

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, fraksi *n*-heksana tidak mempunyai aktivitas antibakteri, sedangkan fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanolik daun seligi (*Phyllanthus buxifolius* Muell, Arg) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, fraksi yang paling aktif adalah fraksi etil asetat dari ekstrak etanolik daun seligi (*Phyllanthus buxifolius* Muell, Arg) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Ketiga, fraksi etil asetat dari ekstrak etanolik daun seligi (*Phyllanthus buxifolius* Muell, Arg) mempunyai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) 1,56%.

Keempat, senyawa yang ada di fraksi teraktif etil asetat adalah senyawa polifenol, flavonoid, saponin, dan tanin yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang isolasi senyawa aktif dari fraksi etil asetat yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* terhadap fraksi etil asetat dari ekstrak etanolik daun seligi (*Phyllanthus buxifolius* Muell, Arg).

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang daun seligi terhadap bakteri gram negatif lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adekoge AA, Iberi PA, Akinpelu DA, Aiyegoro OA, Mboto CI. 2010. Studies on phytochemical screening and antimicrobial potentials of *Phyllanthusamarus* against multiple antibiotic resistant bacteria. *Int. J. Appl. Nat. Prod.* hlm 3, 6-12.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ibrahim F, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia. hlm 605-607. Terjemahan dari: *Introduction to Pharmaceutical Dosage Form*.
- Batu, LVVM. 2012. *Pemanfaatan Tanaman Kembang Bulan (Tithonia diversifolia (Hemsley) A.Gray) Sebagai Obat Alami Pencegah Kanker Di Kabupaten Hasundutan*. Medan: Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Negeri Medan.
- Bonang G, Koeswardono ES. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT Gramedia. hlm 9,77.
- Bridson, E.Y. 1998. *The Oxoid Manual*. Edisi 8. Oxoid Limited. England.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1983. *Pemanfaatan Tanaman Obat*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik. hlm 4.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 10-11
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 1, 4 dan 11.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1987. *Analisis Obat Tradisional*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Informatarium Obat Nasional*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 414-416.
- Dwijoseputro D. 1990. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambantan. hlm 121-131.
- Dzen SM, Santoso S, Roekistiningsih, Winarsih S. 2003. *Bakteriologi Medik*. Ed ke-1. Malang: Bayumedia Publishing. hlm 16-22.

- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Bandung: ITB. hlm, 70-71, 102-152. Terjemahan dari: *Phytochemical methods*.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia II*. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Hutapea JR. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Ed ke-3,4. Jakarta: Departemen Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.hlm 297.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2005. *Medical Mikrobiologi*. Ed ke-23.Elferia NR, penerjemah; Jakarta:UI. hlm 229.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Ed ke-26.Boning G, penerjemah; Jakarta UI. hlm 58-63.
- Katzung BG. 2007. *Farmakologi Dasar & Klinis*. Ed ke-10. Jakarta:Salemba Medika. hlm 80-82.
- Koensoemardiyah. 2000.*Kontrol Kualitas Simplisia dan Pengolahan Pasca Panen dalam Risalah Seminar Upaya Peningkatan Kesehatan dan Ekonomi Melalui Budidaya Tumbuhan Obat Serta Pencegahan Penyalahgunaan Narkotika dan Bahan Berbahaya*. Yogyakarta:PUSLITBANG Tumbuhan Obat Indonesia. hlm 77-81.
- Komurairah A *et al*. 2009. Antibacterial studies and phytochemical constituents of South Indian *Phyllanthus* spesies. *Afr. J. Biotechnol*. hlm 8, 4991-4995.
- Martindale. 1993. *The Extra Pharmacopoeia*. Ed ke-23.James EF, penerjemah; editor. London: The Pharmaceutical Press. hlm 72-78.
- Nurhayati, Nenden. 2000. *Isolasi dan Uji Antioksidan Flavonoid Daun Kemuning*[Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Radji M. 2002. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. hlm 1,201-202,282.
- Rinawati, ND. 2011. *Daya Anti Bakteri Tumbuhan Majapahit (Crescentia cujete L.) Terhadap Bakteri Vibrio alginolyticus*. Surabaya: Jurusan Biologi.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Padmawinata,penerjemah; Bandung:ITB Pr. hlm 71-75, 132-191. Terjemahan dari: *The organic constituents of higher plants*.
- Stephen G, Kathleen B. 2007. *Mikrobiologi Medis dan Infeksi*. Jakarta: Erlangga. hlm 56.

- Sudjadi. 1986. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Suriawiria U. 1985. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: PT Angkasa. hlm 57-58, 60-61.
- Suryono B. 1995. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: Akademi Analisis Kesehatan Bhakti Jaya.
- Syukur C, Hernani. 2003. *Budidaya Tanaman Obat Komersial*. Bandung: PT Angkasa. hlm 60-65.
- Tarmizi. 2011. *Analisa Zat Kimia Berkhasiat Obat dari Daun Dewa Gynura procumbens (Lour.) Merr.* Padang: Mahasiswa Pendidikan Kimia Tim Peneliti Kimia Organik Universitas Negeri Padang.
- Voigt R. 1994. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Noerono S, penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada University Pr. Hlm 567,570-578. Terjemahan dari: *Lehrbuch Der Pharmazeutischen Technologie*.
- Von Nussbaum, Brands F, Hinsen B, Weigand S, Habich D. 2006. Antibacterial Natural Product in Medical Chemistry-Exodus or Revival. *Angew. Chem. Int. Ed.* hlm 45, 5072-5129.

Lampiran 1. Hasil identifikasi tanaman Seligi (*Phyllanthus buxifolius* Muell, Arg)



KEMENTERIAN KESEHATAN RI

**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
TANAMAN OBAT DAN OBAT TRADISIONAL**

Jalan Raya Lawu No. 11 Tawangmangu, Karanganyar, Surakarta, Jawa Tengah
Telepon: (0271) 697010 Faksimile: (0271) 697451

E-mail: b2p2to2t@litbang.depkes.go.id Website: http://www.b2p2toot.litbang.depkes.go.id

Nomor : KM.03.01/VI.3/ 1002 /2013
Hal : Keterangan determinasi
Lampiran : Satu lembar

27 Februari 2013

Yth. Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Surakarta

Dengan hormat,

Berdasarkan surat Saudara nomor 602.18/FF.0/A/SPM/II/2013 perihal penelitian tugas akhir skripsi, dengan ini kami sampaikan bahwa mahasiswa Saudara atas nama :

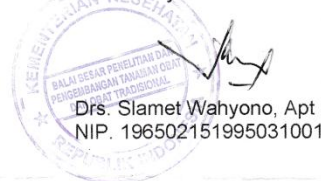
1. Stefania Amaral Go'o (NIM 15092781 A)
2. Indriyani AP (NIM 15092708 A)

telah melakukan determinasi tanaman seligi (*Phyllanthus buxifolius*) di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TO2T) Tawangmangu (hasil terlampir).

Untuk itu, setelah mahasiswa tersebut selesai melaksanakan penelitian, yang bersangkutan diwajibkan menyerahkan 1 (satu) eksemplar hasil penelitian yang telah mendapat persetujuan Dekan Fakultas Farmasi kepada Kepala B2P2TO2T.

Atas perhatian Saudara, kami ucapkan terima kasih.

a.n. Kepala
Kabid Pelayanan Penelitian


Drs. Slamet Wahyono, Apt
NIP. 196502151995031001

Tembusan :

1. Kepala B2P2TO2T
2. Mahasiswa yang bersangkutan

SURAT KETERANGAN DETERMINASI

Species : *Phyllanthus buxifolius* (Bl.) M.A.
Familia : Euphorbiaceae

Kunci determinasi (Backer dan van Den Brink, 1963):

1b 3b 4b 6a 7b 8b 10b 13b 15b 25b 26b 27b 28b 29b 30a 31b 32b 33a 34b

8. *Phyllanthus*

1b 6d 16b *Phyllanthus buxifolius* (Bl.) M.A.

Pertelaan:

Perawakan perdu, tinggi mencapai 1,5 m. Daun belah ketupat tidak simetris, pangkal tumpul atau meruncing, ujung runcing atau tumpul, biasanya meruncing pendek, tekstur daun seperti kulit, warna hijau tua mengkilat, daun berukuran 1½-3 cm, anak daun bagian tengah biasanya lebih berukuran lebih besar. Bunga terdisir dari bunga jantan dan bunga betina serta bunga banci. Bunga betina terletak di bagian atas, bakal buah bunga betina terdiri dari 5-8 sel, beralur 10-16 membujur, lekukan perhiasan bunga berjumlah 5, bentuk (hampir) bulat, berdaging, warna hijau-kuning, panjang 2-2½ mm, bagian atas bakal buah melebar berbentuk seperti cincin, berlekuk 5, setengah bagian tangkai putik berlekatan dengan perhiasan bunga. Bunga jantan terletak di bagian bawah bunga betina, lekukan perhiasan bunga berjumlah 4, bentuk bulat-oval, panjang 2¼-2¾ mm. Bunga banci dalam berkas, tangkai bunga mencapai 2 mm. Buah berlekuk 5-8, warna hijau cerah, ukuran ± ½ cm x ¾-1 cm.

Tawangmangu, Februari 2013
 Penanggungjawab Determinasi,



Dyah Subositi, M.Sc.
 198308152006042003

Lampiran 2. Foto tanaman Seligi dan serbuk daun Seligi (*Phyllanthus buxifolius* Muell, Arg)



Gambar 10. Tanaman Seligi



Gambar 11. Daun Seligi

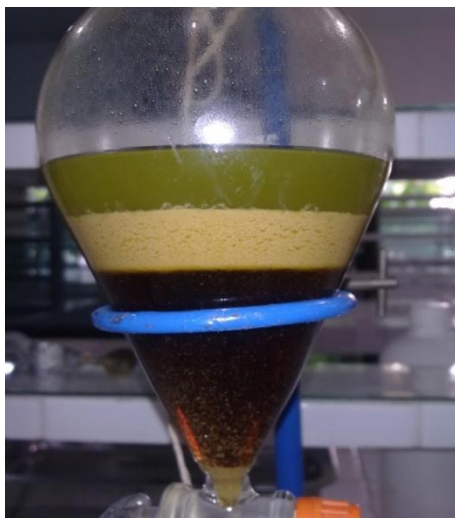


Gambar 12. Serbuk Daun Seligi

Lampiran 3. Foto perkolasi dan fraksinasi



Gambar 13. Perkolasi



Gambar 14. Fraksinasi *n*-heksana



Gambar 15. Fraksinasi etil asetat

Lampiran 4. Foto *moisture balance*, inkubator, oven, UV, autovortex, dan mess



Gambar 16. Moisture balance



Gambar 17. Inkubator



Gambar 18. Mess



Gambar 19. Oven untuk ekstrak



Gambar 20. UV 254 & UV 366

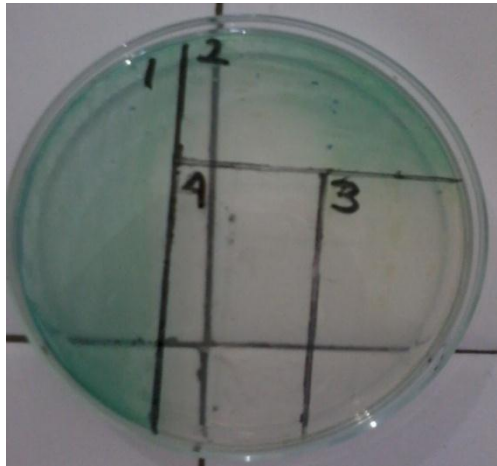


Gambar 21. Autovortex



Gambar 22. Oven untuk fraksi

Lampiran 5. Foto hasil biakan dan identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

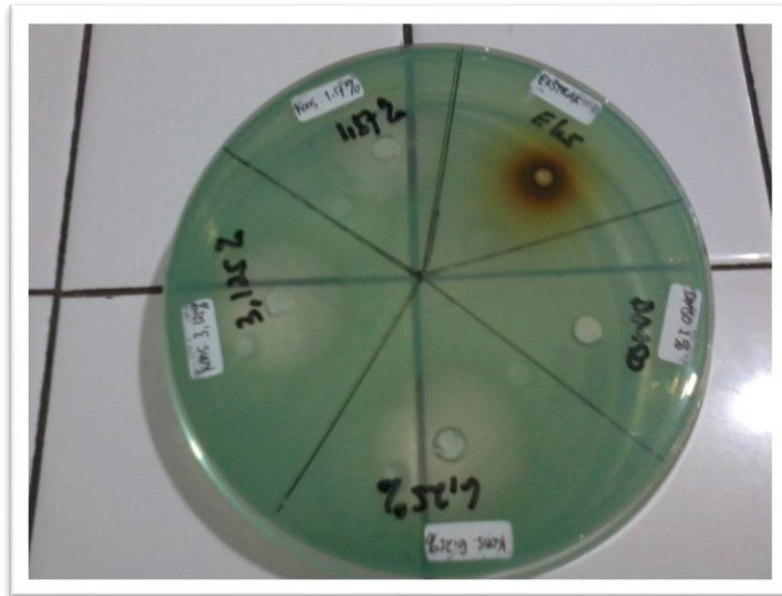


Gambar 23. Koloni *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada medium Pseudomonas Selektif Agar



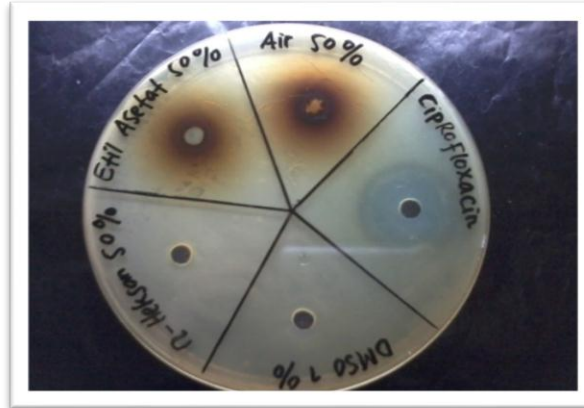
Gambar 24. Uji biokimiawi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Lampiran 6. Foto hasil uji aktivitas ekstrak etanolik daun seligi

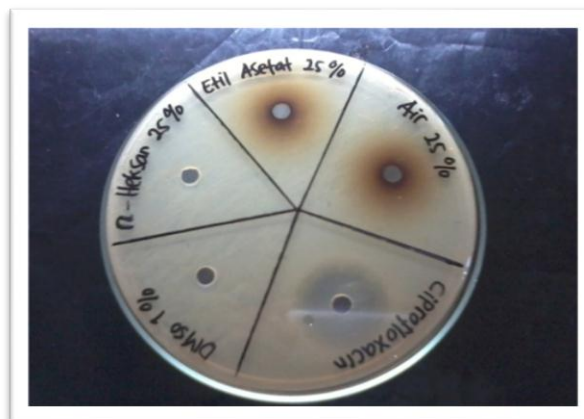


Gambar 25. Uji aktivitas ekstrak etanolik daun seligi

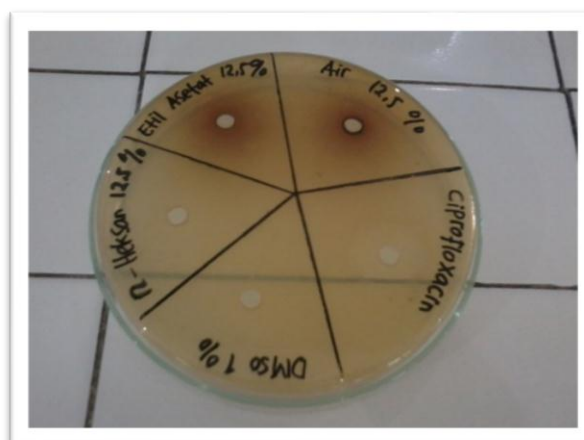
Lampiran 7. Foto hasil inkubasi fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun seligi terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara difusi



Gambar 26. Uji aktivitas difusi konsentrasi 50%



Gambar 27. Uji aktivitas difusi konsentrasi 25%

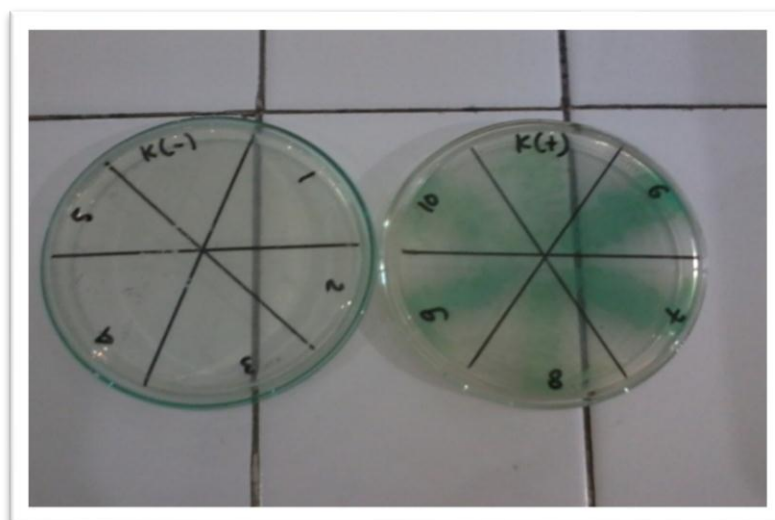


Gambar 28. Uji aktivitas difusi 12,5%

Lampiran 8. Foto hasil inkubasi fraksi etil asetat daun seligi terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



Gambar 29. Foto pengenceran tabung fraksi etil asetat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



Gambar 30. Foto hasil inokulasi fraksi etil asetat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada media *Pseudomonas* Selektif Agar

Keterangan :

Kontrol negatif K(-)

1. Konsentrasi 25%
2. Konsentrasi 12,5%
3. Konsentrasi 6,25%
4. Konsentrasi 3,12%
5. Konsentrasi 1,56%

Kontrol negatif K(+)

6. Konsentrasi 0,78%
7. Konsentrasi 0,39%
8. Konsentrasi 1,95%
9. Konsentrasi 0,097%
10. Konsentrasi 0,048%

Lampiran 9. Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah

Tabel 1. Hasil pengeringan daun seligi

Bobot Basah	Bobot Kering	Rendemen
4000 gram	1200 gram	30%

Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah sebagai berikut

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

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{1200}{4000} \times 100\% = 30\%$$

Perhitungan Lost On Drying (LOD %) pengeringan daun seligi basah

$$(\text{LOD \%}) = \frac{\text{Berat basah} - \text{berat kering}}{\text{Berat basah}} \times 100\%$$

$$(\text{LOD \%}) = \frac{4000 - 1200}{4000} \times 100\% = 70\%$$

Hasil perhitungan bobot kering terhadap bobot basah diperoleh rendemen sebesar 30% dan perhitungan Lost On Drying (LOD %) pengeringan daun seligi basah diperoleh sebesar 70%.

**Lampiran 10. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun seligi
(*Phyllanthus buxifolius* Muell, Arg)**

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun seligi

No	Bobot Awal (g)	Bobot Bahan (g)	Kadar Air (%)
1	2,000	1,86	7,0
2	2,000	1,83	8,5
3	2,000	1,85	7,5
		Rata-rata	7,66±0,76

Hasil penetapan susut pengeringan dengan alat *moisture balance* menunjukkan bahwa terdapat data kadar air serbuk daun seligi dengan perhitungan rata-rata :

$$= \frac{7,00 + 8,50 + 7,50}{3} = 7,66\%$$

Kadar air serbuk daun seligi memenuhi syarat dimana kadar air suatu serbuk tidak boleh lebih dari 10%.

Lampiran 11. Perhitungan rendemen ekstrak etanolik daun seligi (*Phyllanthus buxifolius* Muell, Arg)

Tabel 3. Hasil ekstrak daun seligi dengan pelarut etanol 70%

Berat Serbuk (g)	Berat Gelas Kosong (g)	Berat Ekstrak + Gelas (g)	Berat Eksrak (g)	% Rendemen
500	148,38	412,53	264,15	52,83

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{264,15}{500} \times 100\% = 52,83\%$$

Rendemen ekstrak perkolasi yang didapat adalah 52,83%.

Lampiran 12. Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana daun seligi (*Phyllanthus buxifolius* Muell, Arg)

Tabel 5. Hasil fraksinasi *n*-heksana ekstrak etanolik daun seligi

No	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Fraksi (g)	Rendemen (%)
1	10,42	1,45	13,9
2	10,16	1,39	13,6
3	10,26	1,47	14,3
Rata-rata	13,93		

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot ekstrak}} \times 100\%$$

- Rendemen (%) = $\frac{1,45}{10,42} \times 100\% = 13,9\%$
- Rendemen (%) = $\frac{1,39}{10,16} \times 100\% = 13,6\%$
- Rendemen (%) = $\frac{1,47}{10,26} \times 100\% = 14,3\%$

Hasil perhitungan rendemen di atas dihitung rata-rata prosentase didapatkan rata-rata rendemen fraksi *n*-heksana daun seligi :

$$\text{Rendemen rata-rata} = \frac{13,9 + 13,6 + 14,3}{3} \times 100\% = 13,93\% \text{ b/b}$$

**Lampiran 13. Perhitungan rendemen fraksi etil asetat daun seligi
(*Phyllanthus buxifolius* Muell, Arg)**

Tabel 6. Hasil fraksinasi etil asetat ekstrak etanolik daun seligi

No	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Fraksi (g)	Rendemen (%)
1	10,42	3,99	38,2
2	10,16	2,60	25,5
3	10,26	2,79	27,1
Rata-rata			30,67

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot ekstrak}} \times 100\%$$

- Rendemen (%) = $\frac{3,99}{10,42} \times 100\% = 38,2\%$
- Rendemen (%) = $\frac{2,60}{10,16} \times 100\% = 25,5\%$
- Rendemen (%) = $\frac{2,79}{10,26} \times 100\% = 27,1\%$

Hasil perhitungan rendemen di atas dihitung rata-rata prosentase didapatkan rata-rata rendemen fraksi etil asetat daun seligi :

$$\text{Rendemen rata-rata} = \frac{38,2 + 25,5 + 27,1}{3} \times 100\% = 30,67\% \text{ b/b}$$

Lampiran 14. Perhitungan rendemen fraksi air daun seligi (*Phyllanthus buxifolius* Muell, Arg)

Tabel 7. Hasil fraksinasi air ekstrak etanolik daun seligi

No	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Fraksi (g)	Rendemen (%)
1	10,42	5,34	51,2
2	10,16	5,11	50,2
3	10,26	5,26	51,2
Rata-rata			50,67

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot ekstrak}} \times 100\%$$

- Rendemen (%) = $\frac{5,34}{10,42} \times 100\% = 51,2\%$
- Rendemen (%) = $\frac{5,11}{10,16} \times 100\% = 50,2\%$
- Rendemen (%) = $\frac{5,26}{10,26} \times 100\% = 51,2\%$

Hasil perhitungan rendemen di atas dihitung rata-rata prosentase didapatkan rata-rata rendemen fraksi air daun seligi :

$$\text{Rendemen rata-rata} = \frac{51,2 + 50,2 + 51,2}{3} \times 100\% = 50,67\% \text{ b/b}$$

Lampiran 15. Perhitungan konsentrasi fraksi *n*-heksana, etil asetat, air, dan kontrol positif secara difusi

1. Pembuatan larutan uji hasil fraksinasi konsentrasi 50% sebanyak 1 ml

$$\begin{aligned} 50\% &= \frac{50 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \\ &= 0,5 \text{ g / ml} \\ &= 500 \text{ mg / ml} \end{aligned}$$

Ditimbang 500 mg fraksi, ditambahkan 1 ml DMSO 1%.

2. Pembuatan larutan uji hasil fraksinasi konsentrasi 25% sebanyak 1 ml

$$\begin{aligned} 25\% &= \frac{25 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \\ &= 0,25 \text{ g / ml} \\ &= 250 \text{ mg / ml} \end{aligned}$$

Ditimbang 250 mg fraksi, ditambahkan 1 ml dalam DMSO 1%.

3. Pembuatan larutan uji hasil fraksinasi konsentrasi 12,5% sebanyak 1 ml

$$\begin{aligned} 12,5\% &= \frac{12,5 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \\ &= 0,125 \text{ g / ml} \\ &= 125 \text{ mg / ml} \end{aligned}$$

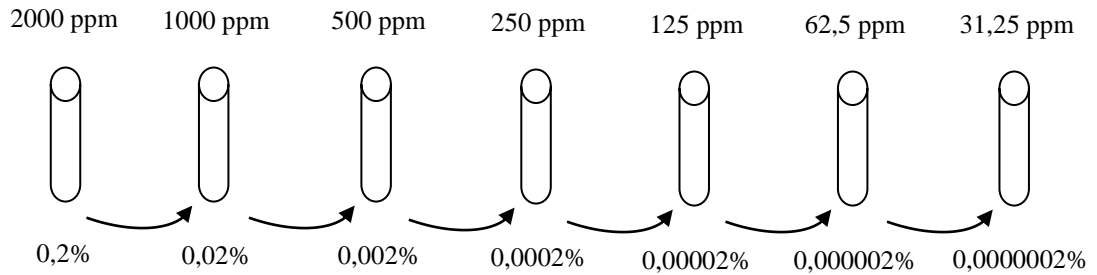
Ditimbang 125 mg fraksi, ditambahkan 1 ml 1%.

Keterangan : untuk fraksi air dilarutkan dalam DMSO 1%.

4. Perhitungan kontrol positif siprofloksasin

$$\text{Dosis siprofloksasin infus} = \frac{200 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 2000 \text{ ppm} = 0,2\%$$

Dilakukan pengenceran bertingkat sediaan infus 2000 ppm, pipet 1 ml siprofloksasin tambahkan 10 ml aquadest sebanyak 7 kali.



$$1. \quad V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$1 \text{ ml} \times 0,2 \% = 10 \times C_2$$

$$\frac{0,2 \%}{10} = C_2$$

$$0,02 \% = C_2$$

$$2. \quad V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$1 \text{ ml} \times 0,02 \% = 10 \times C_2$$

$$\frac{0,02 \%}{10} = C_2$$

$$0,002 \% = C_2$$

$$3. \quad V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$1 \text{ ml} \times 0,002 \% = 10 \times C_2$$

$$\frac{0,002 \%}{10} = C_2$$

$$0,0002 \% = C_2$$

$$4. \quad V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$1 \text{ ml} \times 0,0002 \% = 2 \times C_2$$

$$\frac{0,0002 \%}{10} = C_2$$

$$0,00002 \% = C_2$$

$$5. \quad V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$1 \text{ ml} \times 0,00002 \% = 2 \times C_2$$

$$\frac{0,00002 \%}{10} = C_2$$

$$0,000002 \% = C_2$$

$$6. \quad V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$1 \text{ ml} \times 0,000002 \% = 2 \times C_2$$

$$\frac{0,000002 \%}{10} = C_2$$

$$0,0000002 \% = C_2$$

Lampiran 16. Perhitungan konsentrasi fraksi teraktif etil asetat secara dilusi

Kadar fraksi etil asetat daun seligi (*Phyllanthus buxifolius* Muell, Arg) digunakan adalah sebagai berikut :

Menimbang 0,25 gram fraksi etil asetat dimasukkan ke dalam vial kemudian tambahkan 1 ml dimethyl sulfoxide (DMSO) 1%.

$$\text{Perhitungan larutan stock} = \frac{25 \text{ g}}{100 \text{ ml}} = 0,25 \text{ g / ml}$$

- Tabung 1 = Kontrol (-) dengan fraksi teraktif 1 ml.
- Tabung 2 = larutan stok dimasukkan tabung, diambil 0,5 ml dimasukkan tabung berikutnya, ditambah suspensi BHI bakteri 0,5 ml.

$$\checkmark \text{ Tabung 3} = \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 50\% = 25\%$$

$$= \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 25\% = 12,5\%$$

$$\checkmark \text{ Tabung 4} = \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 25\% = 12,5\%$$

$$= \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 12,5\% = 6,25\%$$

$$\checkmark \text{ Tabung 5} = \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 12,5\% = 6,25\%$$

$$= \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 6,25\% = 3,12\%$$

$$\checkmark \text{ Tabung 6} = \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 6,25\% = 3,12\%$$

$$= \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 3,12\% = 1,56\%$$

$$\checkmark \text{ Tabung 7} = \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 3,12\% = 1,56\%$$

$$= \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 1,56\% = 0,78\%$$

$$\checkmark \text{ Tabung 8} = \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 1,56\% = 0,78\%$$

$$= \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 0,78\% = 0,39\%$$

$$\checkmark \text{ Tabung 9} = \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 0,78\% = 0,39\%$$

$$= \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 0,39\% = 0,195\%$$

$$\checkmark \text{ Tabung 10} = \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 0,39\% = 0,195\%$$

$$= \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 0,195\% = 0,097\%$$

$$\checkmark \text{ Tabung 11} = \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 0,195\% = 0,097\%$$

$$= \frac{0,5}{0,5 + 0,5} \times 0,097\% = 0,048\%$$

✓ Tabung 12 = kontrol (+) dengan suspensi BHI bakteri 1 ml.

Lampiran 17. Analisa data uji Anova semua kelompok

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Diameter Hambat	30	11.33	8.523	0	25

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter Hambat
N		30
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	11.33
	Std. Deviation	8.523
Most Extreme Differences	Absolute	.208
	Positive	.208
	Negative	-.156
Kolmogorov-Smirnov Z		1.140
Asymp. Sig. (2-tailed)		.148

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

Diameter Hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
n-heksana 50%	3	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
Etil asetat 50%	3	20.33	1.528	.882	16.54	24.13	19	22
Air 50%	3	16.33	1.155	.667	13.46	19.20	15	17
n-heksana 25%	3	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
Etil asetat 25%	3	15.67	1.528	.882	11.87	19.46	14	17
Air 25%	3	13.33	1.528	.882	9.54	17.13	12	15
n-heksana 12,5%	3	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
Etil asetat 12,5%	3	15.00	1.000	.577	12.52	17.48	14	16
Air 12,5%	3	8.67	.577	.333	7.23	10.10	8	9
Kontrol positif	3	24.00	1.000	.577	21.52	26.48	23	25
Total	30	11.33	8.523	1.556	8.15	14.52	0	25

Test of Homogeneity of Variances

Diameter Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.875	9	20	.024

ANOVA

Diameter Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2085.333	9	231.704	217.222	.000
Within Groups	21.333	20	1.067		
Total	2106.667	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Diameter Hambat

Scheffe

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
n-heksana 50%	Etil asetat 50%	-20.333	.843	.000	-24.25	-16.42
	Air 50%	-16.333	.843	.000	-20.25	-12.42
	n-heksana 25%	.000	.843	1.000	-3.91	3.91
	Etil asetat 25%	-15.667	.843	.000	-19.58	-11.75
	Air 25%	-13.333	.843	.000	-17.25	-9.42
	n-heksana 12,5%	.000	.843	1.000	-3.91	3.91
	Etil asetat 12,5%	-15.000	.843	.000	-18.91	-11.09
	Air 12,5%	-8.667	.843	.000	-12.58	-4.75
	Kontrol positif	-24.000	.843	.000	-27.91	-20.09
Etil asetat 50%	n-heksana 50%	20.333	.843	.000	16.42	24.25
	Air 50%	4.000	.843	.042	.09	7.91
	n-heksana 25%	20.333	.843	.000	16.42	24.25
	Etil asetat 25%	4.667	.843	.011	.75	8.58
	Air 25%	7.000	.843	.000	3.09	10.91
	n-heksana 12,5%	20.333	.843	.000	16.42	24.25
	Etil asetat 12,5%	5.333	.843	.003	1.42	9.25
	Air 12,5%	11.667	.843	.000	7.75	15.58
	Kontrol positif	-3.667	.843	.080	-7.58	.25
Air 50%	n-heksana 50%	16.333	.843	.000	12.42	20.25
	Etil asetat 50%	-4.000	.843	.042	-7.91	-.09
	n-heksana 25%	16.333	.843	.000	12.42	20.25
	Etil asetat 25%	.667	.843	1.000	-3.25	4.58
	Air 25%	3.000	.843	.250	-.91	6.91
	n-heksana 12,5%	16.333	.843	.000	12.42	20.25
	Etil asetat 12,5%	1.333	.843	.973	-2.58	5.25
	Air 12,5%	7.667	.843	.000	3.75	11.58
	Kontrol positif	-7.667	.843	.000	-11.58	-3.75

n-heksana 25%	n-heksana 50%	.000	.843	1.000	-3.91	3.91
	Etil asetat 50%	-20.333	.843	.000	-24.25	-16.42
	Air 50%	-16.333	.843	.000	-20.25	-12.42
	Etil asetat 25%	-15.667	.843	.000	-19.58	-11.75
	Air 25%	-13.333	.843	.000	-17.25	-9.42
	n-heksana 12,5%	.000	.843	1.000	-3.91	3.91
	Etil asetat 12,5%	-15.000	.843	.000	-18.91	-11.09
	Air 12,5%	-8.667	.843	.000	-12.58	-4.75
	Kontrol positif	-24.000	.843	.000	-27.91	-20.09
Etil asetat 25%	n-heksana 50%	15.667	.843	.000	11.75	19.58
	Etil asetat 50%	-4.667	.843	.011	-8.58	-.75
	Air 50%	-.667	.843	1.000	-4.58	3.25
	n-heksana 25%	15.667	.843	.000	11.75	19.58
	Air 25%	2.333	.843	.581	-1.58	6.25
	n-heksana 12,5%	15.667	.843	.000	11.75	19.58
	Etil asetat 12,5%	.667	.843	1.000	-3.25	4.58
	Air 12,5%	7.000	.843	.000	3.09	10.91
	Kontrol positif	-8.333	.843	.000	-12.25	-4.42
Air 25%	n-heksana 50%	13.333	.843	.000	9.42	17.25
	Etil asetat 50%	-7.000	.843	.000	-10.91	-3.09
	Air 50%	-3.000	.843	.250	-6.91	.91
	n-heksana 25%	13.333	.843	.000	9.42	17.25
	Etil asetat 25%	-2.333	.843	.581	-6.25	1.58
	n-heksana 12,5%	13.333	.843	.000	9.42	17.25
	Etil asetat 12,5%	-1.667	.843	.901	-5.58	2.25
	Air 12,5%	4.667	.843	.011	.75	8.58
	Kontrol positif	-10.667	.843	.000	-14.58	-6.75
n-heksana 12,5%	n-heksana 50%	.000	.843	1.000	-3.91	3.91
	Etil asetat 50%	-20.333	.843	.000	-24.25	-16.42
	Air 50%	-16.333	.843	.000	-20.25	-12.42
	n-heksana 25%	.000	.843	1.000	-3.91	3.91
	Etil asetat 25%	-15.667	.843	.000	-19.58	-11.75
	Air 25%	-13.333	.843	.000	-17.25	-9.42
	Etil asetat 12,5%	-15.000	.843	.000	-18.91	-11.09
	Air 12,5%	-8.667	.843	.000	-12.58	-4.75
	Kontrol positif	-24.000	.843	.000	-27.91	-20.09
Etil asetat 12,5%	n-heksana 50%	15.000	.843	.000	11.09	18.91
	Etil asetat 50%	-5.333	.843	.003	-9.25	-1.42
	Air 50%	-1.333	.843	.973	-5.25	2.58
	n-heksana 25%	15.000	.843	.000	11.09	18.91
	Etil asetat 25%	-.667	.843	1.000	-4.58	3.25
	Air 25%	1.667	.843	.901	-2.25	5.58
	n-heksana 12,5%	15.000	.843	.000	11.09	18.91
	Air 12,5%	6.333	.843	.000	2.42	10.25
	Kontrol positif	-9.000	.843	.000	-12.91	-5.09
Air 12,5%	n-heksana 50%	8.667	.843	.000	4.75	12.58
	Etil asetat 50%	-11.667	.843	.000	-15.58	-7.75
	Air 50%	-7.667	.843	.000	-11.58	-3.75
	n-heksana 25%	8.667	.843	.000	4.75	12.58
	Etil asetat 25%	-7.000	.843	.000	-10.91	-3.09

	Air 25%	-4.667 [*]	.843	.011	-8.58	-.75
	n-heksana 12,5%	8.667 [*]	.843	.000	4.75	12.58
	Etil asetat 12,5%	-6.333 [*]	.843	.000	-10.25	-2.42
	Kontrol positif	-15.333 [*]	.843	.000	-19.25	-11.42
Kontrol positif	n-heksana 50%	24.000 [*]	.843	.000	20.09	27.91
	Etil asetat 50%	3.667	.843	.080	-.25	7.58
	Air 50%	7.667 [*]	.843	.000	3.75	11.58
	n-heksana 25%	24.000 [*]	.843	.000	20.09	27.91
	Etil asetat 25%	8.333 [*]	.843	.000	4.42	12.25
	Air 25%	10.667 [*]	.843	.000	6.75	14.58
	n-heksana 12,5%	24.000 [*]	.843	.000	20.09	27.91
	Etil asetat 12,5%	9.000 [*]	.843	.000	5.09	12.91
	Air 12,5%	15.333 [*]	.843	.000	11.42	19.25

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

Homogeneous Subsets

Diameter Hambat

Scheffe^a

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
n-heksana 50%	3	.00			
n-heksana 25%	3	.00			
n-heksana 12,5%	3	.00			
Air 12,5%	3		8.67		
Air 25%	3			13.33	
Etil asetat 12,5%	3			15.00	
Etil asetat 25%	3			15.67	
Air 50%	3			16.33	
Etil asetat 50%	3				20.33
Kontrol positif	3				24.00
Sig.		1.000	1.000	.250	.080

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Konsentrasi	N	Mean Rank
Diameter Hambat	n-heksana 50%	3	5.00
	Etil asetat 50%	3	26.00
	Air 50%	3	21.33
	n-heksana 25%	3	5.00
	Etil asetat 25%	3	19.67
	Air 25%	3	15.00
	n-heksana 12,5%	3	5.00
	Etil asetat 12,5%	3	18.00
	Air 12,5%	3	11.00
	Kontrol positif	3	29.00
	Total	30	

Test Statistics^{a,b}

	Diameter Hambat
Chi-Square	27.966
df	9
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Konsentrasi

Lampiran 18. Formulasi dan pembuatan media

1. BHI (*Brain Heart Infusion*)

▪ Infus dari otak sapi	200,0 g
▪ Infus dari hati sapi	250,0 g
▪ Protease peptone	10,0 g
▪ Dektrosa	2,0 g
▪ NaCl	5,0 g
▪ Dinatrium fosfate	5,0 g
▪ Aquadest	ad 1000,0 ml
▪ pH	7,4

Reagen-reagen dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dan dipanaskan sampai larut sempurna. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri (Depkes, 1994).

2. Formulasi dan pembuatan *Pseudomonas Selektiv Agar* (PSA)

▪ Peptone from gelatin	20,0 gram
▪ Magnesium chloride	1,4 gram
▪ Potasium sulfate	10,0 gram
▪ N-cetyl-N,N,N,N-trimethylammonium bromide	0,5 gram
▪ Agar – agar	13,6 gram
▪ pH	7,2 ± 0,2

Reagen-reagen dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dan dipanaskan sampai larut sempurna. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu

121°C selama 15 menit. Didinginkan pada suhu 50°C dan ditambahkan kalium tellurit kemudian dituangkan dalam cawan petri (Depkes, 1994).

3. MHA (*Mueller Hintlon Agar*)

• Beef, dehydrated infusion	300,0 g
• Casein hydrolysate	17,5 g
• Strach	1,5 g
• Agar-agar	17 g

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam 1 liter aquadest. Panaskan sampai larut sempurna dan sterilisasi pada autoklaf suhu 121°C selama 15 menit (Depkes, 1994).

4. *Sulfida indol motility* (SIM)

Pepton from casein	20 g
Pepton from meat	6 g
Ammonium Iron (II) citrate	0,2 g
Sodium thiosulfate	0,2 g
Agar-agar	0,2 g
Aquadest	ad 1000 ml, pH = 7,4

Bahan- bahan di atas dilarutkan ke dalam aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

5. *Kliger's Iron Agar* (KIA)

Pepton from casein	15 g
Pepton from meat	5 g

Ammonium Iron (II) citrate	0,5 g
Meat extract	3 g
Yeast extract	3 g
Sodium chloride	5 g
Laktosa	10 g
Glukosa	1 g
Sodium thiosulfate	0,5 g
Phenol red	0,024 g
Agar-agar	12 g
Aquadest	ad 1000 ml, pH = 7,4

Bahan- bahan di atas dilarutkan ke dalam aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

6. *Lysin Iron Agar (LIA)*

Pepton from casein	5 g
Yeast extract	3 g
Glukosa	1 g
Lysin monohydrochloride	10 g
Sodium thiosulfate	0,04
Ammonium Iron (II) citrate	0,5 g
Bromo cresol purple	0,02 g
Agar-agar	12,5 g
Aquadest	ad 1000 ml, pH = 7,4

Bahan- bahan di atas dilarutkan ke dalam aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

7. Citrat Agar

Ammonium hydrogen fosfat	1 g
DI- potassium hydrogen fosfate	1g
Sodium chloride	5 g
Magnesium sulfat	0,2 g
Bromo thymol blue	0,08 g
Agar-agar	12,5 g
Aquadest	ad 1000 ml, pH = 7,4

Bahan- bahan di atas dilarutkan ke dalam aquadest 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).