



Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Daun Binahong serta Aplikasinya sebagai *Hand Sanitizer*

Fanna Veronita , Nanik Wijayati, dan Sri Mursiti

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang
Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Diterima: Juni 2017

Disetujui: Juli 2017

Dipublikasikan: Agustus
2017

Keywords:

binahong leaf
flavonoid
antibacterial
hand sanitizer


Abstrak

Daun binahong merupakan salah satu tanaman obat tradisional, karena memiliki kandungan senyawa flavonoid yang dapat digunakan sebagai antibakteri, antioksidan, dan antiinflamasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid dan daya antibakteri ekstrak daun binahong terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus* serta memformulasi menjadi sediaan *hand sanitizer*. Metode penelitian dimulai dengan maserasi sampel menggunakan pelarut n-heksana dan etanol, kemudian isolasi menggunakan pelarut etil asetat dan air. Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan menggunakan spektrofotometer *Forier Transform Infrared* (FT-IR) dan spektrofotometer *Ultra Violet-Visible* (UV-Vis). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak hasil isolasi daun binahong diduga merupakan senyawa flavonoid golongan auron. Ekstrak daun binahong memiliki daya hambat terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Sedangkan *hand sanitizer* daun binahong memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *S. aureus*.

Abstract

Binahong leaf is one of the traditional medicinal plants, because it contains flavonoid compounds that can be used as an antibacterial, antioxidant, and anti-inflammatory. This study was aimed to determine the antibacterial activity of flavonoids and binahong leaf extract against *Escherichia coli* bacteria and *Staphylococcus aureus* bacteria and to formulate into a hand sanitizer. The research method begins with maceration samples using n-hexane and ethanol, then isolation using ethyl acetate solvent and water. Identification of flavonoid compounds was performed using a *Forier Transform Infrared* (FT-IR) spectrophotometer and *Ultra Violet-Visible* (UV-Vis) spectrophotometer. The results was estimated showed that the leaf extract containing flavonoid compounds of Auron. Bianhong leaf extract has inhibitory capacity against *E. coli* and *S. aureus* bacteria. Hand sanitizer binahong leaf has antibacterial activity towards *E. coli* bacteria and didn't have inhibitory capacity towards *S. aureus* bacteria.

© 2017 Universitas Negeri Semarang

 Alamat korespondensi:

Gedung D6 Lantai 2 Kampus Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229

E-mail: fannaveronita27@gmail.com

p-ISSN 2252-6951

e-ISSN 2502-6844

Pendahuluan

Kesehatan merupakan aspek yang sangat penting bagi kehidupan. Berbagai macam jenis virus, bakteri, dan jamur menempel pada tangan setiap harinya melalui kontak fisik. Untuk mencegah penyebaran virus, bakteri, dan jamur, salah satu cara yang paling tepat adalah mencuci tangan dengan sabun dan air bersih yang mengalir. Jika air bersih tidak tersedia, dapat menggunakan sabun dan air yang tersedia (Wijaya; 2013). Hal ini dilakukan karena tangan seringkali menjadi agen yang membawa kuman dan menyebabkan patogen berpindah dari satu orang ke orang lain dan menimbulkan penyakit. Salah satu cara yang dapat dilakukan sebagai pencegahan adalah menjaga kebersihan tangan sebelum makan dan minum dengan menggunakan gel antiseptik tangan sebagai alternatif praktis menggantikan sabun dan air untuk mencuci tangan (Pramita; 2013).

Tanaman binahong merupakan salah satu tanaman obat yang mempunyai potensi besar ke depan untuk diteliti, karena dari tanaman ini masih banyak yang perlu digali sebagai bahan fitofarmaka. Berbagai pengalaman masyarakat, binahong dapat dimanfaatkan untuk membantu proses penyembuhan penyakit-penyakit berat (Manoi; 2009), sebagai antioksidan (Selawa, *et al.*; 2013), antibiotik, antibakteri, antivirus, dan antiinflamasi (Kurniawan & Aryan, 2015). Hasil uji fitokimia daun binahong ditemukan senyawa polifenol, alkaloid, dan flavonoid pada ekstrak daun binahong (Khunaifi; 2010). Garmana, *et al.* (2014) melakukan *screening* fitokimia daun binahong terkandung senyawa flavonoid, saponin, dan steroid/triterpenoid.

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, yang mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri, dan jamur. Mekanisme kerja dari flavonoid antara lain menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri dan mampu menghambat motilitas bakteri (Darsana, *et al.*; 2012). Adapun tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui adanya senyawa flavonoid di dalam daun binahong dan mengetahui uji daya antibakteri ekstrak dan sediaan *hand sanitizer* daun binahong terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Metode

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *rotary vacuum evaporator Heidolph*, UV-VIS *Spectroquant Pharo 300*, dan FT-IR *Perkin Elmer Frontier Spectrum Version 10.400*. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong, etil asetat, kloroform, amonia, serbuk Mg, HCl, FeCl₃, anhidrida asetat, H₂SO₄ dengan *grade pro analyst* buatan *Merck*. *n*-heksana, etanol 96%, CMC, metil paraben, propil paraben, propilen glikol, dan TEA dengan *grade* teknis. Biakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diperoleh dari RSUD Dr. Kariadi. Media yang digunakan dalam pembiakan bakteri adalah *nutrient agar*.

Prosedur kerja yang dilakukan sebagai berikut. Daun binahong yang diperoleh diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Unnes. Sekitar 5 kg daun binahong dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan tidak dikenai sinar matahari secara langsung selama 2 minggu, kemudian dihaluskan. Sebanyak 225 g serbuk daun binahong kering dimaserasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana dan etanol. Ekstrak etanol yang diperoleh dipekatkan dan diuji kandungan kimianya. Ekstrak etanol diisolasi menggunakan pelarut etil asetat:air dengan perbandingan 1:1. Ekstrak etil asetat yang diperoleh dipekatkan dan dianalisis menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR. Selanjutnya diuji daya antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dan diformulasikan menjadi sediaan *hand sanitizer*.

Pembuatan *hand sanitizer* dilakukan dengan mengembangkan CMC dalam air panas, kemudian diaduk. Ekstrak daun binahong dicampur dengan bahan lain sampai tercampur rata, kemudian dimasukkan ke dalam CMC. Campuran tersebut ditambahkan air sampai volume yang dikehendaki, kemudian ditambahkan TEA tetes demi tetes sambil diaduk perlahan sampai terbentuk gel yang jernih.

Hasil dan Pembahasan

Hasil identifikasi di laboratorium menunjukkan bahwa tanaman yang dilakukan dalam penelitian ini adalah tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Proses ekstraksi sampel dilakukan menggunakan metode maserasi, yaitu proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar (Depkes RI; 2010). Proses ekstraksi ini tidak dilakukan dengan metode soxhlet karena dikhawatirkan ada golongan senyawa flavonoid yang tidak tahan panas dan mudah teroksidasi pada suhu tinggi. Pada penelitian ini menggunakan metode maserasi karena selain murah dan mudah dilakukan, akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang mengalir ke dalam sel dapat

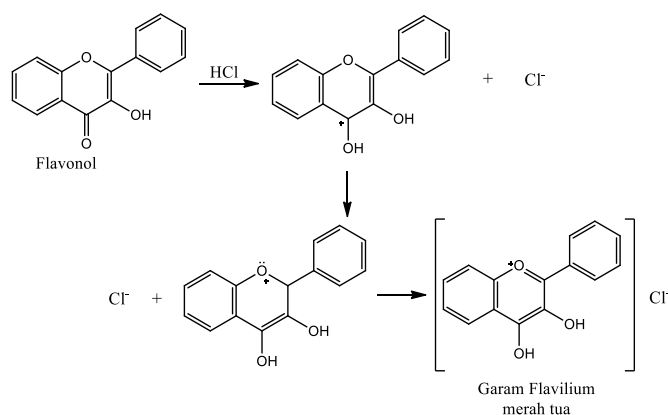
menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan larut sesuai dengan kelarutannya (Lenny; 2006).

Sampel dimaserasi menggunakan pelarut n-heksana bertujuan untuk mengikat senyawa-senyawa metabolit sekunder daun binahong yang bersifat non polar seperti steroid dan triterpenoid. Selanjutnya dilakukan penyaringan. Residu yang diperoleh kemudian dimaserasi kembali menggunakan etanol. Maserasi dilakukan menggunakan etanol karena merupakan pelarut pengestraksi yang mempunyai *extractive power* yang terbaik untuk hampir semua senyawa yang mempunyai berat molekul rendah seperti alkohol, saponin, dan flavonoid, serta merupakan pengestraksi terpilih untuk pembuatan ekstrak sebagai bahan baku sediaan *herbal medicine* (Arifianti, *et al.*; 2014). Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar, sehingga akan terikat dalam pelarut etanol. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak etanol kering. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia meliputi uji flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, fenolik, steroid, dan terpenoid. Hasil pengamatan uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan uji fitokimia serbuk dan ekstrak etanol daun binahong

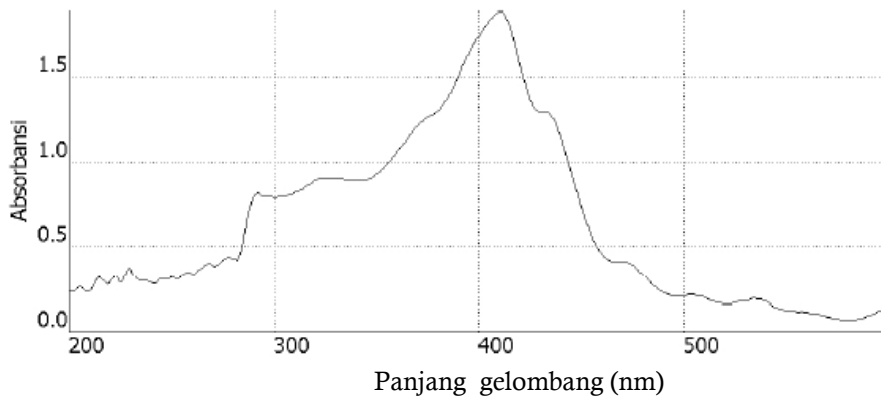
Golongan senyawa	Hasil identifikasi	
	Serbuk daun binahong	Ekstrak etanol daun binahong
Flavonoid	+	+
Alkaloid	+	+
Tanin	+	+
Saponin	+	+
Steroid	-	-
Terpenoid	-	-
Fenolik	-	-

Hasil uji kualitatif golongan senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan reagen atau pereaksi. Terjadinya perubahan warna berarti ekstrak positif mengandung senyawa yang termasuk dalam golongan flavonoid. Flavonoid sendiri memiliki struktur benzopyron, sehingga jika bereaksi dengan asam mineral yaitu asam klorida pekat dan sedikit serbuk Mg akan menghasilkan garam flavilium yang berwarna (Gambar 1) (Marliana, *et al.*; 2005).

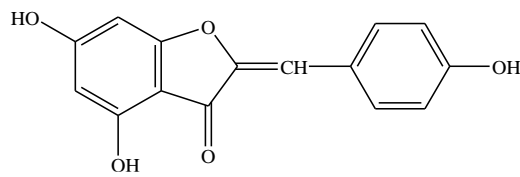


Gambar 1. Mekanisme reaksi pembentukan garam flavilium

Berdasarkan pengamatan, ekstrak etanol yang diperoleh masih mengandung banyak senyawa metabolit sekunder. Oleh karena itu ekstrak kasar selanjutnya dipartisi menggunakan air dan etil asetat dengan perbandingan 1:1 yang bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Etil asetat bersifat semi polar sehingga dapat menarik komponen glikon yang polar maupun aglikon yang non polar. Ekstrak etil asetat dipekatkan dan diperoleh ekstrak daun binahong. Ekstrak daun binahong kemudian diuji strukturnya dengan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR. Spektrum UV-Vis ekstrak daun binahong (Gambar 2) menunjukkan adanya dua serapan cahaya maksimum yaitu pada panjang gelombang 292 nm (pita II) dan 410 nm (pita I) yang diduga merupakan flavonoid golongan auron (Markham; 1988). Struktur senyawa auron tertera pada Gambar 3.

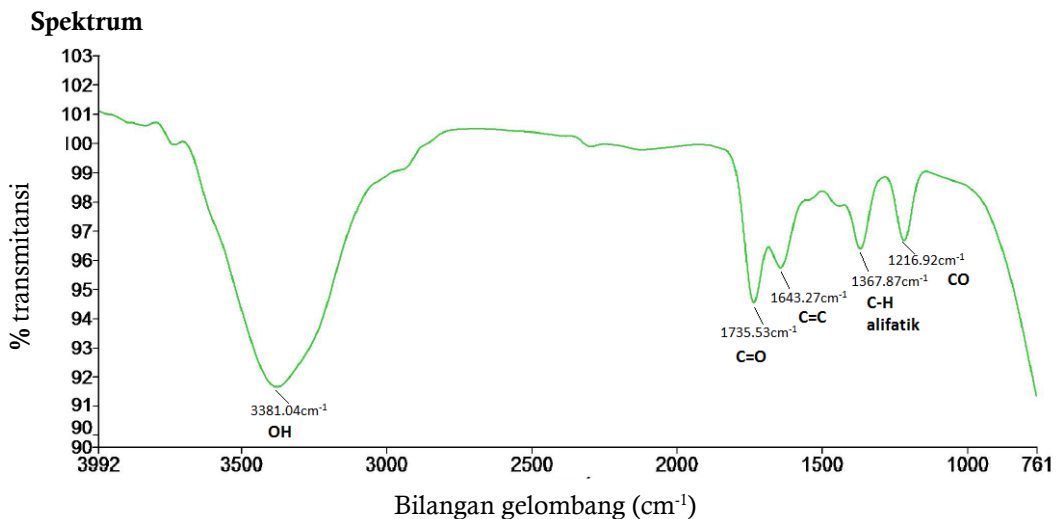


Gambar 2. Spektrum UV ekstrak daun binahong



Gambar 3. Struktur Auron

Dugaan golongan auron didukung oleh data spektrum IR ekstrak daun binahong yang menunjukkan adanya serapan kuat gugus OH pada daerah bilangan gelombang 3381 cm^{-1} dan serapan khas pada daerah bilangan gelombang 1735 cm^{-1} menunjukkan adanya C=O. Spektrum IR ekstrak daun binahong ditunjukkan pada Gambar 4, sedangkan keterangan lebih lengkap mengenai Gambar 4 disajikan dalam Tabel 2.



Gambar 4. Spektrum IR ekstrak daun binahong

Ekstrak daun binahong selanjutnya dilakukan uji antibakteri dan diformulasikan menjadi sediaan *hand sanitizer*. Uji antibakteri dilakukan dengan waktu inkubasi 1 x 24 jam. Hasil uji antibakteri daun binahong dijelaskan pada Tabel 3.

Tabel 2. Interpretasi spektrum IR Flavonoid

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)		Bentuk pita	Kemungkinan gugus fungsi
Pada spektra	Pada pustaka (Sastrohamidjojo; 1997 & Silverstein, <i>et al.</i> ; 1991)		
3381,04	3500-3000	Melebar	-OH
1735,53	1810-1640	Tajam	-C=O
1643,27	1650-1400	Tajam	C=C aromatik
1376,87	1400-1300	Tajam	-C-H alifatik
1216,92	1300-1000	Tajam	-C-O

Tabel 3. Diameter daerah hambat ekstrak daun binahong terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

Sampel	Diameter daerah hambat (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Ekstrak 25%	2,3	2,0
Ekstrak 50%	7,4	2,6
Ekstrak 100%	2,0	1,0
Kontrol negatif	5,7	2,3
Kontrol positif	0,9	0

Tabel 3 menunjukkan bahwa kontrol negatif yaitu etil asetat mempunyai daya hambat bakteri sehingga daya hambat ekstrak harus dikurangi dengan daya hambat kontrol negatif, yang ditunjukkan pada Tabel 4. Ekstrak daun binahong mempunyai aktivitas antibakteri yang cenderung lebih tinggi terhadap bakteri *E. coli*.

Tabel 4. Diameter daerah hambat ekstrak daun binahong terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* setelah dikurangi DDH kontrol negatif

Sampel	Diameter daerah hambat (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Ekstrak 25%	0	0
Ekstrak 50%	1,7	0,3
Ekstrak 100%	2,0	1,0

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh diameter daerah hambat ekstrak daun binahong dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hal ini karena diduga adanya kandungan senyawa flavonoid golongan auron dalam daun binahong yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Semakin pekat ekstrak yang dipakai maka semakin besar zona hambat bakteri yang terbentuk (Sudarwati & Sumarni, 2016) Sifat antibakteri ini termasuk bakteriostatik. Menurut Chusnie & Lamb (2005), mekanisme kerja flavonoid terbagi menjadi tiga yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi.

Hand sanitizer dibuat dalam 4 formula dengan variasi konsentrasi ekstrak daun binahong 0; 0,25; 0,5 dan 1%. Bahan yang digunakan sebagai *gelling agent* adalah CMC. Bahan lain yang digunakan dalam formula adalah propilenglikol yang berfungsi sebagai humektan yang akan menjaga kelembaban kulit, pengawet, antimikroba, dan kosolven yang dapat melarutkan bahan-bahan lain. Serta aquades sebagai pelarut pada basis gel. Penambahan TEA berfungsi untuk menetralkan basis serta dapat membentuk gel menjadi lebih mengambang dan bening. Propil paraben dan metil paraben ditambahkan dalam formula untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme pada sediaan *hand sanitizer* (Khaerunnisa, *et al.*; 2015). Formulasi sediaan *hand sanitizer* dapat dilihat pada Tabel 5.

Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri sediaan *hand sanitizer* dari keempat formula tersebut dan kontrol positif dengan menggunakan metode difusi cakram. Hasil uji aktivitas antibakteri sediaan *hand sanitizer* disajikan pada Tabel 6.

Tabel 5. Formulasi *hand sanitizer*

Bahan	Konsentrasi (%)				
	F1	F2	F3	F4	KP
Ekstrak daun binahong	0,00	0,25	0,50	1,00	-
CMC	1,50	1,50	1,50	1,50	-
TEA	0,50	0,50	0,50	0,50	-
Metil paraben	0,18	0,18	0,18	0,18	-
Propil paraben	0,02	0,02	0,02	0,02	-
Propilen glikol	15,00	15,00	15,00	15,00	-
Aquades ad	100,00	100,00	100,00	100,00	-

Keterangan: F = Formula ; KP = Kontrol positif

Tabel 6. Diameter daerah hambat *hand sanitizer* daun binahong terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

Sampel	Diameter daerah hambat (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
F1 (Kontrol negatif)	0	0
F2	0,5	0
F3	1,0	0
F4	1,0	0
Kontrol positif	0,9	0

Berdasarkan Tabel 6 menunjukkan pengujian aktivitas antibakteri *hand sanitizer* daun binahong terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* pada F1 (konsentrasi ekstrak 0%) tidak mempunyai aktivitas antibakteri. Hal ini karena *hand sanitizer* tidak mengandung ekstrak. Aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* pada F2 (konsentrasi ekstrak 0,25%) menunjukkan diameter 0,5 mm, pada F3 (konsentrasi ekstrak 0,5%) menunjukkan diameter 1 mm, pada F4 (konsentrasi ekstrak 1%) menunjukkan diameter 1 mm. *Hand sanitizer* daun binahong dan kontrol positif tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus*, karena mengalami resistensi.

Perbedaan daya hambat ekstrak dan *hand sanitizer* daun binahong terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* diduga karena perbedaan komponen dinding selnya. Hal ini karena dinding bakteri Gram positif banyak mengandung peptidoglikan, sedangkan dinding bakteri Gram negatif banyak mengandung lipopolisakarida (Pratiwi; 2008). Struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih tipis dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Selain itu komponen dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai kandungan lipid tinggi (11 – 22%) sedangkan kandungan lipid rendah (1 – 4%) pada bakteri Gram positif (Pelczar & Chan; 1986).

Simpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi daun binahong memiliki daya antibakteri. Senyawa flavonoid yang diperoleh diduga jenis senyawa auron. Ekstrak daun binahong memiliki daya hambat terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. Sedangkan *hand sanitizer* daun binahong memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* dan tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *S.aureus*.

Daftar Pustaka

- Arifianti, L., R.D. Oktarina, & I. Kusumawati. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi terhadap Kadar Sinensetin dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth). *E-Journal Planta Husada*, 2(1): 1-4
- Chusnie, T.P.T. & A.J. Lamb. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, (26): 343-356
- Darsana, I.G.O., I.N.K. Besung & H. Mahatmi. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara *In Vitro*. *Indonesia Medicus Veterinus*, 1(3): 337-351
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta
- Garmana, A.N., E.Y. Sukandar & I. Fidrianny. 2014. Activity of Several Plant Extract against Drug-Sensitive and Drug-Resistant Microbes. *International Seminar on Natural Product Medicines, Procedia Chemistry*, (13): 164-169

- Khaerunnisa, R.R., S.E. Priani & F. Lestari. 2015. *Formulasi dan Uji Efektivitas Sediaan Gel Antiseptik Tangan Mengandung Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis (Mangifera indica L.)*. Prosiding Penelitian SpeSIA Unisba: 553-561
- Khunaifi, M. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Kurniawan, B. & W.F. Aryana. 2015. Binahong (*Cassia alata* L) as Inhibitor *Eschericia coli* Growth, *J Majority*, 4(4): 100-104
- Lenny, S. *Isolasi dan Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metoda Uji Brine Shrimp*. Medan: FMIPA Universitas Sumatera Utara
- Manoi, F. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) Sebagai Obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, 15(1): 3-5
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB
- Marliana, S.D., V. Suryanti & Suryono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Lapis Tipis komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*, 3(1): 26-31
- Pelczar, M.J. & E.C.S. Chan. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: UI-Press
- Pramita, F.Y. 2013. Formulasi Sediaan Gel Antiseptik Ekstrak Metanol Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds). *Skripsi*. Pontianak: Universitas Tanjungpura
- Selawa, W., M.R.J. Runtuwene & G. Citraningtyas. 2013. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi Unsrat*, 2(1): 18-22
- Sastrohamidjojo, H. 1997. *Spektroskopi Inframerah*. Yogyakarta: UGM
- Sudarwati, D. & W. Sumarni. 2016. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri pada Ekstrak Daun Kelor dan Bunga Rosella. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 5(1): 11-14
- Wijaya, J.I. 2013. Formulasi Sediaan Gel Hand Sanitizer dengan Bahan Aktif Triklosan 1,5% dan 2%. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 2(1): 1-14