

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa :

Pertama, perkolat metanolik, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dari bunga biduri (*Calotropis gigantea* (L.) Dryand) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) aktivitas antibakteri perkolat metanolik, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat adalah 12,5% dan KBM aktivitas antibakteri fraksi air adalah 6,5%.

Ketiga, fraksi air ekstrak bunga biduri (*Calotropis gigantea* (L.) Dryand) merupakan fraksi yang paling efektif sebagai antibakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dibanding fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan perkolat bunga biduri (*Calotropis gigantea* (L.) Dryand).

Keempat, golongan senyawa dalam fraksi air adalah saponin, flavonoid, dan alkaloid.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak metanolik bunga biduri (*Calotropis gigantea* (L.) Dryand) terhadap bakteri patogen Gram positif atau Gram negatif selain *Escherichia coli* TCC 25922.

Kedua, perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode *in vivo* sebagai lanjutan dari *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anief, M, 1993, *Ilmu Meracik Obat*, Cetakan IV, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Ansel. H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Universitas Indonesia. hlm 410-417.
- Bonang G, Koeswardono, E.S., 1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran. Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya. Gramedi. Jakarta. hlm 190-191.
- [Depkes RI]. 1977. *Materia Medika Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hlm XI.
- [Depkes RI]. 1977. *Materia Medika Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hlm XI.
- [Depkes RI]. 1979. *Materia Medika Indonesia*, Jilid III, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hlm XI.
- [Depkes RI], 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 1.
- [Depkes RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 4-7, 25-28.
- [Depkes RI]. 1987. *Analisis Obat Tradisional*. Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Indonesia. Hlm 44-48.
- [Depkes RI]. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hlm 519.
- D.Jayakumar,S. Jhancy Mary and R. Jaya Santhi. 2010. Evaluation of antioxidant and antibacterial activity of *Calotropis gigantean* and *Vinca rosea* using *invitro model*. Vol 3:7.
- Ganiswara, S., Setiabudy. R., Suyatna, F., 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. Jakarta: UI Press. Hlm 571-573.

- Hadioetomo. 1985. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*, Gramedia. Jakarta : hlm 42-53.
- Harborne, J.B., 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi II. Institut Teknologi Bandung.
- [ITB]. 1978. Card system dan reaksi warna. Bandung: Institut Teknologi Bandung
- Jawetz., E., Melnick, J.L., and Adelberg, E.A.,1982, *Review of Medical microbiology*, 14th Edition, diterjemahkan oleh dr. Bonang, G., FK, Universitas Kristen Indonesia,. Atma Jaya, Jakarta.
- Jawetz., Melnick, J.L., and Adelberg,E.A., 1986, *Mikrobiologi Untuk Profesi kesehatan* , Edisi XVI Diterjemahkan oleh Bonang G., Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta, hlm 329-330.
- Martindale.,1993. *The Extrak Pharmacopeia*. Edisi 23. James EF, Rynold. edited by London The Pharmaceutical press.
- Robinson, T., 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi VI. Bandung: ITB. hlm 57-59, 156-157, 281-284.
- Sastrohamidjojo Hardjono, 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta : Universitas Gajah Mada. Hlm 68-70.
- Sudjadi. 1986. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta : Penerbit Kanisius.
- Suharmiati. 2006. *Cara Benar Ilmu Meracik Obat Tradisional*. Jakarta: Agro Media. hlm 1.
- Supriadi , dkk., 2001. *Tumbuhan Obat Indonesia Penggunaan dan Khasiatnya*. Jakarta: Pustaka Populer Obor. hlm xvii
- Suriawiria, U., 1985. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: Penerbit Angkasa. hlm 60-63
- Tyler. V., Brandy. L. R., Robber. Jr., 1988. *Pharmacognosy*, 9th edition Lea and Febiger. Philadelphia
- [UI], 2007, *Farmakologi dan Terapi*, Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, hal. 599-600, 605-606

[UI], 1993, *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, hal, 124, 154, 157, 163 dan 165.

Voigh, R., 1994, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, diterjemahkan oleh Soendani Noerono, Edisi ke-5, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 561, 572-573.

Lampiran 1. Determinasi bunga biduri



Nomor : 044/LPPM-1/Det/USB/VII/12
Hal : Determinasi Tanaman

Surakarta, 9 Juli 2012

SURAT KETERANGAN

Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Setia Budi menerangkan bahwa mahasiswa :

Nama : Retno Wahyu Nurcahyono
NIM : 13072357A
Fakultas : Farmasi

Telah melakukan Determinasi Tanaman

Calotropis gigantea Dryand.

Di LPPM Universitas Setia Budi Menggunakan buku :

FLORA

Determinasi :

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14b – 16a – 239a – 240b – 241b – 242b – 106.
Familia Asclepiadaceae. 1a – 2b. *Calotropis* – *Calotropis gigantea* Dryand.

Deskripsi:

Semak tegak, tinggi 0,5 – 3 m. Batang bulat, tebal. Daun bertangkai sangat pendek; helaian daun memanjang, ujung tumpul, pangkal berbentuk jantung, serupa belulang, permukaan atas berwarna hijau, gundul, permukaan bawah berwarna keputihan, 8-30 x 4-15 cm. Duduk daun berhadapan bersilang. Bunga dalam anak payung, berbunga banyak, tertancap antara tangkai dan pasangan daun yang sama. Daun pelindung sempit. Tangkai bunga tebal, panjang 3-5 cm. Kelopak bulat telur, warna keputihan. Mahkota bentuk roda, lila, garis tengah 4-4,5 cm, dengan tabung berwarna hijau coklat, bentuk cawan, dangkal sekali; daun mahkota tambahan berlekatan dengan tabung benangsari; dengan sebuah taji pada pangkal dari daun mahkota tambahan. Tangkaisari berlekatan menjadi tabung. Kepala putik lebar, bersudut 5; tangkai putik panjang.

Sinonim: Biduri (Indonesia)

Pustaka :

Steenis C.G.G.J. Bloemgens & Eyma P.J. (1978) *Flora Untuk Sekolah di Indonesia*
PT. Pradnya Paramita Jakarta Pusat.

Mengetahui
Ketua LPPM Bid. Penelitian USB

Drg. Supriyadi, M.Si.

Ketua Team Determinasi

Dra. Kartinah WS., SU.

Lampiran 2. Foto bunga dan serbuk bunga biduri



Gambar 3. Foto bunga biduri (*Calotropis gigantea* (L.) Dryand)



Gambar 4. Foto serbuk bunga biduri (*Calotropis gigantea* (L.) Dryand)

Lampiran 3. Foto alat Sterling Bidwell, Perkolator dan Corong pisah



Gambar 5. Foto alat Sterling-Bidwell

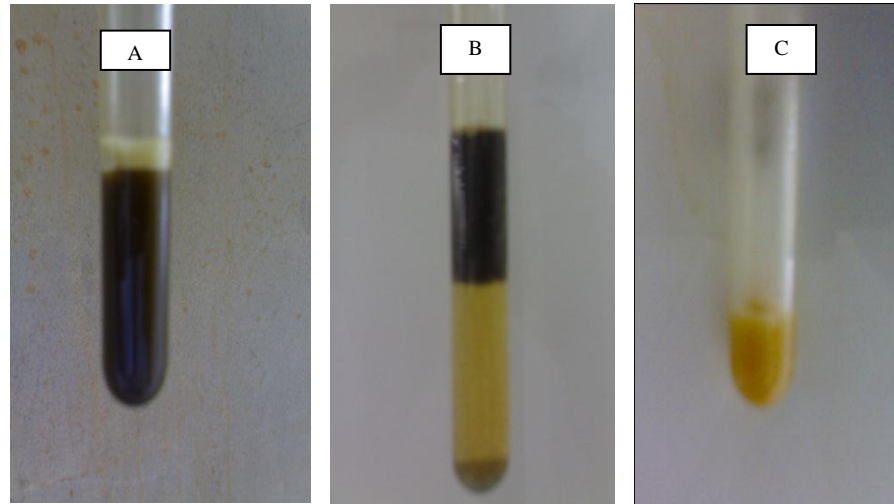


Gambar 6. Foto alat Perkolator



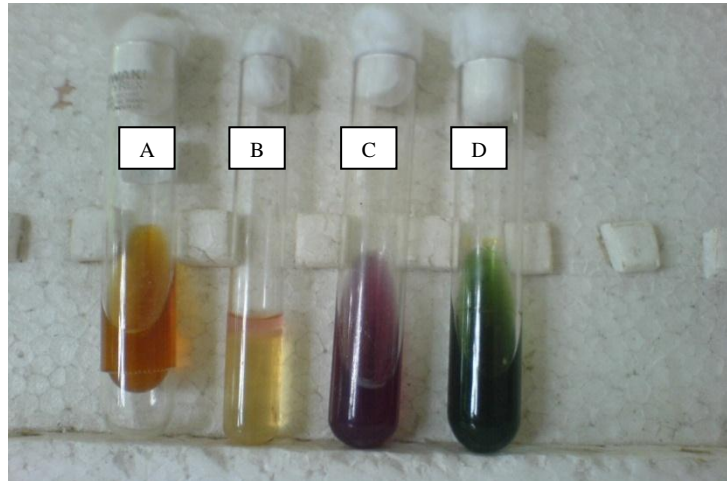
Gambar 7. Foto alat Corong pisah

Lampiran 4. Foto hasil identifikasi perkolat bunga biduri dan biakan *Escherichia coli* ATCC 29522

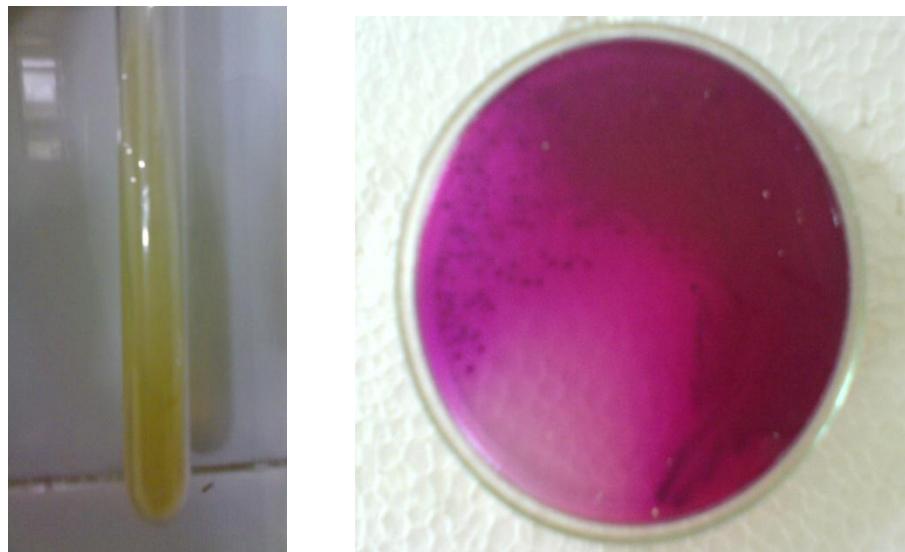


Gambar 8. Foto A hasil identifikasi saponin, B hasil identifikasi flavonoid dan C hasil identifikasi alkaloid

Lampiran 5. Foto hasil identifikasi biokimia, biakan murni dan identifikasi bakteri uji *Escherichia coli* ATCC 29522



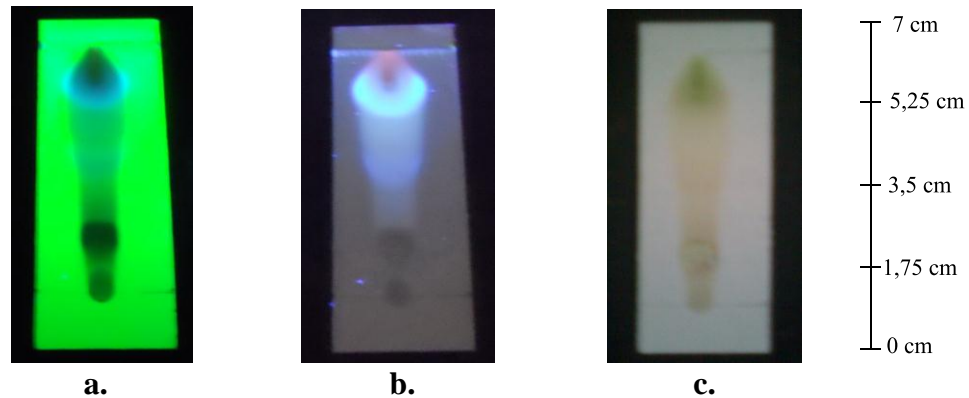
Gambar 9. Foto A hasil identifikasi uji KIA, B hasil identifikasi uji SIM, C hasil identifikasi uji LIA, dan D hasil identifikasi uji Sitrat.



Gambar 10. Foto biakan murni *Escherichia coli* ATCC 29522 dalam medium BHI dan Foto hasil identifikasi bakteri uji secara goresan pada *Escherichia coli* ATCC 25922 dalam medium EA.

Lampiran 6. Foto hasil uji KLT dan uji aktivitas kotrimoksazol

6.1. Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT) golongan senyawa saponin.

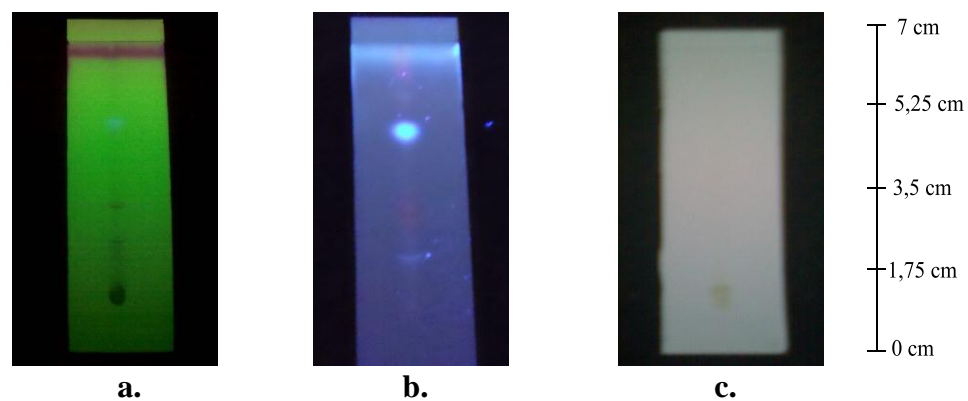


Gambar 11. Foto hasil identifikasi saponin

Keterangan :

- Hasil KLT pada sinar UV 254
- Hasil KLT pada sinar UV 366
- Hasil KLT dengan pereaksi semprot anisaldehyd- H_2SO_4

6.2. Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT) golongan senyawa flavonoid

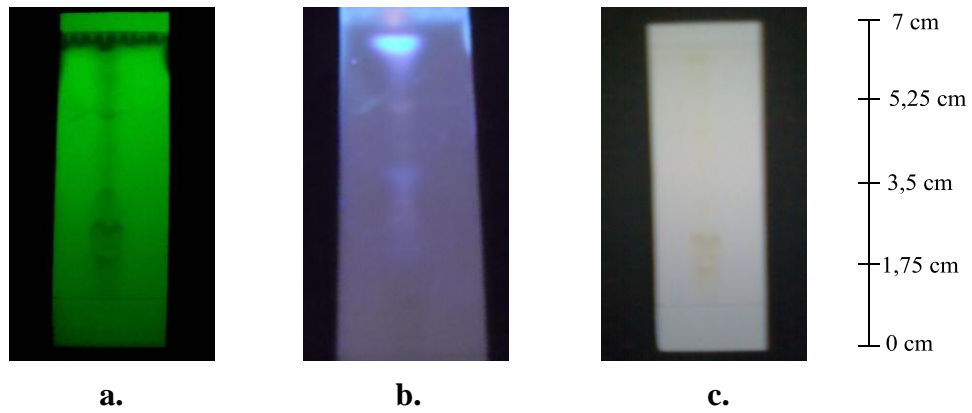


Gambar 12. Foto hasil identifikasi flavonoid

Keterangan :

- Hasil KLT pada sinar UV 254
- Hasil KLT pada sinar UV 366
- Hasil KLT dengan pereaksi semprot sitroborat

6.3. Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT) golongan senyawa alkaloid.



Gambar 13 Hasil identifikasi alkaloid

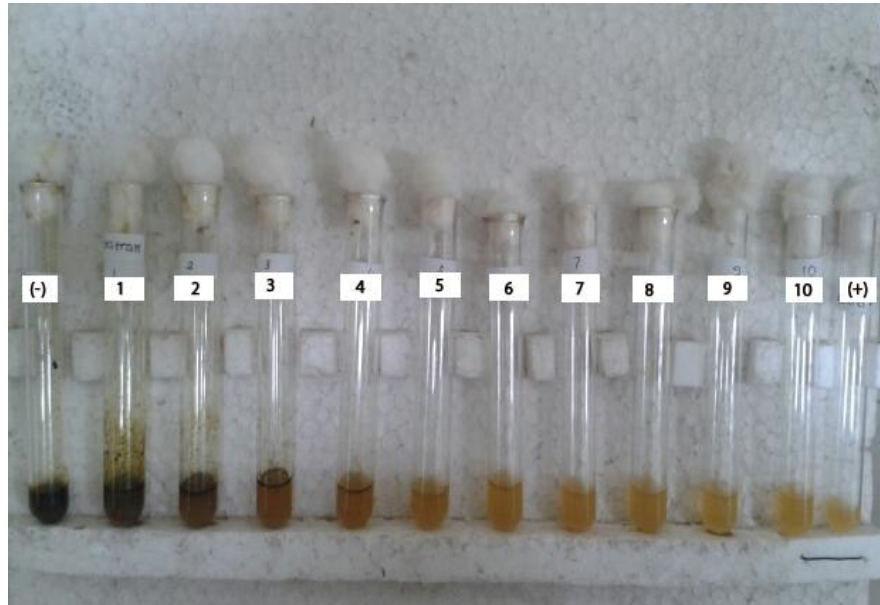
Keterangan :

- a. Hasil KLT pada sinar UV 254
- b. Hasil KLT pada sinar UV 366
- c. Hasil KLT dengan pereaksi semprot dragendrof

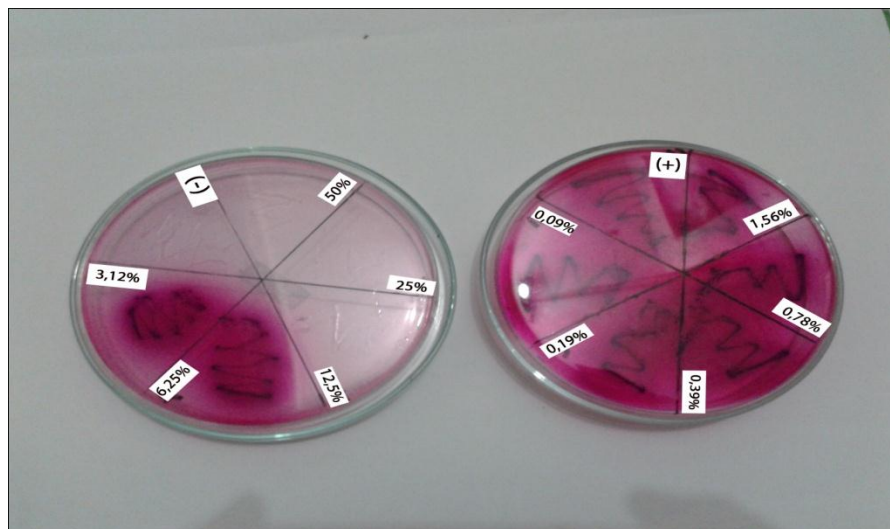


Gambar 14. Foto uji aktivitas antibakteri antibiotik kotrimoksazol terhadap *Escherichia coli* ATCC25922.

Lampiran 7. Foto hasil dilusi perkolat metanol bunga biduri dan inokulasi perkolat metanol terhadap *Escherichia coli* ATCC 29522

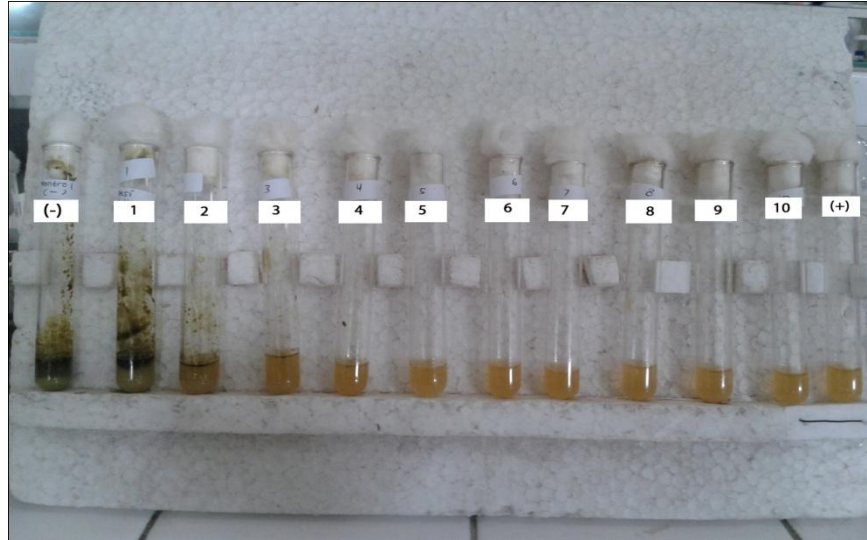


Gambar 15. Foto hasil dilusi perkolat metanol bunga biduri dalam media BHI.

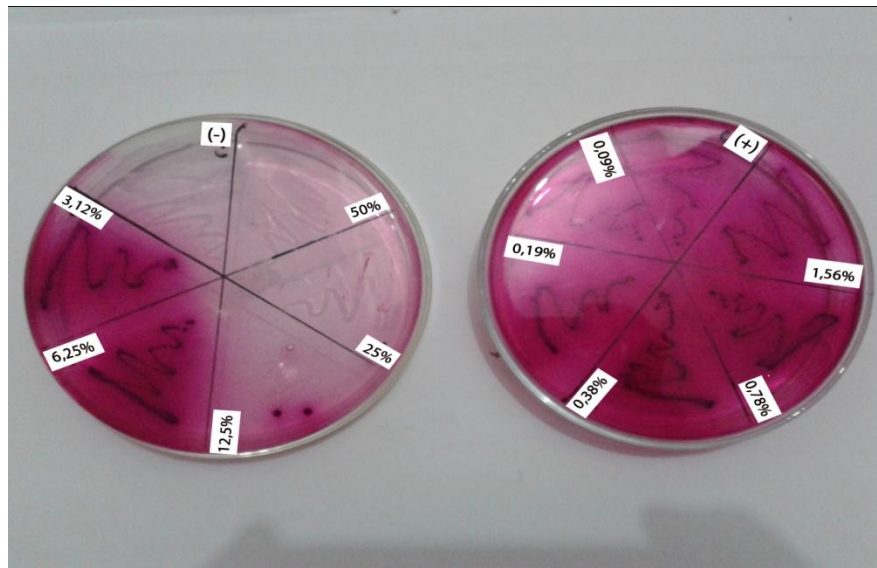


Gambar 16. Foto inokulasi perkolat metanol terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dalam media AE.

Lampiran 8. Hasil dilusi fraksi n-Heksan bunga biduri dan inokulasi fraksi n-Heksan terhadap *Escherichia coli* ATCC 29522



Gambar 17. Foto hasil dilusi fraksi n-Heksan bunga biduri dalam media BHI.

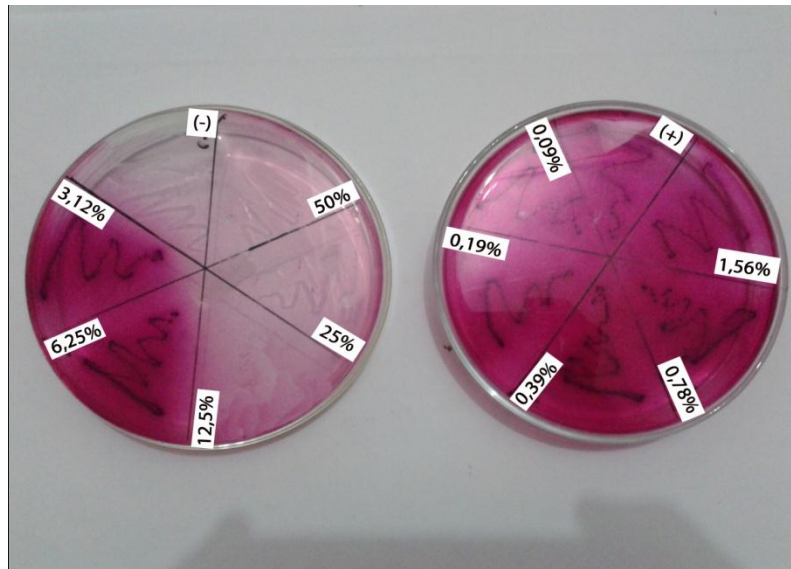


Gambar 18. Foto inokulasi fraksi n-Heksan terhadap *Escherichia coli* ATCC 29522 dalam media AE.

Lampiran 9. Hasil dilusi fraksi etil asetat bunga biduri dan inokulasi fraksi etil asetat terhadap *Escherichia coli* ATCC 29522

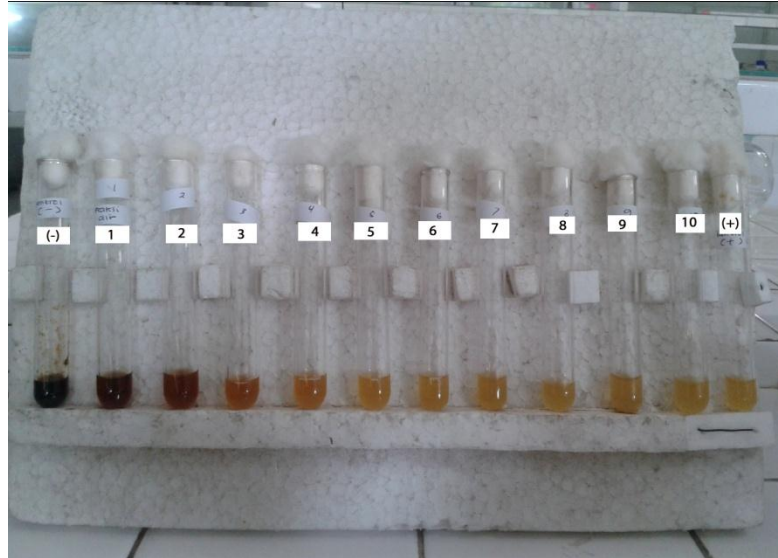


Gambar 19. Foto hasil dilusi fraksi etil asetat bunga biduri dalam media BHI.

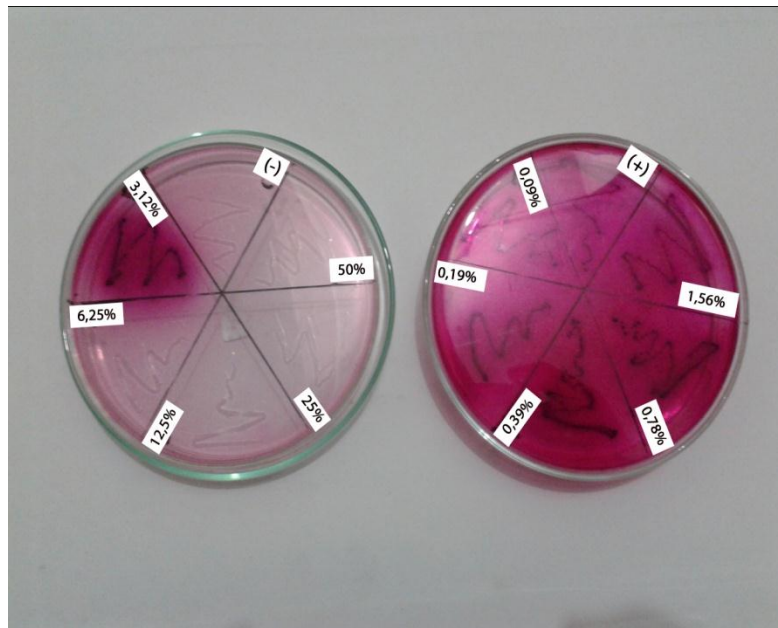


Gambar 20. Foto inokulasi fraksi etil asetat terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dalam media AE.

Lampiran 10. Hasil dilusi fraksi air bunga biduri dan inokulasi fraksi air terhadap *Escherichia coli* ATCC 29522



Gambar 21. Foto hasil dilusi air bunga biduri dalam media BHI.



Gambar 22. Foto inokulasi fraksi air terhadap *Escherichia coli* ATCC 29522 dalam media AE.

Lampiran 11. Hasil perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah

Tabel 1. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah

No	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Prosentase (%)
1.	3486	388	11,13

Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah adalah:

$$\text{bobot kering (\%)} = \frac{\text{Bobot kering (g)}}{\text{Bobot basah (g)}} \times 100 \%$$

$$\text{bobot kering (\%)} = \frac{388}{3486} \times 100 \% = 11,13 \%$$

Maka prosentase bobot kering terhadap bobot basah adalah 11,13 %

Lampiran 12. Hasil penetapan kadar air bunga biduri

Tabel 2. Hasil penetapan kadar air dari bunga biduri

No	Penimbangan (gram)	volume pada skala (ml)	kadar air (% b/v)
1.	20,165	1,90	9,42
2.	20,058	1,80	8,97
3.	20,035	1,82	9,08
Rata-rata			9,10

Perhitungan :

$$\text{Prosentase kadar air} = \frac{\text{Volume terbaca}}{\text{Berat bahan}} \times 100 \%$$

$$\text{Kadar air I} = \frac{1,90}{20,165} \times 100 \% = 9,42 \%$$

$$\text{Kadar air II} = \frac{1,80}{20,058} \times 100 \% = 8,97 \%$$

$$\text{Kadar air III} = \frac{1,82}{20,035} \times 100 \% = 9,08 \%$$

Hasil perhitungan penetapan kadar air menunjukkan bahwa terdapat data yang menyimpang yaitu 8,97%. Data tersebut dianalisis menggunakan perhitungan Standar Deviasi sebagai berikut :

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

Dimana; x : prosentase bobot kering

$x-\bar{x}$: deviasi atau penyimpangan

n : banyaknya perlakuan yang diulang

SD : simpangan baku atau standar deviasi

No	Prosentase X	\bar{x}	D = (x- \bar{x})	d ²
1.	9,42	9,10	0,32	0,1024
2.	8,97		0,13	0,0169
3.	9,08		0,02	0,0004

$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\frac{0,1197}{3-1}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,1197}{2}} \\
 &= 0,2446
 \end{aligned}$$

Penolakan data dengan menggunakan rumus :

$$|x - \text{rata} - \text{rata}| \leq 2 \cdot SD$$

$$X = 8,97 \%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{9,42 + 9,08}{2} = 9,25 \%$$

$$|8,97 \% - 9,25 \%| \leq 2 \cdot 0,2446$$

$$0,28 \leq 0,489$$

Jadi data (8,97 %) diterima.

Maka prosentase rata-rata bunga biduri adalah :

$$\begin{aligned}
 &= \frac{9,42\% + 8,97\% + 9,08\%}{3} \\
 &= 9,156 \% \text{ b/v}
 \end{aligned}$$

Lampiran 13. Perhitungan rendemen ekstrak bunga biduri secara perkolasi menggunakan pelarut metanol.

Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak metanol bunga biduri dengan pelarut metanol

No	Berat wadah kosong (g)	Berat serbuk (g)	Berat wadah + ekstrak	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
1	48,721	175	88,082	39,361	22,492
2	48,816	125	71,245	22,429	17,943
Jumlah				61,79	40,43
Rata-rata				30,89	20,21

Berat ekstrak kental total = 61,79 gram

Perhitungan :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Hasil ekstraksi}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100 \%$$

No	Ekstrak kental (g)	Prosentase (% b/b)
1	39,361	22,492
2	22,429	17,943
Rata-rata		20,21

Perhitungan :

$$\text{Rendemen} = \frac{39,361}{175} \times 100 \% = 22,492 \% \text{ b/b}$$

$$\text{Rendemen} = \frac{22,429}{125} \times 100 \% = 17,943 \% \text{ b/b}$$

Lampiran 14. Perhitungan rendemen fraksi n-heksan bunga biduri

Tabel 4. Hasil pembuatan fraksi n-Heksan bunga biduri

No	Bobot ekstrak (g)	Berat fraksi (g)	Rendemen (%)
1.	10,27	1,59	15,48
2.	10,18	1,46	14,34
3.	10,13	1,56	15,39
Rata-rata			15,07

Perhitungan rendemen fraksi n-heksan dari ekstrak metanol bunga biduri

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{\text{Bobotfraksi}}{\text{Bobotekstrak}} \times 100 \%$$

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{1,59}{10,27} \times 100 \% = 15,48 \%$$

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{1,46}{10,18} \times 100 \% = 14,34 \%$$

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{1,56}{10,13} \times 100 \% = 15,39 \%$$

Hasil perhitungan rendemen fraksi n-heksan menunjukkan bahwa terdapat data yang menyimpang yaitu 14,34 %. Data tersebut dianalisis menggunakan perhitungan Standar Deviasi sebagai berikut :

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

Dimana; x : prosentase bobot kering

$x-\bar{x}$: deviasi atau penyimpangan

n : banyaknya perlakuan yang diulang

SD : simpangan baku atau standar deviasi

No	Prosentase X	\bar{x}	D = (x- \bar{x})	d ²
1.	15,48	15,07	0,41	0,168
2.	14,34		0,73	0,532
3.	15,39		0,32	0,102

$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\frac{0,802}{3-1}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,802}{2}} \\
 &= 0,633
 \end{aligned}$$

Penolakan data dengan menggunakan rumus :

$$|x - \text{rata - rata}| \leq 2 \cdot SD$$

$$X = 14,34 \%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{15,48 + 15,39}{2} = 15,43 \%$$

$$|14,34 \% - 15,43 \%| \leq 2 \cdot 0,633$$

$$1,09 \leq 1,266$$

Jadi data (14,34 %) diterima.

Maka prosentase rata-rata fraksi n-heksan adalah :

$$\begin{aligned}
 &= \frac{15,48 \% + 14,34 \% + 15,39 \%}{3} \\
 &= 15,07 \% \text{ b/v}
 \end{aligned}$$

Lampiran 15. Perhitungan rendemen fraksi etil asetat bunga biduri

Tabel 5. Hasil pembuatan fraksi etil asetat bunga biduri

No	Bobot ekstrak (g)	Berat fraksi (g)	Rendemen (%)
1.	10,27	1,32	12,85
2.	10,18	1,29	12,67
3.	10,13	1,23	12,14
Rata-rata			12,55

Perhitungan rendemen fraksi etil asetat dari ekstrak metanol bunga biduri

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{\text{Bobotfraksi}}{\text{Bobotekstrak}} \times 100 \%$$

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{1,32}{10,27} \times 100 \% = 12,85 \%$$

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{1,29}{10,18} \times 100 \% = 12,67 \%$$

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{1,23}{10,13} \times 100 \% = 12,14 \%$$

Hasil perhitungan rendemen fraksi etil asetat menunjukkan bahwa terdapat data yang menyimpang yaitu 12,14 %. Data tersebut dianalisis menggunakan perhitungan Standar Deviasi sebagai berikut :

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

Dimana; x : prosentase bobot kering

x- \bar{x} : deviasi atau penyimpangan

n : banyaknya perlakuan yang diulang

SD : simpangan baku atau standar deviasi

No	Prosentase X	\bar{x}	D = (x- \bar{x})	d ²
1.	12,85	12,55	0,30	0,09
2.	12,67		0,12	0,014
3.	12,14		0,41	0,168

$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\frac{0,272}{3-1}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,272}{2}} \\
 &= 0,368
 \end{aligned}$$

Penolakan data dengan menggunakan rumus :

$$|x - \text{rata - rata}| \leq 2 \cdot SD$$

$$X = 12,14 \%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{12,85 + 12,67}{2} = 12,76 \%$$

$$|12,14 \% - 12,76 \%| \leq 2 \cdot 0,368$$

$$0,62 \leq 0,737$$

Jadi data (12,14 %) diterima.

Maka prosentase rata-rata fraksi etil asetat adalah :

$$\begin{aligned}
 &= \frac{12,85 \% + 12,67 \% + 12,14 \%}{3} \\
 &= 12,55 \% \text{ b/v}
 \end{aligned}$$

Lampiran 16. Perhitungan rendemen fraksi air dari bunga biduri

Tabel 6. Hasil fraksi air dari bunga biduri

No	Bobot ekstrak (g)	Berat fraksi (g)	Rendemen (%)
1.	10,27	4,83	47,03
2.	10,18	4,79	47,05
3.	10,13	4,74	46,79
Rata-rata			46.95

Perhitungan rendemen fraksi air dari ekstrak metanol bunga biduri

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{\text{Bobotfraksi}}{\text{Bobotekstrak}} \times 100 \%$$

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{4,83}{10,27} \times 100 \% = 47,03 \%$$

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{4,79}{10,18} \times 100 \% = 47,05 \%$$

$$\text{Randemen (\%)} = \frac{4,74}{10,13} \times 100 \% = 46,79 \%$$

Hasil perhitungan rendemen fraksi air menunjukkan bahwa terdapat data yang menyimpang yaitu 46,79 %. Data tersebut dianalisis menggunakan perhitungan Standar Deviasi sebagai berikut :

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

Dimana; x : prosentase bobot kering

x- \bar{x} : deviasi atau penyimpangan

n : banyaknya perlakuan yang diulang

SD : simpangan baku atau standar deviasi

No	Prosentase X	\bar{x}	D = (x- \bar{x})	d ²
1.	47,03	46,95	0,08	0,064
2.	47,05		0,10	0,010
3.	46,79		0,16	0,025

$$\begin{aligned}
 SD &= \sqrt{\frac{0,099}{3-1}} \\
 &= \sqrt{\frac{0,099}{2}} \\
 &= 0,222
 \end{aligned}$$

Penolakan data dengan menggunakan rumus :

$$|x - \text{rata - rata}| \leq 2 \cdot SD$$

$$X = 46,79 \%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{47,03 + 47,05}{2} = 47,04 \%$$

$$|46,79 \% - 47,04 \%| \leq 2 \cdot 0,222$$

$$0,250 \leq 0,444$$

Jadi data (46,79 %) diterima.

Maka prosentase rata-rata fraksi air adalah :

$$\begin{aligned}
 &= \frac{47,03 \% + 47,05 \% + 46,79 \%}{3} \\
 &= 46,95 \% \text{ b/v}
 \end{aligned}$$

Lampiran 17. Pembuatan larutan dengan berbagai konsentrasi

A. Ekstrak fraksinasi metanol bunga biduri

Pembuatan konsentrasi 100 %

Timbang 1,00 g, fraksi n-heksan,etil asetat dan air pada ependolf yang berbeda kemudian ditambah aquadest ad 1 ml, pada fraksi n-heksan di tambahkan Tween 80 agar fraksi bisa larut air, masing-masing diambil dengan pipet ukur sebanyak 0,5 ml, dimasukkan ke dalam 12 seri tabung yang berisi 0,5 BHI, diinkubasi selama 24-48 jam.

1. Pembuatan konsentrasi 50 %

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 100\% = 1 \cdot 50\%$$

$$V_1 = \frac{1 \cdot 50\%}{100\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (100 %) kemudian ditambahkan BHI sampai 1 ml

2. Pembuatan konsentrasi 25 %

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 50\% = 1 \cdot 25\%$$

$$V_1 = \frac{1 \cdot 25\%}{50\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (50 %) kemudian ditambahkan BHI sampai 1 ml

3. Pembuatan konsentrasi 12,5 %

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 25\% = 1 \cdot 12,5\%$$

$$V_1 = \frac{1 \cdot 12,5\%}{25\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (25%) kemudian ditambahkan BHI sampai 1 ml

4. Pembuatan konsentrasi 6,25 %

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 12,5\% = 1 \cdot 6,25\%$$

$$V_1 = \frac{1 \cdot 6,25\%}{12,5\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (12,5 %) kemudian ditambahkan BHI sampai 1 ml

5. Pembuatan konsentrasi 3,125 %

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 6,25\% = 1 \cdot 3,125\%$$

$$V_1 = \frac{1,6,25\%}{3,125\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (6,25 %) kemudian ditambahkan BHI sampai 1 ml

6. Pembuatan konsentrasi 1,56 %

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 3,125\% = 1 \cdot 1,56\%$$

$$V_1 = \frac{1,1,56\%}{3,125\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (3,125%) kemudian ditambahkan BHI sampai 1 ml

7. Pembuatan konsentrasi 0,78 %

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 1,56\% = 1 \cdot 0,78\%$$

$$V_1 = \frac{1,0,78\%}{1,56\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (1,56%) kemudian ditambahkan BHI sampai 1 ml

8. Pembuatan konsentrasi 0,39 %

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 0,78\% = 1 \cdot 0,39\%$$

$$V_1 = \frac{1 \cdot 0,39\%}{0,78\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (0,78%) kemudian ditambahkan BHI sampai 1 ml

9. Pembuatan konsentrasi 0,195%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 0,39\% = 1 \cdot 0,195\%$$

$$V_1 = \frac{1 \cdot 0,195\%}{0,39\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (0,39%) kemudian ditambahkan BHI sampai 1 ml

10. Pembuatan konsentrasi 0,09%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 0,19\% = 1 \cdot 0,09\%$$

$$V_1 = \frac{1 \cdot 0,09\%}{0,19\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (0,19%) kemudian ditambahkan BHI sampai 1 ml

Lampiran 18. Perhitungan konsentrasi kotrimoksazol

Perhitungan konsentrasi kotrimoksazol dari sediaan suspensi kotrimoksazol 60 ml/botol.

Dalam 5 ml suspensi = 240 kotrimoksazol

$$\begin{aligned} 0,5 \text{ ml suspensi} &= 240 \text{ mg}/10 \text{ ml} \\ &= 24 \text{ mg kotrimoksazol} \end{aligned}$$

Perhitungan kadar antibiotik kotrimoksazol dalam pengujian aktivitas antibiotik terhadap bakteri *Eacherichia coli ATCC 25922* secara dilusi

1. Kontrol (-) : 1ml larutan stok 24 mg/ml = 2,4 % b/v

2. Perhitungan antibiotik kotrimoksazol, 12 mg/ml = 0.12 % b/v

Dipipet 0,5 ml larutan stok dan ditambahkan medium BHI sampai dengan 1 ml.

3. Perhitungan antibiotik kotrimoksazol, 6 mg/ml = 0,06 % b/v

Dipipet 0,5 ml dari tabung 2 dan ditambahkan medium BHI sampai dengan 1 ml.

4. Perhitungan antibiotik kotrimoksazol, 3 mg/ml = 0,03 % b/v

Dipipet 0,5 ml dari tabung 3 dan ditambahkan medium BHI sampai dengan 1 ml.

5. Perhitungan antibiotik kotrimoksazol, 1,5 mg/ml = 0,015 % b/v

Dipipet 0,5 ml dari tabung 4 dan ditambahkan medium BHI sampai dengan 1 ml.

6. Perhitungan antibiotik kotrimoksasol, 0,75 mg/ml = 0,0075 % b/v

Dipipet 0,5 ml dari tabung 5 dan ditambahkan medium BHI sampai dengan 1 ml.

7. Perhitungan antibiotik kotrimoksasol, 0,375 mg/ml = 0,0037 % b/v

Dipipet 0,5 ml dari tabung 6 dan ditambahkan medium BHI sampai dengan 1 ml.

8. Perhitungan antibiotik kotrimoksasol, 0,187 mg/ml = 0,0018 % b/v

Dipipet 0,5 ml dari tabung 7 dan ditambahkan medium BHI sampai dengan 1 ml.

9. Perhitungan antibiotik kotrimoksasol, 0,094 mg/ml = 0,0009 % b/v

Dipipet 0,5 ml dari tabung 8 dan ditambahkan medium BHI sampai dengan 1 ml.

10. Perhitungan antibiotik kotrimoksasol, 0,047 mg/ml = 0,0004 % b/v

Dipipet 0,5 dari tabung 9 dan ditambahkan medium BHI sampai dengan 1 ml.

11. Perhitungan antibiotik kotrimoksasol, 0,024 mg/ml = 0,0002 % b/v

Dipipet 0,5 ml dari tabung 10 dan ditambahkan medium BHI sampai dengan 1 ml,
lalu di homogenkan dan dibuang 0,5 ml.

Lampiran 19. Perhitungan Rf

$$R_f = \frac{\text{jarak bercak dari awal totolan}}{\text{jarak elusi}}$$

1. Saponin

UV 366 Rf = 0,95

UV 254 Rf = 0,95

2. Alkaloid

UV 366 Rf = 0,96

UV 254 Rf = 0,96

3. flavonoid

UV 366 Rf = 0,73

UV 254 Rf = 0,73

Lampiran 20. Formulasi dan pembuatan media

1. Formulasi Endo Agar (EA)

Pepton from meat.....	10,0 g
Di potassium hidrogen fosfat.....	3,5 g
Laktosa.....	10,0 g
Sodium sulfit.....	2,5 g
Fuchsin.....	0,4 g
Agar-agar.....	12,5 g

Cara : Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1L dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri (Bridson 1988).

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

Sari otak anak sapi.....	12 g
Sari jantung sapi.....	5 g
Protease peptone.....	10 g
Dextrose.....	2 g
NaCl.....	5 g
Dinatrium fosfat.....	2,5 g
Bacto agar.....	15 g
Aquadest.....	ad 1L pH=7,4

Cara : Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1L dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit dan dituangkan dalam tabung reaksi (Bridson 1988).

3. Komposisi media LIA(*Lysine Iron Agar*)

Pepton from meat.....	4,5 gram
Yeast extract.....	3,0 gram
Glukose.....	1,0 gram
Lysine monohydrochloride.....	10,0 gram
Sodium thiosulfate.....	0,04gram
Ammonium iron (III) citrate.....	0,5 gram
Bromo cresol purple.....	0,02 gram
Agar-agar.....	12,5 gram

4. Komposisi media KIA (*Kliger's Iron Agar*)

Pepton from casein.....	15,0 gram
Pepton from meat.....	5,0 gram
Meat extract.....	3,0 gram
Yeast extract.....	3,0 gram
Sodium chloride.....	5,0 gram
Laktose.....	10,0 gram
Glukose.....	1,0 gram
Amonium iron (III) citrate.....	0,5 gram
Sodium thiosulfate.....	0,5 gram

Phenol red.....	0,024 gram
Agar-agar.....	3,0 gram
5. Komposisi media sitrat	
Amonium hidrogen fosfat.....	1,0 gram
Di potasium hidrogen fosfat.....	1,0 gram
Sodium chloride.....	5,0 gram
Sodium citrate.....	2,0 gram
Magnesium sulfate.....	0,2 gram
Bromo thymol blue.....	0,08 gram
Agar-agar.....	12,5 gram
6. Komposisi media SIM (<i>Sulfide Indol Motility</i>) :	
Pepton from casein.....	20,0 gram
Pepton from meat.....	6,6 gram
Ammonium iron (III) citrate.....	0,2 gram
Sodium thiosulfate.....	0,2 gram
Agar-agar.....	3,0 gram