

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. merupakan fraksi teraktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Ketiga, Konsentrasi hambat minimum (KHM) tidak dapat ditentukan dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi etil asetat dari ekstrak etanol bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 adalah 10%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas antibakteri bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. terhadap mikroorganisme lainnya

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada tahap isolasi senyawa aktif fraksi etil asetat dari ekstrak etanol bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada tahap formulasi agar dapat digunakan masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrahman D. 2008. *Biologi Kelompok Pertanian*. Jakarta:PT Grafindo Media Pratama
- Agoes A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta:Salemba Medika
- Aisyah PKA, Suriani I, Ilyas A. 2017. Pengaruh Kandungan Senyawa pada Ekstrak Daun Ketapang n-Heksan, Etil Asetat, Metanol dan Campuran Terhadap Nilai Efisiensi Dye Sensitized Solar Cell(DSSC). *Al-Kimia* 5(2):170-180
- Al-Alak S.K, Al-Oqaili RMS, Mohammed BB, Abd-Alkhalik N. 2015. Antibacterial Activity of *Hibiscus rosa-sinensis Extract* and Synergistic Effect with Amoxicillin against some Human Pathogens. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics* 3(1):020-027
- Alamsyah HK, Widowati I, Sabdono A. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumphut Laut *Sargassum cinereum* (J.G.Agarde) dari Perairan Pulau Panjang Jepara terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Marine Research* 3(2):69-78.
- Al-Ash'ary MN, Supriyanti FMT, Zackiyah. 2010. Penentuan Pelarut Terbaik dalam Mengekstraksi Senyawa Bioaktif dari Kulit Batang *Artocarpus heterophyllus*. *Jurnal Sains dan Teknologi* 1(2):150-158
- Arifianti L, Oktarina RD, Kusumawati I. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus Benth*. *E-Journal Planta Husada* 2(1)
- Arrasyid H, Wardatun S, Yulia IW. 2013. Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Perbandingan Penyari Daun Binahong (Anredera cordifolius (Ten.) Steenis) Terhadap Kadar Polifenol. *E-Journal Unpak*
- Brooks GF, Butel JS, Stephen AM. 2001. Jawetz, Melnick and Adelberg's. *Mikrobiologi Kedokteran*, Alih Bahasa oleh Mudihardi E, Kuntaman, Wasito EB, Mertanisih NM, Harsono S dan Alimsardjono L. Jakarta : Penerbit Salemba Medika
- Cheeke PR. 2000. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. Proceedings of the American Society of Animal Science, *American Society of Animal Science* 1-10
- Cowan MM. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *American Society for Microbiology* <http://www.asm.org>. Diakses 10 Oktober 2018

- Darsono PV, Mahdiyah D, Sari M. 2016. Gambaran karakteristik Ibu Hamil yang mengalami Infeksi Saluran Kemih (ISK) di wilayah kerja Puskesmas Pekauman Banjarmasin. *Dinamika Kesehatan* (1):162-170
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplicia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta:Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1987. *Analisis Obat Tradisional Jilid I*. Jakarta:Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak TumbuhanObat*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat & Makanan
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989.*Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Fathia M, Nursanty R, Saidi N. 2015. Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) terhadap bakteri Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Jurnal Biologi Edukasi Edisi 14 7(1):22-28*
- Harbone JB. 1987. *Metode Fitokimia:Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Kosasis P, Iwang S. Penerjemah; Sofia N, editor. Bandung:ITB. Terjemahan dari: Phytochemical Methods
- Heinrich M, Joanne B, Simon G, Elizabeth MW. 2005. *Farmakoterapi dan Fitoterapi*. Syarief ER, Cucu A, Ella E, Euis RF, penerjemah; Hadin AH, editor. Jakarta:EGC
- Iqbal M & Sulistyorini ESP. 2014. *Kembang Sepatu/Hibiscus (Hibiscus rosa-sinensis L.)*. Yogyakarta:Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC)
- Jawetz., et al. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran* Jawetz, Melnick, & Adelberg, Ed.23, Translation of Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology, 23th Ed. Alih bahasa oleh Hartanto H *et al*. Jakarta: EGC

- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25.* Editor Adisti Aditya Putri et al. Jakarta:EGC
- Kairupan CP, Fatimawali, Lolo WA. 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi* 3(2):93-98
- [Kemenkes]Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Farmakope Herbal Edisi I Suplemen III*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Kumari OS, Rao NB, Reddy VK. 2015. Phyto-Chemical Analysis and Antimicrobial Activity of *Hibiscus rosa-sinensis*. *World Journal Pharmacy and Pharmaceutical Science* 4(5):766-771
- Kusumawati C, Mufrod, Mutmainah. 2015. Karakteristik Fisik dan Penerimaan Rasa Sediaan Chewable Lozenges Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dengan Kombinasi Pemanis High Fructose Syrup dan Sukrosa. *Majalah Farmaseutik* 11(1):284-289
- Mak YW, Chuah LO, Ahmad R, Bhat R. 2013. Antioxidant and Antibacterial activities of hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) and Cassia (*Senna bicapsularis L.*) flower extracts. *Journal of King Saud University* 25:275-282
- Muhaimin AA, Siswanto HP, Tyasningsih P, Suryanie. 2013. Perbedaan Warna Koloni *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada Media Ekstrak Daging Sapi dan Sari Kacang Hijau yang Ditambah Sitrat dan Bromthymol Blue. *Veterinaria Medika* 6(1):9-14.
- Mycek & Mary J. 2001. *Farmakologi Edisi 2*. Alih bahasa awar Agoes. Jakarta:Widya Medika.
- Nugrahani R, Andayani Y, Hakim A. 2016. Skrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris L.*) dalam sediaan serbuk. 2016. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA* 2(1):97-103.
- Pratiwi S. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta:Gelora Aksara Pratama
- Putri AA, Rasyid R & Rahmatini. 2014. Perbedaan Sensitivitas Kuman *Pseudomonas Aeruginosa* Penyebab Infeksi Nosokomial Terhadap Beberapa Antibiotika Generik dan Paten. *Jurnal Kesehatan Andalas* 3(3):327-331
- Putri WS, Warditiani NK, Larasanty LPF. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*). [Skripsi]. Fakultas Farmasi:Universitas Udayana Bali

- Radji M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta:Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB. Terjemahan : The Organic Constituents of Higher Plants
- Ruban P & Gajalakshmi K. 2012. In vitro antibacterial activity of *Hibiscus rosa-sinensis* flower extract against human pathogens. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*, 399-403
- Sari SA. 2010. Efek Antifungi Ekstrak Etanol Daun Kelapa Sawit (*Elaeis quineensis Jacq*) Dan Fraksi-Fraksinya Terhadap *Pseudomonas aeruginosae* Serta Profil KLTnya [Skripsi]. Surakarta:Fakultas Farmasi,Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Sari YD, Sitti ND, Laela HN. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Secara In Vitro terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 Serta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Kesmas* ISSN 1978-0575:218-238
- Sarma. 2016. Identifikasi senyawa antimikroba ekstrak etanol bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC25923 dengan metode KLT Bioautografi. *Jurnal Analisis Laboratorium Medik* 1(1):12-18
- Scalber A. 1991. *Antimicrobial Properties of Tannins*. Phytochemistry, 3875-3883
- Setyawaty R, Ismunandar A, Ngaeni NQ. 2014. Identifikasi Senyawa Antrakuinon Pada Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L*) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Prosiding Seminar Nasional Hasil - Hasil Penelitian dan Pengabdian LPPM UMP 2014*
- Setyowati WA, Sri RDA, Ashadi, Mulyani B, Cici PR. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstak Metanol Kulit Kayu Durian (*Durio zibenthinus Murr.*) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan VI*. ISBN:9779373174-0:271-280
- Sirait M. 2007. *Penuntun fitokimia dalam farmasi*. Bandung: Penerbit ITB
- Siswandono & Soekardjo B. 2008. *Kimia Medisinal* 2. Surabaya:Airlangga University Press

- Slama *et al.* 2011. Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit and otolaryngology department of a tunisian hospital. *African Journal of Microbiology Research* 5(19)
- Singh S, Gupta A, Kumari A & Verma R. 2019. Antimicrobial and Antioxidant Potential of Hibiscus rosa-sinensis L. In Western Himalaya. *Biological Forum-An International Journal* 11(1):35-40
- Sofyan M, Alvarino, Erkadius. 2014. Perbandingan Levofloksasin dengan Ciprofloksasin Peroral dalam Menurunkan Leukositoria Sebagai Profilaksis ISK pada Katerisasi di RSUP.dr.M.Djamil Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas* 3(1):68-72
- Sohby EA, Elaleem KGA, Elaleem HGA. 2017. Potential Antibacterial Activity of Hibiscus rosa sinensis Linn Flower Extracts. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6(4):1066-1072
- Harti SA. 2016. *Mikrobiologi Kesehatan*. Yogyakarta:Andi Offset
- Sudarmadji S, Haryono, Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta:Liberty
- Sukandar E. 2007. *Infeksi saluran kemih pada pasien dewasa dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I Edisi IV*. Jakarta:Balai Penerbitan FKUI
- Sumolang SACh, Porotu'o J, Soeliongan S. 2013. Pola Bakteri pada Penderita Infeksi Saluran Kemih di BLU RSUP Prof. dr R.D Kandou Manado. Manado:*Jurnal e-Biomedik(eBM)* 1(1):597-601
- Syafada, Fenty. 2013. Pola Kuman dan Sensitivitas antimikroba pada Saluran Kemih. Yogyakarta:*Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas* 10(1):9-13
- Tiwari P, Bimlesh K, Mandeep K, Gurpreet K, Harleen K. 2011. Skrining Phytochemical screening and Extraction: A Review. *International Journal of Innovative and Applied Research* 3:9-14
- Trevor AJ, Katzung BG, Kruidering-Hall M : Katzung&Trevor's *Pharmacology:Examination & Board Review*, 11 th Ed (www.accesspharmacy.com) tanggal akses : 19 Oktober 2018
- Uddin B *et al.* 2010. Antibacterial activity of the ethanol extracts of Hibiscus rosa-sinensis leaves and flowers against clinical isolates of bacteria. *Bangladesh J. Life Sci.* 22(2):65-73

L
A
M
P
■
R
A
N

Lampiran 1. Hasil determinasi bunga *Hibiscus rosa-sinensis L.*

 UPT - LABORATORIUM
<p>No : 309/DET/UPT-LAB/12/I/2019 Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan</p> <p>Menerangkan bahwa :</p> <p>Nama : Rosita Puspa N NIM : 21154480 A Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi</p> <p>Telah mendeterminasikan tumbuhan : Kembang Sepatu (<i>Hibiscus rosa-sinensis L.</i>) Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA 1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14b – 15b. golongan 8.109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163b – 167b – 169b – 171a – 172b – 173b – 174b – 176a. familia 75, Malvaceae 1a – 2b – 3b. <i>Hibiscus</i> 1b – 2a – 3a. <i>Hibiscus rosa-sinensis L.</i></p> <p>Deskripsi :</p> <p>Habitus : Perdu, tinggi 1 – 4 m. Batang : Percabangan monopodial, berkayu, silindris. Daun : Tunggal, bulat telur sampai jorong, ujung meruncing, tepi bergerigi kasar, pangkal membulat sampai tumpul, pangkal bertulang daun menjari, panjang 7,8 – 9,5 cm, lebar 4,5 – 6,9 cm. Daun penumpu bentuk garis. Bunga : Tunggal, di ketiak, tidak atau sedikit menggantung. Daun kelopak tambahan 6 – 9, lanset garis, lebih pendek dari kelopak. Kelopak bentuk tabung, sampai setengahnya bercangap 5. Daun mahkota bulat telur terbalik, bentuk baji, panjang 6,5 – 7 cm, merah. Tabung benangsari lebih panjang dari mahkota. Bakal buah menumpung, beruang 5. Tangkai bunga beruas. Akar : Sistem akar tunggang.</p> <p>Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): <i>FLORA</i>, PT PradnyaParamita. Jl. KebonSirih 46.Jakarta Pusat, 1978.</p> <p style="text-align: right;">Surakarta, 12 Januari 2019</p> <div style="text-align: center;"> Drs. Kartina Wirjosoendjojo, SU </div> <p>Jl. Let.Jan Sutomo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275 Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.co.id</p>

Lampiran 2. Hasil pengeringan dan penyerbukan bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L.



Bunga segar *Hibiscus rosa-sinensis* L.



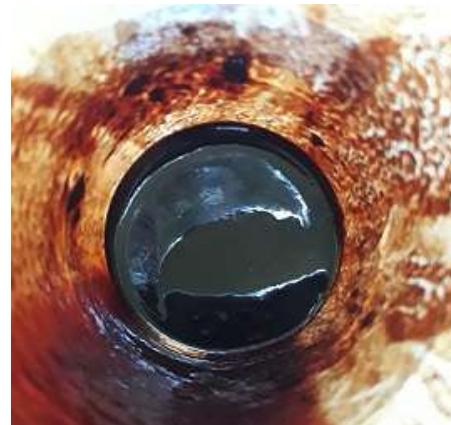
Hasil pengeringan bunga



Hasil penyerbukan bunga

Lampiran 3. Hasil ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L.

a. Ekstrak etanol bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L.



Ekstrak etanol

b. Fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi sir



Fraksi n-heksana



Fraksi etil asetat



Fraksi air

Lampiran 4. Hasil pengujian kadar air serbuk dan ekstrak bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L.

a. Kadar air serbuk



Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

b. Kadar air ekstrak



Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

Lampiran 5. Hasil pengujian susut pengeringan serbuk dan ekstrak serta pengujian berat jenis ekstrak dari bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L.

a. Susut Pengeringan

➤ Serbuk



Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

➤ Ekstrak



Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

b. Berat jenis ekstrak



Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

Lampiran 6. Hasil identifikasi serbuk dan ekstrak bunga *Hibiscus rosa-sinensis L.*

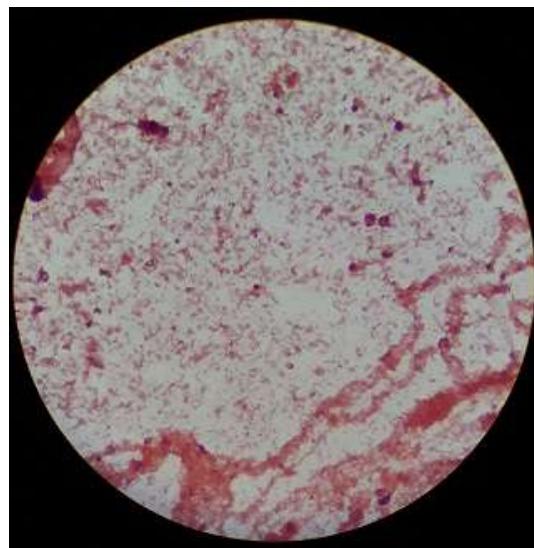
Pengujian	Hasil		Keterangan
	Serbuk	Ekstrak	
Flavonoid			Serbuk : Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alkohol
			Ekstrak : Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alkohol
Tanin			Serbuk : Terbentuk warna hijau kehitaman
			Ekstrak : Terbentuk warna hijau kehitaman
Steroid/ Triterpen			Serbuk : Terbentuk cincin coklat kemerahan
			Ekstrak : Terbentuk cincin coklat kemerahan
Saponin			Serbuk : Terbentuk buih stabil setelah ditambahkan HCl 2N
			Ekstrak : Terbentuk buih stabil setelah ditambahkan HCl 2N
Alkaloid			Serbuk : Terbentuk endapan putih (Mayer), terbentuk endapan merah (Dragendorf)
			Ekstrak : Terbentuk endapan putih (Mayer), terbentuk endapan merah (Dragendorf)

**Lampiran 7. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
Secara makroskopis**

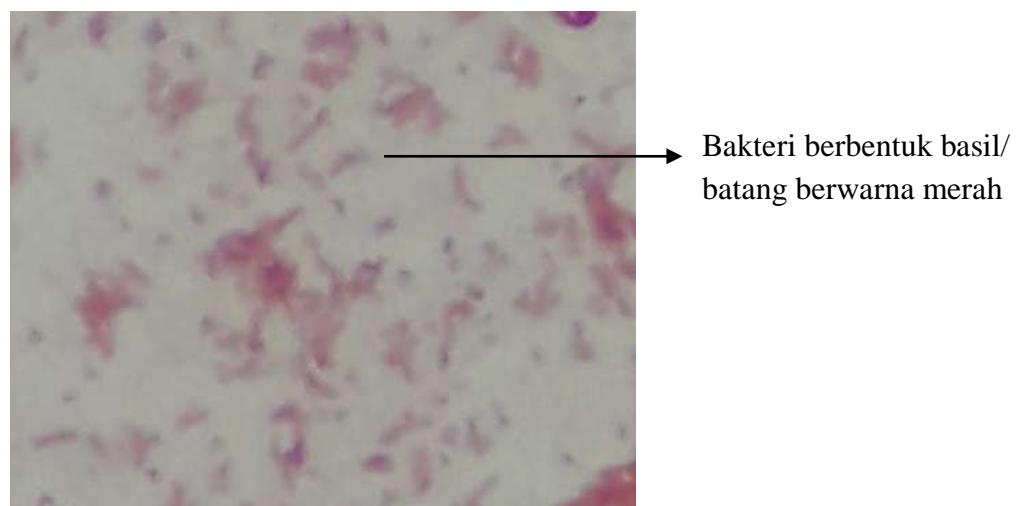


Hasil penggoresan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada media
Pseudomonas Selektif Agar (PSA)

**Lampiran 8. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
Secara mikroskopis**



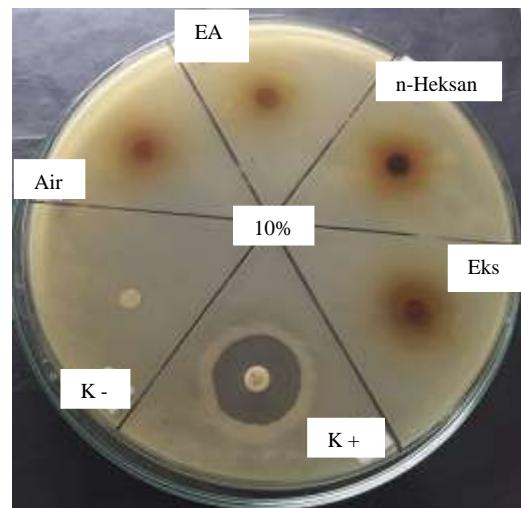
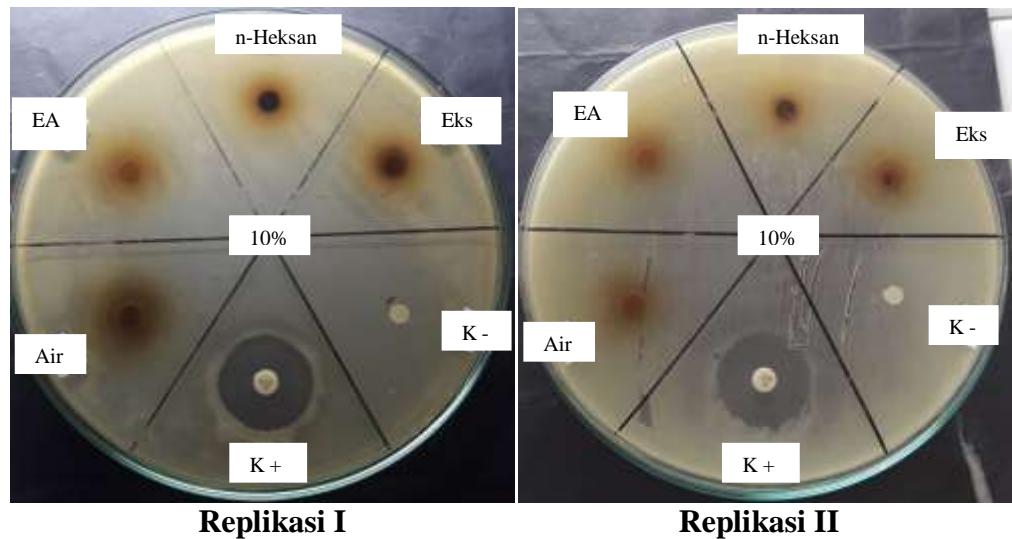
Hasil pewarnaan Gram bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



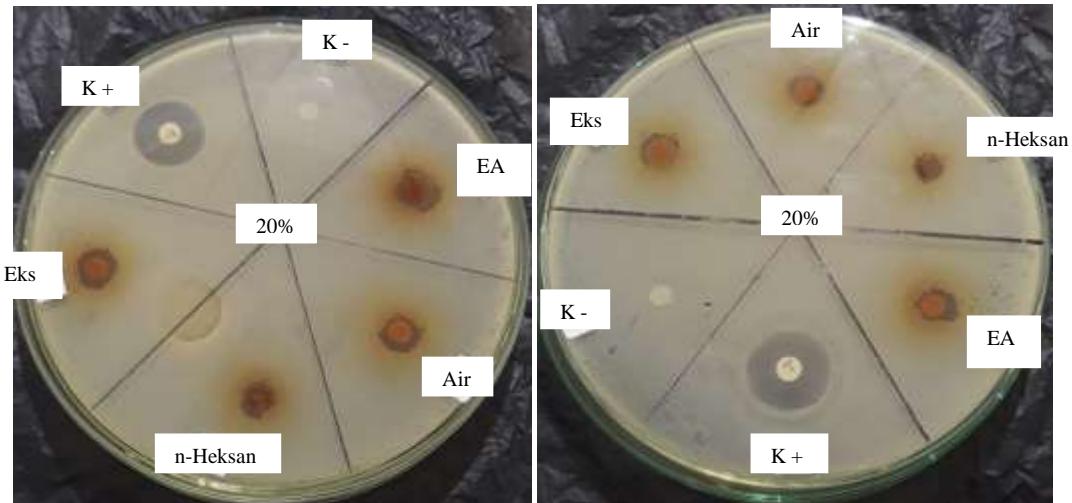
Bakteri berbentuk basil/
batang berwarna merah

Lampiran 9. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara biokimia

Media	Hasil	Keterangan	Interpretasi Hasil
SIM		Tidak terbentuk warna hitam Tidak terbentuk cincin merah Terlihat adanya pertumbuhan koloni menyebar diseluruh media	- - +
KIA		Terbentuk warna merah pada lereng dan dasar	K/K S-
LIA		Terbentuk warna ungu pada lereng dan dasar	K/K S-
Citrat		Terbentuk warna biru	+

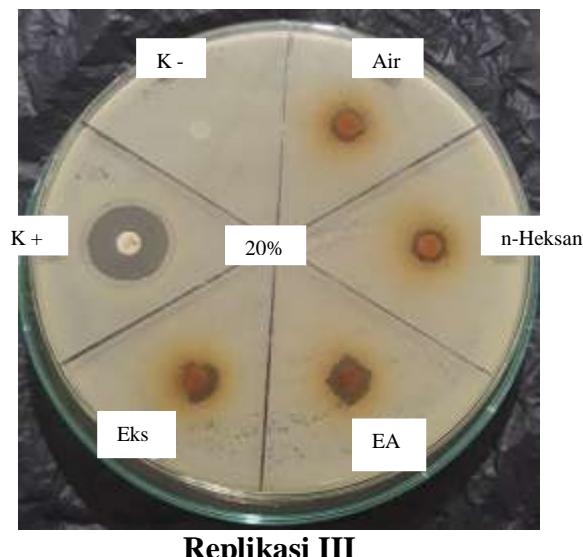
Lampiran 10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara difusi➤ **Konsentrasi 10%**

➤ **Konsentrasi 20%**



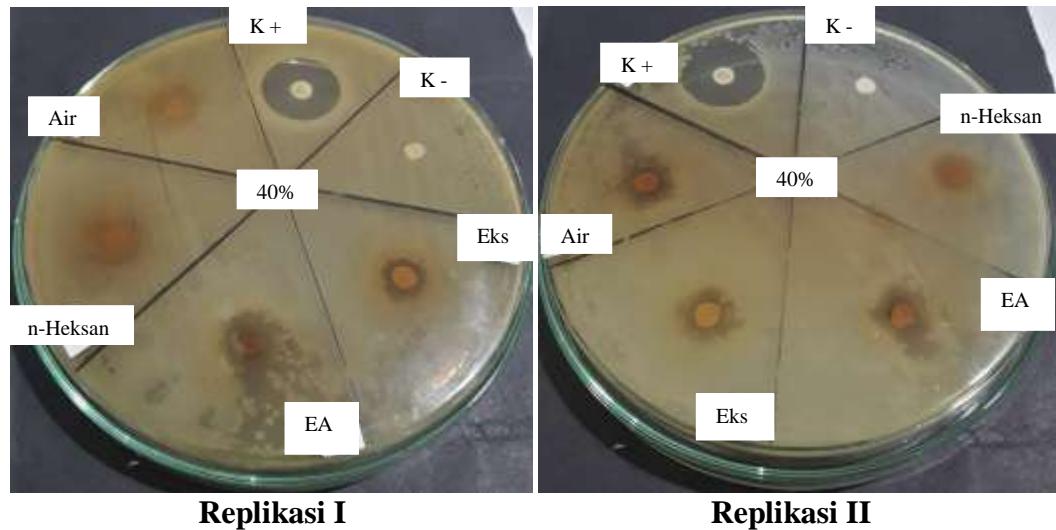
Replikasi I

Replikasi II



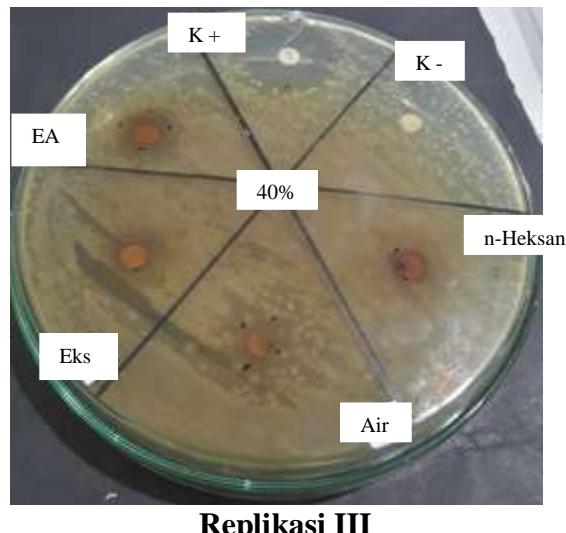
Replikasi III

➤ Konsentrasi 40%



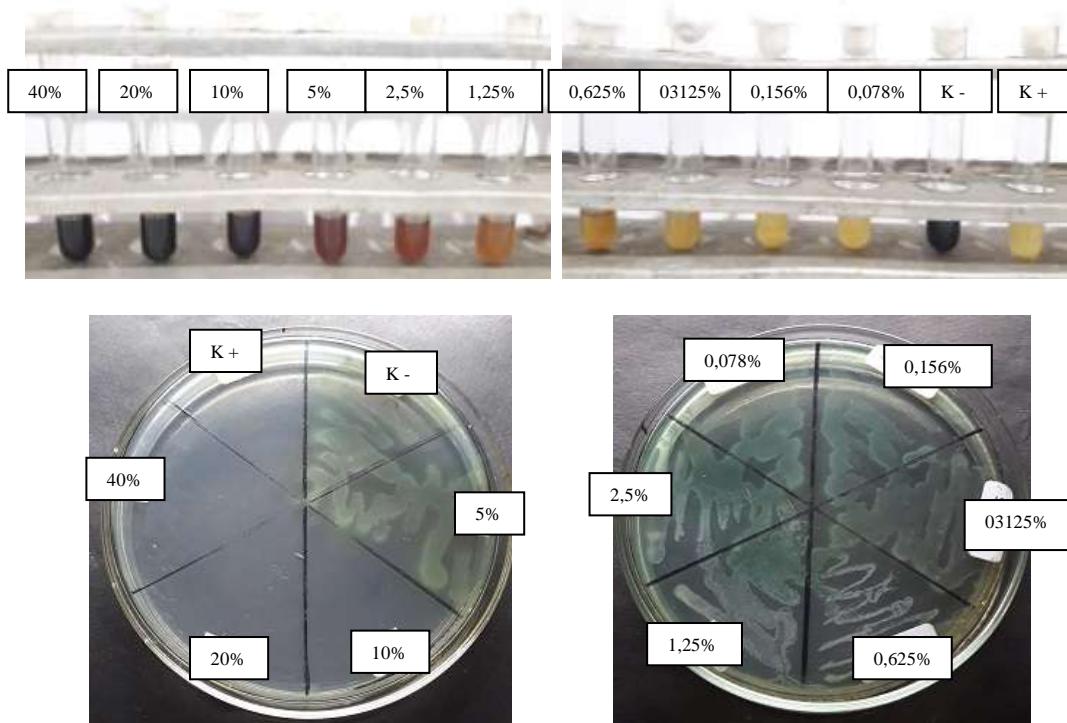
Replikasi I

Replikasi II

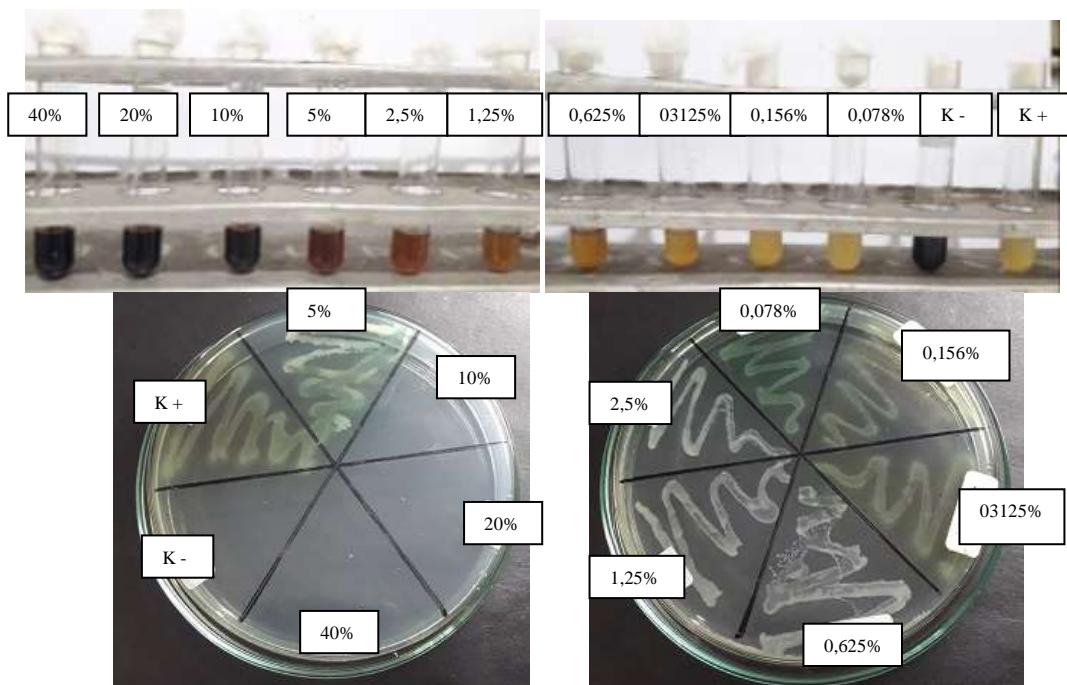


Replikasi III

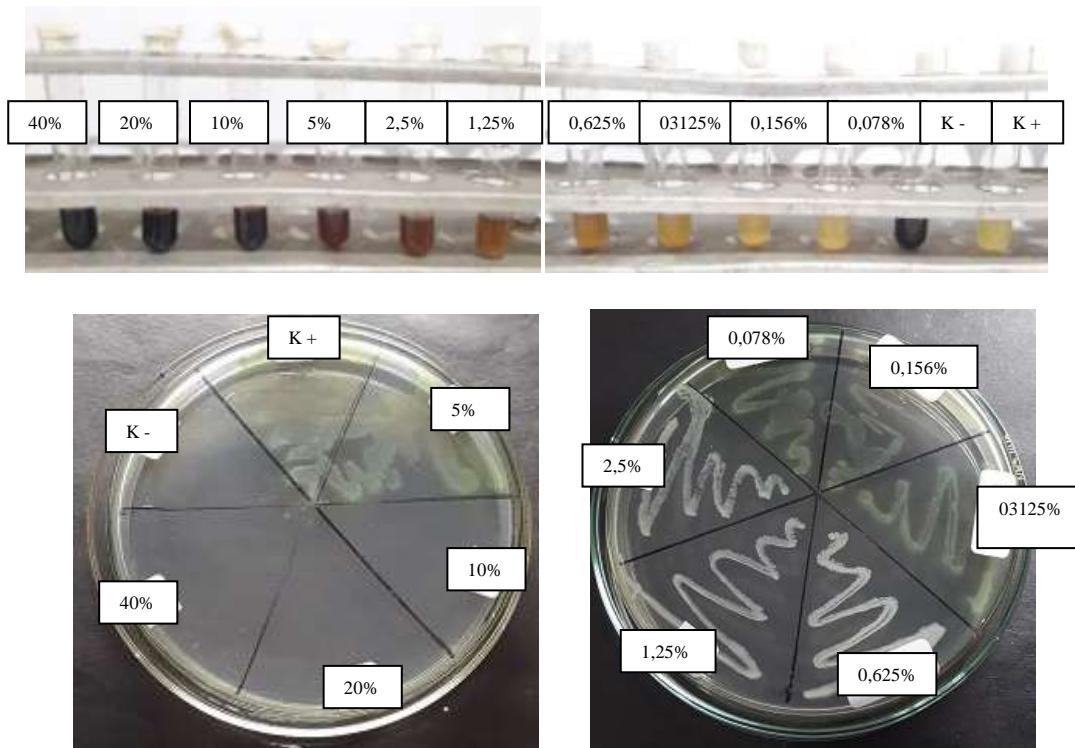
Lampiran 11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi



Replikasi I



Replikasi II



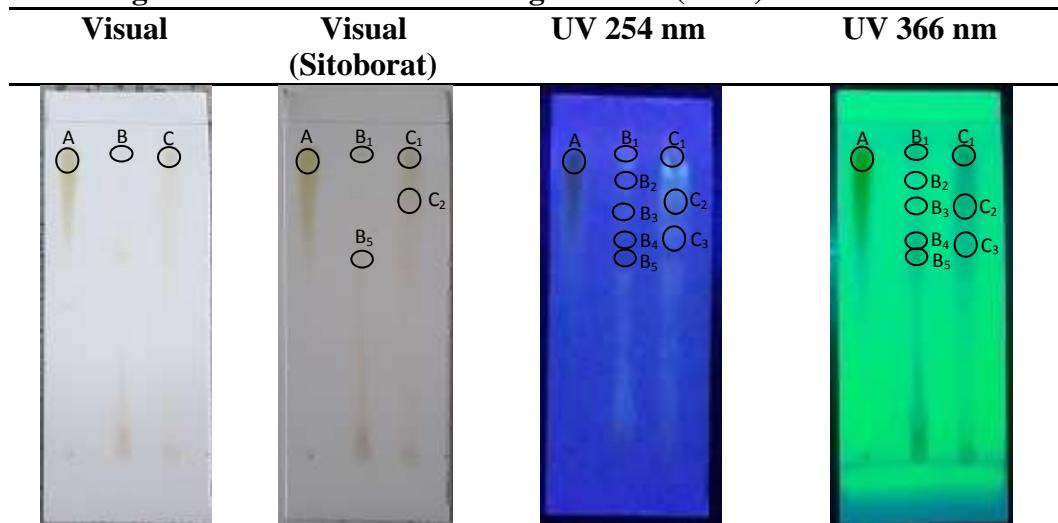
Replikasi III

Lampiran 12. Identifikasi kandungan kimia secara KLT

a. Flavonoid

Fase diam Silika Gel GF 258

Fase gerak n-butanol-asam asetat glasial-air (4:1:5)

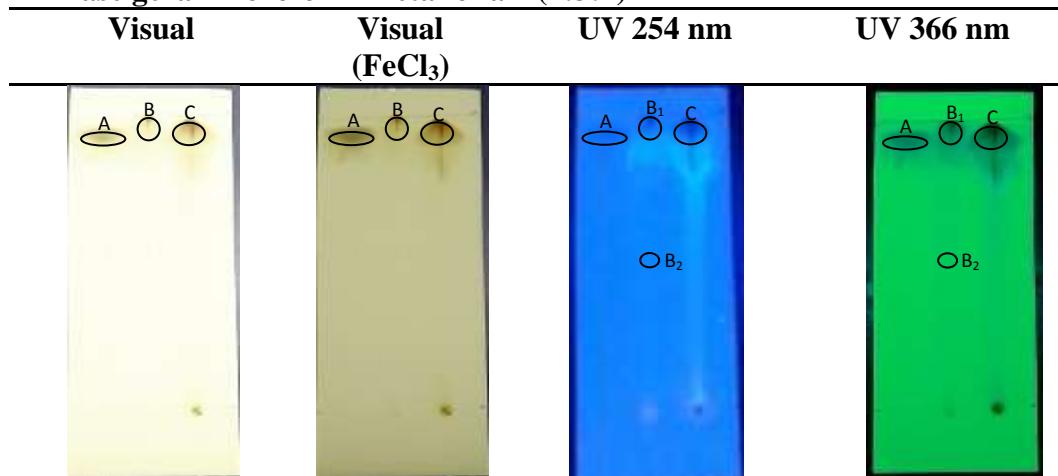


Sampel	Kode	Perhitungan (cm)	Nilai Rf
Baku	A	4,7 / 5,1	0,92
Ekstrak	B ₁	4,7 / 5,1	0,92
	B ₂	4,0 / 5,1	0,79
	B ₃	3,6 / 5,1	0,71
	B ₄	3,1 / 5,1	0,61
	B ₅	2,9 / 5,1	0,57
Fraksi	C ₁	4,7 / 5,1	0,92
	C ₂	3,7 / 5,1	0,73
	C ₃	3,1 / 5,1	0,61

b. Tanin

Fase diam Silika Gel GF 254

Fase gerak kloroform-metanol-air (7:3:4)

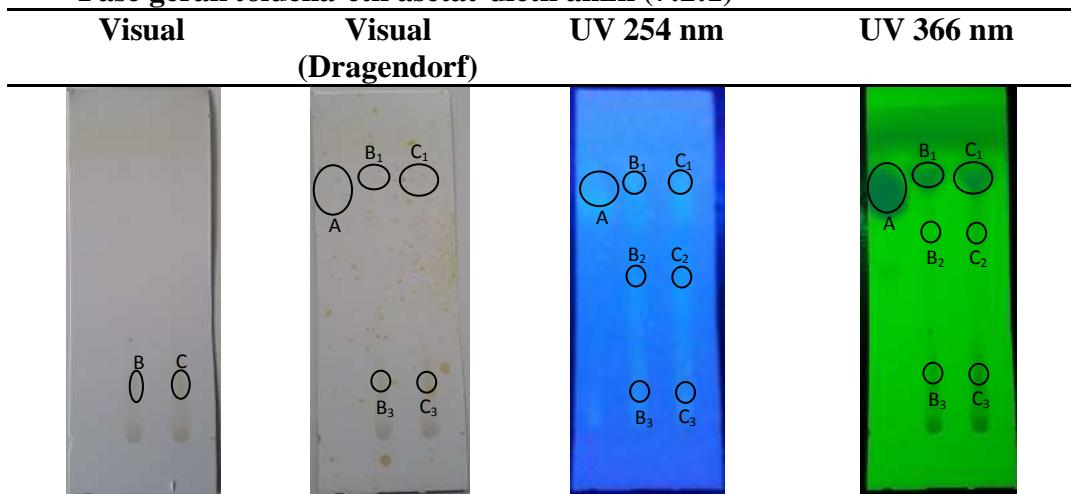


Sampel	Kode	Perhitungan (cm)	Nilai Rf
Baku	A	4,8 / 5,0	0,96
Ekstrak	B ₁	4,9 / 5,0	0,98
	B ₂	3,2 / 5,0	0,64
Fraksi	C	4,8 / 5,0	0,96

c. Alkaloid

Fase diam Silika Gel GF 254

Fase gerak toluena-etil asetat-dietil amin (7:2:1)



Sampel	Kode	Perhitungan (cm)	Nilai Rf
Baku	A	4,6 / 5,6	0,82
Ekstrak	B ₁	4,6 / 5,6	0,82
	B ₂	3,8 / 5,6	0,68
	B ₃	1,2 / 5,6	0,21
Fraksi	C ₁	4,6 / 5,6	0,82
	C ₂	3,7 / 5,6	0,66
	C ₃	1,1 / 5,6	0,20

Lampiran 13. Perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah, rendemen ekstrak dan fraksi bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L

a. Persentase bobot kering terhadap bobot basah

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (%b/b)
8000	1437	17,96

Perhitungan :

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

$$\% \text{ bobot kering} = \frac{1437 \text{ gram}}{8000 \text{ gram}} \times 100\% = 17,9625 \%$$

Maka hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah adalah 17,96 %

b. Rendemen ekstrak

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (% b/b)
500	155,02	31,00

Perhitungan :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen} = \frac{155,02 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\% = 31,004 \%$$

Maka hasil persentase rendemen ekstrak adalah 31,00 %

c. Rendemen fraksi

Fraksi n-heksan

No	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)
1	30	0,87	2,90
2	30	0,97	3,23
3	30	0,81	2,70
Rata-rata			2,94±0,27

Perhitungan

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

$$1. \% \text{ rendemen} = \frac{0,87 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 2,90 \%$$

$$2. \% \text{ rendemen} = \frac{0,97 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 3,23 \%$$

$$3. \quad \% \text{ rendemen} = \frac{0,81 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 2,70 \%$$

Maka rata-rata hasil prosentase fraksi n-heksan dari ekstrak bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. adalah 2,94 %

Fraksi etil asetat

No	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)
1	30	1,37	4,57
2	30	1,47	4,90
3	30	1,40	4,67
Rata-rata		$4,71 \pm 0,17$	

Perhitungan :

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

$$1. \quad \% \text{ rendemen} = \frac{1,37 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 4,57 \%$$

$$2. \quad \% \text{ rendemen} = \frac{1,47 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 4,90 \%$$

$$3. \quad \% \text{ rendemen} = \frac{1,40 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 4,67 \%$$

Maka rata-rata hasil prosentase fraksi etil asetat dari ekstrak bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. adalah 4,71 %

Fraksi air

No	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)
1	30	17,44	58,13
2	30	17,00	56,67
3	30	18,00	60,00
Rata-rata		$58,27 \pm 1,67$	

Perhitungan :

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

$$1. \quad \% \text{ rendemen} = \frac{17,44 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 58,13 \%$$

$$2. \quad \% \text{ rendemen} = \frac{17,00 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 56,67 \%$$

$$3. \quad \% \text{ rendemen} = \frac{18,00 \text{ gram}}{30 \text{ gram}} \times 100\% = 60,00 \%$$

Maka rata-rata hasil prosentase fraksi air dari ekstrak bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. adalah 58,27 %

**Lampiran 14. Perhitungan kadar air serbuk dan ekstrak etanol bunga
*Hibiscus rosa-sinensis L.***

Serbuk

No	Bobot awal (g)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,6	8,00
2	20	1,7	8,50
3	20	1,4	7,00
Rata-rata			7,83±0,76

Perhitungan :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{volume air (ml)}}{\text{Bobot awal (g)}} \times 100\%$$

1. % rendemen = $\frac{1,6 \text{ ml}}{20 \text{ gram}} \times 100\% = 8,00 \%$
2. % rendemen = $\frac{1,7 \text{ ml}}{20 \text{ gram}} \times 100\% = 8,50 \%$
3. % rendemen = $\frac{1,4 \text{ ml}}{20 \text{ gram}} \times 100\% = 7,00 \%$

Maka rata-rata hasil prosentase kadar air serbuk bunga *Hibiscus rosa-sinensis L.* adalah 7,83 %

Ekstrak

No	Bobot awal (g)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	10	0,6	6,00
2	10	0,7	7,00
3	10	0,6	6,00
Rata-rata			6,33±0,58

Perhitungan :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{volume air (ml)}}{\text{Bobot awal (g)}} \times 100\%$$

1. % rendemen = $\frac{0,6 \text{ ml}}{10 \text{ gram}} \times 100\% = 6,00 \%$
2. % rendemen = $\frac{0,7 \text{ ml}}{10 \text{ gram}} \times 100\% = 7,00 \%$
3. % rendemen = $\frac{0,6 \text{ ml}}{10 \text{ gram}} \times 100\% = 6,00 \%$

Maka rata-rata hasil prosentase kadar air ekstrak bunga *Hibiscus rosa-sinensis L.* adalah 6,33 %

Lampiran 15. Perhitungan berat jenis ekstrak etanol bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L.

No	Berat kosong (g)	Kosong + air (g)	Kosong + ekstrak (g)	Berat jenis (g/ml)
1	31,747	81,781	76,068	0,8858
2	31,747	81,775	75,755	0,8865
3	31,747	81,776	76,115	0,8868
Rata-rata				0,89±0

Perhitungan :

$$\text{Berat Jenis} = \frac{W_3 - W_1}{W_2 - W_1}$$

Keterangan:

W₁ : Berat piknometer kosong

W₂ : Berat piknometer + air

W₃ : Berat piknometer + ekstrak

$$1. \text{ Berat Jenis} = \frac{76,068 - 31,747}{81,781 - 31,747} = 0,8858$$

$$2. \text{ Berat Jenis} = \frac{76,755 - 31,747}{81,775 - 31,747} = 0,8865$$

$$3. \text{ Berat Jenis} = \frac{76,115 - 31,747}{81,776 - 31,747} = 0,8858$$

Maka rata-rata berat jenis ekstrak bunga *Hibiscus rosa-sinensis* L. adalah 0,89

Lampiran 16. Perhitungan larutan uji difusi

- Konsentrasi 40%

Menimbang 4 gram ekstrak dan fraksi. Kemudian dilarutkan dalam DMSO 3% sampai 10 ml.

- Konsentrasi 20%

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 40\% = 1 \text{ ml} \cdot 20\%$$

$$V_1 \cdot 40 = 20$$

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

Dipipet 0,5 ml larutan konsentrasi 40 %, kemudian ditambahkan DMSO 3% hingga 1 ml.

- Konsentrasi 10%

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 20\% = 1 \text{ ml} \cdot 10\%$$

$$V_1 \cdot 20 = 10$$

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

Dipipet 0,5 ml larutan konsentrasi 20 %, kemudian ditambahkan DMSO 3% hingga 1 ml.

Lampiran 17. Hasil analisis data uji ANOVA antara ekstrak, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dengan konsentrasi 40%, 20%, 10%, kontrol negatif dan kontrol positif.

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
zonahambat	42	.00	27.00	12.0595	5.91369
Valid N (listwise)	42				

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	zonahambat
N	42
Normal Parameters ^{a,b}	
Mean	12.0595
Std.	5.91369
Deviation	
Most Extreme	.119
Differences	
Absolute	.119
Positive	.119
Negative	-.092
Kolmogorov-Smirnov Z	.771
Asymp. Sig. (2-tailed)	.591

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
bahanuji	1.00 Ekstrak	9
	2.00 Fraksi n-Heksana	9
	3.00 Fraksi Etil Asetat	9
	4.00 Fraksi Air	9
	5.00 Kontrol Positif	3
	6.00 Kontrol Negatif	3
konsentrasi	1.00 40%	12

2.00	20%	12
3.00	10%	12
4.00	5 mikrogram	3
5.00	3%	3

Descriptive Statistics

Dependent Variable: zonahambat

bahanuji	konsentrasi	Mean	Std. Deviation	N
Ekstrak	40%	15.5333	.50332	3
	20%	13.8333	.76376	3
	10%	9.4000	.69282	3
	Total	12.9222	2.80169	9
Fraksi n-	40%	11.3333	.57735	3
	20%	8.8667	.32146	3
	Heksana	6.6000	.52915	3
	Total	8.9333	2.09344	9
Fraksi Etil	40%	17.6000	1.15326	3
	20%	14.7667	.40415	3
	Asetat	11.6667	.57735	3
	Total	14.6778	2.65743	9
Fraksi Air	40%	13.3333	.57735	3
	20%	11.7000	.60828	3
	10%	7.7333	.64291	3
	Total	10.9222	2.54940	9
Kontrol Positif	5	26.4667	.50332	3
	mikrogram			
	Total	26.4667	.50332	3
	3%	.0000	.00000	3
Kontrol Negatif	Total	.0000	.00000	3
	40%	14.4500	2.53467	12
	20%	12.2917	2.41565	12
	10%	8.8500	2.05935	12
Total	5	26.4667	.50332	3
	mikrogram			
	3%	.0000	.00000	3
	Total	12.0595	5.91369	42

**Levene's Test of Equality of Error
Variances^a**

Dependent Variable: zonahambat

F	df1	df2	Sig.
1.921	13	28	.072

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

a. Design: Intercept + bahanuji + konsentrasi + bahanuji * konsentrasi

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: zonahambat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1423.381 ^a	13	109.491	293.092	.000
Intercept	5187.814	1	5187.814	13887.074	.000
bahanuji	166.616	3	55.539	148.670	.000
konsentrasi	191.454	2	95.727	256.248	.000
bahanuji * konsentrasi	4.939	6	.823	2.204	.073
Error	10.460	28	.374		
Total	7541.990	42			
Corrected Total	1433.841	41			

a. R Squared = .993 (Adjusted R Squared = .989)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: zonahambat

Tukey HSD

(I) bahanuji	(J) bahanuji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak	Fraksi n-Heksana	3.9889*	.28812	.000	3.1084	4.8694
	Fraksi Etil Asetat	-1.7556*	.28812	.000	-2.6360	-.8751
	Fraksi Air	2.0000*	.28812	.000	1.1195	2.8805
	Kontrol Positif	-13.5444*	.40747	.000	-14.7896	-12.2993
	Kontrol Negatif	12.9222*	.40747	.000	11.6770	14.1674
Fraksi n-Heksana	Ekstrak	-3.9889*	.28812	.000	-4.8694	-3.1084
	Fraksi Etil Asetat	-5.7444*	.28812	.000	-6.6249	-4.8640
	Fraksi Air	-1.9889*	.28812	.000	-2.8694	-1.1084
	Kontrol Positif	-17.5333*	.40747	.000	-18.7785	-16.2882
	Kontrol Negatif	8.9333*	.40747	.000	7.6882	10.1785
Fraksi Etil Asetat	Ekstrak	1.7556*	.28812	.000	.8751	2.6360
	Fraksi n-Heksana	5.7444*	.28812	.000	4.8640	6.6249
	Fraksi Air	3.7556*	.28812	.000	2.8751	4.6360

	Kontrol Positif	-11.7889*	.40747	.000	-13.0341	-10.5437
	Kontrol Negatif	14.6778*	.40747	.000	13.4326	15.9230
	Ekstrak	-2.0000*	.28812	.000	-2.8805	-1.1195
	Fraksi n-Heksana	1.9889*	.28812	.000	1.1084	2.8694
Fraksi Air	Fraksi Etil	-3.7556*	.28812	.000	-4.6360	-2.8751
	Asetat					
	Kontrol Positif	-15.5444*	.40747	.000	-16.7896	-14.2993
	Kontrol Negatif	10.9222*	.40747	.000	9.6770	12.1674
	Ekstrak	13.5444*	.40747	.000	12.2993	14.7896
	Fraksi n-Heksana	17.5333*	.40747	.000	16.2882	18.7785
Kontrol Positif	Fraksi Etil	11.7889*	.40747	.000	10.5437	13.0341
	Asetat					
	Fraksi Air	15.5444*	.40747	.000	14.2993	16.7896
	Kontrol Negatif	26.4667*	.49905	.000	24.9416	27.9917
	Ekstrak	-12.9222*	.40747	.000	-14.1674	-11.6770
	Fraksi n-Heksana	-8.9333*	.40747	.000	-10.1785	-7.6882
Kontrol Negatif	Fraksi Etil	-14.6778*	.40747	.000	-15.9230	-13.4326
	Asetat					
	Fraksi Air	-10.9222*	.40747	.000	-12.1674	-9.6770
	Kontrol Positif	-26.4667*	.49905	.000	-27.9917	-24.9416

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .374.

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

80

Zonahambat

Tukey HSD

Bahanaji	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
Kontrol Negatif	3	.0000					
Fraksi n-	9		8.9333				
Heksana							
Fraksi Air	9			10.9222			
Ekstrak	9				12.9222		
Fraksi Etil	9					14.6778	
Asetat							
Kontrol Positif	3						26.4667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

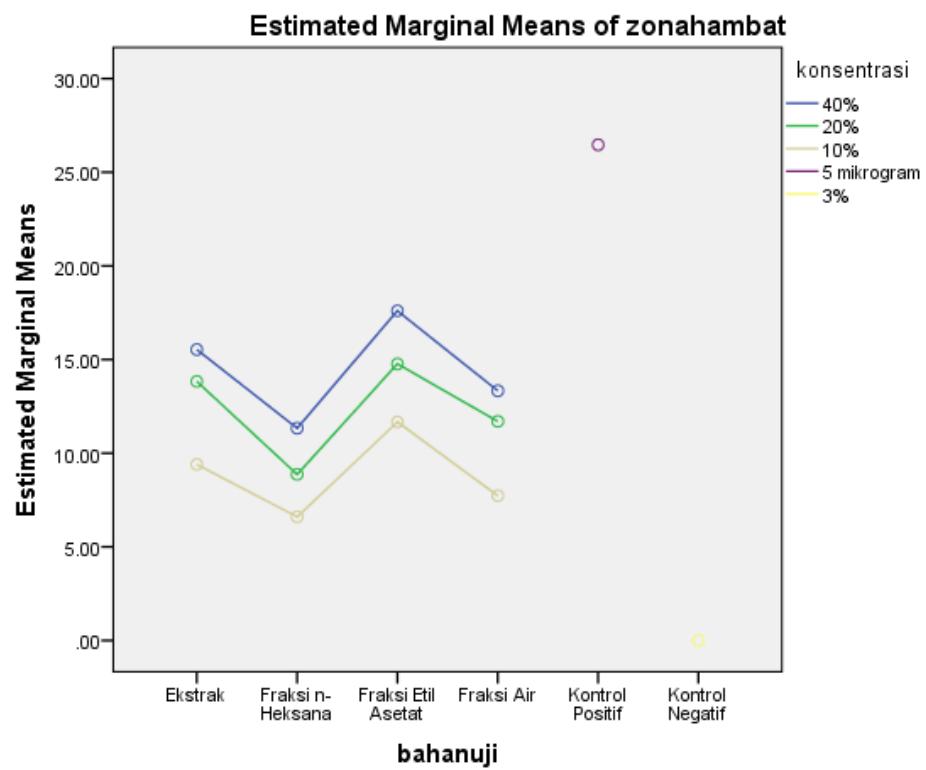
Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .374.

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.



Lampiran 18. Komposisi media

Komposisi Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Beef Extract.....	2,0 gram
Acid hydrolysate of casein	17,5 gram
Starch.....	1,5 gram
Agar.....	17 gram

Ditimbang 38 gram media MHA, dimasukkan dalam beaker glass dan ditambahkan aquadest hingga 1 Liter. Dipanaskan sampai mendidih, disterilkan dengan autoklave pada suhu 121°C selama 15 menit. pH media MHA adalah 7,3 ± 0,1 pada suhu 25°C.

Media *Pseudomonas Selective Agar* (PSA)

Enzim Digest of Gelatin.....	1,4 gram
Potassium Sulfat.....	10,0 gram
Cetrimide.....	25 mg
Agar.....	13,6 gram
Gliserol	20,0 ml

Ditimbang 45,3 gram media PSA, dimasukkan dalam beaker glass dan ditambahkan aquadest hingga 1 Liter. Ditambahkan glycerol sebanyak 20 ml. Dipanaskan sampai mendidih dan biarkan kurang lebih 3 menit, disterilkan dengan autoklave pada suhu 121°C selama 15 menit.

Media *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain Infusion.....	7,5 gram
Beef Heart Infusion	10 gram

Gelatin Pepton 10 gram

Sodium Chloride 5 gram

Disodium Phosphate 2,5 gram

Dextrose 2 gram

Ditimbang 37 gram media BHI, dimasukkan dalam beaker glass dan ditambahkan aquadest hingga 1 Liter. Dipanaskan sampai larut dan biarkan. Disterilkan dengan autoklave pada suhu 121°C selama 15 menit. pH media BHI adalah $7,4 \pm 0,2$ pada suhu 25°C.

Media Kliger's Iron Agar (KIA)

Dextrosa 1 gram

Agar 12,5 gram

Sodium Chloride 5 gram

Lactose 10 gram

Pancreatic Digest of Casein 10 gram

Sodium Thiosulfate 0,3 gram

Meat Pepton 10 gram

Phenol Red 0,25 gram

Ferric Amonium Citrate 0,2 gram

Ditimbang 55 gram media KIA, dimasukkan dalam beaker glass dan ditambahkan aquadest hingga 1 Liter. Dipanaskan sampai mendidih. Kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml, tutup dengan kapas. Disterilkan dengan autoklave pada suhu 121°C selama 15 menit. pH media KIA adalah $7,4 \pm 0,2$ pada suhu 25°C.

Media Lysin Iron Agar (LIA)

Agar.....	13,5 gram
Lysine	10 gram
Pancreatic Digest of Gelatin.....	5 gram
Yeast Extract.....	3 gram
Glucose.....	1 gram
Ferric Ammonium Citrate	0,50 gram
Sodium Thiosulfate pentahydrate	0,04 gram
Bromcresol Purple.....	0,02 gram

Ditimbang 33 gram media LIA, dimasukkan dalam beaker glass dan ditambahkan aquadest hingga 1 Liter. Dipanaskan sampai mendidih. Kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml, tutup dengan kapas. Disterilkan dengan autoklave pada suhu 121°C selama 15 menit. pH media KIA adalah $6,7 \pm 0,2$ pada suhu 25°C.

Media Sulfida IndolMotility (SIM)

Pepton from Casein.....	20 gram
Pepton from Meat.....	6,1 gram
Ammonium Iron (III) Citrate	0,2 gram
Sodium Thiosulfat.....	0,2 gram
Agar.....	3,5 gram

Ditimbang 30 gram media SIM, dimasukkan dalam beaker glass dan ditambahkan aquadest hingga 1 Liter. Dipanaskan sampai mendidih. Kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml, tutup dengan kapas. Disterilkan dengan

autoklave pada suhu 121°C selama 15 menit. pH media SIM adalah $7,3 \pm 0,2$ pada suhu 24°C.

Media Citrat

Ammonium dihydrogen phosphate 1,0 gram

Dipottasium hydrogen Phosphate 1,0 gram

Sodium Chloride 5,0 gram

Sodium Citrate 2,0 gram

Magnesium Sulfat 0,2 gram

Bromthymol Blue 0,08 gram

Agar-Agar 12,0 gram

Semua bahan dilarutkan dalam aquadest hingga 1 Liter. Dipanaskan sampai mendidih. Kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml, tutup dengan kapas. Disterilkan dengan autoklave pada suhu 121°C selama 15 menit.