

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK PETROLEUM ETER, ETIL ASETAT DAN
ETANOL 70% RHIZOMA BINAHONG (*Anredera cordifolia*
(Tenore) Steen) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC
25923 DAN *Escherichia coli* ATCC 11229 SERTA
SKRINING FITOKIMIANYA**

SKRIPSI



Oleh:

ARI SETIAJI

K 100 050 288

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2009**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Infeksi adalah proses invasi dan pembiakan mikroorganisme yang terjadi di jaringan tubuh manusia yang secara klinis mungkin tidak terlihat atau dapat menimbulkan cedera seluler lokal akibat kompetisi metabolisme, toksin, replikasi intrasel atau respon antigen-antibodi (Dorlan, 2002). Infeksi merupakan penyebab utama penyakit di dunia terutama di daerah tropis, seperti Indonesia (Kuswandi *et al.*, 2001). Agen penyebab infeksi antara lain bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dan *Escherichia coli* (*E. coli*) (Jawetz *et al.*, 2005).

S. aureus merupakan bakteri patogen Gram-positif yang bersifat invasif dan merupakan flora normal pada kulit, mulut, dan saluran nafas bagian atas. *S. aureus* menyebabkan pneumonia, meningitis, endokarditis dan infeksi kulit (Jawetz *et al.*, 2005). *S. aureus* merupakan patogen paling utama pada kulit (Harahap, 2002). Sedangkan *E. coli* adalah bakteri Gram-negatif, berbentuk batang pendek, berderet seperti rantai. *E. coli* merupakan flora normal di usus manusia yang menyebabkan infeksi saluran kencing (ISK) dan diare (Jawetz *et al.*, 2005).

Untuk mengobati penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri telah dilakukan terapi menggunakan antibiotik. Masalah yang muncul adalah banyak terjadi kasus bakteri yang resisten terhadap antibiotik (Kuswandi *et al.*, 2001). Timbulnya resistensi bahkan multiresistensi yang menimbulkan banyak masalah dalam pengobatan penyakit infeksi. Oleh karena itu multiresistensi terhadap

antibiotik menjadi masalah berat (Sudarmono, 1993). Sehingga diperlukan usaha untuk mengembangkan obat tradisional berasal dari tanaman yang dapat membunuh bakteri resisten terhadap antibiotik. Salah satu tanaman yang secara empiris digunakan sebagai obat antibakteri adalah binahong.

Bagian tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) yang bermanfaat sebagai obat penyembuh luka bekas operasi, tipus, radang usus, asam urat, disentri dan ambeien pada umumnya yaitu rhizoma dan daun (Anonim, 2008). Belum diketahui secara pasti kandungan kimia binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen). Tanaman dengan genus sama yaitu *Anredera scandens* (L) Mor telah diteliti mengandung alkaloid, polifenol, dan saponin (Annisa dan Nurul, 2007). Beberapa jenis alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol merupakan senyawa yang berkhasiat sebagai antimikroba (Robinson, 1995).

Menurut Tshikalange *et al.* (2004), ekstrak air dan kloroform akar binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) memiliki daya hambat terhadap bakteri Gram-positif (*B. cereus*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, dan *S. aureus*) serta bakteri Gram-negatif (*Enterobacter cloacae*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Serratia marcescens*, dan *Enterobacter aerogenes*) pada konsentrasi 6% dan tidak menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus*. Berdasarkan data tersebut maka dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak rhizoma binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) terhadap bakteri Gram-positif (*S. aureus*) dan bakteri Gram-negatif (*E. coli*) serta skrining fitokimianya.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka penelitian ini diarahkan untuk menjawab :

1. Berdasarkan skrining fitokimia, golongan senyawa apakah yang terkandung dalam ekstrak petroleum eter, etil asetat, dan etanol 70% rhizoma binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen)?
2. Apakah ekstrak petroleum eter, etil asetat, dan etanol 70% rhizoma binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 11229 ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk :

1. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak petroleum eter, etil asetat, dan etanol 70% rhizoma binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen).
2. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak petroleum eter, etil asetat, dan etanol 70% rhizoma binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 11229.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Binahong

a. Sistematika tanaman binahong

Tanaman binahong diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisio	: Spermatophyta
Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub-kelas	: Hamamelidae
Ordo	: Caryophyllales
Familia	: Basellaceae
Genus	: <i>Anredera</i>
Spesies	: (<i>Anredera cordifolia</i> (Tenore) Steen) (Backer, 1986)

b. Nama Daerah

Anredera cordifolia (Tenore) Steen di Indonesia disebut dengan nama binahong, sedangkan di Cina disebut dengan nama *teng san chi* dan di Inggris disebut dengan nama *madeira vine* (Anonim, 2008).

c. Morfologi Tanaman

Binahong merupakan tanaman yang diperkirakan berasal dari Amerika Selatan. Binahong mudah tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi, tanaman binahong dibudidayakan secara generatif (biji), tetapi lebih sering ditanam secara vegetatif dengan akar atau rhizoma (Anonim, 2008).

Morfologi tanaman binahong adalah sebagai berikut :

1). Habitus

Habitus tanaman binahong berupa tumbuhan menjalar, berumur panjang (perennial), dan tanamannya bisa mencapai panjang ± 5 m (Anonim, 2008).

2). Batang

Tanaman binahong memiliki batang yang lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, terkadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar (Anonim, 2008).

3). Daun

Tanaman binahong berdaun tunggal, bertangkai sangat pendek (sessile), pertulangan menyirip, tersusun berseling, berwarna hijau muda, berbentuk jantung (cordata), memiliki panjang sekitar 5-10 cm dan lebar sekitar 3-7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berbelah, tepi rata atau bergelombang, dan permukaan halus dan licin (Anonim, 2008).

4). Bunga

Tanaman binahong memiliki bunga majemuk berbentuk tandan atau malai panjang, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna putih sampai krem berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota sekitar 0,5 - 1 cm dan memiliki bau yang harum (Anonim, 2008).

5). Akar

Tanaman binahong mempunyai akar tunggang yang berdaging lunak dan berwarna coklat kotor (Anonim, 2008).

6). Rhizoma

Tanaman binahong memiliki rhizoma (Anonim, 2008). Rhizoma adalah batang beserta daun yang terdapat di dalam tanah, bercabang-cabang dan tumbuh mendatar, dari ujungnya dapat tumbuh tunas yang muncul di atas tanah dan dapat

merupakan suatu tumbuhan baru. Bahwasannya rhizoma adalah penjelmaan dari batang dan bukan akar, yang memiliki ciri-ciri sebagai berikut :

- a). Beruas-ruas, berbuku-buku, akar tidak pernah bersifat demikian.
- b). Berdaun, tetapi daunnya telah menjelma menjadi sisik-sisik.
- c). Mempunyai kuncup-kuncup.
- d). Tumbuhnya tidak ke pusat bumi atau air, terkadang tumbuh ke atas, muncul di atas tanah.

Rhizoma berfungsi sebagai alat perkembangbiakan dan tempat penimbunan zat-zat cadangan makanan (Tjitrosoepomo, 1992).

d. Manfaat dan khasiat tanaman

Pada masyarakat umumnya binahong digunakan sebagai penyembuh luka dalam dan luar seperti setelah operasi, thypus, radang usus, asam urat, disentri dan ambeien (Anonim, 2008).

2. Bakteri

Bakteri adalah prokariot, DNANYa tidak terletak di dalam nukleus. Banyak bakteri mengandung lingkaran DNA ekstrakromosomal yang disebut plasmid. Di dalam sitoplasma tidak terdapat organel lain selain ribosom, yang berukuran lebih kecil dibandingkan sel-sel eukariotik. Bakteri selain mikoplasma, dikelilingi oleh suatu dinding sel kompleks, yang berbeda antara bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Banyak bakteri memiliki flagella, filia atau kapsul eksternal pada dinding sel (Hart dan Shears, 2004).

Bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif memiliki suatu membran plasma yang dibentuk oleh lapisan lemak dua lapis (*lipid bilayer*) bersama dengan

protein. Pada keduanya, komponen struktural utama dari dinding sel adalah kerangka tiga dimensi dari polisakarida N-asetilglukosamin, asam N-asetilmuramat, dan asam amino yang dinamakan peptidoglikan (Hart dan Shears, 2004).

Bakteri Gram-positif, hampir seluruh dinding selnya terdiri dari dua lapisan peptidoglikan dengan polimer-polimer asam teikoat yang melekat padanya. Bakteri Gram-negatif memiliki dinding sel yang lebih kompleks. Lapisan peptidoglikannya lebih tipis dibandingkan bakteri Gram-positif dan dikelilingi oleh suatu membran luar yang terdiri dari lipopolisakarida dan lipoprotein. Komponen lipopolisakarida dari dinding sel Gram-negatif merupakan molekul endotoksin yang memberikan sumbangan pada patogenesis bakteri (Hart dan Shears, 2004).

a. *S. aureus*

Divisio : Protophyta

Subdivisio : Schizomycetea

Classis : Schizomycetes

Ordo : Eubacteriales

Familia : Micrococcaceae

Genus : Staphylococcus

Species : *Staphylococcus aureus* (Salle, 1961).

S. aureus adalah bakteri patogen Gram-positif yang merupakan flora normal pada kulit, mulut, dan saluran nafas bagian atas bersifat invasif. *S. aureus* mudah tumbuh pada kebanyakan pembenihan bakteriologik, dalam keadaan

aerobik atau mikroaerobik. *S. aureus* tumbuh paling cepat pada suhu kamar 37°C, paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar (20°C) dan pada media dengan pH 7,2-7,4. Koloni pada perbenihan padat berbentuk bulat, halus menonjol dan berkilau-kilauan membentuk pigmen (Jawetz, *et al.*, 2005).

S. aureus berbentuk sferis, bila menggerombol dalam susunannya agak rata karena tertekan. Diameter kuman antara 0,8-1,0 mikron. Susunan gerombolan tidak teratur biasanya ditemukan pada sediaan yang dibuat dari perbenihan padat, sedangkan dari perbenihan kaldu biasanya ditemukan tersendiri atau tersusun sebagai rantai pendek (Anonim, 1994).

Setiap jaringan atau alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri *S. aureus* dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas, yaitu peradangan dan pembentukan abses (Anonim, 1994). *S. aureus* dapat menyebabkan pneumonia, meningitis, endokarditis, dan infeksi kulit (Jawetz, *et al.*, 2001).

b. *E. coli*

Divisio : Protophyta
Subdivisio : Schizomycetea
Classis : Schizomycetes
Ordo : Eubacteriales
Familia : Enterobacteriaceae
Genus : Escherichia
Species : *Escherichia coli* (Salle, 1961).

E. coli adalah bakteri Gram-negatif, berbentuk batang pendek, berderet seperti rantai. *E. coli* dapat memfermentasi glukosa dan laktosa membentuk asam

dan gas. *E. coli* dapat tumbuh baik pada media Mc. Conkey dan dapat memecah laktosa dengan cepat, juga dapat tumbuh pada media agar darah. *E. coli* dapat merombak karbohidrat dan asam-asam lemak menjadi asam dan gas serta dapat menghasilkan gas karbondioksida dan hidrogen (Pelczar dan Chan, 1988).

E. coli banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal, tetapi bila kesehatan menurun, bakteri ini dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. *E. coli* umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada saluran kencing, paru, saluran empedu, dan saluran otak (Jawetz *et al.*, 2005). *E. coli* dapat menyebabkan penyakit seperti diare, infeksi saluran kemih, pneumonia, meningitis pada bayi yang baru lahir dan infeksi luka (Anonim, 1994).

3. Antibakteri

Antibakteri adalah obat atau senyawa yang digunakan untuk membunuh bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Definisi ini berkembang bahwa antibakteri merupakan senyawa kimia yang dalam konsentrasi kecil mampu menghambat bahkan membunuh suatu mikroorganisme (Ganiswarna *et al.*, 1995). Antimikrobia yang ideal menunjukkan sifat toksisitas selektif, toksisitas yang selektif merupakan fungsi reseptor yang spesifik yang dibutuhkan untuk melekatnya obat atau karena hambatan biokimia yang terjadi bagi organisme namun tidak bagi inang (Ganiswarna *et al.*, 1995). Antimikroba yang ideal juga harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut:

- a. Mempunyai kemampuan untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang luas (*broad spectrum antibiotic*)

- b. Tidak menimbulkan terjadinya resistensi dari mikroorganisme patogen
- c. Tidak menimbulkan efek samping (*side effect*) yang buruk pada tubuh, seperti reaksi alergi, kerusakan syaraf, iritasi lambung, dan sebagainya
- d. Tidak mengganggu keseimbangan flora normal tubuh seperti flora usus atau flora kulit (Jawetz, *et al.*, 2005).

Mekanisme aksi obat antimikroba dapat dikelompokkan menjadi empat kelompok utama, yaitu :

1). Penghambatan terhadap sintesis dinding sel

Bakteri memiliki lapisan luar yang rigid, yaitu dinding sel. Dinding sel berisi polimer mucopeptida kompleks (peptidoglikan) yang secara kimia berisi polisakarida dan campuran rantai polipeptida yang tinggi, polisakarida ini berisi gula amino *N-acetylglucosamine* dan asam *acetylmuramic* (hanya ditemui pada bakteri). Dinding sel berfungsi mempertahankan bentuk mikroorganisme dan pelindung sel bakteri, yang mempunyai tekanan osmotik internal yang tinggi (3-5x lebih besar pada bakteri Gram-positif daripada bakteri Gram-negatif). Trauma pada dinding sel atau penghambatan dalam pembentukannya dapat menimbulkan lisis pada sel (Jawetz *et al.*, 2005).

Semua obat β -lactam menghambat sintesis dinding sel bakteri karena obat ini aktif melawan pertumbuhan bakteri. Langkah awal aksi obat ini menghambat sintesis dinding sel bakteri adalah berupa ikatan pada reseptor sel (Protein Pengikat Penisilin/*Protein Binding Penicillin/PBP*), setelah obat β -lactam melekat pada satu atau beberapa reseptor, reaksi transpeptidasi (meliputi hilangnya D-alanin dari pentapeptida) dihambat dan sintesis peptidoglikan dihentikan. Langkah

selanjutnya meliputi perpindahan atau inaktivasi inhibitor enzim otolitik pada dinding sel. Aktivasi enzim litik ini menimbulkan lisis jika lingkungan isotonik, sedangkan dalam lingkungan hipertonik yang sangat ekstrim mikrobial berubah menjadi protoplas atau spheroplas, yang hanya ditutupi oleh membran sel yang rapuh (Jawetz *et al.*, 2005).

2). Penghambatan terhadap fungsi membran sel

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma, yang berperan sebagai barrier permeabilitas selektif, memiliki fungsi transport aktif, dan kemudian mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi integritas dari membran sitoplasma dirusak akan menyebabkan keluarnya makromolekul dan ion dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian. Membran sitoplasma bakteri mempunyai struktur berbeda dibanding sel binatang dan dapat dengan mudah dikacaukan oleh agen tertentu. Oleh sebab itu, kemoterapi selektif adalah yang sangat memungkinkan. Contoh dari mekanisme ini adalah polimiksin pada Gram-negatif (Jawetz *et al.*, 2005).

3). Penghambatan terhadap sintesis protein

DNA, RNA dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar dan Chan, 1988). Tetrasiklin, kloramfenikol, aminoglikosida, eritromisin dan linkomisin merupakan antibiotik yang dapat menghambat sintesis protein (Jawetz *et al.*, 2005). Mekanisme kerjanya yaitu menghalangi terikatnya RNA pada tempat spesifik ribosom, selama pemanjangan

rantai peptida (Pelczar dan Chan, 1988). Bakteri mempunyai 70S ribosom, sedangkan sel mamalia mempunyai 80S ribosom yang mempunyai komposisi kimia dan spesifikasi fungsi yang berbeda. Inilah sebabnya antimikroba dapat menghambat sintesis protein dalam ribosom bakteri tanpa berpengaruh pada ribosom mamalia (Jawetz *et al.*, 2005).

4). Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat

Obat-obat yang memiliki aksi menghambat sintesis asam nukleat adalah rifampin, quinolon, pyrometamin, sulfonamid, dan trimetoprim. Mekanisme aksinya yaitu menghambat pertumbuhan bakteri dengan ikatan yang sangat kuat pada enzim *DNA dependent RNA polymerase* bakteri. Hal ini akan menghambat sintesis RNA bakteri. Resistensi pada obat-obat ini terjadi akibat perubahan pada *RNA polymerase* akibat mutasi kromosom yang sangat sering terjadi (Jawetz *et al.*, 2005).

Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya masing-masing dikenal sebagai Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Antimikroba tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatika menjadi bakterisida bila kadar antimikroba ditingkatkan melebihi KHM (Ganiswarna *et al.*, 1995).

4. Resistensi Antibakteri

Sejak awal penemuannya oleh Alexander Fleming pada tahun 1928, antibiotika telah memberikan kontribusi yang efektif dan positif terhadap kontrol infeksi bakteri pada manusia dan hewan. Namun, sejalan dengan perkembangan dan penggunaannya tersebut, banyak bukti atau laporan yang menyatakan bahwa

bakteri-bakteri patogen menjadi resisten terhadap antibiotik. Resistensi ini menjadi masalah kesehatan utama sedunia. Penggunaan antibiotika ini (pada manusia dan hewan) akan menghantarkan munculnya mikroorganisme resisten, tidak hanya mikroba sebagai target antibiotik tersebut, tetapi juga mikroorganisme lain yang memiliki habitat yang sama dengan mikroorganisme target (Naim, 2008).

Mikroorganisme resisten antibiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme yang tidak dihambat atau dimatikan oleh antibiotik pada konsentrasi obat yang tercapai dalam tubuh setelah dosis terapeutik. Stafilocokus pertama kali menjadi penting sebagai patogen nosokomial pada tahun 1940-an, menggantikan streptokokus, yang sebelumnya bertanggung jawab terhadap sebagian besar kasus infeksi (Gould dan Brooker, 2003).

Timbulnya resistensi bahkan multiresistensi dari populasi kuman terhadap berbagai jenis antibiotika menimbulkan banyak problem dalam pengobatan penyakit infeksi. Problem resistensi ini ditambah lagi dengan munculnya jenis kuman yang komensial yang menjadi sumber utama infeksi, maka multi resistensi terhadap antibiotika menjadi problem berat (Sudarmono, 1993).

Sebab-sebab terjadinya resistensi bakteri terhadap obat dapat dibagi menjadi:

a. Sebab non genetik

Hampir semua antibiotika bekerja dengan baik pada masa aktif pembelahan bakteri. Dengan demikian, populasi bakteri yang tidak berada pada

fase pembelahan pada umumnya akan resisten terhadap antibiotika tersebut (Sudarmono, 1993).

b. Sebab genetik

Resistensi bakteri terhadap antibiotika umumnya terjadi karena perubahan genetik baik secara kromosomal maupun ekstrakromosomal sehingga perubahan genetik tersebut dapat dipindahkan dari satu spesies bakteri kepada bakteri yang lain melalui berbagai mekanisme (Sudarmono, 1993).

1). Resistensi kromosomal

Mutasi spontan pada lokus DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*) yang mengontrol *susceptibility* terhadap obat tertentu dapat menyebabkan bakteri resisten terhadap obat tersebut (Sudarmono, 1993).

2). Resistensi ekstrakromosomal

Materi genetik dan plasmid dapat dipindahkan atau berpindah dari satu bakteri kepada bakteri yang lain melalui berbagai mekanisme seperti transduksi (plasmid ditransfer ke populasi bakteri oleh bakteriofage), transformasi (fragmen DNA bebas dapat melewati dinding sel bakteri dan bersatu dalam genom sel tersebut sehingga merubah genotipnya) dan konjugasi (transfer unilateral dari materi genetik antara bakteri sejenis maupun jenis lain) (Sudarmono, 1993).

5. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian terhadap aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode pokok yaitu dilusi dan difusi. Penting sekali menggunakan metode standar untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikrobia (Jawetz *et al.*, 2005).

a. Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Tahap akhir dari metode dilusi adalah antimikrobia dilarutkan dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan dengan cara dilusi agar memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama dan penggunaannya dibatasi pada penggunaan tertentu saja. Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai; namun kini ada cara yang lebih sederhana dan banyak dipakai, yakni menggunakan *microdilution plate*. Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikrobia yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.*, 2005).

b).Metode Difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standardisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik (Jawetz *et al.*, 2005).

Interpretasi terhadap hasil uji difusi baru didasarkan pada perbandingan terhadap metode dilusi. Beberapa data perbandingan bisa digunakan sebagai standar referensi. Grafik regresi linier dapat menunjukkan hubungan antara log KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) pada cara dilusi dan diameter zona hambatan pada cara difusi cakram (Jawetz *et al.*, 2005).

Penggunaan cakram tunggal pada setiap antibiotik dengan standarisasi yang baik, bisa menentukan apakah bakteri peka atau resisten dengan cara membandingkan zona hambatan standar bagi obat yang sama. Daerah hambatan sekitar cakram yang berisi sejumlah antimikroba tertentu tidak mencerminkan kepekaan pada obat dengan konsentrasi yang sama per milliliter media, darah atau urin (Jawetz *et al.*, 2005).

6. Media

Media adalah kumpulan zat-zat anorganik maupun organik yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri dengan cara tertentu dalam pemeriksaan laboratorium mikrobiologi. Penggunaan media ini sangat penting yaitu untuk isolasi, identifikasi maupun diferensiasi (Jawetz *et al.*, 2005).

Susunan dan kadar nutrisi dalam suatu media harus seimbang untuk mendapatkan pertumbuhan bakteri yang optimal. Hal ini perlu diperhatikan karena banyak senyawa-senyawa yang menjadi penghambat atau menjadi racun bagi bakteri kalau kadarnya terlalu tinggi (misalnya garam-garam dari asam lemak, gula dan lain-lain) (Jawetz *et al.*, 2005).

Syarat-syarat media yang harus dipenuhi untuk mendapatkan suatu lingkungan yang cocok bagi pertumbuhan bakteri adalah:

a. Susunan makanan.

Dalam suatu media yang digunakan untuk pertumbuhan, haruslah ada air, sumber karbon, sumber nitrogen, mineral, vitamin dan gas (Jawetz *et al.*, 2005).

b. Tekanan osmosis.

Dalam pertumbuhannya bakteri membutuhkan media yang isotonis, karena bila media tersebut hipotonis maka akan terjadi *plasmoptysis*, sedangkan bila media hipertonis maka akan terjadi *plasmolysis* (Jawetz *et al.*, 2005).

c. Derajat keasaman (pH).

Pada umumnya bakteri membutuhkan pH sekitar netral, namun ada bakteri tertentu yang membutuhkan pH sangat alkalis, seperti vibrio, membutuhkan pH 8-10 untuk pertumbuhan yang optimal (Jawetz *et al.*, 2005).

d. Temperatur.

Untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimal bakteri membutuhkan temperatur tertentu. Umumnya untuk bakteri yang patogen membutuhkan temperatur sekitar 37°C sesuai dengan temperatur tubuh (Jawetz *et al.*, 2005).

e. Sterilitas.

Sterilitas media merupakan suatu syarat yang sangat penting. Tidak mungkin melakukan pemeriksaan mikrobiologi apabila media yang digunakan tidak steril. Untuk mendapatkan suatu media yang steril maka setiap tindakan serta alat-alat yang digunakan harus steril dan dikerjakan secara aseptik (Jawetz *et al.*, 2005). Secara garis besar sterilisasi dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu pemanasan, filtrasi, radiasi, dan kimia (Anonim, 1995).

E. Landasan Teori

Penelitian tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak air dan kloroform akar *Anredera cordifolia* (Tenore) Steen terhadap bakteri Gram-positif (*B. cereus*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, dan *S. aureus*) serta Gram-negatif (*Enterobacter cloacae*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Serratia marcescens*, dan *Enterobacter aerogenes*) menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri uji pada konsentrasi 6% dan tidak menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus* (Tshikalange *et al.*, 2004).

Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri rhizoma binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) terhadap bakteri Gram-positif (*S. aureus* ATCC 25923) dan bakteri Gram-negatif (*E. coli* ATCC 11229) serta skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan kimianya.

F. Hipotesis

Ekstrak petroleum eter, etil asetat, dan etanol 70% rhizoma binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 11229.