

## DAFTAR PUSTAKA

- Aniszewski T. 2007. *Alkaloid-secrets of life*. Amsterdam : Elsevier.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Bachtiar. 2010. *Faktor Risiko, Diagnosis, dan Tatalaksana Dermatitis Atopik pada Bayi dan Anak*. Banda Aceh: Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala.
- Bonang G dan Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Gramedia. hlm 9, 77-78, 176-191.
- Chugh CA, Mehta S, Dua H. 2012. *Phytochemical Screening and Evaluation of Biological Activities of Some Medical Plants of Phagwara, Punjab*. Asian Journal of Chemistry 24: 5903-5905.
- Daili ESS, Menaldi SL, Wisnu IM. 2005. *Penyakit Kulit yang Umum di Indonesia*. Jakarta: Medical Multimedia Indonesia.
- Darmandi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika. Hlm 80-81
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1983. *Pemanfaatan Tanaman Obat*. Jakarta: DEPKES RI
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: DEPKES RI
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jilid III. Jakarta: DEPKES RI
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: DEPKES RI.
- Fattorusso E, Scafati OT, editor. 2008. *Modern Alkaloids*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

- Ghosh P, Chakraborty P, Saha A. 2011. *Triterpenoids from Schleicheria oleosa of Darjeeling Foothills and Their Antimicrobial Activity*. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. 73(2): 231-233.
- Goodman & Gilman. 2008. *Dasar Farmakologi Terapi*. Volume 2. Hardman JC, Limbird LE, editor; Musadad A, Soemardji AA, Nawawi A, Retnoningrum DS, Sukandar EY, Adnyana IK, Setiadi L, Iwo MI, Singgih M, Kusmardiyani M, Kusmardiyani S, Soebito S, Asyarie S, Suwendar, Syarief WR, tim alih bahasa. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Hadioetomo RS. 1985. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta : Gramedia. hlm 42-44.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Kosasih P, Iwang S, penerjemah; Sofia N, editor. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Hutapea JR. 1994. *Iventaris Tanaman Obat Indonesia III*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 249.
- Jawetz E, Melnick JL, Edelberg EA. 1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. Review of Medical Mikrobiology*, 14th Edition. Bonang G, penerjemah; Jakarta: UI. hlm 25-263.
- Jawetz et al. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya: Salemba Medika
- Karsinah, dkk. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Jakarta: Binarupa Aksara. hlm 103-165.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi V. Padmawinata K, penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituents Of Higher Plants*.
- Saha S, Subrahmanyam EVS, Kodangala C, Shastry SC. 2011. *Isolation and characterization of triterpenoids and fatty acid ester of triterpenoid from leaves of Bauhinia variegata*. Der Pharma Chemica 3(4): 28-37.
- Salle AJ. 1961. *Fundamental Principle of Bacteriologi*. 5th Ed. New York: MC. Grawhil. Book Company. Inc. 730-749.

- Shafighi M, Emami Z, Shahsanaei M, Khaliliyan E. 2012. *Antibacterial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Table Olives against Skin Pathogens*. World Academy of Science, Engineering and Technology.
- Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. 1978. *Flora*. Jakarta: PT. Pradnya Paramita.
- Syamsuni HA. 2007. *Ilmu Resep*. Elviana E, Syarief RW, editor. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Tjitrosoepomo G. 1994. *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Noerono S, penerjemah; Yogyakarta: Gajah Mada University Press. 566-567, 572-573.
- Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malang: UMM Press. Hlm.41-47.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian, dapat ditarik kesimpulan bahwa:

Pertama, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform dan fraksi air dari kulit batang kesambi (*Schleichera oleosa* Merr.) pada konsentrasi 25% mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan rata-rata diameter hambat berturut-turut adalah 11,667 mm; 16,667 mm dan 17,333 mm.

Kedua, fraksi air dari kulit batang kesambi (*Schleichera oleosa* Merr.) adalah fraksi yang mempunyai aktivitas antibakteri paling optimal terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi air dari ekstrak etanolik kulit batang kesambi (*Schleichera oleosa* Merr.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah 12,5%.

#### **B. Saran**

Pertama, perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode penyarian yang lain.

Kedua, perlu dilakukan identifikasi kandungan kimia dari tiap fraksi sehingga diketahui golongan kimia yang terdapat di tiap fraksi tersebut.

Ketiga, perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri tiap fraksi kulit batang kesambi terhadap bakteri patogen lain.

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
1. Lembar determinasi tanaman kesambi .....	54
2. Gambar tanaman kesambi .....	55
3. Gambar alat fraksinasi dan <i>Moisture Balance</i> .....	56
4. Gambar identifikasi kandungan kimia kulit batang kesambi .....	57
5. Gambar oven dan inkubator .....	58
6. Gambar hasil identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	59
7. Gambar hasil inkubasi fraksi <i>n</i> -heksan, fraksi kloroform dan fraksi air kulit batang kesambi terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi .....	61
8. Gambar uji antibakteri fraksi air kulit batang kesambi terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara dilusi .....	63
9. Gambar hasil inokulasi uji antibakteri fraksi air kulit batang kesambi terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	64
10. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk kulit batang kesambi .....	65
11. Perhitungan persen rendemen ekstrak etanolik kulit batang kesambi .....	67
12. Perhitungan persen rendemen fraksi <i>n</i> -heksan, fraksi kloroform dan fraksi air kulit batang kesambi .....	68
13. Perhitungan diameter hambat pada uji antibakteri kulit batang kesambi terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi .....	71
14. Pembuatan sediaan untuk uji difusi .....	73
15. Pembuatan sediaan fraksi air untuk uji dilusi .....	75

16. Formulasi dan pembuatan media .....	78
17. Analisa data uji Anova antar fraksi pada konsentrasi 25% .....	80
18. Analisa data uji Anova antar fraksi pada konsentrasi 12,5% .....	83
19. Analisa data uji Anova antar fraksi pada konsentrasi 6,25% .....	86
20. Analisa data uji Anova fraksi <i>n</i> -heksan dengan konsentrasi 25%; 12,5% dan 6,25% .....	89
21. Analisa data uji Anova fraksi kloroform dengan konsentrasi 25%; 12,5% dan 6,25% .....	92
22. Analisa data uji Anova fraksi air dengan konsentrasi 25%; 12,5% dan 6,25% .....	95
23. Analisa data uji Anova ekstrak etanolik dengan konsentrasi 25%; 12,5% dan 6,25% .....	98
24. Perhitungan konsentrasi kontrol positif .....	101

## Lampiran 1. Lembar determinasi tanaman kesambi



No : 121/DET/UPT-LAB/16/XII/2013  
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Rodriguez Fernandez  
NIM : 14103090 A  
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : Kesambi, sinonim *Schleichera oleosa* Merr.

Determinasi berdasarkan Steenis: Flora.

1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 15b. golongan 9 - 197b - 208b - 219b - 220b - 224b - 227b - 229b - 230a - 231a - 232a. familia 69. Sapindaceae. 1b - 5b Schleira, *Schleichera oleosa* Merr.

Deskripsi :

- Habitat : Pohon, tinggi 15 - 40 m.  
Batang : Tegak, bulat, berkayu, percabangan simpodial, permukaan kasar, coklat kotor.  
Daun : Majemuk menyirip, anak daun 4 - 8, lanset, panjang 4,5 - 18 cm, tepi rata, ujung lancip, tulang daun menyirip, yang teratas terbesar, yang muda merah. Tangkai daun bulat, hijau, panjang lk 1 cm.  
Bunga : Majemuk, tandan, berjejal pada pangkal tunas yang muda, kerap kali bercabang pendek, berkelamin campuran berumah 2, beraturan. Daun kelopak 4 - 6, bersatu pada pangkal, panjang lk 1 mm, hijau. Mahkota bunga putih. Benangsari 4 - 9. Bakal buah beruang 3 - 4, pada ujungnya tidak melekok ke dalam. 1 bakal biji peruang.  
Buah : Bentuk spul lebar, dengan ujung meruncing, licin atau berbulu tempel sedikit, panjang lk 2,5 cm. Biji terdesak ke samping. Selubung biji kekuningan.  
Akar : tunggang, berwarna coklat muda.  
Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.



Surabaya, 16 Desember 2013

Surat Keterangan Determinasi

Dr. Karimah Wirjosentjono, SU.

**Lampiran 2. Gambar tanaman kesambi**



**Gambar 4. Tanaman kesambi**



**Gambar 5. Kulit batang kesambi**



**Gambar 6. Serbuk kulit batang kesambi**



**Lampiran 3. Gambar alat fraksinasi dan *Moisture Balance***



**Gambar 7. Alat fraksinasi**



**Gambar 8. *Moisture Balance***

**Lampiran 4. Gambar identifikasi kandungan kimia kulit batang kesambi**



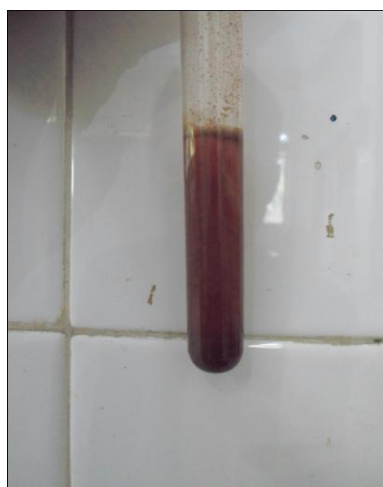
**Gambar 9. Alkaloid**



**Gambar 10. Saponin**



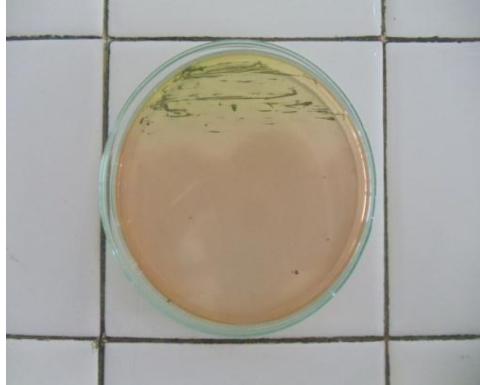
**Gambar 11. Tanin**



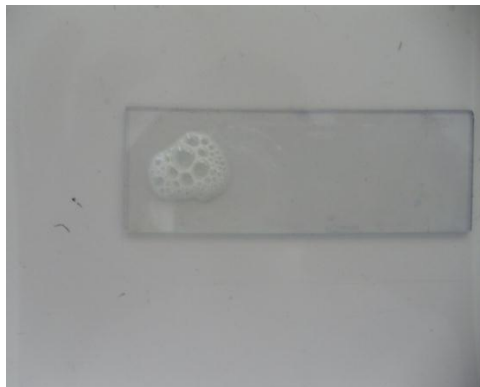
**Gambar 12. Triterpenoid**

**Lampiran 5. Gambar oven dan inkubator****Gambar 13. Oven****Gambar 14. Inkubator**

**Lampiran 6. Gambar hasil identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



**Gambar 15. Koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media VJA**



**Gambar 16. Uji katalase *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

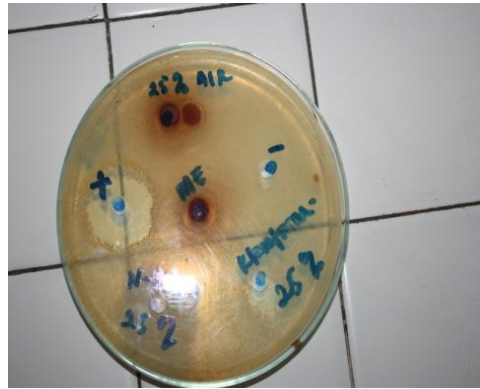


**Gambar 17. Uji koagulase *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

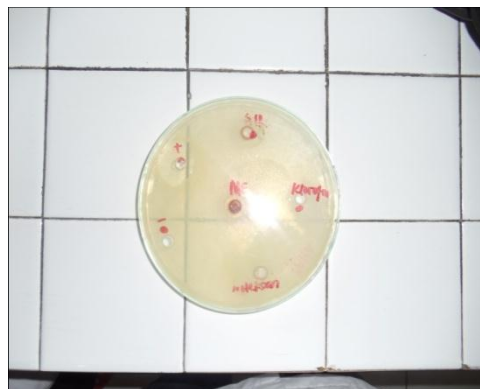


**Gambar 18. Pewarnaan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

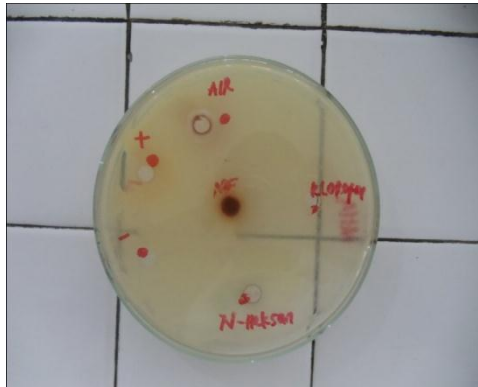
**Lampiran 7. Gambar hasil inkubasi fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform dan fraksi air kulit batang kesambi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi**



**Gambar 19. Uji aktivitas difusi konsentrasi 25%**

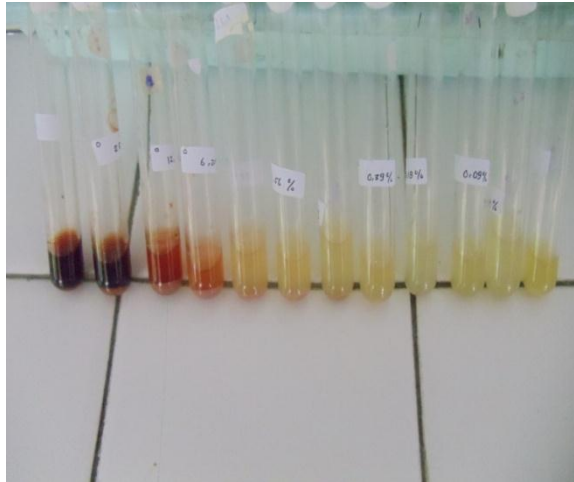


**Gambar 20. Uji aktivitas difusi konsentrasi 12,5%**



**Gambar 21. Uji aktivitas difusi konsentrasi 6,25%**

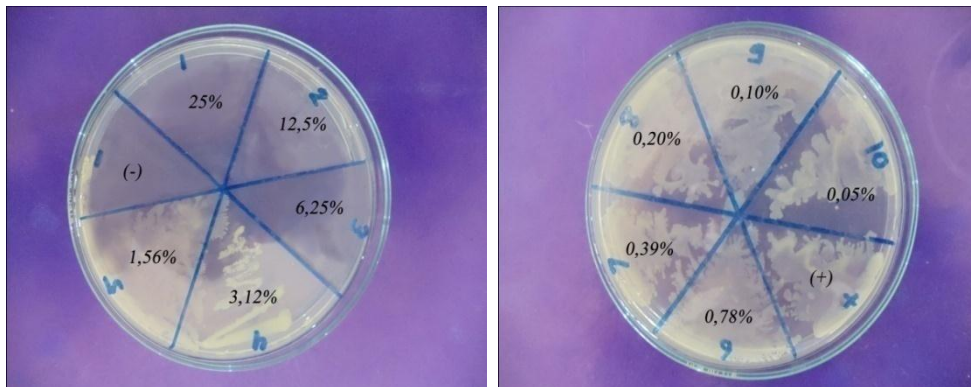
**Lampiran 8. Gambar uji antibakteri fraksi air kulit batang kesambi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi**



**Gambar 22. Uji antibakteri fraksi air kulit batang kesambi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi**



**Lampiran 9. Gambar hasil inokulasi uji antibakteri fraksi air kulit batang kesambi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



**Gambar 23. Hasil inokulasi uji antibakteri fraksi air kulit batang kesambi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**Lampiran 10. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk kulit batang kesambi**

No	Bobot awal (gram)	Bobot akhir (gram)	Susut pengeringan (gram)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	1,82	0,18	9,0
2	2,00	1,82	0,18	9,0
3	2,00	1,81	0,19	9,5
Rata-rata				9,167%

Hasil perhitungan prosentase susut pengeringan serbuk kulit batang kesambi diatas terdapat satu data yang menyimpang 9,5% jika dibanding dengan kedua data yang lain, sehingga patut dicurigai. Data ini akan dianalisis menggunakan perhitungan standar deviasi sebagai berikut :

$$\text{Rumus SD} = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

Keterangan :

X = prosentase susut pengeringan

n = banyaknya perlakuan

d = deviasi atau simpangan

SD = Standar Deviasi

$$\begin{aligned} \text{SD} &= \sqrt{\frac{0,25}{3-1}} \\ &= 0,354 \end{aligned}$$

$$2 \text{ SD} = 2 \times 0,354$$

$$= 0,708$$

$$\bar{X} = \frac{9,0 + 9,0}{2} = 9,0\%$$

Kriteria penolakan SD adalah  $|X - \bar{X}| > 2 \text{ SD}$ , dimana X adalah data yang dicurigai  $|9,5 - 9,0| = 0,5 < 2 \text{ SD} (0,708)$  maka data diterima. Maka rata-rata prosentase susut pengeringan serbuk kulit batang kesambi adalah:

$$\text{Prosentase rata-rata susut pengeringan} = \frac{9,0 + 9,0 + 9,5}{3} = 9,167\% \text{ b/v}$$

**Lampiran 11. Perhitungan persen rendemen ekstrak etanolik kulit batang kesambi**

Bahan Sampel (gram)	Bobot Ekstrak (gram)	Rendemen ekstrak (% b/v)
400	87,88	21,97

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak etanolik} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk}} \times 100\% \\ &= \frac{87,88}{400} \times 100\% \\ &= 21,97\%\end{aligned}$$

**Lampiran 12. Perhitungan persen rendemen fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform dan fraksi air kulit batang kesambi**

Ekstrak etanolik (gram)	Bobot Fraksi (gram)			Rendemen (%)		
	<i>n</i> -heksan	Kloroform	Air	<i>n</i> -heksan	Kloroform	Air
10	0,48	1,46	2,71	4,8	14,6	27,1
10	0,52	1,41	2,53	5,2	14,1	25,3
10	0,55	1,52	2,66	5,5	15,2	26,6
Rata-rata				5,167	14,633	26,333

1. Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksan

$$\text{Rendemen fraksi } n\text{-heksan (1)} = \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,48}{10} \times 100\%$$

$$= 4,8\%$$

$$\text{Rendemen fraksi } n\text{-heksan (2)} = \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,52}{10} \times 100\%$$

$$= 5,2\%$$

$$\text{Rendemen fraksi } n\text{-heksan (3)} = \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,55}{10} \times 100\%$$

$$= 5,5\%$$

Rata-rata prosentase rendemen fraksi *n*-heksan adalah 5,167%.

## 2. Perhitungan rendemen fraksi kloroform

$$\begin{aligned}\text{Rendemen fraksi kloroform (1)} &= \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{1,46}{10} \times 100\% \\ &= 14,6\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen fraksi kloroform (2)} &= \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{1,41}{10} \times 100\% \\ &= 14,1\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen fraksi kloroform (3)} &= \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{1,52}{10} \times 100\% \\ &= 15,2\%\end{aligned}$$

Rata-rata prosentase rendemen fraksi kloroform adalah 14,633%.

## 3. Perhitungan rendemen fraksi air

$$\begin{aligned}\text{Rendemen fraksi air (1)} &= \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{2,71}{10} \times 100\% \\ &= 27,1\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen fraksi air (2)} &= \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{2,53}{10} \times 100\% \\ &= 25,3\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen fraksi air (3)} &= \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{2,66}{10} \times 100\% \\ &= 26,6\%\end{aligned}$$

Rata-rata prosentase rendemen fraksi air adalah 26,333%.

**Lampiran 13. Perhitungan diameter hambatan pada uji antibakteri kulit batang kesambi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi.**

Sampel	Konsentrasi	Diameter hambatan			Rata-rata
		Replikasi			
		1	2	3	
<i>n</i> -heksan	25%	11	12	12	11,667
Kloroform	25%	18	16	16	16,667
Air	25%	18	17	17	17,333
Ekstrak etanolik	25%	17	18	16	17
<i>n</i> -heksan	12,5%	0	0	0	0
Kloroform	12,5%	12	11	10	11
Air	12,5%	15	15	13	14,333
Ekstrak etanolik	12,5%	15	13	13	13,667
<i>n</i> -heksan	6,25%	0	0	0	0
Kloroform	6,25%	0	0	0	0
Air	6,25%	12	13	11	12
Ekstrak etanolik	6,25%	13	10	12	11,667
Kontrol positif	2,5%	34	35	32	33,667
Kontrol negatif	(-)	0	0	0	0

1. Konsentrasi 25%

$$\text{Rata-rata zona hambatan fraksi } n\text{-heksan} = \frac{11+12+12}{3} = 11,667 \text{ mm.}$$

$$\text{Rata-rata zona hambatan fraksi kloroform} = \frac{18+16+16}{3} = 16,667 \text{ mm.}$$

$$\text{Rata-rata zona hambatan fraksi air} = \frac{18+17+17}{3} = 17,333 \text{ mm.}$$

$$\text{Rata-rata zona hambatan ekstrak etanolik} = \frac{17+18+16}{3} = 17 \text{ mm.}$$

2. Konsentrasi 12,5%

Rata-rata zona hambatan fraksi *n*-heksan adalah 0 (tidak memiliki daya hambatan).



$$\text{Rata-rata zona hambat fraksi kloroform} = \frac{12+11+10}{3} = 11 \text{ mm.}$$

$$\text{Rata-rata zona hambat fraksi air} = \frac{15+15+13}{3} = 14,333 \text{ mm.}$$

$$\text{Rata-rata zona hambat ekstrak etanolik} = \frac{15+13+13}{3} = 13,667 \text{ mm.}$$

### 3. Konsentrasi 6,25%

Rata-rata zona hambat fraksi *n*-heksan adalah 0 (tidak memiliki daya hambat).

Rata-rata zona hambat fraksi kloroform adalah 0 (tidak memiliki daya hambat).

$$\text{Rata-rata zona hambat fraksi air} = \frac{12+13+11}{3} = 12 \text{ mm.}$$

$$\text{Rata-rata zona hambat ekstrak etanolik} = \frac{13+10+12}{3} = 11,667 \text{ mm.}$$

### 4. Kontrol

$$\text{Rata-rata zona hambat kontrol positif} = \frac{34+35+32}{3} = 33,667 \text{ mm.}$$

Rata-rata zona hambat kontrol negatif yaitu 0 (tidak memiliki daya hambat).

**Lampiran 14. Pembuatan sediaan untuk uji difusi**

Pembuatan larutan stock:

1. Larutan stock untuk fraksi *n*-heksan = 25% b/v  
= 25 gram/100 ml  
= 1,25 gram/5 ml

Ditimbang 1,25 gram fraksi *n*-heksan kemudian dimasukkan ke dalam vial yang sudah dikalibrasi dan diencerkan dengan DMSO 1% ad 5 ml.

2. Larutan stock untuk fraksi kloroform = 25% b/v  
= 25 gram/100 ml  
= 1,25 gram/5 ml

Ditimbang 1,25 gram fraksi kloroform kemudian dimasukkan ke dalam vial yang sudah dikalibrasi dan diencerkan dengan DMSO 1% ad 5 ml.

3. Larutan stock untuk fraksi air = 25% b/v  
= 25 gram/100 ml  
= 1,25 gram/5 ml

Ditimbang 1,25 gram fraksi air kemudian dimasukkan ke dalam vial yang sudah dikalibrasi dan diencerkan dengan aquades ad 5 ml.

4. Larutan stock untuk ekstrak etanolik = 25% b/v  
= 25 gram/100 ml  
= 1,25 gram/5 ml

Ditimbang 1,25 gram ekstrak etanolik kemudian dimasukkan ke dalam vial yang sudah dikalibrasi dan diencerkan dengan aquades ad 5 ml.

1. Konsentrasi 25%

Memipet 1 ml dari larutan stock (25%) lalu dimasukkan ke dalam vial.

2. Konsentrasi 12,5%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 25 = 1 \cdot 12,5$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

Memipet 0,5 ml dari larutan stock (25%) lalu dimasukkan ke dalam vial yang sudah dikalibrasi, selanjutnya diencerkan dengan DMSO 1% ad 1 ml (untuk fraksi *n*-heksan dan fraksi kloroform) atau diencerkan dengan aquades ad 1 ml (untuk fraksi air dan ekstrak etanolik).

3. Konsentrasi 6,25%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 12,5 = 1 \cdot 6,25$$

$$V1 = 0,5$$

Memipet 0,5 ml dari sediaan awal (12,5%) lalu dimasukkan ke dalam vial yang sudah dikalibrasi, selanjutnya diencerkan dengan DMSO 1% ad 1 ml (untuk fraksi *n*-heksan dan fraksi kloroform) atau diencerkan dengan aquades ad 1 ml (untuk fraksi air dan ekstrak etanolik).

### Lampiran 15. Pembuatan sediaan fraksi air untuk uji dilusi

$$\begin{aligned} \text{Larutan stock} &= 25\% \text{ b/v} \\ &= 25 \text{ gram}/100 \text{ ml} \\ &= 1,25 \text{ gram}/5 \text{ ml} \end{aligned}$$

Ditimbang 1,25 gram fraksi air kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah dikalibrasi dan diencerkan dengan aquades ad 5 ml.

Tabung 1 sebagai kontrol negatif (-) yang berisi fraksi air 1 ml.

Tabung 12 sebagai kontrol positif (+) yang berisi bakteri 1 ml.

#### 1. Konsentrasi 25%

Memipet 0,5 ml dari larutan stock lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi 2 yang sudah dikalibrasi, selanjutnya diencerkan dengan BHI ad 1 ml

#### 2. Konsentrasi 12,5%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 25 = 1 \cdot 12,5$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

Memipet 0,5 ml dari sediaan awal (25%) lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi 3 yang sudah dikalibrasi, selanjutnya diencerkan dengan BHI ad 1 ml.

#### 3. Konsentrasi 6,25%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 12,5 = 1 \cdot 6,25$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

Memipet 0,5 ml dari sediaan awal (12,5%) lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi 4 yang sudah dikalibrasi, selanjutnya diencerkan dengan BHI ad 1 ml.

## 4. Konsentrasi 3,12%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 6,25 = 1 \cdot 3,12$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

Memipet 0,5 ml dari sediaan awal (6,25%) lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi 5 yang sudah dikalibrasi, selanjutnya diencerkan dengan BHI ad 1 ml.

## 5. Konsentrasi 1,56%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 3,12 = 1 \cdot 1,56$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

Memipet 0,5 ml dari sediaan awal (3,12%) lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi 6 yang sudah dikalibrasi, selanjutnya diencerkan dengan BHI ad 1 ml.

## 6. Konsentrasi 0,78%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 1,56 = 1 \cdot 0,78$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

Memipet 0,5 ml dari sediaan awal (1,56%) lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi 7 yang sudah dikalibrasi, selanjutnya diencerkan dengan BHI ad 1 ml.

## 7. Konsentrasi 0,39%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 0,78 = 1 \cdot 0,39$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

Memipet 0,5 ml dari sediaan awal (0,78%) lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi 8 yang sudah dikalibrasi, selanjutnya diencerkan dengan BHI ad 1 ml.

8. Konsentrasi 0,20%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 0,39 = 1 \cdot 0,20$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

Memipet 0,5 ml dari sediaan awal (0,39%) lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi 9 yang sudah dikalibrasi, selanjutnya diencerkan dengan BHI ad 1 ml.

9. Konsentrasi 0,10%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 0,20 = 1 \cdot 0,10$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

Memipet 0,5 ml dari sediaan awal (0,20%) lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10 yang sudah dikalibrasi, selanjutnya diencerkan dengan BHI ad 1 ml.

10. Konsentrasi 0,05%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 0,10 = 1 \cdot 0,05$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

Memipet 0,5 ml dari sediaan awal (0,10%) lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi 11 yang sudah dikalibrasi, selanjutnya diencerkan dengan BHI ad 1 ml.

## Lampiran 16. Formulasi dan pembuatan media

### 1. Formulasi dan pembuatan *Vogel Jhonson Agar* (VJA)

Peptone from casein .....	10,0	gram
Yeast extract .....	5,0	gram
di-potasium hydrogen phosphate .....	10,0	gram
D(-)mannitol .....	10,0	gram
Lithium chloride .....	5,0	gram
Glycine .....	10,0	gram
Phenol red .....	0,025	gram
Agar .....	13,0	gram

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.

### 2. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain infusion .....	12,5	gram
Heart infusion .....	5,0	gram
Proteose peptone .....	10,0	gram
Glucose .....	2,0	gram
Sodium chloride .....	5,0	gram
di-sodium hydrogen phosphate .....	2,5	gram

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam tabung pH 7,4.

### 3. Formulasi dan pembuatan *Muller Hinton Agar* (MHA)

Meat infusion ..... 2,0 gram

Bacto asam kasamino ..... 17,5 gram

Kanji ..... 1,5 gram

Agar ..... 17,0 gram

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.



## Lampiran 17. Analisa data uji Anova antar fraksi pada konsentrasi 25%

### NPar Tests

#### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Diameter	12	15.67	2.535	11	18

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter
N		12
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	15.67
	Std. Deviation	2.535
Most Extreme Differences	Absolute	.302
	Positive	.179
	Negative	-.302
Kolmogorov-Smirnov Z		1.047
Asymp. Sig. (2-tailed)		.223

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

### Oneway

#### Test of Homogeneity of Variances

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.978	3	8	.450

## ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	64.667	3	21.556	28.741	.000
Within Groups	6.000	8	.750		
Total	70.667	11			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

Diameter

Scheffe

(I) Fraksi 25%	(J) Fraksi 25%	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
n-heksan	Kloroform	-5.000*	.707	.001	-7.47	-2.53
	Air	-5.667*	.707	.000	-8.14	-3.20
	Ekstrak Etanolik	-5.333*	.707	.001	-7.80	-2.86
Kloroform	n-heksan	5.000*	.707	.001	2.53	7.47
	Air	-.667	.707	.827	-3.14	1.80
	Ekstrak Etanolik	-.333	.707	.972	-2.80	2.14
Air	n-heksan	5.667*	.707	.000	3.20	8.14
	Kloroform	.667	.707	.827	-1.80	3.14
	Ekstrak Etanolik	.333	.707	.972	-2.14	2.80
Ekstrak Etanolik	n-heksan	5.333*	.707	.001	2.86	7.80
	Kloroform	.333	.707	.972	-2.14	2.80
	Air	-.333	.707	.972	-2.80	2.14

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

### Diameter

Scheffe<sup>a</sup>

Fraksi 25%	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
n-heksan	3	11.67	
Kloroform	3		16.67
Ekstrak Etanolik	3		17.00
Air	3		17.33
Sig.		1.000	.827

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## Lampiran 18. Analisa data uji Anova antar fraksi pada konsentrasi 12,5%

### NPar Tests

#### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Diameter	12	9.75	6.077	0	15

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter
N		12
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	9.75
	Std. Deviation	6.077
Most Extreme Differences	Absolute	.266
	Positive	.196
	Negative	-.266
Kolmogorov-Smirnov Z		.923
Asymp. Sig. (2-tailed)		.362

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

### Oneway

#### Test of Homogeneity of Variances

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.373	3	8	.075

## ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	398.917	3	132.972	145.061	.000
Within Groups	7.333	8	.917		
Total	406.250	11			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

Diameter

Scheffe

(J) Fraksi		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) Fraksi 12,5%	12,5%				Lower Bound	Upper Bound
n-heksan	Kloroform	-11.000*	.782	.000	-13.73	-8.27
	Air	-14.333*	.782	.000	-17.06	-11.60
	Ekstrak	-13.667*	.782	.000	-16.40	-10.94
	Etanolik					
Kloroform	n-heksan	11.000*	.782	.000	8.27	13.73
	Air	-3.333*	.782	.019	-6.06	-.60
	Ekstrak	-2.667	.782	.056	-5.40	.06
	Etanolik					
Air	n-heksan	14.333*	.782	.000	11.60	17.06
	Kloroform	3.333*	.782	.019	.60	6.06
	Ekstrak	.667	.782	.864	-2.06	3.40
	Etanolik					
Ekstrak Etanolik	n-heksan	13.667*	.782	.000	10.94	16.40
	Kloroform	2.667	.782	.056	-.06	5.40
	Air	-.667	.782	.864	-3.40	2.06

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

### Diameter

Scheffe<sup>a</sup>

Fraksi 12,5%	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
n-heksan	3	.00		
Kloroform	3		11.00	
Ekstrak Etanolik	3		13.67	13.67
Air	3			14.33
Sig.		1.000	.056	.864

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

### Lampiran 19. Analisa data uji Anova antar fraksi pada konsentrasi 6,25%

#### NPar Tests

##### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Diameter	12	5.92	6.230	0	13

##### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter
N		12
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	5.92
	Std. Deviation	6.230
Most Extreme Differences	Absolute	.329
	Positive	.329
	Negative	-.244
Kolmogorov-Smirnov Z		1.139
Asymp. Sig. (2-tailed)		.149

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

#### Oneway

##### Test of Homogeneity of Variances

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.364	3	8	.042

## ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	420.250	3	140.083	168.100	.000
Within Groups	6.667	8	.833		
Total	426.917	11			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

Diameter

Scheffe

(J) Fraksi		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) Fraksi 6,25%	6,25%				Lower Bound	Upper Bound
n-heksan	Kloroform	.000	.745	1.000	-2.60	2.60
	Air	-12.000*	.745	.000	-14.60	-9.40
	Ekstrak	-11.667*	.745	.000	-14.27	-9.06
	Etanolik					
Kloroform	n-heksan	.000	.745	1.000	-2.60	2.60
	Air	-12.000*	.745	.000	-14.60	-9.40
	Ekstrak	-11.667*	.745	.000	-14.27	-9.06
	Etanolik					
Air	n-heksan	12.000*	.745	.000	9.40	14.60
	Kloroform	12.000*	.745	.000	9.40	14.60
	Ekstrak	.333	.745	.976	-2.27	2.94
	Etanolik					
Ekstrak Etanolik	n-heksan	11.667*	.745	.000	9.06	14.27
	Kloroform	11.667*	.745	.000	9.06	14.27
	Air	-.333	.745	.976	-2.94	2.27

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



## Homogeneous Subsets

### Diameter

Scheffe<sup>a</sup>

Fraksi 6,25%	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
n-heksan	3	.00	
Kloroform	3	.00	
Ekstrak Etanolik	3		11.67
Air	3		12.00
Sig.		1.000	.976

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Lampiran 20. Analisa data uji Anova fraksi *n*-heksan dengan konsentrasi 25%; 12,5% dan 6,25%**

**NPar Tests**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Diameter	9	3.89	5.840	0	12

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Diameter
N		9
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.89
	Std. Deviation	5.840
Most Extreme Differences	Absolute	.414
	Positive	.414
	Negative	-.253
Kolmogorov-Smirnov Z		1.242
Asymp. Sig. (2-tailed)		.092

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Oneway**

**Test of Homogeneity of Variances**

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
16.000	2	6	.004

## ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	272.222	2	136.111	1225.000	.000
Within Groups	.667	6	.111		
Total	272.889	8			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

Diameter

Scheffe

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Konsentrasi Fraksi n-heksan	Konsentrasi Fraksi n-heksan	11.667*	.272	.000	10.79	12.54
	6,25%	11.667*	.272	.000	10.79	12.54
12,5%	25%	-11.667*	.272	.000	-12.54	-10.79
	6,25%	.000	.272	1.000	-.87	.87
6,25%	25%	-11.667*	.272	.000	-12.54	-10.79
	12,5%	.000	.272	1.000	-.87	.87

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

### Diameter

Scheffe<sup>a</sup>

Konsentrasi Fraksi n-heksan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
12,5%	3	.00	
6,25%	3	.00	
25%	3		11.67
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Lampiran 21. Analisa data uji Anova fraksi kloroform dengan konsentrasi 25%; 12,5% dan 6,25%**

**NPar Tests**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Diameter	9	9.22	7.379	0	18

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Diameter
N		9
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	9.22
	Std. Deviation	7.379
Most Extreme Differences	Absolute	.228
	Positive	.228
	Negative	-.209
Kolmogorov-Smirnov Z		.683
Asymp. Sig. (2-tailed)		.739

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Oneway**

**Test of Homogeneity of Variances**

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.000	2	6	.079

## ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	430.889	2	215.444	277.000	.000
Within Groups	4.667	6	.778		
Total	435.556	8			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

Diameter

Scheffe

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Konsentrasi Fraksi Kloroform	Konsentrasi Fraksi Kloroform	5.667*	.720	.001	3.36	7.98
	6,25%	16.667*	.720	.000	14.36	18.98
12,5%	25%	-5.667*	.720	.001	-7.98	-3.36
	6,25%	11.000*	.720	.000	8.69	13.31
6,25%	25%	-16.667*	.720	.000	-18.98	-14.36
	12,5%	-11.000*	.720	.000	-13.31	-8.69

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

### Diameter

Scheffe<sup>a</sup>

Konsentrasi Fraksi Kloroform	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
6,25%	3	.00		
12,5%	3		11.00	
25%	3			16.67
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Lampiran 22. Analisa data uji Anova fraksi air dengan konsentrasi 25%;  
12,5% dan 6,25%**

**NPar Tests**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Diameter	9	14.56	2.455	11	18

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Diameter
N		9
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	14.56
	Std. Deviation	2.455
Most Extreme Differences	Absolute	.181
	Positive	.181
	Negative	-.174
Kolmogorov-Smirnov Z		.544
Asymp. Sig. (2-tailed)		.929

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Oneway**

**Test of Homogeneity of Variances**

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.857	2	6	.471



## ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42.889	2	21.444	24.125	.001
Within Groups	5.333	6	.889		
Total	48.222	8			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

Diameter

Scheffe

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Konsentrasi Fraksi Air	Konsentrasi Fraksi Air					
	12,5%	3.000*	.770	.023	.53	5.47
	6,25%	5.333*	.770	.001	2.86	7.80
12,5%	25%	-3.000*	.770	.023	-5.47	-.53
	6,25%	2.333	.770	.062	-.14	4.80
6,25%	25%	-5.333*	.770	.001	-7.80	-2.86
	12,5%	-2.333	.770	.062	-4.80	.14

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

### Diameter

Scheffe<sup>a</sup>

Konsentrasi Fraksi Air	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
6,25%	3	12.00	
12,5%	3	14.33	
25%	3		17.33
Sig.		.062	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Lampiran 23. Analisa data uji Anova ekstrak etanolik dengan konsentrasi 25%; 12,5% dan 6,25%**

**NPar Tests**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Diameter	9	14.11	2.571	10	18

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Diameter
N		9
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	14.11
	Std. Deviation	2.571
Most Extreme Differences	Absolute	.223
	Positive	.223
	Negative	-.111
Kolmogorov-Smirnov Z		.668
Asymp. Sig. (2-tailed)		.763

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Oneway**

**Test of Homogeneity of Variances**

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.462	2	6	.651

## ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	43.556	2	21.778	14.000	.005
Within Groups	9.333	6	1.556		
Total	52.889	8			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

Diameter

Scheffe

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Konsentr asi Ekstrak Etanolik	12,5%	3.333*	1.018	.046	.07	6.60
	6,25%	5.333*	1.018	.006	2.07	8.60
12,5%	25%	-3.333*	1.018	.046	-6.60	-.07
	6,25%	2.000	1.018	.226	-1.27	5.27
6,25%	25%	-5.333*	1.018	.006	-8.60	-2.07
	12,5%	-2.000	1.018	.226	-5.27	1.27

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

### Diameter

Scheffe<sup>a</sup>

Konsentrasi Ekstrak Etanolik	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
6,25%	3	11.67	
12,5%	3	13.67	
25%	3		17.00
Sig.		.226	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Lampiran 24. Perhitungan konsentrasi kontrol positif**

$$\begin{aligned}\text{Sirup kering amoksisilin} &= 125 \text{ mg/5 ml} \\ &= 2500 \text{ mg/100ml} \\ &= 2,5\text{gram/100ml} \\ &= 2,5\% \text{ b/v}\end{aligned}$$

Pembuatan kontrol positif (konsentrasi 2,5%) dengan cara menimbang 125 mg sirup kering amoksisilin ditambahkan aquadest ad 5 ml.