusi normal, setelah itu dilakukan uji homogenitas menggunakan uji Lavene (lampiran7B) didapatkan nilai sig $(0,096 > p(0,05))$ yang artinya bahwa varian data homogen, dengan hasil tersebut maka data jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tersebut dapat dilakukan pengujian lebih lanjut dengan menggunakan uji *one way* ANOVA, Korelasi dan Regresi.

Berdasarkan uji *one way* ANOVA (lampiran 7B) diketahui bahwa pada variabel terikat jumlah koloni per ml (10^6) nilai signifikansi $(0,000 < p(0,05))$ dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* per (10^6) yang dihasilkan pada media agar plate (NAP) akibat pengaruh perlakuan dari beberapa konsentrasi ekstrak daun Binahong yang diberikan.

Setelah mengetahui bahwa ada perbedaan yang bermakna pada jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* per ml (10^6) yang dihasilkan pada media Nutrient Agar Plate (NAP) akibat pengaruh perlakuan dari ke-7 variasi konsentrasi ekstrak daun Binahong yang diberikan, kemudian untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun Binahong mana saja yang berbeda dan tidak berbeda

pengaruhnya terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tersebut maka dilakukan uji LSD/BNT (Lampiran 7) dari hasil uji LSD/BNT, didapatkan bahwa ekstrak daun Binahong dengan perlakuan kontrol (0%) berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% Sedangkan pada konsentrasi 50% berbeda nyata dengan konsentrasi perlakuan yang lain tetapi tidak berbeda nyata dengan konsentrasi kontrol (0%)

Untuk mengetahui adanya arah, kuat, dan pola hubungan antara pemberian konsentrasi ekstrak daun binahong dengan jumlah koloni bakteri per ml (10^6), maka dilakukan uji Korelasi-Regresi. Dari hasil uji Korelasi-Regresi didapatkan ($r = -0,860$) yang artinya terdapat hubungan/korelasi negatif yang kuat antara ke-7 konsentrasi ekstrak daun binahong dengan pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* per ml (10^6). artinya semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun binahong maka jumlah koloni bakteri akan semakin rendah. Besarnya pengaruh konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* per ml (10^6) didapat nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,739 artinya kontribusi pemberian ekstrak daun Binahong dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebesar 73% sedangkan 27% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil penelitian, kemungkinan dapat berasal dari jumlah mikroorganisme, suhu, keasaman (pH) dan bahan-bahan organik lain.

4.4 Daya Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Berdasarkan hasil penelitian dan pengolahan data diketahui bahwa ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) sangat berpengaruh sebagai zat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* hal ini dapat dilihat dengan adanya tingkat kekeruhan (KHM) dan jumlah koloni (KBM) sehubungan dengan adanya peningkatan konsentrasi ekstrak daun binahong. KHM pada bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25% sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 50%. Untuk KBM pada bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50% sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 100% yang ditunjukkan dengan adanya penurunan pertumbuhan koloni bakteri 99,9% dari inokulum asal sub biakan.

Hasil analisa data menggunakan *oneway* ANOVA pada bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil yang signifikan sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat pengaruh perlakuan konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* per ml (10^6). Sedangkan dari hasil uji dengan LSD/BNT dapat diketahui bahwa pada perbandingan perlakuan ekstrak antara konsentrasi 0% (kontrol) dengan semua konsentrasi lain didapatkan nilai signifikansi $< 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan. Berdasarkan pengamatan dan analisa data, maka dapat disimpulkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun binahong maka jumlah

koloni bakteri *Staphylococcus aureus* makin berkurang. Hasil uji Korelasi-Regresi diperoleh r sebesar -0,860 yang ditandai dengan semakin sedikitnya jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media NAP, artinya terdapat hubungan/korelasi negatif yang kuat antara ke-7 konsentrasi ekstrak daun binahong dengan pertumbuhan koloni bakter per ml (10^6). Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) yang diberikan, maka semakin besar kemampuan menghambat dan membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hasil uji Korelasi-Regresi juga didapatkan (R^2) sebesar 0,740 artinya kontribusi pemberian ekstrak daun binahong dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebesar 74% sedangkan 26% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil penelitian, kemungkinan dapat berasal dari jumlah mikroorganisme, suhu, keasaman (pH) dan bahan-bahan organik lain (Pelczar,1998)

Sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Hasil analisa data menggunakan *oneway* ANOVA pada bakteri didapatkan hasil yang signifikan sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat pengaruh perlakuan konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* per ml (10^6). Sedangkan hasil dari uji LSD/BNT dapat diketahui bahwa pada perbandingan perlakuan ekstrak antara konsentrasi 0% (kontrol) dengan semua konsentrasi lain didapatkan nilai signifikansi $< 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan. Berdasarkan pengamatan dan analisa data, maka dapat disimpulkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun binahong maka

jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* semakin berkurang. Hasil uji Korelasi- Regresi diperoleh r sebesar ($r = -0,860$) yang ditandai dengan semakin sedikitnya jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media NAP, artinya terdapat hubungan/korelasi negatif yang kuat antara ke-7 konsentrasi ekstrak daun binahong dengan pertumbuhan koloni bakter per ml (10^6). Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) yang diberikan, maka semakin besar kemampuan menghambat dan membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Hasil uji Korelasi-Regresi juga didapatkan (R^2) sebesar 0,739 artinya kontribusi pemberian ekstrak daun binahong dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebesar 73% sedangkan 27% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil penelitian, kemungkinan dapat berasal dari jumlah mikroorganisme, suhu, keasaman (pH) dan bahan-bahan organik lain (Pelczar,1998)

Dari hasil pengamatan dan analisa data pada kedua bakteri menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) mampu menghambat dan membunuh kedua bakteri ditunjukkan dengan adanya kekeruhan dan penurunan jumlah koloni bakteri per ml (10^6) setelah pemberian konsentrasi ekstrak daun binahong. Hal ini diduga karena adanya senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun binahong yaitu flavanoid, alkaloid, dan senyawa polifenol. Berdasarkan hasil uji fitokimia yang dilakukan dengan metode uji tabung dengan pemberian reagen dan uji kuantitatif dengan spectrophotometer ditemukan senyawa flavanoid, alkaloid dan flavanoid. Rachmawati (2007) Telah

melakukan skrining fitokimia daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis didapatkan kandungan kimia berupa Saponin Triterpenoid, Flavanoid Dan Minyak Atsiri. Setiaji (2009) juga telah melakukan ekstraksi pada rhizome binahong dengan pelarut Etil asetat, petroleum eter, dan etanol 70% di dapatkan senyawa alkaloid, saponin flavonoid dan polifenol.

Dzen dkk, (2003) menjelaskan bahwa mekanisme ketiga bahan aktif ini adalah bekerja pada bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma. Membran sitoplasma bakteri sendiri berfungsi mengatur masuknya bahan-bahan makanan atau nutrisi, apabila membran sitoplasma rusak maka metabolit penting dalam bakteri akan keluar dan bahan makanan untuk menghasilkan energi tidak dapat masuk sehingga terjadi ketidakmampuan sel bakteri untuk tumbuh dan pada akhirnya terjadi kematian. Challem,(1995) juga menjelaskan bahwa senyawa flavanoid bekerja dengan cara merusak membran sitoplasma kuman dan mencegah pembelahan sel kuman.

Setiaji (2009) Menjelaskan bahwa ekstrak Etil asetat rhizoma binahong memiliki aktivitas membunuh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. aktivitas antibakteri diduga karena adanya senyawa fenol dalam rhizoma. Fenol merupakan suatu alkohol yang bersifat asam sehingga disebut juga asam karbolat. Pertumbuhan kedua bakteri dapat terganggu disebabkan adanya suatu senyawa fenol yang terkandung dalam ekstrak daun binahong. Kondisi asam oleh senyawa fenol dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri. Senyawa fenol bekerja dengan cara mendenaturasi protein sel dan merusak dinding sel bakteri tanpa dapat diperbaiki lagi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat. Senyawa fenol

juga dapat mempresipitasikan protein secara aktif dan merusak membran sel melalui mekanisme penurunan tegangan permukaan membran sel (Pelzhar dan chan,1998) adanya senyawa alkaloid dalam ekstrak daun binahong ini diduga yang menyebabkan memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.(Robinson, 1991)

Berdasarkan uji fitokimia ditemukan senyawa polifenol, yang salah satunya adalah tanin. Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme toksisitas tanin adalah dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan suatu ikatan kompleks terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu iktan kompleks tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri (Akiyama, *et al.*, 2001) sementara Ajizah, (2004) menjelaskan, aktivitas antibakteri senyawa tanin adalah dengan cara mengkerutkan dinding sel atau membran sel, sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Masduki (1996) menyatakan bahwa tanin juga mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi proten, karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antibakteri tanin antara lain: reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi genetik.

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM) pada bakteri *Staphylococcus aureus* lebih kecil dari pada bakteri *Pseudomonas aureginosa* yaitu pada kadar 25% (250mg/ml) dan 50%(500mg/ml). Begitu juga pada konsentrasi bunuh minimum (KBM) konsentrasi yang dibutuhkan untuk membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pada kadar 50%(500mg/ml) lebih rendah dari pada pada bakteri *Pseudomonas aureginosa* yaitu pada kadar 100%(1000mg/ml) perbedaan daya hambat dan daya bunuh ekstrak daun binahong terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aureginosa* diduga disebabkan karena perbedaan komponen dinding selnya. Bakteri *Pseudomonas aureginosa* merupakan bakteri gram negatif yang mempunyai struktur dinding sel yang lebih kompleks dan mengandung komponen lipid yang lebih banyak (11-12%) dibandingkan dengan struktur dinding sel pada bakteri *Staphylococcus aureus* (Gram-positif) dengan demikian, dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* lebih mudah dirusak oleh senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak daun Binahong. Penghambatan sintesis dinding sel akan menyebabkan dinding sel bakteri diperlemah dan menjadi lisis, lisisnya sel tersebut dikarenakan tidak berfungsinya lagi dinding sel yang mempertahankan bentuk dan melindungi bakteri yang memiliki tekanan osmotik dalam sel yang tinggi. Selain itu, bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki tekanan osmotik dalam sel 3-5 kali lebih besar daripada bakteri gram negtif, sehingga lebih mudah mengalami lisis (Jawetz, *et al.*, 2005) bakteri *Pseudomonas aureginosa* merupakan bakteri gram negatif tahan hidup dalam media yang kekurangan zat gizi (Rahayu, 2009).

Selain itu bakteri *Pseudomonas aureginosa* yang dipakai dalam penelitian ini adalah bakteri Isolate *Pseudomonas aeruginosa* Multiresisten. Dalam hal ini, resistensi multiobat didefinisikan sebagai resistensi terhadap dua atau lebih jenis antimikroba yang berbeda. Resistensi sel mikroba adalah suatu sifat tidak terganggunya sel mikroba oleh antimikroba (Setiabudy dan Gan, 1995) Bakteri multiresisten obat lebih kuat daripada bakteri yang lain, bakteri multiresisten obat memerlukan produk baru dan memiliki potensi antibiotik yang tinggi (Nur Iman, 2009)

4.5. Lingkungan Hidup Bakteri

Dari hasil pengukuran menggunakan kertas lakmus, pH media padat cairan adalah 7,4. Hal ini berarti pH masih dalam kisaran yang baik untuk pertumbuhan bakteri. Dwijoseputro (1990), Pada umumnya bakteri dapat tumbuh pada PH media 5,00- 8,00 dengan ph optimum sekitar 7,00. Untuk bakteri patogen akan tumbuh baik pada ph netral (Ph7,00). Apabila bakteri itu berada pada kondisi yang asam, maka pertumbuhannya akan terhambat. Bakteri juga peka terhadap pH basa tetapi efek secara umum tidak terlalu merusak dibandingkan dengan PH asam.

4.6. Pemanfaatan Daun Binahong Sebagai Antibakteri Dalam Persepektif Islam

Allah menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang indah, hijau dan banyak memberi manfaat serta kenikmatan kepada manusia. Banyak ayat al-Qur'an yang mengajak manusia untuk berfikir dan menyelidiki tumbuh-tumbuhan agar

mendapat manfaat yang lebih banyak. Allah berfirman dalam surat An-Nahl ayat 11:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَبَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

“dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanaman-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam-macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang memikirkan”(Q.S. An-Nahl: Ayat 11)

Ayat ini menyebutkan beberapa tanaman yang ditumbuhkan Allah dari yang paling cepat layu, yang paling panjang usianya dan yang paling banyak manfaatnya seperti zaitun, kurma dan anggur (Shihab, 2002). Kaum yang memikirkan akan tanda-tanda kekuasaan-Nya tentu akan dapat mengambil pelajaran dan manfaat terhadap segala ciptaan-Nya tentu akan dapat mengambil pelajaran dan manfaat terhadap segala ciptaan-Nya. Sebagaimana memanfaatkan tanaman Binahong sebagai tanaman obat.

Manusia sebagai makhluk yang berakal mempunyai tugas, kewajiban dan tanggung jawab terhadap alam sekitarnya. Hal ini dijelaskan dalam firman Allah surat Az-zumar ayat 9:

....قُلْ هَلْ يَسْتَوِي الَّذِينَ يَعْلَمُونَ وَالَّذِينَ لَا يَعْلَمُونَ إِنَّمَا يَتَذَكَّرُ أُولُو الْأَلْبَابِ ﴿٩﴾

“...Katakanlah: "Adakah sama orang-orang yang mengetahui dengan orang-orang yang tidak mengetahui?" Sesungguhnya orang yang berakallah yang dapat menerima pelajaran.” (QS. Az-Zumar [39]: 9)

Al-Qur'an memerintahkan kepada manusia untuk memanfaatkan kekayaan alam dengan cara tidak boleh melakukan pemborosan dan dilarang merusak sumber alam dan lingkungan hidup. Kekayaan alam ini sebagai sumber kehidupan bagi kesejahteraan manusia.

Penjelasan lain dalam Al-Qur'an surat Asy-Syu'ara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”. (QS Asy-Syu'ara [26]: 7)

Rasulullah SAW telah memberikan petunjuk tentang tata cara mengobati diri beliau sendiri, keluarga dan para sahabat yaitu dengan menggunakan jenis obat yang tidak ada campuran bahan kimia. Pengobatan nabi menggunakan tiga jenis obat yaitu obat alamiah, obat ilahiyah dan kombinasi obat alamiah dan ilahiyah. Pengobatannya berdasarkan wahyu Allah tentang apa yang bermanfaat dan yang tidak berbahaya, misalnya melakukan pengobatan dengan tumbuh-tumbuhan. Pemanfaatan tanaman sebagai obat merupakan salah satu sarana untuk mengambil pelajaran dan memikirkan tentang kekuasaan Allah dan meneladani cara pengobatan Nabi (Al-Jauziah, 2008)

Hasil penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (ten) Steenis) menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong mempunyai aktivitas menghambat dan membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aereginosa*. Dari hasil penelitian didapatkan konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong pada bakteri *Staphylococcus aureus*

pada konsentrasi 25%(250mg/ml). Sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* konsentrasi hambat minimum (KHM) pada konsentrasi 50%(500 mg/ml). Pada konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak daun binahong terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50% (500mg/ml) sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* konsentrasi bunuh minimum (KBM) pada konsentrasi 100%(1000 mg/ml). Ini menjelaskan bahwa bagian daun tanaman binahong mampu digunakan sebagai bahan alternatif untuk pengobatan penyakit-penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri.

Pemanfaatan tanaman binahong sebagai obat merupakan suatu upaya untuk mengikuti sunnah Nabi. Kita dianjurkan untuk mengamalkan pengobatan, sesuai sabda Rasulullah SAW: *Dari Usamah Bin Syarik berkata, “ Bahwa saya pernah berada di sisi Rasulullah SAW, lalu datang sekelompok Arab Badui. Mereka berkata “Wahai Rasullullah, apakah kami bisa berobat? ”Nabi menjawab. “Wahai para hamba Allah carilah obat karena sesungguhnya Allah tidak menciptakan sutu penyakit tanpa menciptakan obatnya, selain satu penyakit saja ” Mereka bertanya; “Penyakit apakah itu? “ jawab beliau; “ Penyakit usia tua” (HR. Ahmad) (Mahmud, 2007)*

Rasulullah telah bersabda;“*Sesungguhnya Allah tidak menurunkan satu penyakit, kecuali Dia menurunkan obat penyembuhnya; obat penyakit diketahui bagi yang mengetahuinya dan tidak diketahui bagi orang jahil”*

Hadist-hadist tersebut menunjukkan bahwa untuk mendapatkan obat suatu penyakit maka kita harus selalu berusaha dengan memikirkan apa yang telah diwahyukan oleh Allah sebagai petunjuk bagi kehidupan.