

## Synergistic Antibacterial Effects of Areca Nut Seed (*Areca catechu* L.) and Binahong leaf (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Extracts Against *Propionibacterium acnes*

Siska Nuryanti<sup>1\*</sup>, Ayyub Harly Nurung<sup>1</sup>, Muh.Satrio Surya Saputra<sup>1</sup>, Harvanita M.<sup>1</sup>, Ummi Putri Umaiya<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

<b>Article info</b> Received: 29/03/2024  <b>Available online: 04/11/2024</b>	<b>ABSTRACT</b> <i>Areca nut (Areca catechu L.) seeds has antibacterial properties due to their alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, and polyphenol compounds. Binahong leaves (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) contain flavonoids, polyphenols, saponins, and alkaloids that also act as antibacterial agents. This study aimed to assess the antibacterial activity and synergistic effects of combining extracts from areca nut and binahong leaves against Propionibacterium acnes. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of P. acnes were evaluated for the ethanol extracts of areca nut and binahong leaves. The MIC and MBC values 400 ppm and 1.600 for extract ethanol single areca nut and 50.000 ppm and 100.000 ppm for binahong leaves. The MIC and MBC values for the combination 400/12.500 ppm and 1.600/781,25 ppm for areca nut and 50,000/800 ppm and 100,000/100 ppm for binahong leaves, respectively. The synergy between the two extracts was determined using the Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI). The FICI value of 1. P. acnes indicates an indifferent effect (<math>1 &lt; FICI \leq 4</math>).</i>
<b>Corresponding Author:</b> <b>Siska Nuryanti</b> Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, Indonesia email: <a href="mailto:siska.nuryanti@umi.ac.id">siska.nuryanti@umi.ac.id</a>	
<b>Keyword:</b>	Antibacterial, <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis, <i>Areca catechu</i> L., MIC, MBC, FICI.



Copyright ©2024 by Author

Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

### PENDAHULUAN

Infeksi merupakan keadaan masuknya mikroorganisme seperti bakteri, virus, dan jamur ke dalam tubuh yang dapat menyebabkan penyakit. Salah satu penyebab timbulnya penyakit disebabkan oleh bakteri yang bersifat patogen<sup>1</sup>. Salah satu solusi dalam mengatasi permasalahan tersebut adalah melalui penggunaan antimikroba seperti antibiotik, antifungi, antivirus dan antiprotozoal<sup>2</sup>. Antibiotik

adalah senyawa-senyawa kimia yang diproduksi oleh bakteri atau fungi dan memiliki sifat yang mampu membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen<sup>3</sup>. Penggunaan antimikroba seperti antibiotik secara luas dan tidak bijaksana dapat menghasilkan resistensi. Untuk mengatasi masalah tersebut, diperlukan mencari alternatif dengan penemuan senyawa-senyawa

antimikroba dari tumbuhan yang memiliki khasiat<sup>4</sup>.

Beberapa tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai antimikroba seperti biji pinang (*Areca catechu* L.) dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Biji buah pinang merupakan salah satu tanaman jenis palma yang terbukti secara empiris dapat digunakan dalam pengobatan. Biji pinang sering digunakan sebagai obat tradisional diantaranya obat cacingan, luka dan kudis. Biji buah pinang mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan *polifenol* yang diketahui berkhasiat sebagai antibakteri<sup>5</sup>. Menurut penelitian yang telah dilakukan Fredison *et al* (2023) melaporkan bahwa ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.) terbukti memiliki potensi yang baik sebagai antibakteri<sup>6</sup>.

Tanaman binahong atau *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis adalah tanaman obat yang memiliki potensi untuk mengatasi berbagai jenis penyakit. Umumnya, bagian dari tanaman binahong yang digunakan sebagai obat adalah daunnya<sup>7</sup>. Menurut penelitian yang telah dilakukan Kurniawan (2015), melaporkan bahwa daun binahong memiliki kandungan flavonoid, polifenol, saponin dan alkaloid merupakan kandungan aktif yang dapat dijadikan sebagai antibiotik, antivirus, dan antiinflamasi<sup>8</sup>.

Terapi kombinasi antibakteri sering digunakan untuk infeksi yang disebabkan lebih dari satu mikroorganisme baik yang

memiliki sifat aerobik atau anaerobik. Kombinasi antibakteri merupakan gabungan antara dua antibakteri yang saling mempengaruhi kerja dari masing-masing bakteri dan digunakan secara bersama<sup>9</sup>.

Kombinasi antibakteri dilakukan untuk meningkatkan aktivitas dari salah satu senyawa tunggalnya serta untuk mengoptimalkan fungsi obat, hal ini memungkinkan obat untuk mencapai penggunaan klinis yang jauh lebih cepat dengan biaya pengembangan yang rendah. Kombinasi bahan aktif yang menguntungkan adalah kombinasi yang mempunyai efek sinergis terhadap aktivitas bahan tersebut. *Kombinasi* efek sinergis merupakan tujuan yang ingin diraih dalam pengembangan tanaman obat<sup>10</sup>.

Berdasarkan uraian diatas, maka akan dilakukan penelitian tentang aktivitas antimikroba kombinasi ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) dan ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Propionibacterium acnes*.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alkohol 70%, aquadest, autoklaf (SIMIC Model YX-280 B), cawan petri (Normax), erlenmeyer 250, 500, 1000 mL (Iwaki Pyrex), etanol 96%, inkubator (Memmert), *Laminar Air Flow* (LAF), lampu spirtus, mikropipet (Eppendorf), *microplate* 96 well (Iwaki), *Mueller Hinton Broth* (MHB), *Nutrien Agar* (NA), oven (Memmert),

*Propionibacterium acnes*, spektrofotometer, spoit, *waterbath* (IKA HB 10), timbangan analitik (Chyo), *Triphenyl Tetrazolium Chloride* (TTC) (Merck), ose bulat, mikropipet (Eppendorf), dan vial.

### **Penyiapan sampel**

Sampel yang digunakan adalah biji pinang dan daun binahong. Buah pinang (*Areca catechu* L.) yang telah terkumpul, dikupas kulit buahnya kemudian diambil bagian biji dan ditimbang sebagai berat basah, disortasi basah dan dicuci dengan air bersih, ditiriskan kemudian dirajang kecil-kecil menggunakan pisau, kemudian diangin-anginkan selama 7 hari. Sampel kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan *mesh* 200 hingga didapat serbuk simplisia halus<sup>11</sup>.

Daun binahong yang baru dipetik, dicuci bersih dan ditiriskan. Kering-anginkan selama 7 hari dan masukkan dalam oven pada suhu 40°C hingga benar-benar kering. Haluskan dengan blender<sup>12</sup>.

### **Pembuatan Ekstrak**

Serbuk simplisia diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 500 gram lalu dimasukkan wadah kaca maserasi dengan menggunakan pelarut etanol sebanyak 500 mL, ditutup, lalu dibiarkan selama 3 x 24 jam terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk. Ekstrak disaring menggunakan kertas saring lalu diperoleh filtrat. Ekstrak diuapkan menggunakan Rotavapor pada suhu 70°C dan dilanjutkan

dengan pengentalan yang dilakukan dengan menggunakan *waterbath* dengan suhu 60°C sampai menjadi ekstrak kental yang bertujuan untuk mendapatkan ekstrak yang bebas pelarut<sup>13</sup>.

Sebelum proses ekstraksi terlebih dahulu dilakukan proses maserasi selama 3 x 24 jam. Ditimbang sampel daun binahong sebanyak 50 gram kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% hingga sampel terendam pelarut. Dilakukan pengadukan secara berulang dan disimpan dalam ruang gelap agar tidak terjadi proses oksidasi. Ditampung filtrat 24 jam pertama, lalu ditambahkan 150 mL pelarut etanol 96% pada residu yang tersisa pada 24 jam kedua dan ketiga. Dipisahkan filtrat dari residu dan dikumpulkan untuk selanjutnya diekstrak<sup>14</sup>.

### **Penyiapan mikroba uji**

Disiapkan mikroba uji berupa bakteri uji *Propionibacterium acnes*, diinokulasikan selama kedalam media NA miring lalu diinkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri uji. Hail peremajaan mikroba uji disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% sampai diperoleh transmittan 25%T untuk bakteri yang diukur menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 580 nm<sup>15</sup>.

### **Uji Minimum Inhibitory Concentration (MIC)**

Uji MIC menggunakan *microplate* 96 *well*. Metode ini merujuk pada penelitian yang dilakukan Gharbani *et al.*, (2023)

dengan dilakukan modifikasi. Disiapkan konsentrasi ekstrak biji pinang 12.800 ppm; 6400 ppm; 3.200 ppm; 1.600 ppm; 800 ppm; 400 ppm; 200 ppm; 100 ppm. Konsentrasi daun binahong 100.000 ppm; 50.000 ppm; 25.000 ppm; 12.500 ppm; 6.250 ppm; 3.125 ppm; 1.562,5 ppm; 781,25 ppm. Konsentrasi ekstrak dilarutkan ke dalam medium MHB hingga volume 180  $\mu$ L. Selanjutnya, dimasukkan 20  $\mu$ L suspensi mikroba uji. Selain itu, dimasukkan juga 200  $\mu$ L medium MHB sebagai kontrol negatif, 180  $\mu$ L medium MHB dan mikroba uji sebanyak 20  $\mu$ L sebagai kontrol positif. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Selanjutnya, ditambahkan 5  $\mu$ L dari 5 mg/mL reagen TTC pada setiap *well* lalu diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Nilai MIC dapat ditentukan dengan mengamati perubahan warna dan konsentrasi yang paling rendah yang menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri ditandai dengan warna tidak berubah menjadi warna merah dari masing-masing medium uji<sup>16</sup>.

#### **Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) kombinasi ekstrak**

Untuk penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dari kombinasi ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) dan ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), merujuk pada metode oleh Gharbani *et al* (2023), dengan dilakukan

modifikasi. Pertama, dua konsentrasi ekstrak etanol biji pinang dan ekstrak etanol daun binahong disiapkan secara terpisah. Disetiap baris (dari atas ke bawah) dituang 95  $\mu$ L ekstrak etanol daun binahong dengan konsentrasi 100.000; 50.000; 25.000; 12.500; 6.250; 3.125; 1.562,5; 781,25 ppm pada *microplate*. Kemudian, 95  $\mu$ L ekstrak etanol biji pinang dengan konsentrasi 12.800; 6.400; 3.200; 1.600; 800; 400; 200; 100 ppm dituang dari kiri ke kanan di setiap kolom pada *microplate*. Sehingga, konsentrasi ekstrak etanol daun binahong tercampur dengan seluruh konsentrasi ekstrak etanol biji pinang di *microplate*. Selanjutnya, ditambahkan 10  $\mu$ L suspensi mikroba (bakteri transmitannya 25% T) di setiap sumur. Dua sumur mengandung 190  $\mu$ L media Mueller Hinton broth dan 10  $\mu$ L suspensi mikroba yang digunakan sebagai kontrol positif. Dua sumuran lainnya ditambah medium *Mueller Hinton Broth* (MHB) sebanyak 200  $\mu$ L sebagai kontrol negatif. *Microplate* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian setelah 24 jam, semua sumuran ditambahkan 5  $\mu$ L dari 5 mg/mL reagen TTC ke setiap sumur *microplate* 96 *well* dan diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 1 jam<sup>16</sup>.

#### **Uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC)**

Untuk menentukan MBC sampel diambil dari setiap *well*, dibiakkan pada medium *Nutrient Agar* selama 24 jam pada suhu 37°C. Nilai MBC ditentukan dengan

mengamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada cawan petri setelah diinkubasi<sup>17</sup>.

### Analisa data

Untuk penentuan interaksi antimikroba kombinasi ekstrak menggunakan rumus sebagai berikut<sup>18</sup>:

$$\Sigma \text{FICI} = \text{FICI (A)} + \text{FICI (B)}$$

$$\Sigma \text{FICI} = \frac{\text{MIC (A) kombinasi dalam ekstrak}}{\text{MIC (A) ekstrak tunggal}} + \frac{\text{MIC (B) kombinasi dalam ekstrak}}{\text{MIC (B) ekstrak tunggal}}$$

*Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI)* dihitung dengan menggunakan total FICI setiap senyawa antibakteri. Sinergis menunjukkan nilai  $\text{FICI} < 0,5$ ; Efek aditif  $0,5 < \text{FICI} \leq 1$ ; Efek indifference  $1 < \text{FICI} \leq 4$  dan antagonisme menunjukkan nilai  $\text{FICI} > 4$ <sup>19</sup>.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Biji buah pinang adalah salah satu tanaman jenis palma terbukti secara tradisional digunakan dalam pengobatan seperti obat cacangan, luka dan kudis. Biji buah pinang mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan polifenol yang bersifat sebagai antibakteri<sup>5</sup>. Sedangkan untuk daun binahong sering digunakan untuk mengatasi berbagai jenis penyakit<sup>20</sup>. Daun binahong memiliki kandungan flavonoid, polifenol, saponin dan alkaloid yang merupakan kandungan aktif yang dapat dijadikan sebagai antibiotik, antivirus dan antiinflamasi<sup>8</sup>. Pada penelitian ini untuk menentukan sinergitas antibakteri

kombinasi ekstrak etanol biji pinang dan ekstrak etanol daun binahong.

Penelitian ini diawali dengan proses ekstraksi dari hasil ekstraksi dilanjutkan dengan pengujian MIC dengan metode dilusi cair. Pada pengujian ini digunakan bakteri uji *P. acnes* yaitu bakteri yang merupakan jenis bakteri gram positif<sup>21</sup>. Media yang digunakan medium MHB, medium ini merupakan media uji yang umum digunakan untuk metode penyebaran (difusi) maupun metode pengenceran (dilusi) dan sebagai media uji untuk pengujian kerentanan antimikroba. Penggunaan media MHB dipilih oleh *Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)* dengan beberapa alasan, diantaranya media ini mendukung pertumbuhan sebagian besar bakteri dan digunakan karena memiliki kandungan nutrisi yang baik untuk kultur kebanyakan bakteri. Selain itu, penggunaan media MHB juga bersifat netral, sehingga tidak menimbulkan pengaruh terhadap prosedur uji antibakteri<sup>22</sup>. Penambahan reagen TTC tersebut digunakan sebagai indikator untuk mendeteksi sel bakteri dengan hasil yang lebih cepat. *Microplate* dapat diamati secara visual dengan melihat warna merah yang terbentuk dalam menentukan nilai MIC<sup>23</sup>. Untuk hasil nilai MIC ekstrak etanol biji pinang dilihat pada Tabel 1. Hasil nilai MIC ekstrak etanol daun binahong dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 1.** Hasil pengujian MIC Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu L.*)

Bakteri uji	Hasil Uji Konsentrasi MIC (ppm)							
	12.800	6.400	3.200	1.600	800	400	200	100
<i>P. acnes</i>	+	+	+	+	+	+	-	-

Keterangan: (+) menghambat pertumbuhan bakteri, (-) tidak menghambat pertumbuhan bakteri

**Tabel 2.** Hasil pengujian MIC Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*).

Bakteri uji	Hasil Uji Konsentrasi MIC (ppm)							
	100.000	50.000	25.000	12.500	6.250	3.125	1.562,5	781,25
<i>P. acnes</i>	+	+	-	-	-	-	-	-

Keterangan: (+) menghambat pertumbuhan bakteri, (-) tidak menghambat pertumbuhan bakteri

Berdasarkan hasil pengujian MIC ekstrak etanol biji pinang terhadap bakteri *P. acnes* (Tabel 1) menunjukkan bahwa nilai MIC yang diperoleh terhadap bakteri *P. acnes* adalah 400 ppm. Berdasarkan hasil pengujian MIC ekstrak etanol daun binahong terhadap bakteri *P. acnes* (Tabel 2) menunjukkan bahwa nilai MIC yang diperoleh adalah 50.000 ppm.

Pengujian MIC kombinasi ekstrak etanol biji pinang dan ekstrak etanol daun

binahong dengan menggunakan variasi konsentrasi yang sama dengan ekstrak tunggalnya. Untuk kolom atas ke bawah merupakan variasi konsentrasi dari ekstrak etanol daun binahong dan untuk baris kiri ke kanan merupakan variasi konsentrasi dari ekstrak etanol biji pinang. Hasil nilai MIC dari kombinasi ekstrak etanol biji pinang dan ekstrak etanol daun binahong terhadap bakteri *P. Acnes* dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil Pengujian MIC Kombinasi Ekstrak Etanol Biji Pinang dan Daun Binahong Bakteri *Propionibacterium acnes*

Konsentrasi EEBP (ppm)	Konsentrasi EEDB (ppm)							
	100.000	50.000	25.000	12.500	6.250	3.125	1.562,5	781,25
12.800	+	+	+	+	+	+	+	+
6.400	+	+	+	+	+	+	+	+
3.200	+	+	+	+	+	+	+	+
1.600	+	+	+	+	+	+	+	+
800	+	+	+	+	+	+	-	-
400	+	+	+	+	-	-	-	-
200	+	+	-	-	-	-	-	-
100	+	+	-	-	-	-	-	-

Keterangan: EEBP: Ekstrak Etanol Biji Pinang, EEDB: Ekstrak Etanol Daun Binahong, (+): Menghambat Pertumbuhan Bakteri, (-): Tidak Menghambat Pertumbuhan Bakteri

Berdasarkan hasil pengujian MIC dari kombinasi ekstrak etanol biji pinang dan ekstrak etanol daun binahong terhadap bakteri *P. acnes* (Tabel 3) menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol biji pinang pada konsentrasi 400/12.500 ppm. Sedangkan ekstrak etanol daun binahong pada konsentrasi 3.125/800 ppm.

Dari hasil nilai MIC kemudian dilanjutkan dengan pengujian MBC. Pengujian MBC dilakukan dengan mengambil sampel hasil uji MIC lalu dibiakkan pada media *Nutrient Agar* (NA). Hasil nilai MBC ekstrak etanol biji pinang dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil nilai MBC ekstrak etanol daun binahong dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 4.** Hasil pengujian MBC Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.)

Bakteri uji	Hasil Uji Konsentrasi MBC (ppm)							
	12.800	6.400	3.200	1.600	800	400	200	100
<i>P. acnes</i>	+	+	+	+	-	-	-	-

Keterangan: (+): Membunuh Pertumbuhan Bakteri, (-): Tidak membunuh Pertumbuhan Bakteri

**Tabel 5.** Hasil pengujian MBC Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis).

Bakteri uji	Hasil Uji Konsentrasi MBC (ppm)							
	100.000	50.000	25.000	12.500	6.250	3.125	1.562,5	781.25
<i>P. acnes</i>	+	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan: (+): Membunuh Pertumbuhan Bakteri, (-): Tidak membunuh Pertumbuhan Bakteri

Berdasarkan hasil pengujian MBC ekstrak etanol biji pinang terhadap bakteri *P. acnes* (Tabel 4) menunjukkan bahwa nilai MBC yang diperoleh terhadap bakteri *P. acnes* adalah 3.200 ppm. Berdasarkan hasil pengujian MBC ekstrak etanol daun binahong terhadap bakteri *P. acnes* (Tabel 5)

menunjukkan bahwa nilai MBC yang diperoleh adalah 100.000 ppm.

Pengujian MBC kombinasi ekstrak etanol biji pinang dan ekstrak etanol daun binahong terhadap bakteri *P. acnes* dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Hasil Pengujian MBC Kombinasi Ekstrak Etanol Biji Pinang dan Daun Binahong Bakteri *Propionibacterium acnes*

Konsentrasi EEBP (ppm)	Konsentrasi EEDB (ppm)							
	100.00	50.000	25.000	12.500	6.250	3.125	1.562,5	781,25
12.800	+	+	+	+	+	+	+	+
6.400	+	+	+	+	+	+	+	+

3.200	+	+	+	+	+	+	+	+
1.600	+	+	+	+	+	+	+	+
800	+	-	-	-	-	-	-	-
400	+	-	-	-	-	-	-	-
200	+	-	-	-	-	-	-	-
100	+	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan: EEBP: Ekstrak Etanol Biji Pinang, EEDB: Ekstrak Etanol Daun Binahong, (+): Menghambat Pertumbuhan Bakteri, (-): Tidak Menghambat Pertumbuhan Bakteri

Berdasarkan hasil pengujian MBC dari kombinasi ekstrak etanol biji pinang dan ekstrak etanol daun binahong terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* (Tabel 6) menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol biji pinang pada konsentrasi 1.600/781,25 ppm, sedangkan ekstrak etanol daun binahong pada konsentrasi 100.000/100 ppm.

Setelah diperoleh nilai MBC masing-masing ekstrak dan kombinasi ekstrak, maka dilakukan penetapan nilai *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FICI). Penetapan nilai FICI kombinasi ekstrak etanol biji pinang dan ekstrak etanol daun binahong dapat dilihat pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Hasil Penetapan FICI

Bakteri uji	Ekstrak	MIC (ppm)		FICI	Interaksi Antibakteri
		Tunggal	Kombinasi		
<i>P. acnes</i>	EEBP/EEDB	400/400	100/3.125	1,0625	<i>Indifference</i>

Keterangan: EEBP: Ekstrak Etanol Biji Pinang, EEDB: Ekstrak Etanol Daun Binahong

Berdasarkan hasil penetapan FICI (Tabel 7) nilai FICI pada bakteri *P. acnes* adalah 1,0625 menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol biji pinang dan ekstrak etanol daun binahong bersifat *indifference* ( $1 < FICI \leq 4$ ). Hasil yang kami peroleh sejalan dengan penelitian Gharbani *et al* (2023) menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak *Areca nut* dan *Punica granatum* L. dengan menggunakan pelarut metanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai FICI adalah 3 ( $1 < FICI \leq 4$ ). Sedangkan terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan nilai FICI adalah 0,6

menunjukkan sifat *additive* ( $0,5 < FICI \leq 1$ ). Tetapi berbeda hasil yang diperoleh dengan menggunakan pelarut etanol terhadap bakteri *S. aureus* dengan nilai FICI adalah 0,08 menunjukkan sifat *synergis* ( $FICI > 0,5$ )<sup>16</sup>. Efek *indifference* adalah kombinasi antibakteri efeknya kurang lebih sama dengan efek antibakteri tunggal<sup>19</sup>.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Sugiharti RJ, Halimah I, Mahendra I, Sriyani ME. Biodistribusi Radiofarmaka 99m Tc-Ketokonazol Pada Infeksi Yang Disebabkan Oleh *Candida Albicans*, *Staphylococcus Aureus*, Dan *Escherichia Coli*. *J Sains dan Teknol Nucl Indones*. 2016; 17(2):71



2. Kementerian Kesehatan, RI. *Permenkes Nomor 28 Tentang Pedoman Penggunaan Antibiotik*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2021
3. Pratiwi RH. Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik. *J Pro-Life*. 2017; 4(3):418–429
4. Amalia A, Sari I, Nursanty R. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung (*Blumea Balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA). *J UIN Ar-Raniry*. 2017; 5(1):387–391
5. Wasito H. *Obat Tradisioanl Kekayaan Indonesia*. Yogyakarta: Graha Ilmu. 2011
6. Fredison et al. Kajian Potensi Biji Pinang (*Areca Catechu* L.) Sebagai Antibakteri. *JK Unila*. 2023; 7(1):51–59
7. Fitriyah N et al. Obat Herbal Antibakteri Ala Tanaman. *J Kesehat Kusuma Husada*. 2013; 4(2):116–122
8. Kurniawan B, Aryana WF. Binahong (*Cassia Alata* L.) as Inhibitor of *Escherichia Coli* Growth. *J Majority*. 2015; 4(4):100–104
9. Aswarita R. Interaksi Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe Vera* L.) Dan Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.) Terhadap Daya Hambat *Escherichia Coli* Secara In Vitro. *J EduBio Trop*. 2013; 1(2):115–120
10. Syahrir NHA, Afendi FM, Susetyo B. Efek Sinergis Bahan Aktif Tanaman Obat Berbasiskan Jejaring Dengan Protein Target. *J Jamu Indones*. 2016; 1(1):35–46
11. Niswah SU, Indrayati A, Sari GNF. Efek Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* D.C.) Dan Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923 Dengan Metode Pita Kertas. *Maj Farm dan Farmakol*. 2023; 27(3):110–118
12. Mengga C, Rampe M, Sangande F. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Biofarmasetikal Trop*. 2022; 5(1):60–65
13. Antaryani D et al. Pendahuluan Pankreas Keadaan Normal , Ada Tersebar Di Pankreas Manusia , Pulau Semenanjung Malaya Archipelago ), Filipina Dan Kepulauan Hindia Timur ( East Indies Island). Pola Penyebaran Spesies *Areca* Di Indonesia Terutama Di Malaya, Kalimantan Dan Kel. *Farmakol J Farmasu*. 2019; XVI(2):135–144
14. Pratiwi A., Yusran, Islawati. Analisis Kadar Antioksidan Pada Ekstrak Daun Binahong Hijau *Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis. *Bioma J Biol Makassar*. 2023; 8(2):66–74
15. Nuryanti S. Aktivitas Antifungi Sari Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) Terhadap *Candida Albicans*. *J As-Syifaa*. 2017; 9(2):137–145
16. Gharbani P, Jam N, Doshmanfekan H, Mehrizad A. Optimization of Synergic Antibacterial Activity of *Punica Granatum* L. and *Areca Nut* (P.G.L.A.N) Extracts Through Response Surface Methodology. *Sci Rep*. 2023; 13(1):1–8
17. Fitriana YAN, Fatimah VAN, Fitri AS. Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) Dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*. 2020; 16(2):101–108
18. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in Vitro Evaluating Antimicrobial Activity. *J Pharm Anal*.

- 2016; 6(2):71–79
19. Pratama D, Supriyadi A, Raharjo B. Efektivitas Kombinasi Ekstrak Bahan Herbal (Mengkudu, Pepaya, Kunyit) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Aeromonas Hydrophila* Secara In Vitro. *J Biol.* 2017; 6(2):7–16
  20. Fitriana, Jurianti. Penelusuran Mikroorganisme Penghasil Antibiotika Dari Limbah Air Dangke Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *J Ilm As-Syifaa.* 2013; 5(2):140–152
  21. Azizah M, Lingga LS, Rikmasari Y. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Seledri (*Apium Graviolens* L.) Dan Madu Hutan Terhadap Beberapa Bakteri Penyebab Penyakit Kulit. *J Penelit Sains.* 2020; 22(1):37–44
  22. Utomo SB, Fujiyanti M, Lestari WP, Mulyani S. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Hexadecyltrimethylammonium-Bromide Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli.* *JKPK (Jurnal Kim dan Pendidik Kim.* 2018; 3(3):201–209
  23. Haeriah, Djide N, Alam G, Sartini S. Sinergitas Aktivitas Antibakteri Dari Kelopak Bunga Rosella Dan Kitosan Terhadap *Staphylococcus Aureus.* *J Farm Galen (Galenika J Pharmacy).* 2018; 4(2):93–97.