

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan:

1. Ekstrak etanolik batang Siwak (*Salvadora persica*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Kosentrasi ekstrak etanolik batang Siwak (*Salvadora persica*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah konsentrasi 6,25% - 50%.

#### **B. Saran**

Adapaun beberapa penelitian lanjutan yang bisa dikembangkan yaitu :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas ekstrak batang Siwak (*Salvadora persica*) dengan menggunakan metode selain maserasi, misalnya seperti *soxletasi*, *refluks* dan lainnya dengan beberapa pelarut lain, dan perlu diperhatikan saat proses pemanasan agar senyawa aktif dalam batang Siwak tidak hilang.
2. Perlu dilakukan penelitian antibakteri ekstrak batang Siwak (*Salvadora persica*) dengan konsentrasi lebih tinggi dan dibandingkan dengan bakteri lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, Goeswin. 2009. *Teknologi Bahan Alam Serial Farmasi Industri-2 Edisi Revisi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Ajizah, A, 2004, Sensitivitas Salmonella Typhymurium terhadap Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guava L.*), *Bioscientiae*, 1(1).
- Almas, K. 2003. The effect of *Salvadora persica* extract (miswak) and *chlorhexidine gluconate* on human dentin: A SEM study. *The Journal of The Contemporary Dental Practice*. 2002; 3(3).
- Amalia, R, Marfu'ah N, Amal S. 2018. Aktivitas Antibakteri Kayu Siwak (*Salvadora perssica*) Fraksi Eter Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara Invitro. *Pharmasipha Journal* (Vol.2 No.1).
- Apriansi, M. 2017. Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora perssica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Agroqua* (Vol. 15 No.2).
- Brooks, Geo. F., Karen, C.C, Janet S. B., Stephen A. M., dan Timothy. A.M. 2012. *Microbiology kedokteran*. Edisi 25 (Aryandhito Windhi Nugroho *et al.*, Penerjemah). Jakarta: EGC
- [Depkes. RI], Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2006. *Farmakope Indonesia*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI], 1985, *Cara Pembuatan Simplisa*. Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Hlm 7.
- [Depkes RI]. 1978. *Materi Medika Indonesia*. Jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI], 1995, *Farmakope Indonesia*. Edisi IV, 112, 712, 1203, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Dewatisari, W.F, Leni R, Ismi R. 2017. Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun Sansevieria sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. Vol. 17(3): 197-202.
- Fardhani, L.H. 2014. Pengaruh Metode Ekstraksi Secara Infudasi dan Maserasi Daun Asam Jawa (*Taramindus indica L*) Terhadap Kadar Flavonoid Total [*Skripsi*]. Fakultas Farmasi. Universitas Gajah Mada.

- Fathoni, A.H dan Maksum, S.M. 2008. Mukjizat Siwak: Rahasia Kesehatan Gigi dan Mulut Ala Rasulullah SAW. Penerbit Santusta. Yogyakarta.
- Fatkhororohman, F dan Medawati. A. 2013. Efektifitas Ekstrak Etanol Kayu Siwak (*Salvadora persica*) Dengan Metode Perkolasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Isolat 248 yang Resisten Multiantibiotik. *Insisiva Dental Journal* (Vol.2 No.2).
- Febriani, Diana, Mulyanti D, Rahmawati E. 2015. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annoma Muricata Linn*). Proseding Penelitian SPeSIA Unisba 2015: 475-480.
- Gunawan dan Mulyani S. 2015. Ilmu Obat Alami (*Farmakogonosi*) jilid 1. Bogor: Penerbit Swadaya.
- Harborne, J.B. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (alih bahasa: Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro)*. Penerbit ITB: Bandung.
- Harborne, J.r. 1978. *Metode Fitokimia Pantuan Cara Metode Menganalisis Tumbuhan*. ITB, Bandung.
- Herbie, Tandi. 2015. Kitab Tanaman Berkhasiat Obat. Yogyakarta : Octopus Publishing House.
- Inayati, M dan Marhama. 2016. Pengaruh Lendir Bekicot (*Achantina Fulica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif. *Jurnal Analis Kesehatan*. 5(2).
- Indang. N., Guli. M., Alwi. M. 2013. Uji Resistensi dan Sensitivitas Bakteri *Salmonella thypi* Pada Orang Yang Sudah Pernah Menderita Demam Tifoid Terhadap Antibiotik. *Biocelbes*, Hal 27-34
- Iskamto B. 2009. *Bakteriologi Kesehatan*, Cetakan ke-1. Surakarta: Universitas Negri Sebelas Maret Press. Hlm 11, 12, 14.
- Istiqomah. 2013. “Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Shokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti* Frukus)”. [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah.
- Jawetz E, Jl. Melnick, EA Adelberg, GF Brooks, JS Butet, LN Ornston, 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-23 Nugroho, Maulany RF, Penerjemah ; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz. E., Melnick & Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit EGC.

- Kamil, S.V, Al Munawir, Dewi R. 2013. Efektifitas Antibakterial Ekstrak Etanol Siwak (*Salvadora persica*) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian. Fakultas Kedokteran, Universitas Jember.
- Karimela, E.J, Frans, G.I, Henny, A.D. 2017. Karakteristik *Staphylococcus Aureus* yang di isolasi dari ikan asap pinekuhe hasil olahan tradisional kabupaten sangihe. JPHPI, (Vol.20 No 1).
- Kurniawan. B., Aryana. F. W. 2015. Binahong (*Cassia Alata* L) As Inhibitory Of *Escherichia Coli* Growth. *Journal Majority*, (Vol. 4, No. 4).
- Kurniawati E. 2015. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In vitro. *Jurnal Wiyata*. (Vol.2 No.2).
- Kurniawan, B.F dan Sahli T.I. 2017. Bakteriologi Pratikum Teknologi Laboratorium Medik. Jakarta: Penerbit ECG.
- Kuswiyanto. 2016. Bakteriologi 2 Pratikum Teknologi Laboratorium Medik. Jakarta: Penerbit ECG.
- Latifah. 2015. “Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Rimpang Kencur *Kaempferia galanga* L. Dengan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*)”. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia. Universitas Islam Negeri Maulana Ibrahim. Hal: 38.
- Locke T, Keat S, Walker A, Mackinnon R. 2013. *Microbiology and Infectious Diseases on The Move*. Jakarta (ID): Penerbit Indeks.
- Maryuni, A. E. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antibakteri Minyak Atsiri Daun Zodia. [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Marliana, S, D., Suryanti, V., & Suyono, 2005, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol, *Biofarmasi* 26-31, Jurusan Farmasi FMIPA UNS Surakarta
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Vol 7, No. 2.
- Munawaroh, Safaatul, Handayani A.P. 2010. Ekstrak Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan Pelarut Etanol dan n-Heksana. *Jurnal Kopetensi Teknik* 2(1): 73-78.

- Najah, A., dan Mohammed, Ph.D., 2012, Effect of *Nigella Sativa L.* Against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus mitis* in Vitro, *J. Bagh College Dentistry*, 24(3): 154-157.
- Ningsih. I.Y. 2016. Modul Saintifikasi Jamu Penanganan Pasca Panen. Fakultas Farmasi. Universitas Jember.
- Notoadmodjo, Soekidjo. 2012. *Metodologi Penelitian*. Jakarta: PT Rineka Cipta
- Nurjanah, Laili Izzati, Abdullah, A., 2011, Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen sp*), *Ilmu Kelautan*, Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, Vol. 16 halaman 119 – 124.
- Ohara-Nemoto, Y.O., Haraga, H., Kimura, S., dan Nemoto, T.K., 2008, Occurance of *Staphylococci* In The Oral Cavities of Healthy Adults and Nasal-Oral trafficking of The Bacteria, *Journal of Medical Microbiology*, 87: 95-99.
- Paliwal S, Chauhan R. Evaluation of Antifungal Activity of *Salvadora persica* Linn. Leaves. *Natural Product Radiance*. 2007; 6(5): 372-374.
- Pratiwi, Sylvia. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga
- Radji, M, Siti F, Nurgani A. 2011. Antibiotic Sensitivity Pattern of Bacterial Pathogenes in The Intensive Care Unit of Fatmawati Hospital Jakarta. *Asian Pac J Trop Biomed*, Jakarta, 1, 1, pp. 39-42.
- Rahmawati, D.A dan Hanafi S.G.M. 2016. Perbedaan antara Kumur Ekstrak Siwak (*Salvadora persica*) dan Kumur Infusa Siwak Terhadap Viskositas Saliva. *Insisiva Dental Journal* (Vol.5 No.1).
- Robertson, D., dan Smith, J., 2009, The Microbiology of The Acute Dental Abscess, *Journal of Medical Microbiology*, 58: 155-162.
- Rosilawati. S. I. E., Ratnasari. R., Endah. M. H., Suryanie, Tyasningsih. W., Chusniati. S. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Veteriner I*. Surabaya: Pusat Penerbitan dan Percetakan Unair (AUP).
- Sangi, S, M., Momuat I, L., Kumaunang, M., 2012, Uji Toksisitas dan Skrining fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (*Arenga pinnata*), *Jurnal Ilmiah Sains*, UNSRAT. Vol. 12 No. 2.
- Sastrawan, Idza N, Sangi M, Kamu V. 2013. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Adas (*Foeniculum vulgare*) Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Ilmia Sains* 13(2):110-115.

- Septiani, Eko N.D, dan Ima. W. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak lamun (*Cymodocea rotundata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology. (Vol.13 No.1)
- Setyawati, Widiastuti Agustina Eko, Sri Retno Dwi Ariani, Ashadi, Bakti Mulyani, dan Cici Putri Rahmawati. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus Murr*) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*: 271-280.
- Simaremare, E.S. 2014. Sringing Fitokimia Etanol Daun Gatal (*Laporyea decumana* (Roxb). Wedd). Pharmacy. (Vol.11 No.1).
- Siswandono, Soekardjo. B. 2008. *Kimia Medisinal*. Surabaya: Pusat Penerbitan dan Percetakan Unair (AUP).
- Soedarto. 2015. Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: Sagung Seto.
- Sofrata, A.H., Claesson R.L., Lingstrom P.K., Gustaffsson, A.K. 2008. Strong Antibacterial Effect of Miswak Against Oral Microorganisms Associated with Periodontitis and Caries., *J. Periodontal*; 79(8).
- Stefani S. 2012. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* associated with animals and its relevance to human health. Article frontiers in microbiology. University of Catania. Italy. (No 127 Vol 3).
- Suryani L. Yoni A. 2007. Uji Kadar Hambat Minimal Ekstrak Batang Siwak (*Salvadora Persica*) terhadap *Staphylococcus aureus* secara In vitro. (Vol. 7 No.1: 7-12).
- Talumewo, M, Mintjelungan. C, Wowor M. 2015. Perbedaan Efektivitas Obat Kumur Antiseptik Beralkohol dan Non Alkohol Dalam Menurunkan Akumulasi Plak. *Jurnal Ilmia Farmasi* (Vol 4 No.4).
- Wiradona I, Suwarsono, Lanny S, Hermien R. 2015. Pengaruh Perasan Mengkudu Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan gigi*. (Vol. 02 No 1).
- Zaenab., Mardiasuti.H.W., Anny., Logawa. 2004. Uji Antibakteri Siwak (*Salvadora Persica*) Terhadap *Streptococcus Mutans* (ATCC 31987) Dan *Bacteroides Melaninogenicus*, *Makara Kesehatan*, 8(2) : 37-40.

**L**

**A**

**M**

**P**

**I**

**R**

**A**

**N**

## Lampiran 1. Surat Izin Determinasi



Nomor : 554 / H6 – 04 / 25.02.2019  
 Lamp. : - helai  
 Hal : Ijin Determinasi

**Kepada :**  
**Yth. Kepala**  
**UPT. LABORATORIUM FAK. MIPA**  
**Universitas Sebelas Maret ( UNS )**  
**Di Surakarta**

Dengan Hormat,

Guna memenuhi persyaratan untuk keperluan penyusunan Tugas Akhir (TA) bagi Mahasiswa Semester Akhir Program Studi D-IV Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi, terkait bidang yang ditekuni dalam melaksanakan kegiatan tersebut bersamaan dengan ini kami menyampaikan ijin bahwa :

**NAMA** : NISA' NUR SHOLIKHAH  
**NIM** : 08150380 N  
**PROGDI** : D-IV Analisis Kesehatan  
**JUDUL** : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Batang Siwak ( *Salvadora persica* ) terhadap pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Untuk ijin determinasi tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik batang siwak ( *Salvadora persica* ) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* di Instansi Bapak / Ibu.

Demikian atas bantuan dan kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.

Surakarta, 25 Februari 2019

Dekan



Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc., Ph.D.



## Lampiran 2. Surat Keterangan Determinasi Tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 031/UN27.9.6.4/Lab/2019  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -  
Nama Pemesan : Nisa' Nur Sholikhah  
NIM : 08150380N  
Alamat : Program Studi D-IV Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Salvadora persica* L.  
Familia : Salvadoraceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) dan Korejo *et al.* (2010) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76a-77a-78b-103c-104b-106b-107a-108b-109b-134a-135b-136b-137a-138c-139b-140a-141b-142b-143b-147b-156b-157b-165a-166a-167c-168b-169a 124. Salvadoraceae  
1 1. Salvadora  
1a Salvadora persica L.

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : perdu atau pohon kecil menahun, tumbuh tegak, tinggi 2-6 m. Akar : tunggang, berwarna cokelat dan bagian dalamnya berwarna putih atau putih kotor. Batang : bulat, berkayu, beruas, bercabang banyak, untuk cabang atau ranting diameter bisa mencapai 1-5 cm, kulit batang jika dikelupas berwarna agak keputihan dan memiliki banyak juntaian serat, permukaan batang gundul, warna hijau pucat hingga coklat. Daun : tunggal, berhadapan, bertangkai panjang, bentuk bulat telur atau bulat telur memanjang hingga lanset, panjang 4-6.5 cm, lebar 1.3-3 cm, ujung daun runcing hingga meruncing, tepi daun rata, pangkal daun tumpul hingga membulat, pertulangan daun menyirip, permukaan atas daun berwarna hijau gelap, permukaan bawah daun hijau muda, kedua permukaan daun licin. Bunga : terletak di ketiak (aksiler), bunga majemuk bentuk malai rata (*panicle*); bunga berwarna hijau pucat hingga kuning kehijauan, bersimetri banyak (aktinomorf), bagian-bagian bunga terdiri atas 4 bagian (tetramer); kelopak bunga mempunyai 4 daun kelopak bunga berbentuk bulat telur dengan ujungnya tumpul dan bersatu/berlekatan hingga setengah panjangnya; mahkota bunga terdiri atas 4 daun mahkota bunga, berbentuk bulat telur atau memanjang; benang sari (stamen) berjumlah 4 dan tersisip pada dasar mahkota bunga, tangkai sari berseling dengan daun mahkota bunga, kepala sari berbentuk bulat telur; kepala putik berbentuk tombak, bakal buah berisi 1 ruangan, tegak, bulat telur terbalik. Buah : berdaging, berbentuk bulat, panjang 5-6.6 mm, berwarna putih hingga merah muda atau merah, permukaan licin dan mengkilat. Biji : kecil, bulat, warna coklat muda hingga coklat gelap, permukaan mengkilat.

Surakarta, 1 Maret 2019

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyanti, M.Si.  
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.  
NIP. 19800705 200212 1 002



**Lampiran 3. Alat dan Bahan**

Batang Siwak (*Salvadora persica*)



Ayakan 40 Mesh



Serbuk Kasar Batang Siwak  
(*Salvadora persica*)



Serbuk Halus Batang Siwak  
(*Salvadora persica*)





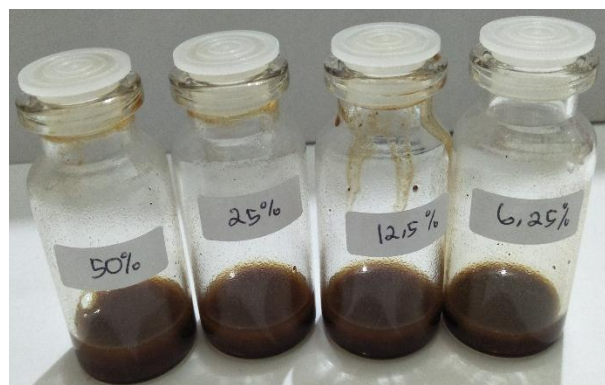
Blender



Botol Maserasi



Ekstrak Kental



Konsentrasi Ekstrak Batang Siwak



Rangkaian Alat *Bidwell-Sterling*



*Rotatory Evaporator*



Oven



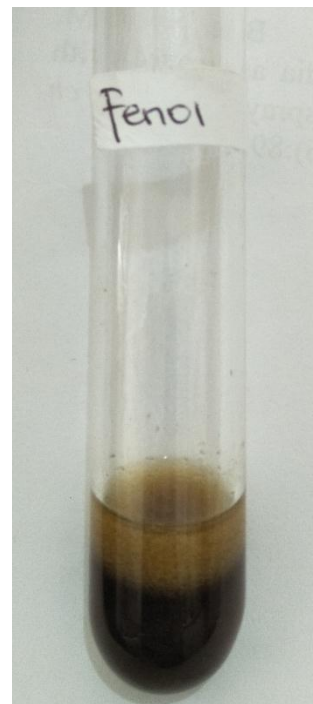
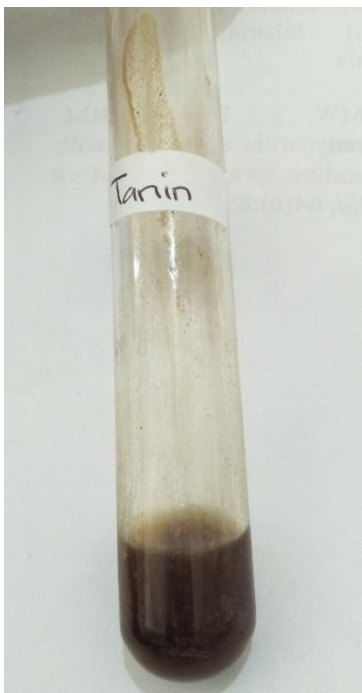
*Autoclave*

**Lampiran 4. Hasil Uji Fitokimia**

Uji Saponin



Uji Alkaloid





Uji Tanin

Uji Fenol

**Lampiran 5.** Hasil Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

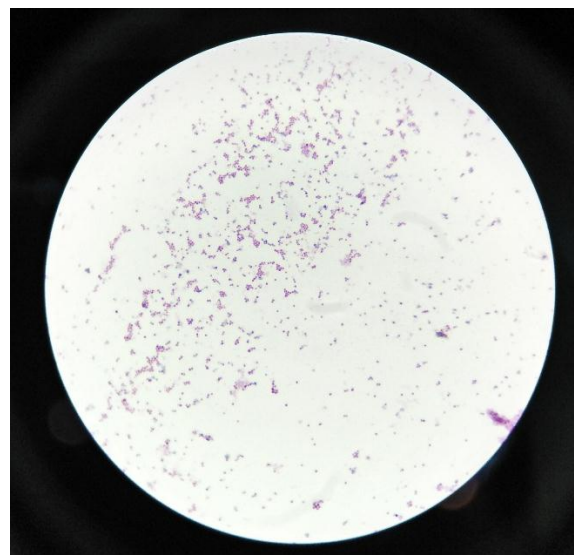
Bakteri *Staphylococcus aureus* Isolat  
Kultur Laboratorium pada media VJA



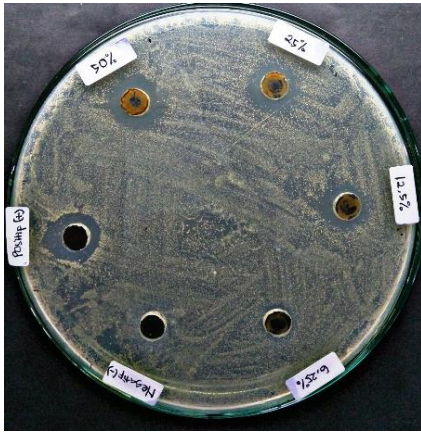
Uji Koagulasi  
Bakteri *Staphylococcus aureus*



Uji Katalase  
Bakteri *Staphylococcus aureus*



Pengecatan Gram  
Bakteri *Staphylococcus aureus*

**Lampiran 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri**

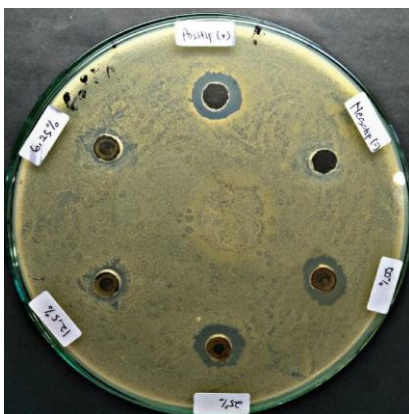
Uji Antibakteri *Staphylococcus aureus*

Pengulangan 1



Uji Antibakteri *Staphylococcus aureus*

Pengulangan 2



Uji Antibakteri *Staphylococcus aureus*

Pengulangan 3

**Lampiran 7.** Perhitungan Kadar Air

| Berat bahan (gram) | Skala (ml) | Kadar air (%) |
|--------------------|------------|---------------|
| 20,0147 gram       | 1,9 ml     | 9,49 %        |

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{\text{Volume air pada skala}}{\text{Berat bahan}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{1,9 \text{ ml}}{20,0147} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Air (\%)} = 9,49 \%$$



**Lampiran 8. Rendemen Ekstrak batang Siwak**

| <b>Serbuk batang Siwak (gram)</b> | <b>Berat Wadah kosong (gram)</b> | <b>Berat Wadah + Ekstrak (gram)</b> | <b>Berat ekstrak (gram)</b> | <b>Rendemen (%)</b> |
|-----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|---------------------|
| 300                               | 240,162                          | 259,089                             | 18,927                      | 6,30%               |

**Perhitungan berat Ekstrak**

$$\text{Berat wadah + ekstrak} = 259,089 \text{ gram}$$

$$\text{Berat wadah kosong} = 240,162 \text{ gram}$$

---


$$\text{Berat ekstrak} = 18,927 \text{ gram}$$

**Perhitungan % rendemen ekstrak**

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

$$\% \text{ ekstrak} = \frac{18,927 \text{ gram}}{300} \times 100\%$$

$$\% \text{ ekstrak} = 6,30\%$$

**Lampiran 9.** Perhitungan Pengenceran DMSO (*Dimethyl Sulfoxida*)

Pembuatan DMSO konsentrasi 2%

$$\begin{aligned}V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\V_1 \times 100\% &= 100 \times 2 \text{ ml} \\V_1 &= \frac{100 \text{ ml} \times 2\%}{100\%} \\&= \frac{200 \text{ ml}}{100}\end{aligned}$$

$$V_1 = 2 \text{ ml}$$

Dipipet 2 ml dari larutan awal 100% kemudian ditambah aquadest steril sampai 100 ml.

**Lampiran 10. Perhitungan Konsentrasi**

| Konsentrasi ekstrak etanolik batang Siwak | Ekstrak Etanolik Batang Siwak | DMSO 2% |
|---|-------------------------------|---------|
| 6,25%                                     | 0,125 ml                      | 1 ml    |
| 12,5%                                     | 0,25 ml                       | 1 ml    |
| 25%                                       | 0,5 ml                        | 1 ml    |
| 50%                                       | 1 gram                        | 2 ml    |

## 1. Konsentrasi 50%

$$50\% \text{ } ^b/v = 1 \text{ g} / 2 \text{ ml}$$

Ditimbang 1 gram ekstrak etanol batang Siwak kemudian dimasukkan dalam tabung vial dan diencerkan dengan DMSO 2% sebanyak 2 ml.

## 2. Konsentrasi 25%

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 50 &= 1 \text{ mL} \times 25\% \\ V_1 &= 0,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Diambil 0,5 mL larutan ekstrak 50% dimasukkan dalam tabung vial dan diencerkan dengan DMSO 2% sebanyak 1 ml.

## 3. Kosentrasi 12,5%

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 50 &= 1 \text{ mL} \times 12,5\% \\ V_1 &= 0,25 \text{ mL} \end{aligned}$$

Diambil 0,25 mL larutan ekstrak 50% dimasukkan dalam tabung vial dan diencerkan dengan DMSO 2% sebanyak 1 ml.

## 4. Kosentrasi 6,25%

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 50 &= 1 \text{ mL} \times 6,25\% \\ V_1 &= 0,125 \text{ mL} \end{aligned}$$

Diambil 0,125 mL larutan ekstrak 50% dimasukkan dalam tabung vial dan diencerkan dengan DMSO 2% sebanyak 1 ml.

**Lampiran 11. Standart Mc Farland**

**Tabel Standart Mc Farland**

| Cat No. | Mc Farland Standart | 1% BaCl <sub>2</sub> (ml) | 1% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (ml) | Approximate Bacterial Suspension/ ml |
|---------|---------------------|---------------------------|--|--------------------------------------|
| TM50    | 0.5                 | 0.05                      | 9.95                                   | 1.5 x 10 <sup>8</sup>                |
| TM51    | 1.0                 | 0.10                      | 9.90                                   | 3.0 x 10 <sup>8</sup>                |
| TM52    | 2.0                 | 0.20                      | 9.80                                   | 6.0 x 10 <sup>8</sup>                |
| TM53    | 3.0                 | 0.3                       | 9.7                                    | 9.0 x 10 <sup>8</sup>                |
| TM54    | 4.0                 | 0.4                       | 9.6                                    | 1.2 x 10 <sup>9</sup>                |
| TM55    | 5.0                 | 0.5                       | 9.5                                    | 1.5 x 10 <sup>9</sup>                |
| TM56    | 6.0                 | 0.6                       | 9.4                                    | 1.8 x 10 <sup>9</sup>                |
| TM57    | 7.0                 | 0.7                       | 9.3                                    | 2.1 x 10 <sup>9</sup>                |
| TM58    | 8.0                 | 0.8                       | 9.2                                    | 2.4 x 10 <sup>9</sup>                |
| TM59    | 9.0                 | 0.9                       | 9.1                                    | 2.7 x 10 <sup>9</sup>                |
| TM60    | 10.0                | 1.0                       | 9.0                                    | 3.0 x 10 <sup>9</sup>                |

(Sumber: MC Farland Standard, 2014)

## Lampiran 12. Formulasi dan Pembuatan Media

### 1. *Brain Heart Infusion* (BHI)

|                               |          |
|-------------------------------|----------|
| Brain Infusion Solids         | 12,5 g/l |
| Braint Heart Infusion Solide  | 5,0 g/l  |
| Protease peptone              | 10,0 g/l |
| Glukose                       | 2,0 g/l  |
| Sodium chloride               | 5,0 g/l  |
| Disodium hydrogen phosphatase | 2,5 g/l  |
| Agar                          | 10,0 g/l |

PH 7,4±0,2 @ 25°C

Suspensikan 40 gram media dalam 1000 ml aquadest. Larutkan dan tuangkan dalam tabung reaksi. Sterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit

### 2. Komposisi Cat Gram

#### a. Cat Gram A (warna ungu)

|                  |        |
|------------------|--------|
| Kristal Violet   | 2 gram |
| Etil Alkohol 95% | 20 ml  |
| Ammonium Oksalat | 0,8 ml |
| Aquadest         | 80 ml  |

#### b. Cat Gram B (warna coklat)

|               |        |
|---------------|--------|
| Iodium        | 1 gram |
| Kalium Iodida | 2 gram |
| Aquadest      | 300 ml |

#### c. Cat Gram C (tak berwarna)

|              |       |
|--------------|-------|
| Aceton       | 50 ml |
| Etil alkohol | 50 ml |

#### d. Cat Gram D (warna merah)

|              |           |
|--------------|-----------|
| Safranin     | 0,25 gram |
| Etil Alkohol | 10 ml     |
| Aquadest     | 90 ml     |

### 3. Media *Vogel Johnson Agar* (VJA)

|                             |         |
|-----------------------------|---------|
| Pancreatic digest of casein | 10 gram |
| Yeast extract               | 5 gram  |
| D-mannitol                  | 10 gram |
| Dipotassium phosphate       | 5 gram  |
| Lithium chloride            | 5 gram  |
| Glycine                     | 10 gram |
| Agar                        | 16 gram |
| Phenol red                  | 25 gram |

Suspensikan 30 gram media dalam 1000 ml aquadest. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung reaksi @10 ml, dan sterilkan dengan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Ditunggu sampai hangat-hangat kuku (45°C-45°C). Homogenkan, kemudian dituang ke dalam cawan petri.

### 4. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

|                               |           |
|-------------------------------|-----------|
| Beef, dehydrate infusion from | 300,0 g/l |
| Casein hydrolysate            | 7,5 g/l   |
| Starch                        | 1,5g/l    |
| Agar                          | 17,0 g/l  |

PH 7,3±0,2 @25°C

Suspensikan 60 garm media dalam 1000 ml aquadest. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung reaksi @10 ml, dan sterilkan dengan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Ditunggu sampai hangat-hangat kuku (45°C-45°C). Homogenkan, kemudian dituang ke dalam cawan petri.

#### 5. Pembuatan Standart Mc. Farland $1,5 \times 10^8$ CFU/ml

Suspensi Standart Mc. Farland adalah suspensi yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan  $10^8$  CFU/ml

Komposisi :

Larutan Asam Sulfat 1% b/v 8,5 ml

Larutan Barium Klorida 1,175% v/v 1.5 ml

Cara pembuatan :

Campur kedua larutan tersebut dalam tabung reaksi kemudian dikocok dan dihomogenkan. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji adalah sama dengan kekeruhan suspensi standar, berarti konsentrasi suspensi bakteri adalah  $10^8$  CFU/ml.

#### 6. Pembuatan Kalium Tellurit

Serbuk kalium telurit ditimbang sebanyak 4 gram ditambahkan aquadest sebanyak 100 mL, dicampur hingga homogen kemudian larutan dimasukkan kedalam botol. Disterilkan dengan menggunakan autoclave pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit.

#### 7. Pembuatan Larutan $\text{H}_2\text{O}_2$ 1%

Larutan  $\text{H}_2\text{O}_2$  dipipet 3 ml dimasukkan kedalam beaker glass ditambahkan aquadest sebanyak 100 ml, dicampur hingga homogen kemudian larutan dimasukkan kedalam botol. Disimpan dalam lemari es.

#### 8. Pembuatan Plasma Citrat

Dipipet 0,5 ml larutan Natrium Citrat 3,8% dimasukkan kedalam tabung, ditambahkan 4,5 ml darah (perbandingan antikoagulan : darah = 1 : 9) kemudian dihomogenkan, dicentrifuge dengan kecepatan 3000rpm selama 20

menit, plasma yang terbentuk setelah dicentrifuge dipisahkan dari korpuskuli dengan menggunakan pipet. Disimpan dalam lemari es.

#### 9. Sterilisasi Alat Gelas

Peralatan yang sudah selesai dipakai seperti cawan petri, beaker glass, pipet ukur, erlemeyer, tabung reaksi dicuci terlebih dahulu kemudian dikeringkan, dan dibungkus dengan koran, kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu  $175^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam



### Lampiran 13. Hasil data Uji Statistik

#### 1. Uji *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test*

|                                  |                | Unstandardized<br>Residual |
|----------------------------------|----------------|----------------------------|
| N                                |                | 18                         |
| Normal Parameters <sup>a,b</sup> | Mean           | ,0000000                   |
|                                  | Std. Deviation | 5,85518516                 |
| Most Extreme Differences         | Absolute       | ,189                       |
|                                  | Positive       | ,189                       |
|                                  | Negative       | -,147                      |
| Kolmogorov-Smirnov Z             |                | ,801                       |
| Asymp. Sig. (2-tailed)           |                | ,543                       |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Keterangan :

$H_0$  : data berdistribusi normal

$H_1$  : data tidak berdistribusi normal

Dasar pengambilan keputusan :

Jika nilai signifikansi (probabilitas)  $> 0,05$  maka  $H_0$  diterima

Jika nilai signifikansi (probabilitas)  $< 0,05$  maka  $H_0$  ditolak

Pada tabel uji *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* diperoleh Signifikansi pada *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium yaitu 0,543 dengan demikian  $p > 0,05$  maka  $H_0$  diterima dan data berdistribusi normal. Data tersebut berdistribusi normal maka dapat dilanjutkan uji selanjutnya yaitu Uji *One Way Anova*.

## 2. Uji One Way ANOVA

### a. Tabel Descriptives

#### Descriptives

Zona Hambat

|                    | N  | Mean   | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|--------------------|----|--------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|                    |    |        |                |            | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
|                    |    |        |                |            |                                  |             |         |         |
| kosentrasi negatif | 3  | ,000   | ,0000          | ,0000      | ,000                             | ,000        | ,0      | ,0      |
| kosentrasi positif | 3  | 21,667 | 1,5275         | ,8819      | 17,872                           | 25,461      | 20,0    | 23,0    |
| kosentrasi 6,25%   | 3  | 14,000 | 2,1794         | 1,2583     | 8,586                            | 19,414      | 12,5    | 16,5    |
| kosentrasi 12,5%   | 3  | 17,000 | 2,2913         | 1,3229     | 11,308                           | 22,692      | 15,0    | 19,5    |
| kosentrasi 25%     | 3  | 19,333 | 1,0408         | ,6009      | 16,748                           | 21,919      | 18,5    | 20,5    |
| kosentrasi 50%     | 3  | 20,500 | 1,5000         | ,8660      | 16,774                           | 24,226      | 19,0    | 22,0    |
| Total              | 18 | 15,417 | 7,6644         | 1,8065     | 11,605                           | 19,228      | ,0      | 23,0    |

Keterangan :

1. Rata-rata zona hambat pada ekstrak etanolik batang Siwak kontrol positif sebesar 21,667
2. Rata-rata zona hambat pada ekstrak etanolik batang Siwak konsentrasi 6,25% sebesar 14,000
3. Rata-rata zona hambat pada ekstrak etanolik batang Siwak konsentrasi 12,5% sebesar 17,000
4. Rata-rata zona hambat pada ekstrak etanolik batang Siwak konsentrasi 25% sebesar 19,333
5. Rata-rata zona hambat pada ekstrak etanolik batang Siwak konsentrasi 50% sebesar 20,500

Pada tabel Descriptif dapat disimpulkan bahwa rata-rata zona hambat ekstrak batang Siwak dengan kosentrasi tinggi pada kosentrasi 50% sebesar 20,500.

b. Tabel Test of Homogeneity of Variances

**Test of Homogeneity of Variances**

Zona\_hambat

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2,275            | 5   | 12  | ,113 |

Pada tabel *Test of Homogeneity of Variances* menunjukkan bahwa nilai probabilitas Lavene Statistic didapatkan nilai signifikan adalah 0,113 dengan demikian  $p > 0,05$  maka  $H_0$  diterima, berarti keempat kosentrasi ekstrak etanolik batang Siwak memiliki varians yang sama.

**ANOVA**

Zona\_hambat

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 967,292        | 5  | 193,458     | 74,090 | ,000 |
| Within Groups  | 31,333         | 12 | 2,611       |        |      |
| Total          | 998,625        | 17 |             |        |      |

Untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari persenan diameter zona hambat dari setiap kelompok perlakuan.

Dasar pengambilan keputusan :

Jika nilai signifikansi (probabilitas)  $> 0,05$  maka rata-rata sama

Jika nilai signifikansi (probabilitas)  $< 0,05$  maka rata-rata berbeda

Pada tabel ANOVA menunjukkan bahwa nilai signifikan adalah  $0,000 < 0,05$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa kelima rata-rata zona hambat ekstrak batang Siwak tersebut berbeda secara signifikan.

### 3. Uji Post Hoc Test (HSD)

Untuk mengetahui pada kelompok mana terhadap perbedaan persenan diameter hambatan yang bermakna.

Dasar pengambilan keputusan :

Jika nilai signifikansi (probabilitas)  $> 0,05$  maka  $H_0$  diterima

Jika nilai signifikansi (probabilitas)  $< 0,05$  maka  $H_0$  ditolak

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona Hambat

Tukey HSD

| (I) konsentrasi    | (J) konsentrasi    | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval |             |
|--------------------|--------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
|                    |                    |                       |            |      | Lower Bound             | Upper Bound |
| kosentrasi negatif | kosentrasi positif | -21,6667*             | 1,3194     | ,000 | -26,098                 | -17,235     |
|                    | kosentrasi 6,25%   | -14,0000*             | 1,3194     | ,000 | -18,432                 | -9,568      |
|                    | kosentrasi 12,5%   | -17,0000*             | 1,3194     | ,000 | -21,432                 | -12,568     |
|                    | kosentrasi 25%     | -19,3333*             | 1,3194     | ,000 | -23,765                 | -14,902     |
|                    | kosentrasi 50%     | -20,5000*             | 1,3194     | ,000 | -24,932                 | -16,068     |
| kosentrasi positif | kosentrasi negatif | 21,6667*              | 1,3194     | ,000 | 17,235                  | 26,098      |
|                    | kosentrasi 6,25%   | 7,6667*               | 1,3194     | ,001 | 3,235                   | 12,098      |
|                    | kosentrasi 12,5%   | 4,6667*               | 1,3194     | ,037 | ,235                    | 9,098       |
|                    | kosentrasi 25%     | 2,3333                | 1,3194     | ,518 | -2,098                  | 6,765       |
|                    | kosentrasi 50%     | 1,1667                | 1,3194     | ,943 | -3,265                  | 5,598       |
| kosentrasi 6,25%   | kosentrasi negatif | 14,0000*              | 1,3194     | ,000 | 9,568                   | 18,432      |
|                    | kosentrasi positif | -7,6667*              | 1,3194     | ,001 | -12,098                 | -3,235      |
|                    | kosentrasi 12,5%   | -3,0000               | 1,3194     | ,275 | -7,432                  | 1,432       |
|                    | kosentrasi 25%     | -5,3333*              | 1,3194     | ,016 | -9,765                  | -,902       |
|                    | kosentrasi 50%     | -6,5000*              | 1,3194     | ,004 | -10,932                 | -2,068      |
| kosentrasi 12,5%   | kosentrasi negatif | 17,0000*              | 1,3194     | ,000 | 12,568                  | 21,432      |
|                    | kosentrasi positif | -4,6667*              | 1,3194     | ,037 | -9,098                  | -,235       |
|                    | kosentrasi 6,25%   | 3,0000                | 1,3194     | ,275 | -1,432                  | 7,432       |

|                |                    |          |        |      |        |        |
|----------------|--------------------|----------|--------|------|--------|--------|
|                | kosentrasi 25%     | -2,3333  | 1,3194 | ,518 | -6,765 | 2,098  |
|                | kosentrasi 50%     | -3,5000  | 1,3194 | ,157 | -7,932 | ,932   |
|                | kosentrasi negatif | 19,3333* | 1,3194 | ,000 | 14,902 | 23,765 |
|                | kosentrasi positif | -2,3333  | 1,3194 | ,518 | -6,765 | 2,098  |
| kosentrasi 25% | kosentrasi 6,25%   | 5,3333*  | 1,3194 | ,016 | ,902   | 9,765  |
|                | kosentasi 12,5%    | 2,3333   | 1,3194 | ,518 | -2,098 | 6,765  |
|                | kosentrasi 50%     | -1,1667  | 1,3194 | ,943 | -5,598 | 3,265  |
|                | kosentrasi negatif | 20,5000* | 1,3194 | ,000 | 16,068 | 24,932 |
|                | kosentrasi positif | -1,1667  | 1,3194 | ,943 | -5,598 | 3,265  |
| kosentrasi 50% | kosentrasi 6,25%   | 6,5000*  | 1,3194 | ,004 | 2,068  | 10,932 |
|                | kosentasi 12,5%    | 3,5000   | 1,3194 | ,157 | -,932  | 7,932  |
|                | kosentrasi 25%     | 1,1667   | 1,3194 | ,943 | -3,265 | 5,598  |

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

#### 4. Uji Homogeneous subsets

|                        |                   | Zona_hambat |                         |         |         |         |
|------------------------|-------------------|-------------|-------------------------|---------|---------|---------|
|                        |                   | N           | Subset for alpha = 0.05 |         |         |         |
| Konsentrasi            |                   |             | 1                       | 2       | 3       | 4       |
| Tukey HSD <sup>a</sup> | Kontrol Negatif   | 3           | .0000                   |         |         |         |
|                        | Konsentrasi 6,25% | 3           |                         | 14.0000 |         |         |
|                        | Konsentrasi 12,5% | 3           |                         | 17.0000 | 17.0000 |         |
|                        | Konsentrasi 25%   | 3           |                         |         | 19.3333 | 19.3333 |
|                        | Konsentrasi 50%   | 3           |                         |         | 20.5000 | 20.5000 |
|                        | Kontrol Positif   | 3           |                         |         |         | 21.6667 |
|                        | Sig.              |             | 1.000                   | .275    | .157    | .518    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Hasil dari data diatas subset 1 sampai 4 terdapat sediaan uji dengan konsentrasi yang berbeda. Pada subset 2 terdapat data konsentrasi 6,25% dan 12,5% maka rata-rata zona hambat konsentrasi tersebut tidak mempunyai perbedaan yang signifikan, disimpulkan zona hambat ekstrak batang siwak sama. Pada subset 3 terdapat data konsentrasi 12,5%, 25% dan 50% maka rata-rata zona hambat konsentrasi tersebut tidak mempunyai perbedaan yang

signifikan, disimpulkan zona hambat ekstrak batang siwak sama. Pada subset 4 terdapat data konsentrasi 25%, 50% dan kontrol positif maka rata-rata zona hambat konsentrasi tersebut tidak mempunyai perbedaan yang signifikan, disimpulkan zona hambat ekstrak batang siwak sama. Hasil riset eksperimen ini hanya rata-rata konsentrasi 6,25% dan kontrol positif yang berbeda. Sedangkan rata-rata konsentrasi yang lainnya adalah sama. Hasil variabel konsentrasi hanya berpengaruh secara signifikan terhadap perbedaan rata-rata konsentrasi 6,25% dan konsentrasi positif.