

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Binahong Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat

Antibacterial Activity of Binahong Leaf Ethanol Extract Against *Staphylococcus aureus* and *Propionibacterium acnes* that Cause Acne

Vibe Yunita Sasebohe¹, Vinsa Cantya Prakasita^{1*} dan Dwi Aditiyarini¹

¹Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta, Indonesia

Abstrak

Jerawat merupakan salah satu masalah pada kulit yang disebabkan oleh peningkatan produksi sebum, pengelupasan keratinosit, inflamasi serta pertumbuhan bakteri. Masalah ini sering dialami oleh banyak orang dan berdampak pada penurunan kepercayaan diri, menimbulkan rasa tidak nyaman, serta berkurangnya interaksi sosial. *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri yang sering menginfeksi jerawat. Pengobatan dengan antibiotik yang tidak tepat dapat menimbulkan resistensi bakteri penyebab jerawat. Tanaman binahong dimanfaatkan oleh masyarakat untuk pengobatan tradisional. Kandungan senyawa fitokimia yang ada pada daun binahong diduga memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* penyebab jerawat. Daun binahong diekstrak dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% dan dilakukan *screening* fitokimia. Uji antibakteri dilakukan dengan metode *diffuse disc*, kemudian dilanjutkan dengan metode *micro-dilution* untuk mengetahui *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan metode *swab* untuk mengetahui *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) terhadap bakteri target. Ekstrak etanol daun binahong memiliki kandungan flavonoid, alkaloid, saponin, dan tannin yang memiliki daya hambat terbaik pada konsentrasi 80% terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* dengan masing-masing diameter zona hambat $14,66 \pm 0,57$ mm (kuat) dan $11,66 \pm 0,57$ mm (kuat). Nilai MIC terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 20% dan terhadap *Propionibacterium acnes* sebesar 5%. Nilai MBC terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 60% dan terhadap *Propionibacterium acnes* sebesar 5%.

Kata Kunci: Antibakteri, Ekstrak Etanol Daun Binahong, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*

Abstract

Acne is a skin problem caused by increased sebum production, exfoliation of keratinocytes, inflammation and bacterial growth. This problem is often experienced by many people and has an impact on reducing self-confidence, causing discomfort, and reducing social interaction. *Staphylococcus aureus* and *Propionibacterium acnes* are bacteria that often infect acne. Improper antibiotic treatment can cause resistance to acne-causing bacteria. The binahong plant is used by the community for traditional medicine. The content of phytochemical compounds present in binahong leaves is thought to have antibacterial activity. This study aims to determine the antibacterial activity of binahong leaf extract against *Staphylococcus aureus* and *Propionibacterium acnes* that cause acne. Binahong leaves were extracted by maceration method using 70% ethanol and phytochemical screening was carried out. The antibacterial test was carried out using the *diffuse disc* method, followed by the *micro-dilution* method to determine the *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) and the *swab* method to determine the *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) of the target bacteria. The ethanol extract of binahong leaves contains flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins which have the best inhibition at a concentration of 80% against *Staphylococcus aureus* and *Propionibacterium acnes* with each inhibition zone diameter of 14.66 ± 0.57 mm (strong) and $11,66 \pm 0.57$ mm (strong). The MIC value for *Staphylococcus aureus* is 20% and for *Propionibacterium acnes* is 5%. The MBC value for *Staphylococcus aureus* is 60% and for *Propionibacterium acnes* is 5%.

Keywords: Antibacterial, Binahong Leaf Ethanol Extract, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*

*** Corresponding author:**

Vinsa Cantya Prakasita

Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Jl. Wahidin Sudirohusodo 5-25, Yogyakarta, 55224,

Email: vinsa.cantya.p@staff.ukdw.ac.id

Pendahuluan

Jerawat atau *acne vulgaris* merupakan keadaan pada kulit dimana pori-pori mengalami penyumbatan. Keadaan tersebut menyebabkan munculnya bintik merah, abses dan peradangan. Jerawat ini dapat terjadi pada semua orang baik laki-laki maupun perempuan (Afriyanti, 2015; Susanto *et al.*, 2013). Hasil penelitian Widjajanto (2008) memaparkan data bahwa sebanyak 48,06% dari total jumlah kunjungan pasien di bagian kosmetik medik URJ RSUD Dr. Soetomo Surabaya pada tahun 2005 merupakan pasien kasus *acne vulgaris*. Persentase kejadian tersebut hampir sama di tahun-tahun setelahnya yaitu sebesar 40,54% di tahun 2006 dan 44,90% pada tahun 2007. Kelompok Studi Dermatologi Kosmetika Indonesia (2018) juga mencatat adanya kenaikan dari kejadian *acne vulgaris* yaitu 80% pada tahun 2007 serta 90% pada tahun 2009.

Jerawat memiliki faktor utama penyebabnya yaitu peningkatan produksi sebum, pengelupasan dari keratinosit, inflamasi serta pertumbuhan bakteri (Athikomkulchai *et al.*, 2008). Menurut Ayudianti & Indramaya (2014), *acne vulgaris* pada wanita disebabkan oleh hormonal dan kosmetik, sedangkan pada pria oleh makanan dan stress. Menurut Meilina dan Hasanah (2018), kelenjar minyak yang aktif secara berlebihan dapat menyebabkan jerawat dan diperparah oleh adanya infeksi bakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Dhillon & Varshney (2013), memperoleh data adanya dominasi *Staphylococcus aureus* (45%), serta *Propionibacterium acnes* (32%) pada lesi jerawat. Penelitian yang sama dilakukan oleh Shamsi *et al.* (2015), bahwa ditemukan *Staphylococcus aureus* (44%) dan *Propionibacterium acnes* sebanyak 34% dalam lesi jerawat.

Pengobatan terhadap jerawat dapat dilakukan dengan pemberian antibiotik baik secara oral maupun topikal menggunakan antibiotik klindamisin, tetrasiklin dan eritromisin (Kelompok Studi Dermatologi Kosmetik Indonesia, 2018). Pengobatan jerawat juga dilakukan dengan penggunaan benzoil peroksida dan retinoid.

Pengobatan tersebut memiliki efek samping merugikan seperti iritasi terhadap kulit serta dapat menyebabkan resistensi bakteri jika penggunaannya tidak tepat (Djajadisastra *et al.*, 2009; Kemenkes RI, 2011). Hasil penelitian dari Sitohang *et al.* (2019), menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* dilaporkan telah resisten terhadap eritromisin, sedangkan *Propionibacterium acnes* telah resisten terhadap beberapa antibiotik diantaranya eritromisin dan tetrasiklin.

Indonesia adalah negara megabiodiversitas kedua di dunia yang memiliki keanekaragaman hayati termasuk ribuan spesies tanaman obat yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat. Tanaman Binahong merupakan salah satu tanaman obat yang tumbuh subur pada daerah beriklim tropis. Tanaman ini dapat dengan mudah ditemukan karena dapat tumbuh di berbagai area yaitu dataran tinggi atau dataran rendah (Aini, 2014; Suparjo *et al.*, 2016). Senyawa fitokimia yang terkandung dalam tanaman binahong diantaranya saponin dan flavonoid. Senyawa ini diduga memiliki aktivitas antimikrobia. Senyawa aktif dari ekstrak daun binahong sebelumnya telah dibuktikan dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Shigella flexneri* (Darsana *et al.*, 2012; Ainurrochmah *et al.*, 2013). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antimikrobia ekstrak etanol daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* penyebab jerawat sehingga bisa dijadikan alternatif terapi penyembuhan jerawat.

Materi dan Metode

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *blender*, saringan, *rotary evaporator*, timbangan digital, spatula, eppendorf, tabung reaksi, vorteks, pipet ukur, gelas ukur, *object glass*, pipet tetes, *erlenmeyer*, *petri dish*, *autoclave*, oven, bunsen, jarum ose, pinset, kertas cakram, inkubator, mikropipet, penggaris, *microplate 96 well*, dan *microplate reader*.

Bahan-bahan yang dipakai dalam penelitian ini yaitu daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), etanol 70%, HCl 2N, NaCl, mayer, wagner, Pb asetat 10%, NaOH 20%, FeCl₃ 5% dan 10%, kristal violet, lugol,

aseton alkohol, safranin, H₂O₂ 3%, antibiotik klindamisin, akuades, kertas perkamen, karet, kapas, kertas cakram, *cotton swab* steril, media *Blood Agar Plate* (BAP), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Nutrient Agar* (NA), *Brain Heart Infusion broth* (BHIB), *Tryptic Soy Agar* (TSA) serta bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus* FNCC 0047 dan *Propionibacterium acnes* ATCC 11827.

Preparasi Sampel Daun Binahong

Sampel daun binahong diperoleh dari Pasar Tradisional Beringharjo Yogyakarta dengan daun yang sudah kering. Daun binahong selanjutnya dipisahkan dari bagian tanaman lain (Daryono *et al.*, 2014). Proses selanjutnya yaitu dilakukan penghalusan daun binahong dengan cara diblender dan disaring sehingga didapatkan serbuk halus (Surahmaida *et al.*, 2019).

Ekstraksi Daun Binahong

Simplisia daun binahong diekstraksi dengan metode maserasi, pelarut yang digunakan adalah etanol 70% dengan perbandingan 1 : 7 (serbuk : larutan penyari). Simplisia daun binahong dimasukkan kedalam wadah bersama dengan etanol 70%. Proses ekstraksi didiamkan selama 3 hari dan sesekali diaduk, selanjutnya dilakukan remaserasi kembali selama 2 hari. Penyaringan dilakukan dengan kertas saring dan hasilnya disebut filtrat. Setiap filtrat dimasukan ke dalam *rotary evaporator* dengan suhu 40°C. Hasil ekstrak yang didapatkan selanjutnya dimasukkan ke dalam oven dengan suhu yang sama hingga menjadi ekstrak kental (Puspitasari dan Proyogo, 2017; Samirana *et al.*, 2017; Putri *et al.*, 2013).

Kandungan Senyawa Fitokimia

Alkaloid

Sebanyak 0,3 g ekstrak daun binahong ditambahkan 5 ml HCl 2N, kemudian dipanaskan dalam waktu 2-3 menit sambil diaduk. Campuran tersebut ditambah 0.3 g bubuk NaCl, diaduk rata dan disaring. Filtrat yang didapatkan ditambah larutan 5 ml HCl 2N dan dibagi menjadi 3 bagian. Larutan pertama diteteskan pereaksi Mayer, dan larutan di tabung kedua diteteskan

perekasi Wagner, dan larutan di tabung ketiga digunakan sebagai blanko. Hasil positif alkaloid ditunjukkan dengan adanya kekeruhan atau endapan pada dasar larutan (Fitriyani *et al.*, 2011).

Flavonoid

Sebanyak 0,1 g ekstrak daun binahong dilarutkan dalam 2 ml akuades dan dibagi menjadi 3 tabung. Tabung pertama digunakan sebagai kontrol, tabung kedua dituangkan 1 ml larutan timbal asetat 10%, dan tabung ketiga dituangkan beberapa tetes NaOH 20%. Tabung kedua positif mengandung flavonoid jika timbul endapan kuning. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi kuning (Yuda *et al.*, 2017).

Tanin

Sebanyak 0,3 g ekstrak daun binahong dilarutkan dalam 2 ml akuades dan dibagi ke dalam 2 tabung. Tabung pertama digunakan sebagai kontrol. Tabung yang kedua diberi beberapa tetes larutan FeCl₃ 5% atau FeCl₃ 10%. Hasil positif tannin ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi hijau, biru atau menjadi gelap (Yuda *et al.*, 2017).

Saponin

Sebanyak 1 g ekstrak daun binahong ditambah 10 mL air panas. Setelah dingin, larutan dikocok sampai benar-benar homogen dalam waktu 10 detik. Hasil positif saponin ditunjukkan dengan adanya buih dengan tinggi 1-10 cm setelah penambahan 1 tetes HCl 2 N dengan penghitungan waktu tidak kurang dari 10 menit buih yang terbentuk tetap tidak hilang (Mutmainnah, 2017).

Karakteristik Bakteri

Morfologi Koloni

Metode yang digunakan untuk menguji morfologi koloni dari bakteri yaitu pengkulturan bakteri dengan cara *streak plate* pada media BAP. Media ini dipakai untuk melihat kemampuan melisis darah dari bakteri (Djannatun, 2008).

Morfologi Sel

Bakteri diambil menggunakan ose steril dan diletakkan pada gelas objek

yang sudah ditetesi dengan akuades steril, kemudian difiksasi sampai kering. Cat gram A ditetaskan, kemudian dicuci dengan akuades setelah dibiarkan pada gelas objek selama 1 menit. Cat gram B ditetaskan, kemudian dicuci dengan akuades mengalir setelah didiamkan diatas gelas objek selama 1 menit. Cat gram C ditetaskan, kemudian dicuci menggunakan akuades sesudah didiamkan pada gelas objek selama 10-20 detik. Cat Gram D ditetaskan, kemudian dicuci dengan air mengalir setelah didiamkan di atas gelas objek selama 15 detik. Fiksasi dilakukan pada gelas objek dan selanjutnya hasil pengecatan diamati dengan mikroskop (Hidayat & Alhadi, 2012; Dewi, 2013).

Katalase Bakteri

Uji katalase dilakukan dengan mengambil biakan bakteri, kemudian diletakkan di atas gelas obyek. Sebanyak 1 tetes H₂O₂ 3% dituangkan di atas gelas objek dan dicampurkan dengan merata. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya gelembung gas atau O₂ (Hidayat & Alhadi, 2012).

Aktivitas Antibakteri terhadap Staphylococcus aureus dan Propionibacterium acne

Disk Diffusion

Metode *disk diffusion* yang digunakan dalam uji ini mengacu metode *disk diffusion* Kirby-Bauer, yaitu pengkulturan bakteri dengan penggoresan menggunakan *cotton swab* secara merata pada permukaan media. Konsentrasi ekstrak daun binahong dalam pengujian ini dibuat dengan beberapa variasi konsentrasi larutan yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Kertas cakram direndam pada masing-masing konsentrasi ekstrak, begitu juga kontrol positif (klindamisin) dan kontrol negatif (akuades steril). Kertas cakram tersebut diletakan pada permukaan media MHA yang sudah diinokulasi bakteri target, kemudian media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengujian dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram diukur dengan penggaris dan dikategorikan (Bauer *et al.*, 1966; Novaryatiin *et al.*, 2018; Savitri *et al.*, 2018).

Minimum Inhibition Concentration (MIC)

Uji MIC dilakukan dengan metode mikrodilusi. Konsentrasi ekstrak etanol daun binahong terbaik dari uji disk diffusion digunakan sebagai dasar penentuan variasi konsentrasi pada uji MIC. Konsentrasi yang dipakai untuk menguji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu 60-0,03%, sedangkan *Propionibacterium acnes* 20-0,07% dengan metode *two-fold dilution*.

Media BHI sebanyak 80 µL dituangkan ke dalam *well*. Sebanyak 10 µl masing-masing konsentrasi ekstrak daun binahong dan 10 µL bakteri target dengan konsentrasi 1x10⁵ ditambahkan ke dalam *well* dan dihomogenkan. Kontrol positif menggunakan antibiotik Klindamisin sebanyak 10 µL, sedangkan kontrol negatif menggunakan akuades steril sebanyak 10 µL. *Microplate* diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37°C. Pembacaan kekeruhan (*optical density*) yang ditimbulkan dari pertumbuhan bakteri menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 600 nm (Guo *et al.*, 2016; Socenta *et al.*, 2017; Asri *et al.*, 2019).

Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

Konsentrasi terbaik dari hasil uji MIC digunakan sebagai dasar pengujian MBC. Hasil OD terendah dari aktivitas hambat konsentrasi ekstrak daun binahong terhadap bakteri target *distreak* pada media agar padat. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan bakteri diamati setelah 24 jam. Media agar yang tidak tumbuh koloni bakteri target dinyatakan sebagai nilai MBC (Iman *et al.*, 2014; Hendiani *et al.*, 2020).

Analisis Data

Analisis data terhadap hasil pengujian nilai MIC dan MBC dilakukan untuk menganalisis data terdistribusi normal dengan uji normalitas Shapiro -Wilk. Uji Shapiro Wilk digunakan karena cocok untuk data suatu sampel yang kecil (N<50). Data yang terdistribusi normal diteruskan uji parametrik *One Way ANOVA*, namun jika data tidak terdistribusi normal dianalisa dengan Uji non-parametrik Kruskal-Wallis. Analisis ini memakai perangkat lunak SPSS (Sirait, 2001; Suardi, 2019; Jamco & Balami, 2022).

Hasil

Persentase Rendemen Ekstrak Etanol Daun Binahong

Ekstrak etanol kental daun binahong didapatkan setelah dipisahkan ekstrak dengan pelarut menggunakan *rotary evaporator*. Dari proses tersebut didapatkan persentase rendemen sebesar 26,06% dan berat kental ekstrak 104,25.

Tabel 1. Hasil Persentase Rendemen Ekstrak Etanol Daun Binahong

Tanaman	Berat Simplisia (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Persentasi Yield (%)
Daun Binahong	400	104,25	26,06 %

Tabel 2. Kandungan Senyawa Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Binahong

Senyawa	Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Binahong
Tannin	+
Saponin	+
Flavonoid	+
Alkaloid	+

Keterangan : (+) Senyawa metabolik sekunder terdeteksi

Kandungan Senyawa Fitokimia

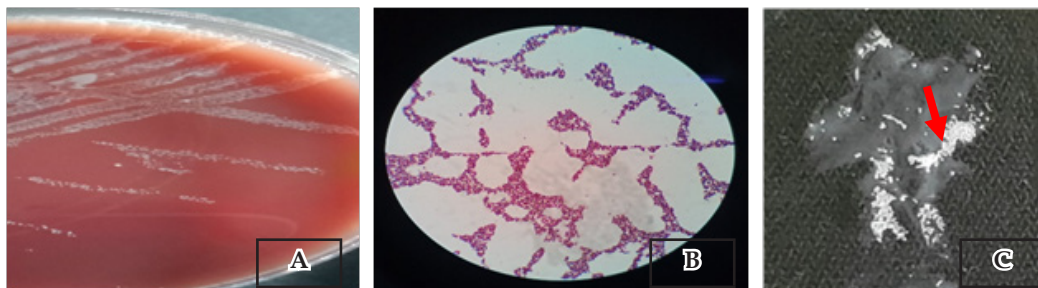
Pengujian fitokimia secara kualitatif dapat mendeteksi adanya senyawa metabolik sekunder lewat perubahan warna. Ekstrak etanol daun binahong positif terdeteksi adanya senyawa metabolik sekunder tannin, saponin, flavonoid, dan alkaloid.

Karakteristik *Staphylococcus aureus*

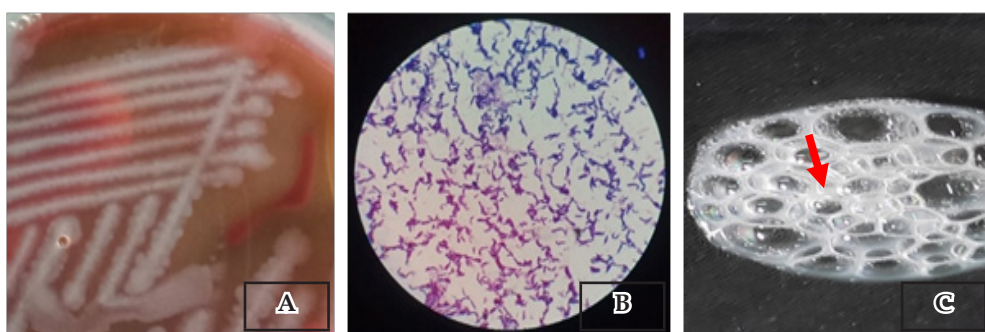
Pengujian morfologi koloni *Staphylococcus aureus* menghasilkan koloni berwarna putih susu dengan zona hemolisis yaitu gamma hemolisis. Morfologi sel *Staphylococcus aureus* berbentuk *coccus* dan berwarna ungu yang membuktikan bahwa bakteri tersebut tergolong dalam bakteri Gram positif. Hasil uji katalase *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya gelembung gas setelah bakteri dicampurkan dengan H_2O_2 3%.

Karakteristik *Propionibacterium acnes*

Morfologi koloni *Propionibacterium acnes* berbentuk sirkuler, berwarna putih dan buram, dengan zona beta hemolisis. Sel *Propionibacterium acnes* berbentuk basil



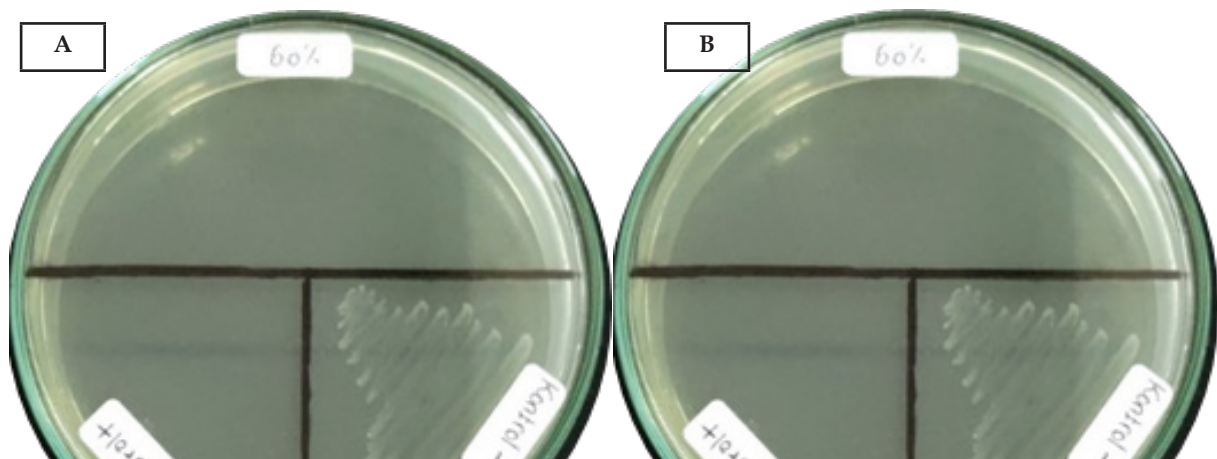
Gambar 1. Morfologi *Staphylococcus aureus* hasil pengamatan mikroskop (A) Koloni *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat, berwarna putih susu dengan zona gamma hemolisis, (B) *Staphylococcus aureus* berbentuk *coccus* dan berwarna ungu, (C) Hasil uji katalase *Staphylococcus aureus*, terdapat gelembung gas (panah merah)



Gambar 2. Morfologi *Propionibacterium acnes* hasil pengamatan mikroskop (A) Koloni *Propionibacterium acnes* berbentuk sirkuler, berwarna putih dan buram, dengan zona beta hemolisis, (B) Sel *Propionibacterium acnes* berbentuk basil (pleomorfik) dan berwarna ungu, (C) Hasil uji katalase *Propionibacterium acnes* terdapat gelembung gas (panah merah).

Tabel 3. Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Binahong terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* dengan metode *disk diffusion*

No	Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)		Kekuatan zona hambat	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
1.	Ekstrak 20%	8,66 ± 0,57	7,66 ± 0,57	Sedang	Sedang
2.	Ekstrak 40%	10,33 ± 0,57	8,66 ± 0,57	Sedang	Sedang
3.	Ekstrak 60%	12,33 ± 0,57	9,66 ± 0,57	Kuat	Sedang
4.	Ekstrak 80%	14,66 ± 0,57	11,66 ± 0,57	Kuat	Kuat
5.	Ekstrak 100%	14,33 ± 0,57	11,33 ± 0,57	Kuat	Kuat
6.	Kontrol +	27,66 ± 0,57	17,66 ± 0,57	Sangat Kuat	Kuat
7.	Kontrol -	0 ± 0	0 ± 0	Lemah	Lemah

Gambar 3. Optical Density Uji MIC pada bakteri uji : (A) *Staphylococcus aureus*, (B). *Propionibacterium acnes*

(pleomorfik) dan berwarna ungu. Hasil uji katalase *Propionibacterium acnes* menunjukkan adanya gelembung gas setelah bakteri dicampurkan dengan H₂O₂ 3%.

Uji Disk Diffusion terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*

Semua konsentrasi ekstrak etanol daun binahong memiliki daya hambat sedang hingga kuat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. Daya hambat terbaik dihasilkan pada konsentrasi 80% dengan masing-masing diameter zona hambat 14,66 ± 0,57 mm (kuat) dan 11,66 ± 0,57 mm (kuat).

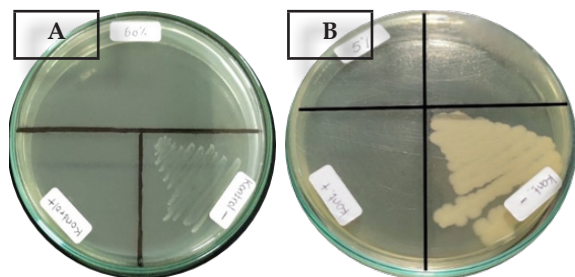
Nilai MIC ekstrak terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*

Hasil uji MIC ekstrak etanol daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa konsentrasi 20%

merupakan konsentrasi minimal yang masih dapat menghambat bakteri (OD=0,082, P>0,05), sedangkan MIC ekstrak etanol daun binahong terhadap *Propionibacterium acnes* menunjukkan bahwa konsentrasi 5% merupakan konsentrasi terendah yang masih dapat menghambat bakteri (OD=0,015; P>0,05).

Nilai MBC ekstrak terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*

Nilai MBC ekstrak etanol daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa tidak adanya pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 60%. Hasil dari pengujian MBC ekstrak daun binahong 5% terhadap *Propionibacterium acnes* tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni sehingga konsentrasi tersebut dinyatakan sebagai konsentrasi bunuh minimum.



Gambar 4. Hasil Uji MBC Ekstrak Etanol Daun Binahong terhadap bakteri uji (A) *Staphylococcus aureus*, MBC 60%, (B) *Propionibacterium acnes*, MBC 5%

Diskusi

Persentase Rendemen Ekstrak Etanol Daun Binahong

Daun binahong diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Sebanyak 400 g simplisia menghasilkan rendemen sebesar sebesar 26,06% dengan berat ekstrak kental 104,25 g (Tabel 1). Hasil rendemen penelitian ini lebih besar dari pada hasil penelitian Yani *et al.* (2016), dengan rendemen 12,2% dari 2000 g bubuk simplisia melalui maserasi 3x24 jam dengan etanol 96%. Penelitian lain oleh Selawa *et al.* (2013), juga menghasilkan rendemen yang rendah sebesar 3,29% melalui maserasi 24 jam dengan etanol. Perbedaan ini disebabkan oleh tahap remaserasi yang dilakukan dalam penelitian ini. Tahap remaserasi dapat meningkatkan waktu ekstraksi dan menarik sisa senyawa dari proses maserasi sebelumnya. Hal ini disebabkan oleh penggunaan pelarut etanol yang baru sehingga mampu menarik sisa senyawa pada residu maserasi sebelumnya. Ningsih *et al.* (2015), juga menyatakan waktu ekstraksi yang lama akan meningkatkan rendemen ekstrak yang diperoleh. Penelitian oleh Noviyanty *et al.* (2022), juga menunjukkan rendemen ekstrak etanol daun binahong melalui maserasi lebih rendah dibandingkan penelitian ini, yaitu sebesar 23%.

Kandungan Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Binahong

Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya kandungan kelompok senyawa tanin, flavonoid, alkaloid, saponin pada ekstrak etanol daun binahong (Tabel 2). Hal disebabkan oleh spektrum polaritas pelarut etanol yang luas

sehingga mampu melarutkan senyawa yang bersifat polar, semi polar maupun non-polar (Gritter *et al.*, 1991). Penelitian Savitri (2017), menyatakan senyawa yang diperoleh pada hasil ekstraksi memiliki sifat kepolaran yang sama dengan pelarut. Ekstrak etanol daun binahong pada penelitian Veronita *et al.* (2017), juga mendeteksi kandungan flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Penelitian oleh Yani *et al.* (2016), menunjukkan kandungan flavonoid, saponin dan steroid/ triterpenoid pada ekstrak etanol daun binahong. Kandungan kelompok-kelompok senyawa tersebut menunjukkan adanya potensi farmakologis ekstrak etanol daun binahong sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab jerawat.

Karakteristik *Staphylococcus aureus*

Morfologi Koloni

Morfologi *Staphylococcus aureus* pada media BAP berbentuk bulat dengan permukaan halus dan berwarna putih susu seperti yang dinyatakan oleh Jawetz & Aldeberg (2005). *Staphylococcus aureus* pada media BAP menghasilkan zona gamma hemolisis. Hasil ini juga sama seperti penelitian yang dilakukan oleh Ariyanti *et al.* (2011), yang menunjukkan bahwa 54,55% *Staphylococcus aureus* menghasilkan zona gamma hemolisis (Gambar 1A).

Morfologi Sel

Berdasarkan hasil dari pengecatan Gram *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat (*coccus*), tersusun secara berkelompok, dan berwarna ungu (Gambar 1B). Hal ini sesuai yang dinyatakan Jawetz & Aldeberg (2005), bahwa morfologi *Staphylococcus aureus* tidak tersusun secara rapi tapi berada dalam beberapa kelompok. Warna ungu *Staphylococcus aureus* disebabkan karena bakteri tersebut merupakan bakteri Gram positif yang mempunyai peptidoglikan yang tebal sehingga dapat mengikat zat warna kristal violet (Hamidah *et al.*, 2019).

Katalase

Berdasarkan hasil pengujian katalase, *Staphylococcus aureus* yang dicampurkan dengan H₂O₂ 3% menghasilkan gelembung

gas (Gambar 1C). Adanya gelembung gas menunjukkan hasil uji positif terhadap katalase. Enzim katalase yang dimiliki oleh *Staphylococcus aureus* dapat menghidrolisis hidrogen peroksida menjadi H₂O dan O₂ seperti yang dikemukakan oleh Hidayat & Alhadi, (2012).

Karakteristik *Propionibacterium acnes*

Morfologi Koloni

Morfologi *Propionibacterium acnes* di media BAP berbentuk bundar dan berwarna putih sedikit buram seperti yang dinyatakan Irianto & Koes (2006) (Gambar 2A). Hemolisis yang terbentuk merupakan beta hemolisis sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Capoor *et al.* (2018).

Morfologi Sel

Hasil yang didapatkan untuk pengecatan Gram *Propionibacterium acnes* terlihat memiliki bentuk batang atau basil, ujungnya agak sedikit melengkung dan berwarna ungu (Gambar 2B). Hal ini sesuai dengan pernyataan Cristina (2006), bakteri ini berbentuk batang dengan bagian tepi yang meruncing atau disebut dengan kokoid. Warna yang terlihat dari morfologi bakteri adalah warna ungu yang menandakan bakteri tersebut termasuk dalam Gram positif sesuai yang dinyatakan oleh Brooks *et al.* (2008).

Katalase

Dari pengujian katalase, timbul gelembung gas dari hasil pencampuran bakteri dengan H₂O₂ 3% (Gambar 2C). Gelembung gas yang dihasilkan tersebut menandakan positif katalase. Gelembung gas dapat terbentuk karena *Propionibacterium acnes* dapat memproduksi enzim katalase yang menguraikan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen sesuai dengan pernyataan Huda *et al.* (2012).

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Binahong

*Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Binahong terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* dengan Disk Diffusion*

Berdasarkan hasil penelitian uji antibakteri dengan metode *disk diffusion*,

semua konsentrasi ekstrak etanol daun binahong memiliki daya hambat sedang hingga kuat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. Daya hambat terbaik dihasilkan pada konsentrasi 80% dengan masing-masing diameter zona hambat 14,66±0,57 mm (kuat) dan 11,66±0,57 mm (kuat) (Tabel 3). Ekstrak etanol daun binahong dengan konsentrasi 100% memiliki daya hambat yang lebih rendah jika dibandingkan dengan konsentrasi 80%, yaitu sebesar 0,33 mm. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Saraswati (2011), dan Nomer *et al.* (2019), pada konsentrasi tinggi terjadi penurunan diameter zona hambat. Salah satu faktor yang mungkin dapat mempengaruhi adalah ekstrak yang tidak bisa berdifusi dengan baik pada media kultur. Hal ini didukung oleh pernyataan Maleki *et al.* (2008), bahwa senyawa yang terkandung dari ekstrak menjadi tidak larut atau mengalami kejenuhan karena konsentrasi ekstrak yang terlalu pekat. Berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sulistyarsi & Pribadi (2018), dengan ekstrak etanol daun binahong 100% memiliki daya hambat terbaik. Semakin besar konsentrasi maka daya hambatnya semakin besar pula karena kandungan konsentrasi juga semakin besar. Besar kecilnya zona hambat juga dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu tingkat sensitivitas dari bakteri, suhu inkubasi, pH dari keadaan sekitar, komposisi dari media, kepadatan dari bakteri, waktu inkubasi, aktivitas metabolisme bakteri, reaksi dari senyawa dengan medium, serta besarnya kandungan senyawa yang terdapat dari larutan uji (Dali *et al.*, 2011). Terjadinya penghambatan dari ekstrak etanol daun binahong dalam penelitian ini karena terdapat kandungan senyawa fitokimia yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* seperti senyawa flavonoid, tannin, alkaloid dan saponin.

Antibiotik Klindamisin digunakan sebagai kontrol positif dengan diameter zona hambat 27,66±0,57 mm (sangat kuat) terhadap *Staphylococcus aureus*. Hal ini dapat terjadi karena Klindamisin merupakan antibiotik yang mampu menghambat (bakteriostatik)

dan membunuh (bakteriosidal) patogen. Klindamisin menghambat bakteri Gram positif dengan cara menghambat sintesis protein dari bakteri (Setiabudy, 2012).

Uji MIC Ekstrak Etanol Daun Binahong terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*

Konsentrasi uji MIC ekstrak etanol daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* yang digunakan adalah konsentrasi hasil uji *disk diffusion* dengan diameter zona hambat kategori sedang-kuat (60%, 40% dan 20%) sampai kadar terendahnya (*two-fold dillution*). Metode mikrodilusi merupakan metode yang dikembangkan dari metode dilusi cair dengan media, bakteri dan senyawa uji dari segi jumlah yang lebih sedikit. Kekeruhan yang diamati pada larutan uji dianggap sebagai nilai *optical density* menggunakan instrumen *microplate reader* dan diperlihatkan sebagai nilai absorbansi (Rollando *et al.*, 2019). *Minimum Inhibitory Concentration* merupakan konsentrasi terkecil dari sampel uji yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri (Aristyawan *et al.*, 2017). Hasil uji MIC menunjukkan bahwa konsentrasi 20% merupakan konsentrasi minimal yang masih dapat menghambat bakteri ($OD=0.082$, $P>0.05$), meskipun nilai OD kontrol positif Klindamisin masih jauh lebih rendah ($OD=0,004$) (Gambar 3A). Hasil MIC pada penelitian ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sulistyarsi & Pribadi (2018), nilai MIC ekstrak daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 25%.

Konsentrasi uji MIC ekstrak etanol daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* yang digunakan adalah konsentrasi hasil uji *disk diffusion* dengan diameter zona hambat kategori sedang-kuat (20%, 10% dan 5%) sampai kadar terendahnya (*two-fold dillution*). Hasil uji MIC menunjukkan bahwa konsentrasi 5% merupakan konsentrasi terendah yang masih dapat menghambat bakteri ($OD=0,015$; $P>0.05$), meskipun nilai OD kontrol positif Klindamisin lebih rendah (Gambar 3B). Konsentrasi 5% lebih rendah penghambatannya dari kontrol positif. Demikian juga konsentrasi 5% dibandingkan

dengan kontrol negatif akuadest memiliki nilai OD lebih rendah.

Uji MBC Ekstrak Etanol Daun Binahong terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*

Tiga konsentrasi yang memiliki OD terendah pada uji MIC dilakukan pengkulturan pada media TSA dan NA. Jika tidak ada pertumbuhan koloni sesudah inkubasi pada setiap media, maka ditetapkan sebagai MBC (Hariyati *et al.*, 2015). Nilai MBC ekstrak etanol daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa tidak adanya pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 60%. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Simanjuntak (2014), yaitu ekstrak etanol daun binahong memiliki nilai MBC 9,624%. Hal ini sangat berbeda dengan hasil MBC pada penelitian ini yaitu konsentrasi 60% pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil dari pengujian MBC ekstrak daun binahong 5% terhadap *Propionibacterium acnes* tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni sehingga konsentrasi tersebut dinyatakan sebagai konsentrasi bunuh minimum. Hasil tersebut berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Prijayanti (2011), fraksi kloroform daun binahong memiliki nilai MBC 1,25% terhadap *Propionibacterium acnes*.

Menurut Jawetz & Aldeberg (2005), faktor yang mempengaruhi daya antibakteri yaitu konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa metabolit dan jenis bakteri yang dihambat. Kemungkinan terdapat perbedaan dari kadar kandungan senyawa metabolit dari ekstrak etanol Daun Binahong pada penelitian ini dengan penelitian sebelumnya. Hal tersebut didukung karena terdapat perbedaan pada waktu maserasi. Pada penelitian Simanjuntak (2014), dilakukan 5 hari maserasi dan 5 hari remaserasi memungkinkan senyawa yang dihasilkan lebih banyak. Menurut Wahyuni dan Widjanarko (2015), semakin lama waktu ekstraksi maka akan membuat banyak sel dari bagian tanaman yang diekstraksi pecah sehingga melarutkan lebih banyak kandungan senyawa atau bahan aktif. Hal ini kemungkinan menjadi penyebab senyawa dari ekstrak etanol daun binahong pada penelitian ini mungkin

masih terhitung sedikit karena maserasi hanya 3 hari dan remaserasi 2 hari.

Mekanisme Kerja Antibakteri

Tanaman binahong dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* didukung oleh kandungan senyawa fitokimia seperti flavonoid, tannin, alkaloid dan saponin. Senyawa fitokimia tersebut mempunyai mekanisme kerja dalam menghambat bakteri target.

Senyawa bioaktif tanin pada ekstrak daun binahong dapat mengganggu kerja enzim *reverse transcriptase* dan DNA topoisomerase sampai akhirnya sel bakteri tidak menjadi sel yang sempurna (Kumalasari *et al.*, 2020). Tannin juga memiliki kemampuan untuk mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga membuat permeabilitas sel tersebut terganggu dan berujung sel tidak bisa melanjutkan aktivitas kehidupan sehingga menyebabkan pertumbuhannya tidak lancar dan akhirnya mati (Ajizah, 2004). Saponin bertindak antibakteri dengan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri, juga merusak permeabilitas membran yang sangat penting dalam perkembangan bakteri (Harborne, 1996). Saponin dapat masuk lewat membran luar dan dinding sel bakteri, selanjutnya mengikat membran sitoplasma dan merusak kestabilan dari membran sel dan membuat sitoplasma menjadi bocor kemudian keluar dari sel bakteri sehingga menyebabkan sel dari bakteri menjadi mati (Cavalieri *et al.*, 2005). Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan melarutkan enzim dan protein dari dalam sel bakteri (Madduluri *et al.*, 2013).

Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antibakteri yaitu dengan melepaskan energi transduksi ke membran sitoplasma bakteri dan menghambat motilitas dari bakteri (Erlianda *et al.*, 2017). Flavonoid juga memiliki efek antibakteri dengan mengganggu metabolisme energi yaitu dengan menghambat pemakaian oksigen dari bakteri, dan menyebabkan metabolisme tidak berjalan dengan baik sehingga pembentukan molekul dari bakteri tidak sempurna (Cushnie & Lamb, 2005). Alkaloid dapat mengganggu kerja enzim topoisomerase dari sel bakteri dan juga

berperan sebagai interkelator dari DNA. Proses kerja dari senyawa alkaloid membunuh bakteri juga dengan merusak bagian yang menjadi pembentuk peptidoglikan sel bakteri. Hal ini membuat lapisan dinding sel dari bakteri tidak tersusun dengan sempurna dan mengakibatkan sel bakteri menjadi tidak berfungsi dan mati (Ningsih *et al.*, 2016). Alkaloid menyebabkan sel bakteri tidak terbentuk dengan sempurna karena alkaloid merusak bagian yang menyusun peptidoglikan, serta mengganggu sintesis peptidoglikan. Bentuk sel menjadi tidak sepenuhnya utuh karena dinding selnya hanya tersusun oleh membran sel dengan tidak tersusunnya peptidoglikan (Retnowati *et al.*, 2011).

Kesimpulan

Ekstrak etanol daun binahong memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter daya hambat terbaik $14,66 \pm 0,57$ mm (kuat), MIC 20%, dan MBC 60% serta *Propionibacterium acnes* dengan diameter daya hambat terbaik $11,66 \pm 0,57$ mm (kuat), MIC 5%, dan MBC 5%. Aktivitas antibakteri ini disebabkan oleh karena kandungan senyawa fitokimia kandungan senyawa fitokimia seperti flavonoid, tannin, alkaloid dan saponin.

Daftar Pustaka

- Afriyanti, RN. (2015). *Acne vulgaris* pada Remaja. *Jurnal Majority*, 4(6):10-17.
- Aini, S.Q. (2014). Pengaruh salep ekstrak daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap pembentukan jaringan luka bakar tikus sprague dawley. [Skripsi] Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Ainurrochmah, A., Ratnasari, E., & Lisdiana, L. (2013). Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Shigella flexneri* dengan Metode Sumuran. *Lentera Bio*, 2(3):233-237.
- Ajizah, A., (2004). Sensitivitas *Salmonella thypimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *Journal Biosciences*, 1(1): 31-38.
- Aristyawan, A.D., Sugijanto, N.E., & Suciati. (2017). Potensi Antibakteri dari Ekstrak

- Etanol Sponse *Agelas Cavernosa*. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 4(1):39-43.
- Ariyanti, D., Salasia, S.I.K., & Tato, S. (2011). Characterization of Haemolysin of *Staphylococcus aureus* Isolated from Food of Animal Origin. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 16(1):32-37.
- Asri, R. M., Yahya, H., Rehan, M. M., & Yahya, H. N. (2019). Antibacterial Properties of Ethanolic Extract of Mushrooms Sold in Malaysian Local Market. *East African Scholars Journal of Agriculture and Life Sciences*, 2(11): 516-523. <https://doi.org/10.36349/easjals.2019.v02i11.001>
- Athikomkulchai, S., Watthanachaiyingcharoen, R., Tunvichien, S., Vayumhasuwan, P., Karnsomkiet, P., & Sae-Jong, P. (2008). The Development of Anti - Acne Products from *Eucalyptus globulus* and *Psidium guajava* Oil. *Journal of Health Research*, 3(22):109-113.
- Ayudianti, P. M & Indramaya, D. (2014). Studi Retrospektif: Faktor Pencetus Akne Vulgaris. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit & Kelamin*, 26 (1):41-47.
- Bauer, A.W., Kirby, M. D., Sherrish, J.C., & Turck, M.(1966). Antibiotic Susceptibility Testing By A Standardized Single Disk Method. *The American Journal of Clinical Pathology*, 45(4):493-496.
- Brooks, G.F., Janet, S. B., & Stephen A.M. (2008). Mikrobiologi Kedokteran. Alih Bahasa Huriawati Hartono. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Capoor, M.N., Ruzicka, F., Sandhu, G., Rollason, J., Mavrommatis, K., Ahmad, F.S., Schimtz, J.E., Raz, A., Bruggeman, H., Lambert, P.A., Fischetti, V.A., & Staby, O. (2018). Importance of *Propionibacterium acnes* hemolytic in human intervertebral discs: A microbiological study, *Public Library of Science (PLOS ONE)*, 13(11):1-10.
- Cavaliere, S.J., I.D. Rankin., R.J. Harbeck., R.S. Sautter., Y.S. McCarter., S.E. Sharp., J.H. Ortez., & C.A. Spiegel. (2005). Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. American Society for Microbiology, USA.
- Cristina, O. (2006). Characterisation of Antibiotic Resistant *Propionibacterium acnes* from Acne Vulgaris and Other Disease. Karolinska Institutet. Stockholom.
- Cushnie, T.P.T., & Lamb, A.J. (2005). Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, (26):343-356.
- Dali, S., Natsir, H., Usman, H., & Ahmad, A. (2011). Bioaktivitas Antibakteri Fraksi protein Alga Merah *Gelidium amansii* dari Perairan Cikoang Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 15(1):47-52.
- Darsana, I.G.O., Besung, I.N.K., & Mahatmi H. (2012). Potensi daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) (Steenis) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro. *Indonesia Medicinus Veterinus*, 1(3):337-351.
- Daryono, E.D., Pursitta, A.T., & Isnaini, A. (2014). Ekstraksi Minyak Atsiri pada Tanaman Kemangi dengan Pelarut N-Heksana. *Jurnal Teknik Kimia*, 9 (1):1-7.
- Djajadisastra, J., Mun'im, A., & Dessy, N.P. (2009). Formulasi gel topikal dari ekstrak Nerii Folium dalam sediaan anti jerawat. *Jurnal Farmasi Indonesia* 4(4): 210-216.
- Djannatun, T., Rochani, J.T., Wikaningrum, R., Widiyanti, D., & Pane, A.R. (2008). Pemanfaatan Darah Manusia Sebagai Pengganti Darah Domba Dalam Pembuatan Media Agar Darah Plate (ADP). *Jurnal Kedokteran Yarsi*, 16(2):1-7.
- Dewi, A.K. (2013). Isolasi, Identifikasi dan Uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxillin dari sampel susu kambing Peranakan etawa (PE) Penderita masitis di Wilayah Grimulyo Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sains Veteriner*, 31(2) : 138-150.
- Dhillon, K. S., & Varshney, K. R. (2013). Study of Microbiological Spectrum in Acne Vulgaris: An In Vitro Study. *Scholars Journal of Applied Medical Sciences (SJAMS)*, 1(6), 724-727. <https://doi.org/10.36347/sjams.2013.v01i06.0017>

- Erlianda D., Rizal, M.F., & Budiardjo, S.B. (2017). Antibacterial Effect of Flavonoids from Propolis Produced by Trigona on ATPase Activity of *Streptococcus Mutans*. *International Journal Applied Pharmaceutics*, 9 (2): 6-9.
- Fitriyani, A., Winarti, L., Muslichah, S., & Nuri. (2011). Uji Anti Inflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav*) Pada Tikus Putih. *Traditional Medicine Journal*, 16(1):34-42.
- Gritter, R.I., Bobbie, J.N., & Schwarting, A.E. (1991). Pengantar Kromatografi. Terj. Kosasih. Padmawinata. Edisi II. Bandung : ITB. Press.
- Guo, M., Lu, Y., Yang, J., Zhao, X., & Lu, Y. (2016). Inhibitory effects of *Schisandra chinensis* extract on ance-related inflammation and UVB -induced photoageing. *Pharmaceutical Biology*, 54(12):2987-2994.
- Hamidah, M.N., Rianingsih, L., & Romadhon. (2019). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Peda dengan Jenis Ikan Berbeda terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 1(2):11-21.
- Harborne, J., (1996). Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Cetakan kedua. Penerjemah: Padmawinata, K. & Soediro, I. Edisi I. Penerbit ITB Bandung
- Hariyati, T., Soelistya, D., Jekti, D., & Andayani, Y. (2015). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Jambu Air (*Syzygium Aqueum*) terhadap Bakteri Isolat Klinis. *Journal Penelitian Pendidikan IPA (JPPIPA)*, 1(2): 31-38.
- Hendiani, I., Susanto, A., Carolina, D.N., Ibrahim, R., & Balafif, F.F (2020). Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of Mangosteen (*Garcinia mangostana Linn.*) rind extract against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Padjajaran Journal of Densitry*, 32(2):131-135.
- Hidayat, R., & Alhadi, F. (2012). Identifikasi *Streptococcus Equi* dari Kuda yang Diduga Menderita Stangles. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JUPI)*, 17(3):199-203.
- Huda, C., Salni & Melki. (2012). Penapisan Aktivitas Antibakteri dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Karang Lunak *Sarcophyton sp.* *Maspari Journal*, 4(1):69-76.
- Iman, E.R.S., Waskita, M.A., & Lamid, M. (2014). Daya Antibakteri Supernatan Isolat *Bacillus Subtilis* dari Tanah Terhadap Bakteri *Aeromonas Hydrophila* dan *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro. *Veterinaria Medika*, 7(2):106-113.
- Irianto & Koes. (2006). Mikrobiologi. Bandung: Yrama Widya.
- Jamco, J. C. S & Balami, A. M. (2022). Analisis Kruskal-Wallis untuk Mengetahui Konsentrasi Belajar Mahasiswa Berdasarkan Bidang Minat Program Studi Statistik FMIPA UNPATTI. *PARAMETER: Jurnal Matematika, Statistika Dan Terapannya*, 1(1): 39-44. <https://ojs3.unpatti.ac.id/index.php/parameter>
- Jawetz, M & Aldeberg, J. L. (2005). Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 22. Jakarta : EGC.
- Kelompok Studi Dermatologi Kosmetik Indonesia. (2018). AKNE. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2011). Pedoman Pelayanan. Kefarmasian untuk Terapi Antibiotik. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kumalasari, E., Aina, A.N., & Aisyah N. (2020). Uji Aktivits Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia (L.) Merr*) terhadap pertumbuhan *Propionibacterium acne*. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 3(2):261-270.
- Madduluri, S., Rao, K., Babu., & Sitaram, B. (2013). In vitro evaluation of antibacterial activity of five indogenous plants extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(4):679-684.
- Maleki, S., Seyyednejad, S.M., Damabi, N.M., & Motamedi, H. (2008). Antibacterial Activity of The Fruits of Iranian Torilis

- leptophylla Against Some Clinical Pathogens. *Pakistan Journal of Biology Sciences*, 11(9):1286-1289.
- Meilina, N.E & Hasanah, A.N. (2018). Review Artikel: Aktivitas antibakteri ekstrak Buah Pepaya (*Carica Papaya* L.) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat. *Jurnal Farmaka*, 16(2):322-328.
- Mutmainnah, B. (2017). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L) Dengan Metode Uji Warna. *Jurnal Media Farmasi Poltekkes Makassar*, 13(2):23-28.
- Ningsih, G., Utami, S.R., & Nugrahani, R.A. (2015). Pengaruh Lamanya Waktu Ekstraksi Remaserasi Kulit Buah Durian Terhadap Rendaman Saponin dan Aplikasinya Sebagai Zat Aktif Anti Jamur. *KONVERSI*, 4(1):8-16.
- Ningsih, D.R., Zufahir., & Dwi, K. (2016). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. *Molekul*, 11(1): 101-111.
- Nomer, N.M.G.R., Duniaji, A.S., & Nocianitri, K.A. (2019). Kandungan Senyawa Flavonoid dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Serta Aktivitas Antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8(2):216-225.
- Novaryatiin, N., Handayani, R., Chairunnisa, R. (2018). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Umbi Hati Tanah (*Angiotepria* sp. Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Surya Media*, 3(2): 23-31.
- Noviyanty, Y., Herlina., & Adha, A. Y. (2022). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Oceana Biomedicina Journal*, 5(2):93-106.
- Prijayanti, A.J. (2011). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Binahong ((*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap *Propionibacterium acnes* ATCC 6919 dan *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 [Skripsi]. Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Puspitasari, A.D & Proyogo, L.S. (2017). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Kadar Fenolik Total Ekstraksi Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 2(1):1-8.
- Putri, W.S., Warditiani, N.K., & Larasanty, L.P.F. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4):56-60.
- Retnowati, Y., Bialangi, N., & Posangi N.W. (2011). Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Jurnal Saintek*, 6(2).
- Rollando, R., Prasetyo, Y.S.A., & Sitepu, R. (2019). Uji Antibakteri Minyak Atsiri Masoyi (*Massoia aromatica*) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 23(2):52-57.
- Samirana, P.O, Swastini. D.A., & Satriani, N. W. (2017). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terhadap Makroskopik dan Biokimia Ginjal Mencit Jantan Galur Balb/C. *Jurnal Farmasi Udayana*, 6(2) : 28-35.
- Saraswati, D. (2011). Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih terhadap Daya Hambat *Eschericia coli*. *Jurnal Health & Sport*, 3(2):285-362.
- Savitri, E., Fakhurrrazi, & Harris, A. (2018). Uji Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 2(3):373-379.
- Savitri, I., Suhendra, L., & Wartini, N.M. (2017). Pengaruh Jenis Pelarut Pada Metode Maserasi Terhadap Karakteristik Ekstrak *Sargassum polycystum*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 5(3):93-101.
- Selawa, W., Revolta, M., Runtuwene, J., & Citraningtyas, G. (2013). Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*, 2(01):18-22.

- Setiabudy R. (2012). Farmakologi dan Terapi. Edisi 5. Universitas Indonesia. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Shamsi, M.S., Goel, S., Singh, A., Gupta, A., Bhardwaj, A., & Chhoker, V.K., Surana, A., Singh, L.K. (2015). An appraisal of microbiological spectrum in *acne vulgaris* from a tertiary care teaching institution. *Journal Institute Agama Islam Ma'arif*, 2(7) :82-86.
- Simanjuntak, J.M. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Staphylococcus aureus*. [Skripsi]. Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta, Indonesia.
- Sirait, A.M. (2001). Analisis Varians (ANOVA) dalam Penelitian Kesehatan. *Media Litbang Kesehatan*, 9(2):39-43.
- Sitohang, I.B.S., Fathan, H., Effendi, E., & Wahid, M. (2019). The Susceptibility of pathogens associated with *acne vulgaris* to antibiotics. *Medical Journal of Indonesia*, 28(1):21-7.
- Socenta, D.P., Supriyadi, A., & Raharjo, B. (2017). Efektivitas Kombinasi Ekstrak Bahan Herbal (Mengkudu, Pepaya, Kunyit) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro. *Jurnal Biologi*, 6(2):7-16.
- Suardi. (2019). Pengaruh Kepuasan Kerja terhadap Kinerja Pegawai pada PT.BANK MANDIRI, Tbk. Kantor Cabang Pontianak. *Journal Business Economics and Entrepreneurship*, 1(2).
- Sulistiyarsi, A & Pribadi, N.W. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Pharmaceutical Science and Medical Research*, 1(1) :26-36.
- Suparjo, Royani J.I., Rosmalawati, S., Tajuddin, T., & Riyadi, A. (2016). Pengaruh Auksin dan Sitokinin Terhadap Perbanyakan Mikro Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 3(2):57-65.
- Surahmida, S., Umarudin, U., & Junairiah, J. (2019). Senyawa Bioaktif Daun Kumi Kucing (*Orthosiphon Stamineus*). *Jurnal Kimia Riset*, 4(1):81-88.
- Susanto, R.C., Made, G.A., & Ari, M. (2013). Penyakit Kulit Dan Kelamin. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Veronita, F., Wijayanti, N., & Musiti, S. (2017). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Daun Binahong serta aplikasinya sebagai Hand Sanitizer. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(2):138-144.
- Widjajanto, H. (2008). Identifikasi dan pola kepekaan *Propionibacterium acnes* terhadap antibiotika dari isolat *Acne vulgaris* tipe papulopustular. [Skripsi]. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Wahyuni, D.T & Widjanarko, S.B. (2015). Pengaruh jenis pelarut dan lama ekstraksi terhadap ekstrak karotenoid labu kuning dengan metode gelombang ultrasonic. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2):390-401.
- Yani, T. N., Anwar, E., & Saputri, F. C. (2016). Formulasi Emulgel yang Mengandung Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan Uji Aktivitasnya terhadap *Propionibacterium acnes* secara In Vitro. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 6(2): 89-97.
- Yuda, P.E.S.K., Cahyaningsih, E., & Winariyanthi, N.L.P.Y. (2017). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 3(2): 62-63.