

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun biduri (*Calotropis gigantea*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kedua, fraksi etil asetat merupakan fraksi teraktif dari ekstrak etanol daun biduri (*Calotropis gigantea*) yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ketiga, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun biduri (*Calotropis gigantea*) sebagai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi 6,25% dan *Escherichia coli* ATCC 25922 yaitu pada konsentrasi 12,5%.

#### **B. Saran**

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak dan fraksi daun biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap bakteri lainya.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak etanol daun biduri (*Calotropis gigantea*) untuk dibuat sediaan yang dapat digunakan oleh masyarakat.

## DAFTAR PUSTAKA

- [Departemen Kesehatan RI]. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Andries JR, Gunawan PN, dan Supit A. 2014. *Uji Efek Anti Bakteri Ekstrak Bunga Cengkeh Terhadap Bakteri Streptococcus Mutans Secara In Vitro*. *Jurnal e-GiGi (eG)*, 2(2).
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta: Universitas Indonesia 605-608, 618-619.
- Arifianti L, Oktarina RD, 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun (*Orthosiphon stamineus benth*). *E-Journal Planta Husada* 2:1-4.
- Bonang G, Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium Dan Klinik*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Dalimartha S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid II*. Jakarta: Trubus Agriwidya; hal 11.
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Depkes RI. (2007). *Kebijakan Obat Tradisional Nasional*. Jakarta :Departemen Kesehatan RI. Halaman 12.
- Departemen Kesehatan. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi ke-4. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Departemen Kesehatan. 1989. *Sediaan Galenik*. Edisi ke-3. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Desak GDPD, Mastra N, Jirna IN. 2018. Perbedaan Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Biduri Secara In Vitro. Denpasar: Meditory. Hlm. 39-45.
- Diana K, Misna. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmacy* 2 (2): 138-144.
- Farissi RF, Wardatun S, Miranti M. 2015. Penentuan Flavonoid Polifenol Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Dan Sari Buah Pepaya California (*Carica papaya L.*)

- Goodman and Gilman. 2007. *Manual Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: EGC.
- Gunawan D dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm. 664-714.
- Haeria. 2013. Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Uji Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* L.) Griff ).
- Harborne, J B. 2006. *Metode Fitokimia*. Edisi ke-2. Kosasih Padwmawinata dan Iwang Soediro, penerjemah; Bandung: ITB Press. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Haryati NA, Saleh C, Erwin. 2015. Uji Toksisitas Dan Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. Jurnal Kimia Mulawarman. Vol. 13.
- [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=506010#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506010#null) diakses [7 Desember 2018]
- [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=369#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=369#null) diakses [7 Desember 2018]
- [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=285#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=285#null) diakses [7 Desember 2018]
- Indriyati W, Puspita DW, Yuli Y. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Bambu Kuning (Bambusa vulgaris Schrad) Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Semarang; Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran, Universitas Jendral Ahmad Yani.
- Jawetz E, JL Melnick. 2012. *Medical Microbiologi*, 26<sup>rd</sup>. Ed Elferia Nr, Penerjemah. Jakarta.
- Jawetz E, JL Melnick, EA Adelberg, GF Brooks., JS Butel., LN Ornston. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-23, Nugroho, Maulany RF, penerjemah; Jakarta: Buku Kedokteran EGC, Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Jawetz E, JL Melnick, EA Adelberg FA. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Nugroho A W *et al.* penerjemah; Adiyaputri A *et al.* Editor. Jakarta: EGC. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Kartika E, Khotimah S, Yanti AH. 2014. Deteksi Bakteri Indikator Keamanan Pangan Pada Sosis Daging Ayam Di Pasar Tradisional Flamboyan Pontianak. *Jurnal Protobiont* 3(2). Hlm. 111-119.

- Kementrian RI. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- List PH, Schmidt PC. 2000. *Phytopharmaceuticals Technology*. Ahli Bahasa David Ellaby. Florida: CRS Press hal: 67, 71, 73, 107-111.
- Marliana SD, Suryanti V, Suyono. 2005. Skrinning Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) Dalam Ekstrak Etanol.
- Marliana E. 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth Yang Berfungsi Sebagai Antioksidan. *Jurnal Penelitian MIPA* 1(1).
- Muhtar R, Fatimawali, Bodhi W. 2017. Identifikasi Dan Uji Sensitivitas Bakteri Pada Plak Gigi Pasien Di Puskesmas Ranotana Weru Manado Terhadap Antibiotik Golongan Penisilin Dan Kuinolon. *Jurnal Ilmiah Farmasi* 6 (3).
- Ningsih IY. 2016. *Penanganan Pasca Panen*. Jember: Universitas Jember
- Praeparandi. 2006. *Card System Analisa Kimia Farmasi Kualitatif*. Bandung: Seksi Diktat Stenhl. Hlm 9.
- Pratiwi SI. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Penerbit Erlangga: Jakarta. Hlm 155-161.
- Radji M. 2011. *Mikrobiologi*. Buku Kedokteran ECG. Jakarta.
- Rao R, Kaur SP, Nanda S. 2011. Amoxicillin: A Broad Spectrum Antibiotic. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3(3):30-37.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Consituents of Higher Plants*. hlm 71-75.
- Sarker SD, Lativ Z, Gray AI. 2006 *Natural Product Isolation*. Ed ke-2. Humana Press. Hlm30-32, 340.
- Sukmawati DAN, Hayati EK, Muti'ah R. 2014. Uji Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Tanaman Kesembukan (*Paederia foetida* Linn.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Alchemy*, 3(2): 189-193
- Sulistiyaningsih, Pradana ES, Iskandar Yoppi. 2014. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara (Catharanthus Roseus (L.) G.Don) Terhadap*

*Isolat Klinis Escherichia coli dan Shigella dysenteriae*. Bandung; Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran.

Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Gramedia. Hlm 42-44.

Susanti AD. 2012. Polaritas Pelarut Sebagai Pertimbangan Dalam Pemilihan Pelarut Untuk Ekstraksi Minyak Bekatul Dari Bekatul Varietas Ketan (*Oriza sativa glatinosa simposium*). Jurnal Nasional Rapi 1X FT.

Tiwari P, Bimlesh K, Mandeep K, Gurpreet K, Harleen K. 2011. *Skrinning Fitokimia dan Ekstraksi*. Internationale Pharmaceutica Scienca Jan-Maret 2011: Vol 1. Departemen Farmasi Ilmu Sekolah, Indah Ilmu Farmasi. Phagwara, Punjab.

Triana D. 2014. Frekuensi  $\beta$ -Lactamase Hasil *Staphylococcus aureus* Secara Iodometri Di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Jurnal Gradien. Vol. 10.


Warganegara E, dan Restina D. 2016. Getah Jarak (*Jatropha curcas L.*) Sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* Pada Karies Gigi. *Majority*, 5(3):62.

Voight R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soendani Noerono Soewandhi. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Widyarto A. 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Minyak atsiri Daun Keprok (Citrus nobilis Lour) Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli* [Skripsi]. Surakarta. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah.

**L  
A  
M  
P  
I  
R  
A  
N**

## Lampiran 1. Determinasi tanaman biduri



**UPT- LABORATORIUM**

No : 337/DET/UPT-LAB/23/VI/2019  
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan


Menerangkan bahwa :


Nama : Daniel Khrisna Hartadi  
NIM : 21154587 A  
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Biduri / *Calotropis gigantea* Dryand.**  
Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA  
1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 14b - 16a. golongan 10. 239a - 240b - 241b - 242b. familia 106. Asclepiadaceae. 1a - 2b. 3. *Calotropis. Calotropis gigantea Dryand.*

Deskripsi :

Habitus : Semak; tinggi 0,5 - 3 m.  
Akar : Sistem akar tunggang.  
Batang : Percabangan monopodial, batang bulat, tebal, hijau.  
Daun : Tunggal, bertangkai sangat pendek; helaian daun memanjang atau memanjang bulat telur terbalik, pangkal berbentuk jantung, ujung tumpul, sisi atas mulanya berambut putih lebat, kemudian gundul, panjang 10 - 25 cm, lebar 6 - 14 cm.  
Bunga : Bunga majemuk, dalam anak payung berbunga banyak, tertancap antara tangkai dari pasangan daun yang sama; tangkai utama berdaun lebat. Daun pelindung sempit. Tangkai bunga tebal, panjang 3 - 5 cm. Kelopak terbentang agak mendatar dengan taju agak putih, bulat telur. Mahkota bentuk roda, lila, garis tengah 4 - 4,5 cm, dengan tabung hijau pucat, bentuk cawan dangkal sekali; daun mahkota tambahan berlekatan dengan tabung benang sari; dengan sebuah taji pada pangkal dari daun mahkota tambahan. Tangkai sari berlekatan menjadi tabung. Kepala putik lebar, bersudut 5; tangkai putik panjang.  
Buah : Buah buncung berdiri sendiri atau berpasangan, bulat telur memanjang, dengan ujung yang melengkung serupa kait, panjang 9 - 10 cm.  
Biji : Biji coklat, berambut pendek lebat, dengan umbi dari rambut serupa sutera panjang.  
Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. KebonSirih 46. Jakarta Pusat, 1978.





Surakarta, 23 Juni 2019  
Ttd. Determinasi  
  
Dit. Kartinah Wirjosoendjojo, SU



Jl. Let. Jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275  
Homepage : [www.setiabudi.ac.id](http://www.setiabudi.ac.id), e-mail : [info@setiabudi.co.id](mailto:info@setiabudi.co.id)



**Lampiran 2. Foto pengambilan tanaman, pengeringan, dan pembuatan serbuk.**

	
<p>Tanaman biduri</p>	<p>Daun segar biduri</p>
	
<p>Pengeringan biduri</p>	<p>Serbuk biduri</p>



**Lampiran 3. Perhitungan berat daun kering terhadap daun basah.**

<b>Bobot daun kering (g)</b>	<b>Bobot daun basah (g)</b>	<b>Rendemen (%)</b>
1200	8500	14,2%

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{1200 \text{ gram}}{8500} \times 100 \\ &= 14,2\%\end{aligned}$$

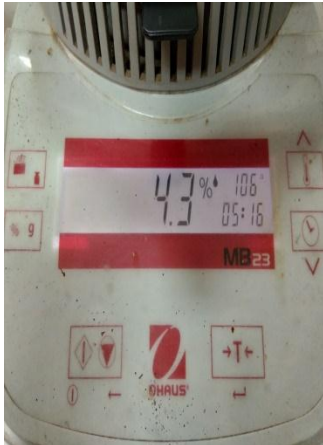
**Lampiran 4. Perhitungan rendemen berat serbuk kering terhadap berat daun kering.**

<b>Bobot serbuk (g)</b>	<b>Bobot daun kering (g)</b>	<b>Rendemen (%)</b>
900	1200	75%

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{bobot serbuk (g)}}{\text{bobot daun kering (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{900 \text{ gram}}{1200 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 75\%\end{aligned}$$

**Lampiran 5. Hasil penentuan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun biduri.**

**Susut pengeringan serbuk**



Replikasi I

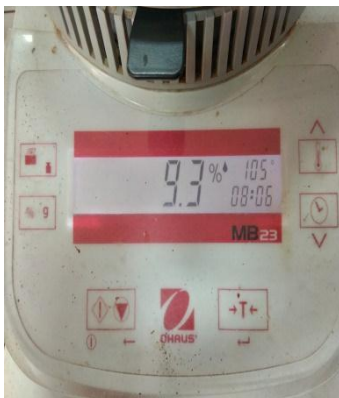


Replikasi II

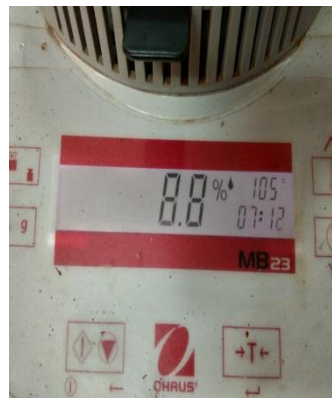


Replikasi III

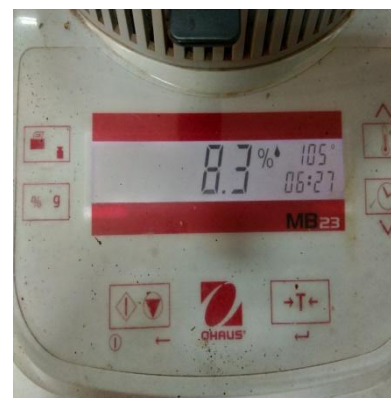
**Susut pengeringan ekstrak**



Replikasi I



Replikasi II

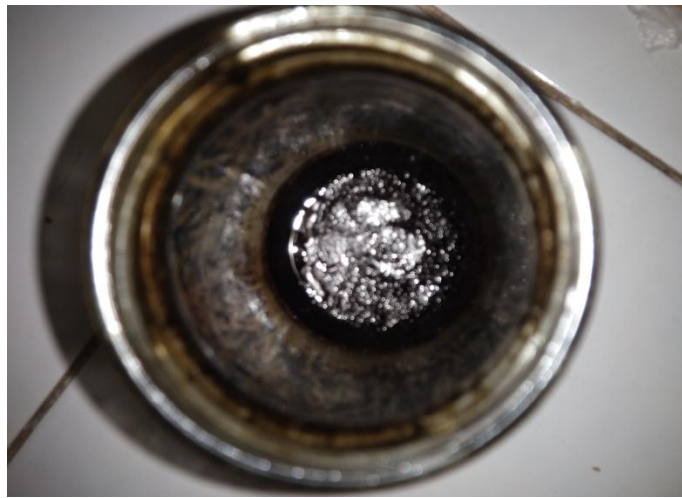


Replikasi III

**Lampiran 6. Pembuatan ekstrak dan perhitungan rendemen ekstrak etanol daun biduri.**



Peralatan pembuatan ekstrak



Ekstrak etanol daun biduri

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen b/v (%)
750	96,33	19,3%

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{96,33 \text{ gram}}{750 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 12,84 \%
 \end{aligned}$$

**Lampiran 7. Hasil dan perhitungan rendemen fraksi daun biduri.**



Fraksi air + n-heksana



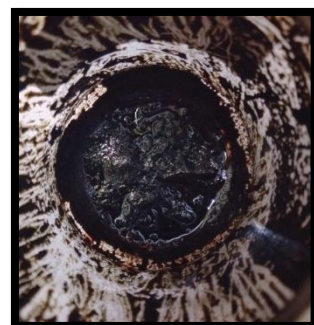
Fraksi air + etil asetat



Fraksi *n*-heksana



Fraksi etil asetat



Fraksi air (ganti)

Bobot ekstrak (g)	Pelarut	Bobot fraksi	Rendemen (%)b/b
30	n-heksana	6,60	22,00
	Etil asetat	6,35	21,17
	Air	8,00	26,67

Perhitungan :

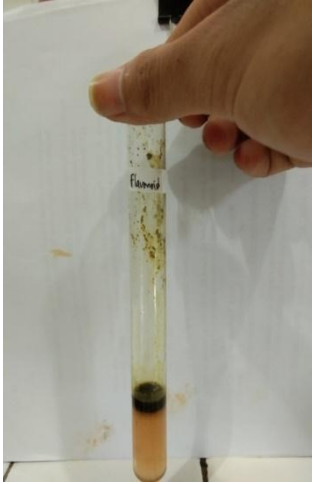


$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen fraksi n-heksana} = \frac{6,60 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 22\%$$

$$\text{Rendemen fraksi etil asetat} = \frac{6,35 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 21,17\%$$

$$\text{Rendemen fraksi air} = \frac{8,00 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 26,67\%$$

**Lampiran 8. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun biduri.**

		
Flavonoid (+)	Saponin (+)	Tanin (+)

### Lampiran 9. Formulasi dan pembuatan media.

1. Formulasi dan pembuatan media *Endo Agar* (EA).

Peptone	10 gram
Lactose	10 gram
Dipotassium phosphate	3,5 gram
Bacteriological agar	10 gram

Ditimbang sebanyak 33,5 gram bahan media EA dan ditambahkan aquadest sampai 1000 mL lalu dipanaskan sampai mendidih dan di tambah 1 ml reagen Natrium sulfite 10% aduk sampai homogen. Disterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. Formulasi dan pembuatan media *Sulfide Indol Motility* (SIM).

Casien Digest Peptone	20 gram
Peptic Digest of Animal Tissue	6,1 gram
Ferrous Ammonium Citrate	0,2 gram
Sodium Thiosulfate	0,2 gram
Agar	3,5 gram

Ditimbang sebanyak 30 gram bahan media SIM dan ditambahkan aquadest sampai 1000 mL lalu dipanaskan sampai mendidih. Disterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

3. Formulasi dan pembuatan media *Kliger Iron Agar* (KIA).

Casein peptone	10 gram
Lactose	10 gram
Meat peptone	10 gram
Sodium chloride	5 gram
Dextrose	1 gram
Sodium thiosulfat	0,3 gram
Ferric ammonium citrate	0,2 gram
Phenol red	0,25 gram
Agar	12,5 gram

Ditimbang sebanyak 49 gram bahan media KIA dan ditambahkan 1000 ml aquadest lalu dipanaskan sampai mendidih. Disterilkan menggunakan



autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dimasukkan ke dalam tabung dengan posisi miring.

4. Formulasi dan pembuatan media *Lysin Iron Agar* (LIA).

L-Lysin	10 gram
Gelatin peptone	5 gram
Yeast extract	3 gram
Dextrose	1 gram
Ferric ammonium citrate	0,5 gram
Sodium thiosulfate	0,04 gram
Bromocresol purple	0,02 gram
Agar	13,5 gram

Ditimbang sebanyak 33 gram bahan media LIA dan ditambahkan aquadest sampai 1000 ml lalu dipanaskan sampai mendidih kemudian dimasukkan ke dalam tabung. Disterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dan biarkan dalam posisi miring .

5. Formulasi dan pembuatan media *Simmons Citrat Agar*.

Magnesium sulphate	0,2 gram
Ammonium dyhydrogen phosphate	0,2 gram
Sodium ammonium phosphate	0,8 gram
Sodium citrate, tribasic	2 gram
Sodium chloride	5 gram
Bromothymol blue	0,08 gram
Agar	15 gram

Ditimbang sebanyak 23 gram bahan simmons citrate agar dan ditambahkan aquadest sampai 100 mL lalu dipanaskan sampai mendidih. Disterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

6. Formulasi dan pembuatan media *Volger Johnson Agar* (VJA)

Pepton from casein	10 gram
Yeast extract	5 gram
di-potassium hydrogen phosphate	10 gram

D(-) mannitol	10 gram
Lithium chloride	5 gram
Glycine	10 gram
Phenol red	0,025 gram
Agar	13 gram

Ditimbang sebanyak 63 gram bahan media VJA dan ditambahkan aquadest sebanyak 1000 mL lalu dipanaskan sampai mendidih. Disterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

7. Formulasi pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA).

Beef dehydrated infusion	2 gram
Casie hydrolysate	17,5 gram
Starch	1,5 gram
Agar-agar	17 gram

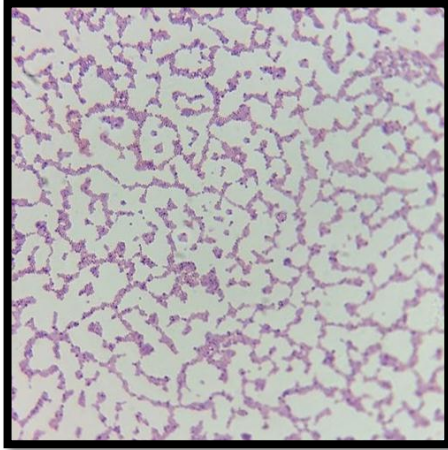
Ditimbang sebanyak 38 gram bahan media MHA dan ditambahkan aquadest sebanyak 1000 mL lalu dipanaskan sampai mendidih. Disterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Dituang ke dalam cawan petri steril dan simpan pada suhu 2-8°C.

8. Formulasi dan pembuatan media *Brain Heart Infusion* (BHI).

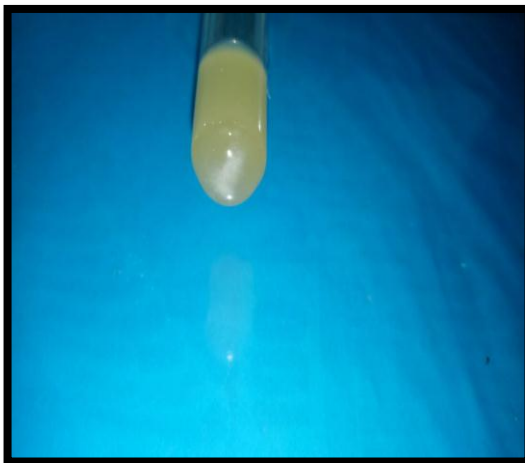
Brain infusion	7,5 gram
Beef heart infusion	10 gram
Gelatin peptone	10 gram
Dextrose	2 gram
Sodium	2 gram
Sodium chloride	5 gram
Disodium phosphate	2,5 gram

Ditimbang 37 gram bahan media BHI dan ditambahkan aquadest sampai 100 mL, dipanaskan sampai larut. Disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

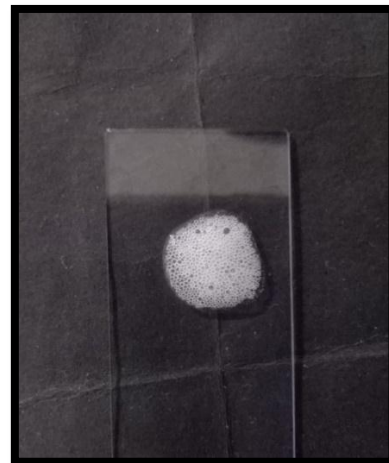
**Lampiran 10. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.**



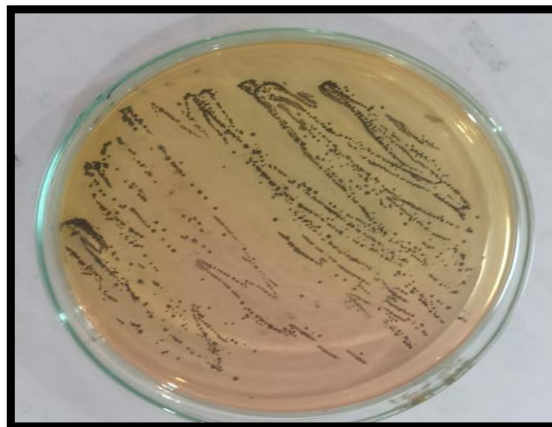
Hasil Identifikasi dengan pewarnaan Gram



Uji Koagulase

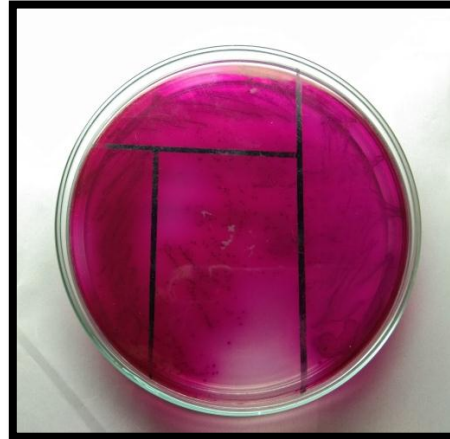


Uji Katalase

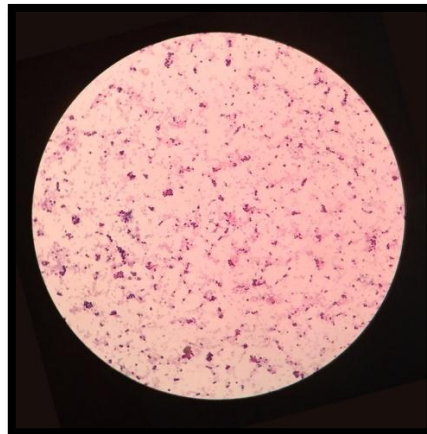
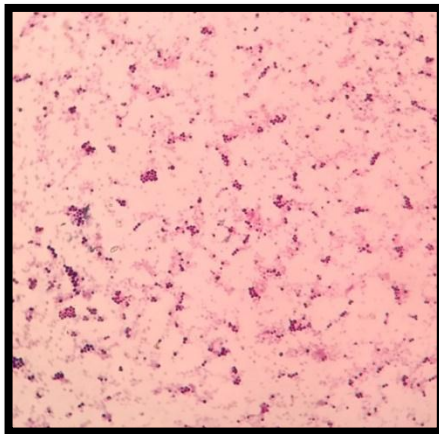


Hasil Identifikasi secara makroskopis pada media VJA

**Lampiran 11. Hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.**



Hasil Identifikasi secara makroskopis pada media *Endo Agar*



Hasil Identifikasi dengan pewarnaan Gram



Uji biokimia

**Lampiran 12. Perhitungan pengenceran DMSO 5% dan pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat dan air daun biduri.**

1. Pembuatan DMSO konsentrasi 5%

$$\begin{aligned} V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ V_1.100\% &= 100 \text{ mL}. 5\% \\ V_1 &= \frac{100 \text{ mL}.5\%}{100} \\ &= \frac{500 \text{ mL}}{100} = 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Dipipet 5 mL dari larutan awal (100%) kemudian di tambah aquadest steril sampai 100 mL.

2. Perhitungan konsentrasi ekstrak, fraksi n-hesana, etil asetat dan air untuk uji difusi.

- a. Konsentrasi 50%

$$\begin{aligned} 50\% \text{ b/v} &= 50 \text{ gram}/100 \text{ mL} \\ &= 2,5 \text{ gram}/5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Ditimbang 2,5 gram ekstrak dan fraksi, kemudian dilarutkan dengan DMSO 5% ad 5 mL.

- b. Konsentrasi 25%

$$\begin{aligned} V_1.C(50\%) &= V(5 \text{ mL}). C(25\%) \\ V &= 2,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Dipipet 2,5 mL larutan induk konsentrasi 50%, kemudian dimasukkan ke dalam vial dan diencerkan dengan DMSO 5% ad 5 mL.

- c. Konsentrasi 12,5%

$$\begin{aligned} V_1.C(25\%) &= V(5 \text{ mL}). C(12,5\%) \\ V &= 2,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Dipipet 2,5 mL larutan induk konsentrasi 10%, kemudian dimasukkan ke dalam vial dan diencerkan dengan DMSO 5% ad 5 mL.

3. Perhitungan konsentrasi fraksi teraktif untuk uji dilusi.

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok } 50\% \text{ (b/v)} &= 50 \text{ gram}/100 \text{ mL} \\ \text{Konsentrasi } 50\% &= 2,5 \text{ gram}/5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Ditimbang 2,5 gram fraksi etil asetat, kemudian di masukkan ke dalam botol vial kemudian diencerkan dengan DMSO 5% ad 5 mL.

Tabung 3 sampai 11 diisi media BHI sebanyak 1 mL terlebih dahulu.

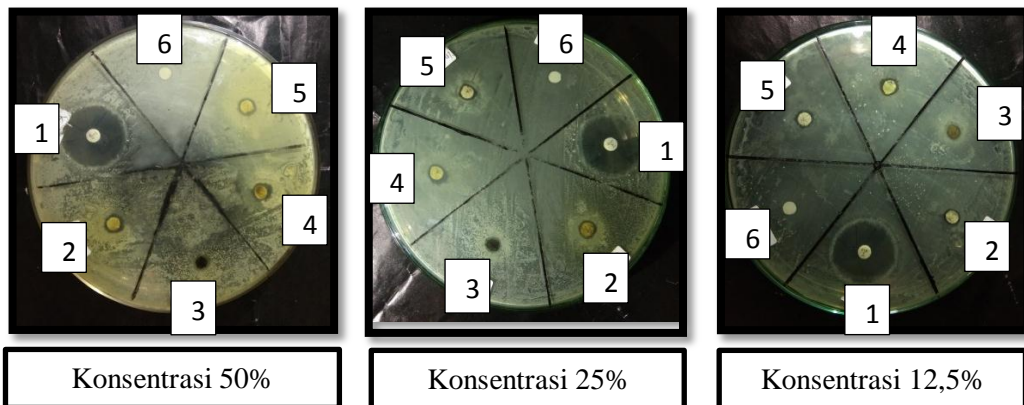
- a. Konsentrasi 50%  
Dipipet 2 mL dari larutan stok awal kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 2.
- b. Konsentrasi 25%  
Dipipet 1 mL dari larutan stok (50%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 3 yang telah berisi media BHI.
- c. Konsentrasi 12,5%     $V \cdot C (25\%) = V (2 \text{ mL}) \cdot C (12,5\%)$   
    $V = 1 \text{ mL}$   
Dipipet 1 mL dari larutan stok (25%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi no 4.
- d. Konsentrasi 6,25%     $V \cdot C (12,5\%) = V (2 \text{ mL}) \cdot C (6,25\%)$   
    $V = 1 \text{ mL}$   
Dipipet 1 mL dari larutan stok (12,5%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi no 5.
- e. Konsentrasi 3,13%     $V \cdot C (6,25\%) = V (2 \text{ mL}) \cdot C (3,13\%)$   
    $V = 1 \text{ mL}$   
Dipipet 1 mL dari larutan stok (6,25%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi no 6.
- f. Konsentrasi 1,57%     $V \cdot C (3,13\%) = V (2 \text{ mL}) \cdot C (1,57\%)$   
    $V = 1 \text{ mL}$   
Dipipet 1 mL dari larutan stok (3,13%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi no 7.
- g. Konsentrasi 0,79%     $V \cdot C (1,57\%) = V (2 \text{ mL}) \cdot C (0,79\%)$   
    $V = 1 \text{ mL}$   
Dipipet 1 mL dari larutan stok (1,57%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi no 8.
- h. Konsentrasi 0,40%     $V \cdot C (0,79\%) = V (2 \text{ mL}) \cdot C (0,40\%)$   
    $V = 1 \text{ mL}$   
Dipipet 1 mL dari larutan stok (0,79%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi no 9.
- i. Konsentrasi 0,20%     $V \cdot C (0,40\%) = V (2 \text{ mL}) \cdot C (0,20\%)$   
    $V = 1 \text{ mL}$   
Dipipet 0,5 mL dari larutan stok (0,40%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi no 10.

- j. Konsentrasi 0,10%      $V_1 \cdot C_1 (0,20\%) = V_2 \cdot C_2 (0,10\%)$   
     $V_1 = 1 \text{ mL}$   
Dipipet 1 mL dari larutan stok (0,20%) kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi no 11. Dipipet 1 mL dari larutan stok 0,10% kemudian di buang.
- k. Dipipet masing-masing 1 mL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922, kemudian dimasukkan ke dalam tabung no 3 sampai no 11.
- l. Tabung no 1 sebagai kontrol negatif berisi larutan stok 50% fraksi teraktif sebanyak 1 mL.
- m. Tabung no 12 sebagai kontrol positif berisi suspensi bakteri uji masing-masing sebanyak 1 mL.

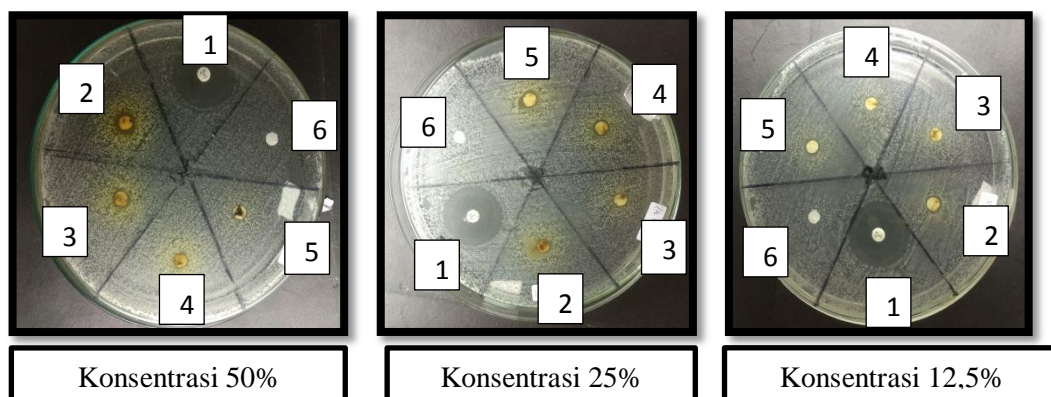


**Lampiran 13. Gambar hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun biduri secara difusi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.**

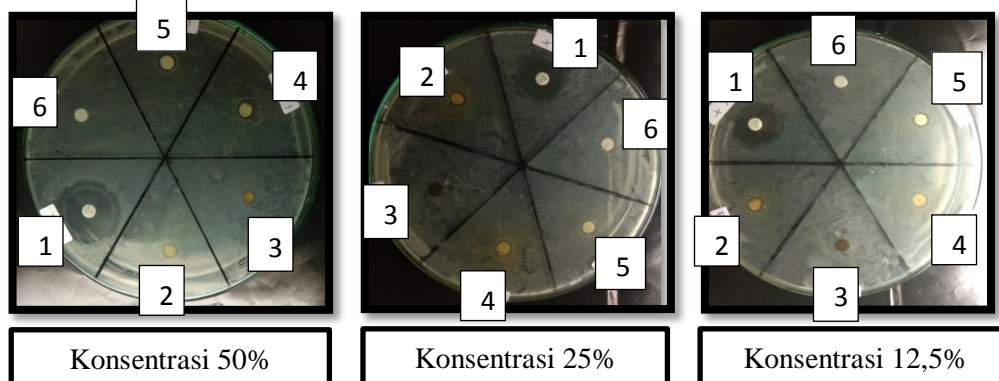
• Replikasi I



• Replikasi II



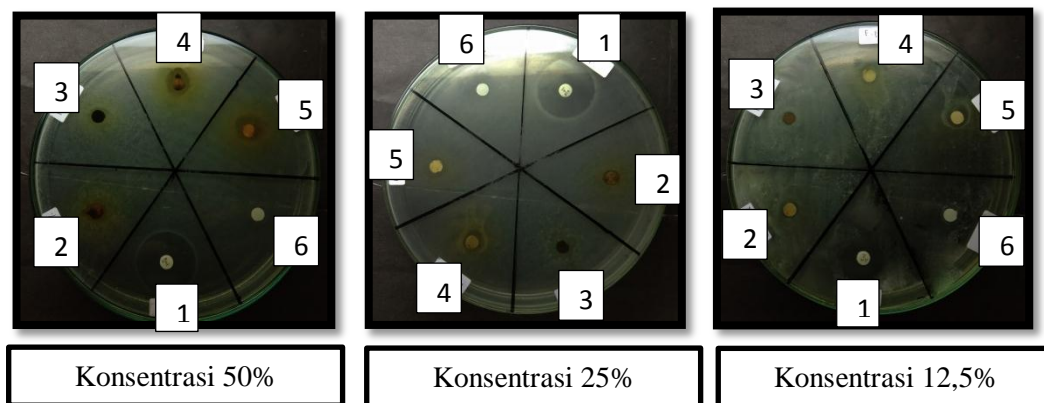
• Replikasi III



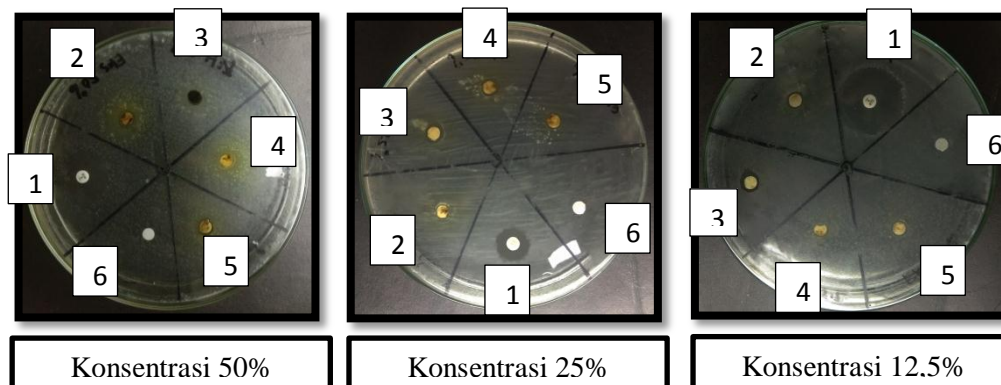
**Keterangan : 1. Kontrol positif 5. Fraksi air 4. Fraksi etil asetat 3. Fraksi n-heksana  
2. Ekstrak 6. Kontrol negatif.**

**Lampiran 14. Gambar hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun biduri secara difusi terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.**

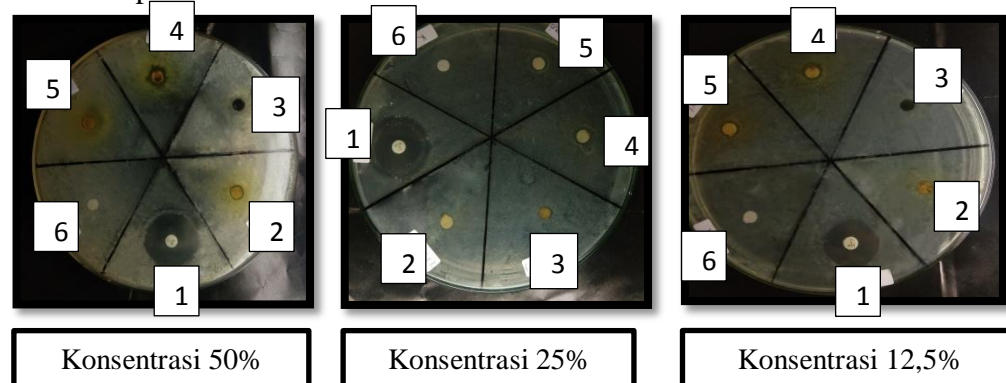
• Replikasi I



• Replikasi II

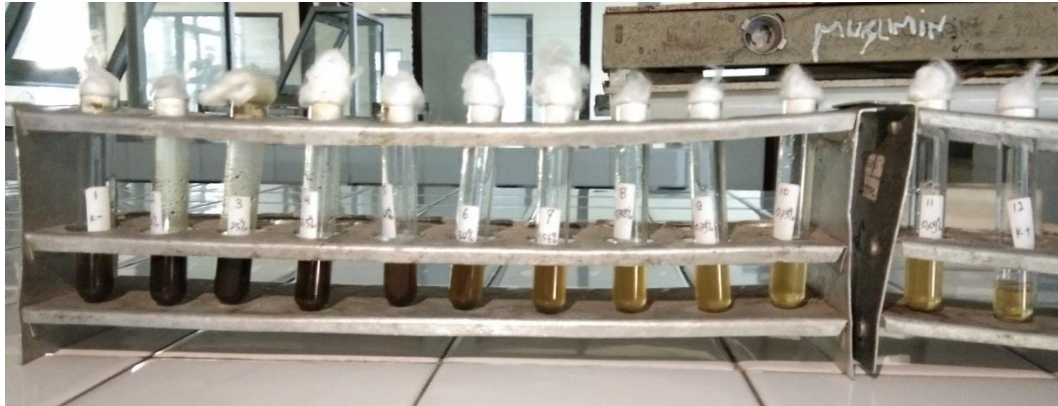


• Replikasi III

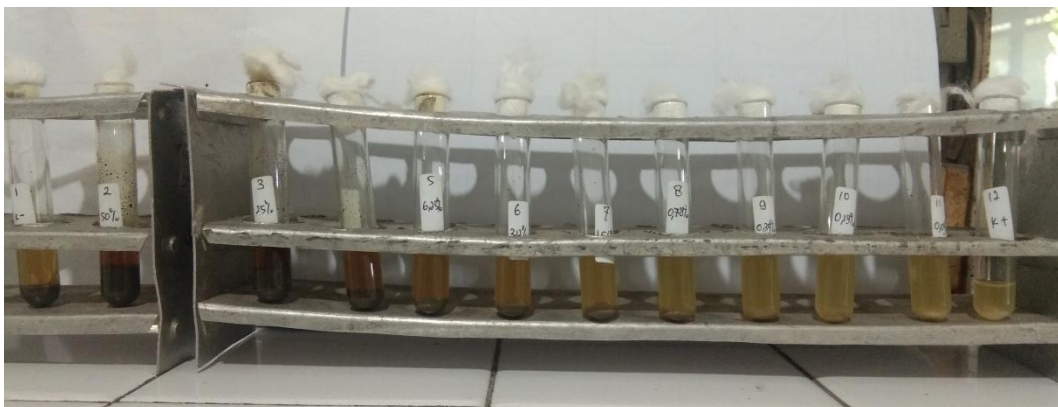


**Keterangan : 1. Kontrol positif 2. Ekstrak 3. Fraksi n-heksana 4. Fraksi etil asetat 5. Fraksi air 6. Kontrol negatif.**

Lampiran 15. Hasil uji dilusi dari fraksi teraktif daun biduri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode pengenceran.



Replikasi I



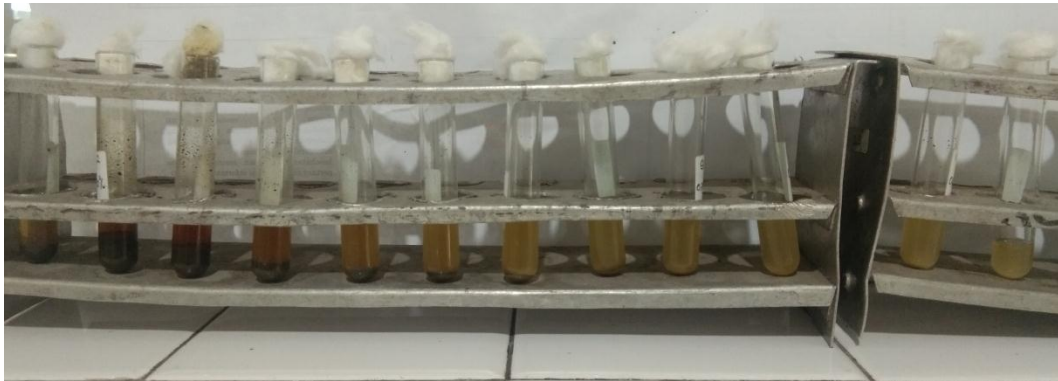
Replikasi II



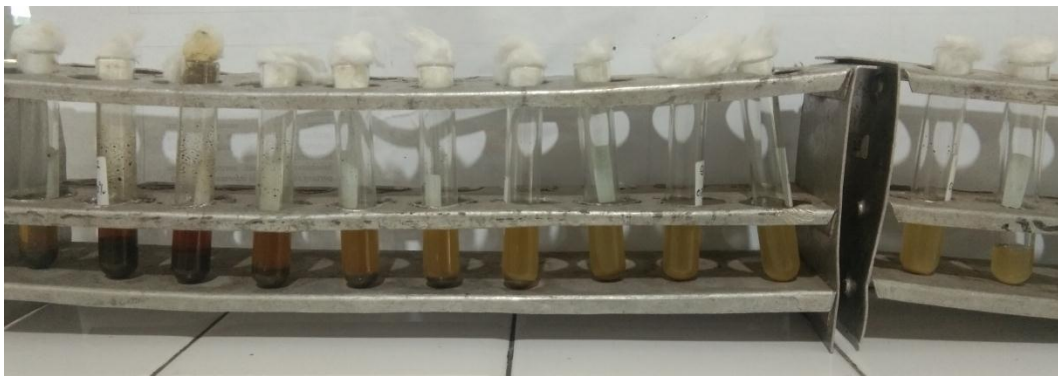
Replikasi III



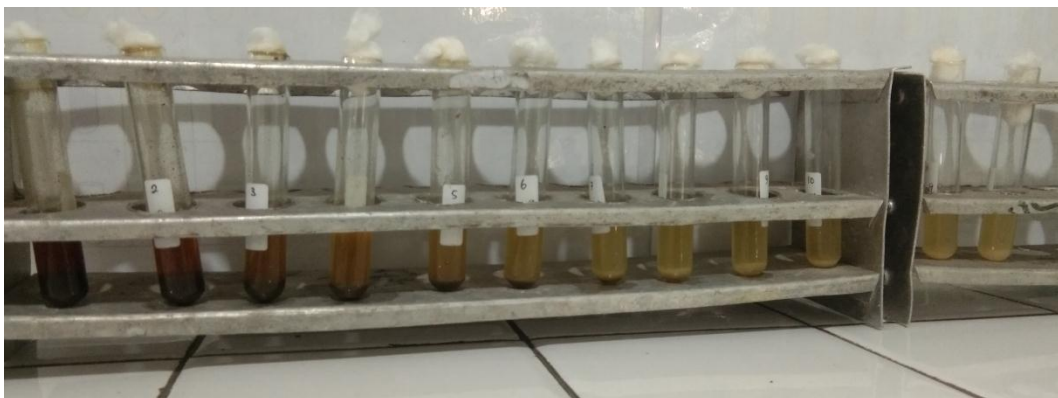
**Lampiran 16. Hasil uji dilusi dari fraksi teraktif daun biduri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan metode pengenceran.**



Replikasi I

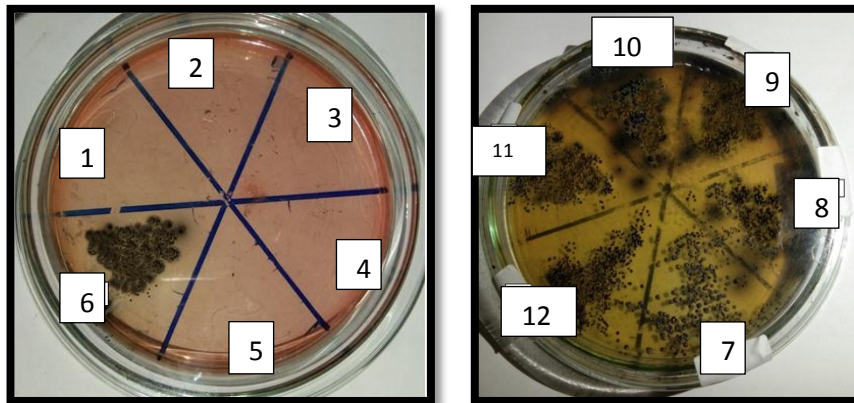


Replikasi II

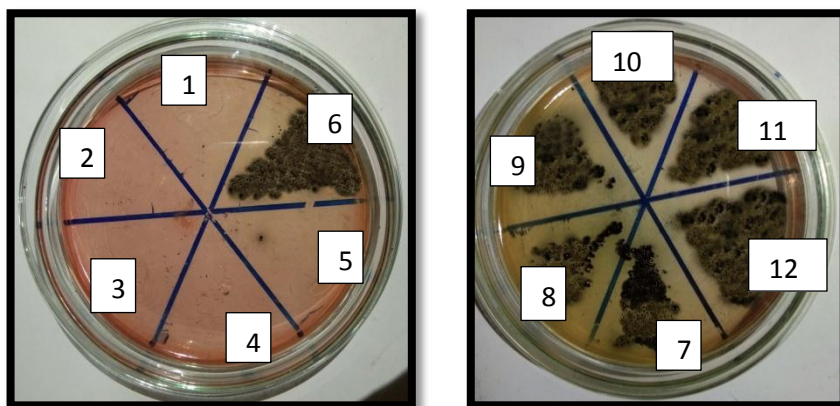


Replikasi III

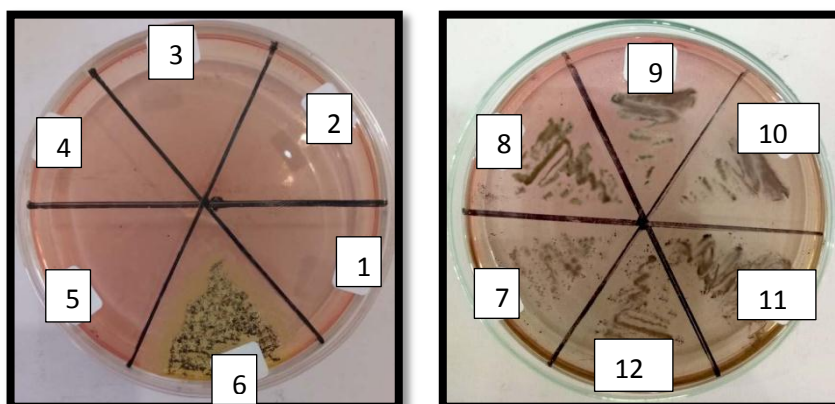
Lampiran 17. Hasil goresan uji dilusi dari fraksi teraktif daun biduri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



Replikasi I

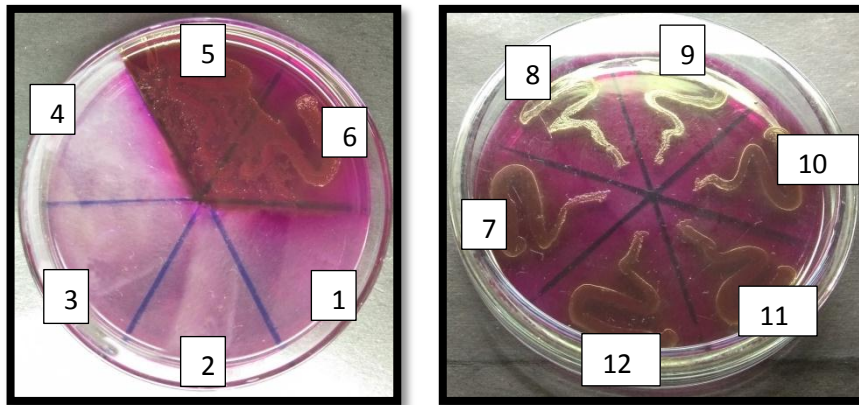


Replikasi II

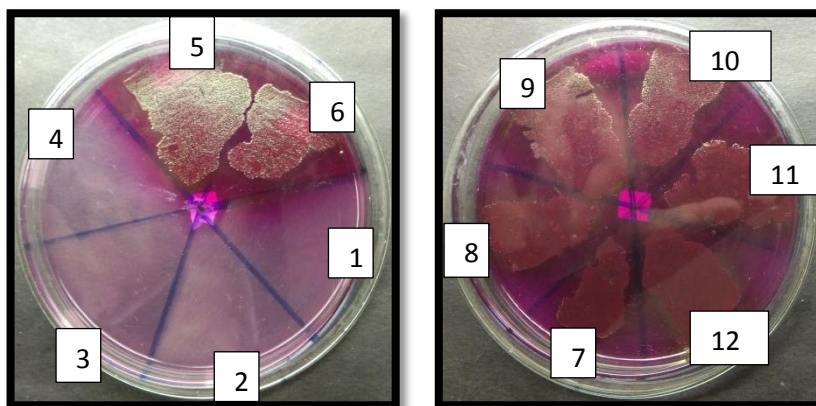


Replikasi III

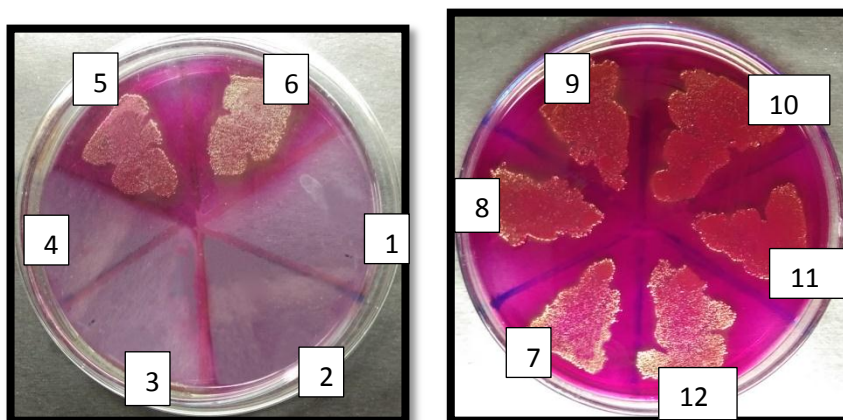
Lampiran 18. Hasil goresan uji dilusi dari fraksi teraktif daun biduri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922.



Replikasi I



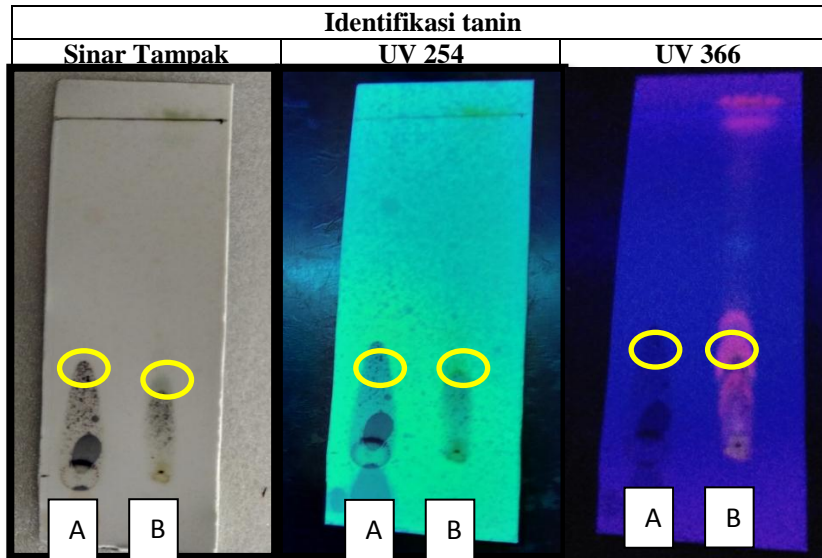
Replikasi II



Replikasi III

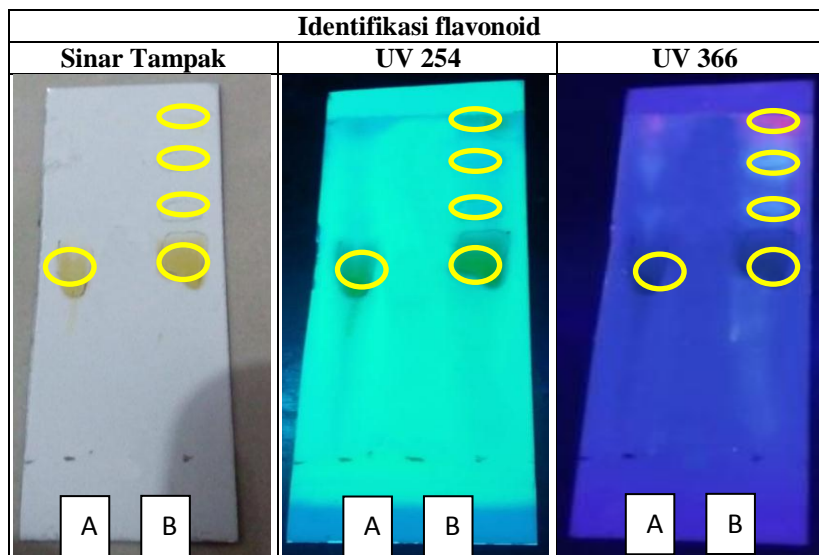


**Lampiran 19. Gambar hasil identifikasi KLT fraksi teraktif daun biduri dan perhitungan Rf.**



**Keterangan :** A (Baku pembandingan)

B (Sampel)



**Keterangan :** A (Baku pembandingan)

B (Sampel)



**Perhitungan Rf :**

$$R_f = \frac{\text{jarak bercak dari titik awal penotolan sampai batas elusi}}{\text{jarak tempuh fase gerak sampai elusi}}$$

## 1. Flavonoid

Baku pembandingan:

$$R_f = \frac{2,75}{5} = 0,55$$

Sampel :

$$R_{f1} = \frac{2,75}{5} = 0,55$$

$$R_{f2} = \frac{3,3}{5} = 0,66$$

$$R_{f3} = \frac{3,8}{5} = 0,76$$

$$R_{f4} = \frac{4,2}{5} = 0,84$$

## 2. Tanin

Baku pembandingan :

$$R_f = \frac{1,5}{5} = 0,3$$

Sampel :

$$R_f = \frac{1,5}{5} = 0,3$$

**Lampiran 20. Hasil analisa data uji *two way* ANOVA antara ekstrak, fraksi n-heksana, etil asetat dan air dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%, kontrol (+) dan kontrol negatif (-) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922.**

## Descriptives

**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
diameterhambatecoli	42	.00	27.30	10.9381	5.68232
diameterhambatsaureus	42	.00	28.00	11.9167	5.88661
Valid N (listwise)	42				

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		diameterhambatecoli	diameterhambatsaureus
N		42	42
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	10.9381	11.9167
	Std. Deviation	5.68232	5.88661
Most Extreme Differences	Absolute	.207	.194
	Positive	.183	.194
	Negative	-.207	-.192
Kolmogorov-Smirnov Z		1.342	1.255
Asymp. Sig. (2-tailed)		.055	.086

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>**

	F	df1	df2	Sig.
diameterhambatecoli	1.008	13	28	.470
diameterhambatsaureus	1.310	13	28	.265

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + sampel + konsentrasi + sampel \* konsentrasi

**Tests of Between-Subjects Effects**

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	diameterhambatecoli	1323.032 <sup>a</sup>	13	101.772	3532.572	.000
	diameterhambatsaureus	1419.598 <sup>b</sup>	13	109.200	2682.102	.000
Intercept	diameterhambatecoli	4498.805	1	4498.805	156156.875	.000
	diameterhambatsaureus	5204.068	1	5204.068	127819.218	.000
sampel	diameterhambatecoli	148.821	3	49.607	1721.894	.000
	diameterhambatsaureus	177.016	3	59.005	1449.257	.000
konsentrasi	diameterhambatecoli	22.811	2	11.405	395.886	.000
	diameterhambatsaureus	43.777	2	21.889	537.615	.000
sampel * konsentrasi	diameterhambatecoli	2.032	6	.339	11.753	.000
	diameterhambatsaureus	5.509	6	.918	22.553	.000
Error	diameterhambatecoli	.807	28	.029		
	diameterhambatsaureus	1.140	28	.041		
Total	diameterhambatecoli	6348.800	42			
	diameterhambatsaureus	7385.030	42			
Corrected Total	diameterhambatecoli	1323.839	41			
	diameterhambatsaureus	1420.738	41			

a. R Squared = ,999 (Adjusted R Squared = ,999)

b. R Squared = ,999 (Adjusted R Squared = ,999)

**3. sampel \* konsentrasi**

Dependent Variable	sampel	konsentrasi	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
diameterhambatecoli	ekstrak	12.5 %	8.200	.098	7.999	8.401
		25 %	9.167	.098	8.966	9.367
		50 %	10.233	.098	10.033	10.434
		5 µg	.	.	.	.
		5%	.	.	.	.
	fraksi n heksan	12.5 %	7.800	.098	7.599	8.001
		25 %	8.400	.098	8.199	8.601
		50 %	9.333	.098	9.133	9.534
		5 µg	.	.	.	.
		5%	.	.	.	.
	fraksi etil asetat	12.5 %	12.700	.098	12.499	12.901
		25 %	13.367	.098	13.166	13.567
50 %		15.333	.098	15.133	15.534	
5 µg		.	.	.	.	
5%		.	.	.	.	

	fraksi air	12.5 %	9.633	.098	9.433	9.834
		25 %	10.667	.098	10.466	10.867
		50 %	11.200	.098	10.999	11.401
		5 µg	a	.	.	.
		5%	a	.	.	.
	kontrol positif	12.5 %	a	.	.	.
		25 %	a	.	.	.
		50 %	a	.	.	.
		5 µg	27.100	.098	26.899	27.301
		5%	a	.	.	.
	kontrol negatif	12.5 %	a	.	.	.
		25 %	a	.	.	.
		50 %	a	.	.	.
		5 µg	a	.	.	.
		5%	-3.557E-15	.098	-.201	.201
diameterhambatsaureus	ekstrak	12.5 %	9.267	.116	9.028	9.505
		25 %	9.833	.116	9.595	10.072
		50 %	12.267	.116	12.028	12.505
		5 µg	a	.	.	.
		5%	a	.	.	.
	fraksi n heksan	12.5 %	8.433	.116	8.195	8.672
		25 %	9.067	.116	8.828	9.305
		50 %	10.300	.116	10.061	10.539
		5 µg	a	.	.	.
		5%	a	.	.	.
	fraksi etil asetat	12.5 %	13.800	.116	13.561	14.039
		25 %	14.300	.116	14.061	14.539
		50 %	17.467	.116	17.228	17.705
		5 µg	a	.	.	.
		5%	a	.	.	.
	fraksi air	12.5 %	10.567	.116	10.328	10.805
		25 %	11.300	.116	11.061	11.539
		50 %	12.367	.116	12.128	12.605
		5 µg	a	.	.	.
		5%	a	.	.	.
	kontrol positif	12.5 %	a	.	.	.
		25 %	a	.	.	.
		50 %	a	.	.	.
		5 µg	27.867	.116	27.628	28.105
		5%	a	.	.	.
kontrol negatif	12.5 %	a	.	.	.	
	25 %	a	.	.	.	

50 %	a	.	.	.
5 µg	a	.	.	.
5%	2.328E-14	.116	-.239	.239

a. This level combination of factors is not observed, thus the corresponding population marginal mean is not estimable.

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
diameterhambatecoli	ekstrak	fraksi n heksan	.6889	.08001	.000	.4444	.9334	
		fraksi etil asetat	-4.6000	.08001	.000	-4.8445	-4.3555	
		fraksi air	-1.3000	.08001	.000	-1.5445	-1.0555	
		kontrol positif	-17.9000	.11316	.000	-18.2458	-17.5542	
		kontrol negatif	9.2000	.11316	.000	8.8542	9.5458	
	fraksi n heksan	ekstrak	fraksi n heksan	-.6889	.08001	.000	-.9334	-.4444
		fraksi etil asetat	fraksi n heksan	-5.2889	.08001	.000	-5.5334	-5.0444
		fraksi air	fraksi n heksan	-1.9889	.08001	.000	-2.2334	-1.7444
		kontrol positif	fraksi n heksan	-18.5889	.11316	.000	-18.9347	-18.2431
		kontrol negatif	fraksi n heksan	8.5111	.11316	.000	8.1653	8.8569
	fraksi etil asetat	ekstrak	fraksi n heksan	4.6000	.08001	.000	4.3555	4.8445
		fraksi n heksan	fraksi n heksan	5.2889	.08001	.000	5.0444	5.5334
		fraksi air	fraksi n heksan	3.3000	.08001	.000	3.0555	3.5445
		kontrol positif	fraksi n heksan	-13.3000	.11316	.000	-13.6458	-12.9542
		kontrol negatif	fraksi n heksan	13.8000	.11316	.000	13.4542	14.1458
	fraksi air	ekstrak	fraksi n heksan	1.3000	.08001	.000	1.0555	1.5445
		fraksi n heksan	fraksi n heksan	1.9889	.08001	.000	1.7444	2.2334
		fraksi etil asetat	fraksi n heksan	-3.3000	.08001	.000	-3.5445	-3.0555
		kontrol positif	fraksi n heksan	-16.6000	.11316	.000	-16.9458	-16.2542
		kontrol negatif	fraksi n heksan	10.5000	.11316	.000	10.1542	10.8458

kontrol positif	ekstrak	17.9000	.11316	.000	17.5542	18.2458
	fraksi n heksan	18.5889	.11316	.000	18.2431	18.9347
	fraksi etil asetat	13.3000	.11316	.000	12.9542	13.6458
	fraksi air	16.6000	.11316	.000	16.2542	16.9458
	kontrol negatif	27.1000	.13859	.000	26.6765	27.5235
kontrol negatif	ekstrak	-9.2000	.11316	.000	-9.5458	-8.8542
	fraksi n heksan	-8.5111	.11316	.000	-8.8569	-8.1653
	fraksi etil asetat	-13.8000	.11316	.000	-14.1458	-13.4542
	fraksi air	-10.5000	.11316	.000	-10.8458	-10.1542
	kontrol positif	-27.1000	.13859	.000	-27.5235	-26.6765
diameterhambatsaureus ekstrak	fraksi n heksan	1.1889	.09512	.000	.8982	1.4796
	fraksi etil asetat	-4.7333	.09512	.000	-5.0240	-4.4427
	fraksi air	-.9556	.09512	.000	-1.2462	-.6649
	kontrol positif	-17.4111	.13452	.000	-17.8222	-17.0000
	kontrol negatif	10.4556	.13452	.000	10.0445	10.8666
fraksi n heksan	ekstrak	-1.1889	.09512	.000	-1.4796	-.8982
	fraksi etil asetat	-5.9222	.09512	.000	-6.2129	-5.6316
	fraksi air	-2.1444	.09512	.000	-2.4351	-1.8538
	kontrol positif	-18.6000	.13452	.000	-19.0111	-18.1889
	kontrol negatif	9.2667	.13452	.000	8.8556	9.6777
fraksi etil asetat	ekstrak	4.7333	.09512	.000	4.4427	5.0240
	fraksi n heksan	5.9222	.09512	.000	5.6316	6.2129
	fraksi air	3.7778	.09512	.000	3.4871	4.0684
	kontrol positif	-12.6778	.13452	.000	-13.0888	-12.2667
	kontrol negatif	15.1889	.13452	.000	14.7778	15.6000
fraksi air	ekstrak	.9556	.09512	.000	.6649	1.2462
	fraksi n heksan	2.1444	.09512	.000	1.8538	2.4351
	fraksi etil asetat	-3.7778	.09512	.000	-4.0684	-3.4871
	kontrol positif	-16.4556	.13452	.000	-16.8666	-16.0445

	kontrol negatif	11.4111*	.13452	.000	11.0000	11.8222
kontrol positif	ekstrak	17.4111*	.13452	.000	17.0000	17.8222
	fraksi n heksan	18.6000*	.13452	.000	18.1889	19.0111
	fraksi etil asetat	12.6778*	.13452	.000	12.2667	13.0888
	fraksi air	16.4556*	.13452	.000	16.0445	16.8666
	kontrol negatif	27.8667*	.16475	.000	27.3632	28.3701
kontrol negatif	ekstrak	-10.4556*	.13452	.000	-10.8666	-10.0445
	fraksi n heksan	-9.2667*	.13452	.000	-9.6777	-8.8556
	fraksi etil asetat	-15.1889*	.13452	.000	-15.6000	-14.7778
	fraksi air	-11.4111*	.13452	.000	-11.8222	-11.0000
	kontrol positif	-27.8667*	.16475	.000	-28.3701	-27.3632

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,041.

\*. The mean difference is significant at the ,05 level.

## Homogeneous Subsets

### Diameterhambatecoli

Tukey HSD<sup>a,,b,,c</sup>

sampel	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
kontrol negatif	3	.0000					
fraksi n heksan	9		8.5111				
ekstrak	9			9.2000			
fraksi air	9				10.5000		
fraksi etil asetat	9					13.8000	
kontrol positif	3						27.1000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,029.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,400.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = ,05.

**diameterhambatsaureus**

Tukey HSD<sup>a,b,c</sup>

sampel	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
kontrol negatif	3	.0000					
fraksi n heksan	9		9.2667				
ekstrak	9			10.4556			
fraksi air	9				11.4111		
fraksi etil asetat	9					15.1889	
kontrol positif	3						27.8667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,041.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,400.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = ,05.