

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, fraksi kloroform, dan fraksi air dari ekstrak etanol daun karandas memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, yang paling aktif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah fraksi kloroform konsentrasi 50% dengan rata-rata diameter hambat sebesar 15,00 mm.

Ketiga, fraksi kloroform dari daun karandas memiliki Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebesar 6,25%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan isolasi senyawa terhadap fraksi kloroform yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri.

Kedua, perlu dilakukan uji antibakteri daun karandas dengan menggunakan pelarut dan metode penyarian yang lain untuk mengetahui yang lebih efektif.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi kloroform serta fraksi air secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal T, Rachana S, Amar DS, Imran W. 2012. In vitro study of antibacterial activity of *Carissa carandas* leaf extracts. *Asian Journal of Plant Science and Research* 2(1):36-40.
- Alnajar A, Mahmood A, Hapipah M, Mohammed A. 2012. Acute toxicity evaluation, antibacterial, antioxidant and immunomodulatory effects of *Melastoma malabathricum*. *Molecules* 17:3547-3559.
- Begum S, Saqib AS, Bina SS. 2013. Carandinol: First isohopane triterpene from the leaves of *Carissa carandas* L. and its cytotoxicity against cancer cell lines. *Phytochemistry Letters* 6:91-95.
- Bonang, Gerard, Koeswardono, Enggar S. 2002. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Gramedia.
- Budiman H, Farida R, Febriana S. 2010. Isolasi dan identifikasi alkaloid pada biji robusta (*Coffea robusta Lindl. Ex De Will*) dengan cara kromatografi lapis tipis. *Journal of Pharmacy Science*.
- Cahyani, V. R. 2009. Pengaruh beberapa metode sterilisasi tanah terhadap status hara, populasi mikrobiota, potensi infeksi mikorisa dan pertumbuhan tanaman. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Cappuccino, J.G dan Sherma, N. 2014. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. Jakarta: EGC.
- Chandramu C, Rao M, David G, Krupadanam, Reddy V. 2003. Isolation, characterization and biological activity of betulinic acid and ursolic acid from *Vitex negundo* L. *Phytotherapy Research* 17:129–134.
- Cowan, M.M. 1999. *Plant Products as Antimicrobial Agents*. Clinical Microbiology Reviews 12: 564 – 582.
- [DEPKES RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 4-11, 25-26.
- [DEPKES RI]. 1987. *Analisis Obat Tradisional*. Edisi I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 20-21.
- [DEPKES RI]. 1995. *Farmakope Indonesia IV*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 10-11.
- [DEPKES RI]. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Edisi I. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Hlm 17-19.

- [DEPKES RI]. 2013. *Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 106-108.
- Devi AS, Johana, Rajath, Ilayraja. 2012. Antimicrobial activities of *Avicennia marina*, *Caesalpinia pulcherrima* and *Melastoma malabathricum* against clinical pathogens isolated from UTI. *Internasional journal of pharmacy and biology sciences* 3(3):698-705.
- Erikawati D, Dewi S, Sanarto R. 2016. Tingginya pravalensi MRSA pada isolat klinik periode 2010-2014 Di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang, Indonesia. *Jurnal Kedokteran Brawijaya* 29.
- Fajarullah A, Henky I, Arief P. 2018. Ekstrak senyawa metabolit sekunder *Lamun thalassodendron ciliatum* pada pelarut berbeda. This publication at: <https://www.researchgate.net/publication/313396900>.
- Fontanay Stéphane, Marion G, Josephine, Chantal, Raphael L. 2008. Ursolic, oleanolic and betulinic acids: antibacterial spectra and selectivity indexes. *Journal of Ethnopharmacology* 120: 272–276.
- Gandjar IB, Abdul R. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Gritter, R. J., J.M. Bobbit, Scharting. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Ed ke-2. Bandung: ITB Press.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata & Imam Sudiro. Bandung: ITB Press.
- Haris A, Arniati, Shinta W. 2013. Uji antibakteri patogen ekstrak sponge menggunakan *high throughput screening* (HTS) dengan indikator MTT. Jurusan Ilmu Kelautan, FIKP, UNHAS.
- Harmita, Radji. 2008. *Kepakaan Terhadap Antibiotik*. Dalam: buku ajar analisis hayati. Ed ke-3. EGC: Jakarta.
- Hasiholan, Anju DP. 2012. Isolasi uji aktivitas antioksidan dan karakteristik senyawa dari daun *Garcinia hombroniana Pierre*. Universitas Indonesia.
- Irianto, Koes. 2006. *Mikrobiologi*. Bandung: Yrama Widya.
- Ismiyarto, Ngadiwiyana, Rani M. 2009. Isolasi, identifikasi minyak atsiri fuli pala (*Myristica fragrans*) dan uji aktivitas larvasida. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi* 12:23-30.

- Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. 2010. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed ke-24. Jakarta: Penerbit Salemba Medika
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed ke-25. Jakarta: EGC.
- Katno. 2008. *Pengolahan Pasca Panen Tanaman Obat*. Tawangmangu: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BP2PTO-OT). Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. DepKes.
- Katno, Pramono S. 2008. Tingkat manfaat dan keamanan tanaman obat dan obat tradisional. *Balai Penelitian Obat Tawangmangu*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Kirtikar K, Basu B.D, 2003. *Indian Medicinal Plants*. Lalit mohan basu: Allahabad.
- Koirewoa Y, Fatimawali, Weny W. 2012. Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dalam daun beluntas (*Pluchea indica* L.). Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado.
- Kumar S, Pallavi G, Virusphaksa. 2013. A critical review on karamarda (*Carissa carandas* Linn.). *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives* 4(4):637 – 642.
- Kurniawati E. 2015. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal Wiyata* 4(2).
- Madigan, M. T., J. M. Martinto, D. A. Stahl, D.P. Clark. 2011. *Brock biology of microorganisme*, 13th ed.
- Menon S, Arif S. 2017. Uji aktivitas antibakteri *Nasturtium officinale* dan ekstrak etanol *Pilea melastomoides* terhadap *Escherchia coli*. *Farmaka Suplemen* 15(1).
- Mukhriani, Andi AE, Azwar N. 2015. Fraksinasi senyawa antimikroba daun anak dara (*Croton oblongus* Burm f.). *Jurnal Farmasi FIK UINAM* 3(4).
- Nasir S, Fitriyanti, Hilma K. 2009. Ekstraksi dedak padi menjadi minyak mentah dengan pelarut *n-Hexane* dan *Ethanol*. *Jurnal Teknik Kimia* 16(2).
- Nuria, Arvin F, Sumantri. 2009. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* 25923. *Jurnal ilmu-ilmu Pertanian* 5(2):26-37.

- Nimah S, MA'ruf WF, Trianto A. 2012. Uji bioaktivitas ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia* 1(2):1-9.
- Nurcahyanti O, Euis J, Tri M. senyawa steroid dari kulit batang *Dysoxylum alliaceum* dan aktivitasnya terhadap sel kanker payudara MCF-7. *Chimica Et Natura Acta* 3(2):62-65.
- [PERMENKES RI]. 2011. *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Prasetyo, Entang. 2013. *Pengelolaan Budi Daya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Simplicia)*. Badan Penerbit Fakultas Pertanian UNIB.
- Pratiwi S, T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Pratiwi L, Achmad F, Ronny, Suwidjiyo. 2016. Ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, dan fraksi n-Heksan kulit manggais sebagai sumber zat bioaktif penangkal radikal bebas. *Journal Of Pharmaceutical Science And Clinical*.
- Radji, M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Raini, M. 2015. Antibiotik Golongan Fluorokuinolon: Manfaat dan Kerugian. *Pusat penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan* 26(3):163-174.
- Risnafiani AR, Endah R, Hilda A. 2015. Karakterisasi daun buncis (*Phaseolus Vulgaris L.*) dan identifikasi kandungan senyawa steroid dengan metode KLT dan KCKT. *Prosiding Penelitian Spesia Unisba*.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Ed ke-5. Diterjemahkan oleh Padmawinata K. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituents Of Higher Plants*.
- Rohman. 2009. *Kromatografi Untuk Analisis Obat*. Yogyakarta: Graha Ilmu. Hlm 45,47.
- Salle AJ. 1961. *Fundamental Principle of Bacteriologi*. 5th edition. New york: MC Graw Hill Book Company Inc. Pp 414-418.
- Siddiqui BS, Ghani U, Ali ST, Usmani SB, Begum S. 2003. Triterpenoidal constituents of the leaves of *Carissa Carandas*. *Natural Product Research* 17(3):153-158.

- Stahl Egon. 1985. *Drug Analysis by Chromatography and Microscopy*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata & Imam Sudiro. Bandung: ITB Press.
- Supartono. 2006. Pemeriksaan *Staphylococcus aureus* pada organ dalam hewan dan bahan makanan. *Temu Teknis Nasional Tenaga Fungsional Pertanian*.
- Sutarma. 2000. *Kultur Media Bakteri*. Balai Penelitian Veteriner Martadinata. Bogor.
- Tiwari P, Bimlesh K, Mandeep K, Gurpreet K, Harleen K. 2011. Phytochemical screening and extraction: a review. *International Pharmaceutical Sciencia* 1:98-106.
- Utomo S. 2016. Pengaruh konsentrasi pelarut (*n*-heksana) terhadap randemen hasil ekstraksi minyak biji alpukat untuk pembuatan krim pelembab kulit. *KONVERSI* 5(1).
- Verma S, Hotam SC. 2011. Effect of *Carissa carandas* againts clinically pathogenic bacterial strains. *Journal of Pharmacy Research* 4(10):3769-3771.
- Virmani R, Tarun , Charan S, Geeta S. 2017. Hidden potential of natural herb *Carissa Carandas* (Karonda). *Research in Pharmacy and Health Sciences* 3:294-302.
- Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malang: Penerbitan Universitas Muhammadiyah Malang.
- WHO. 2014. Health employment and economic growth: *An Evidence Base*. World Health Organization.
- Woldeyes S, Legesse A, Yinebeb T, Diriba M. 2012. Evaluation of antibacterial activities of compounds isolated from *Sida rhombifolia* Linn. *Natural Product Chemistry & Research* 1:1.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman karandas (*Carissa carandas L.*)



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 : 017/UN27.9.6.4/Lab/2019
 Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
 Lampiran : -

Nama Pemesan : Theresia Septinueng
 NIM : 21154662A
 Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Carissa carandas L.*
Familia : Apocynaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963; 1965) :
 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-
 404b-405b-414a-415b-451a-452b-453a-454a-455b-456b-457b-458b-459b _____ 160. **Apocynaceae**
 1b-3b-6a-7a-8a _____ 2. **Carissa**
 1 _____ **Carissa carandas L.**

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : perdu, menahun, tumbuh tegak, tinggi 2-4 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan. Batang : bulat, berkayu, percabangan simpodial dan melebar, permukaan gundul, bergetah putih seperti lateks; panjang duri hingga 3.5 cm. Daun : tunggal, tersebar, bulat telur atau ellips, panjang 2.5-7.5 cm, lebar 1.5-3 cm, pangkal daun tumpul atau membulat atau rata, tepi daun rata, ujung daun berlekuk, daging daun kaku seperti kulit, permukaan daun gundul dan mengkilap, tulang daun menyirip, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda; tangkai daun bulat, gundul, panjang 2-3 mm. Bunga : majemuk, di ujung, terdiri atas 3-14 bunga, bagian-bagian bunga berbilangan 5; ibu tangkai bunga berambut halus, panjang 1-2 cm; tangkai bunga sedikit berambut, panjang 2.5-3 mm, sedikit lebih panjang daripada kelopak bunga; kelopak bunga bertuju 5, merah muda; mahkota bunga berwarna putih kemerahan, sedikit berambut, panjang tabung mahkota 1.5-2 cm, cuping mahkota bunga lanset memanjang, panjang 16-20 mm, sedikit berambut; benangsari 5, tangkai sari pendek dan berambut panjang, kepala sari kuning; kepala putik hitam, panjang 1.25-2 cm, tangkai putik merah, gundul, panjang 7-8 mm, bakal buah beruang 2, masing-masing ruangan berisi 4 bakal biji. Buah : buni, bulat memanjang atau memanjang, panjang 1.25-2.5 cm, ketika masih muda berwarna merah keunguan, dan ungu tua hingga hitam ketika masak, permukaan licin dan mengkilat, kulit buah tipis, bergetah, daging buah manis asam. Biji : 2-8 per buah, pipih, kecil, coklat.

Surakarta, 1 Maret 2019

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab
 Determinasi Tumbuhan

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



Mengetahui
 Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS
 Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
 NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 2. Gambar daun karandas segar dan serbuk daun karandas**Gambar daun karandas****Gambar serbuk daun karandas**

Lampiran 3. Gambar alat yang digunakan



Sterling Bidwell



Penggilingan



Inkas



Alat Vortex



Botol maserasi



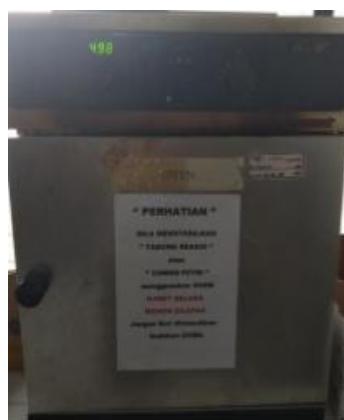
Autoklaf



Inkubator



Rotary Evaporator



Oven sterilisasi

Lampiran 4. Perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun karandas

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%) bb
8000	1600	20,00

Perhitungan presentase pengeringan daun karandas adalah :

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

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{1600 \text{ gram}}{8000 \text{ gram}} \times 100\% = 20,0\%$$

Lampiran 5. Hasil perhitungan penetapan kadar air serbuk daun karandas

No	Bobot penimbangan (g)	Volume pada skala (mL)	Kadar air %
1.	20,0	1,6	8,0
2.	20,0	1,4	7,0
3.	20,0	1,8	9,0
Rata-rata			$8,0 \pm 1,0$

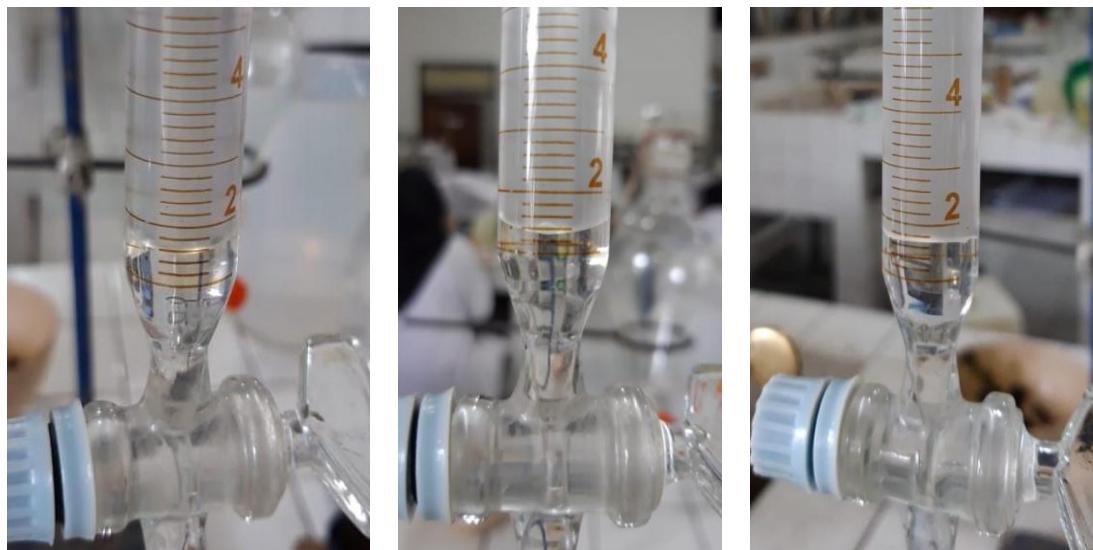
$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Volume pada skala (mL)}}{\text{bobot penimbangan (g)}} \times 100\%$$

$$\triangleright \% \text{ Kadar air (Replikasi 1)} = \frac{1,6 \text{ mL}}{20,0 \text{ g}} \times 100\% = 8,0\%$$

$$\triangleright \% \text{ Kadar air (Replikasi 2)} = \frac{1,4 \text{ mL}}{20,0 \text{ g}} \times 100\% = 7,0\%$$

$$\triangleright \% \text{ Kadar air (Replikasi 3)} = \frac{1,8 \text{ mL}}{20,0 \text{ g}} \times 100\% = 9,0\%$$

$$\text{Rata-rata kadar air serbuk daun karandas} = \frac{8,0 + 7,0 + 9,0}{3} = 8,0 \%$$



Gambar hasil penetapan kadar air serbuk daun karandas

Lampiran 6. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun karandas

Serbuk daun karandas (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%) b/b
700	174,28	24,89

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

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{174,28 \text{ gram}}{700 \text{ gram}} \times 100\% = 24,89\%$$

Lampiran 7. Hasil perhitungan susut pengeringan ekstrak daun karandas

Serbuk	Penimbangan (g)	Kadar lembab (%)
1	2,0	1,8
2	2,0	1,4
3	2,0	1,4
	Rata-rata	1,53 ± 0,23

$$\text{Rata-rata kadar lembab ekstrak daun karandas} = \frac{1,8+1,4+1,4}{3} = 1,53\%$$

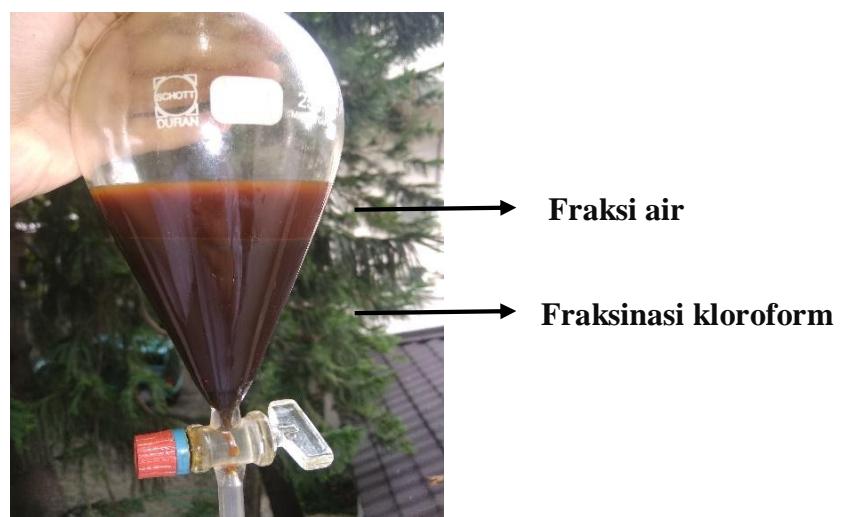
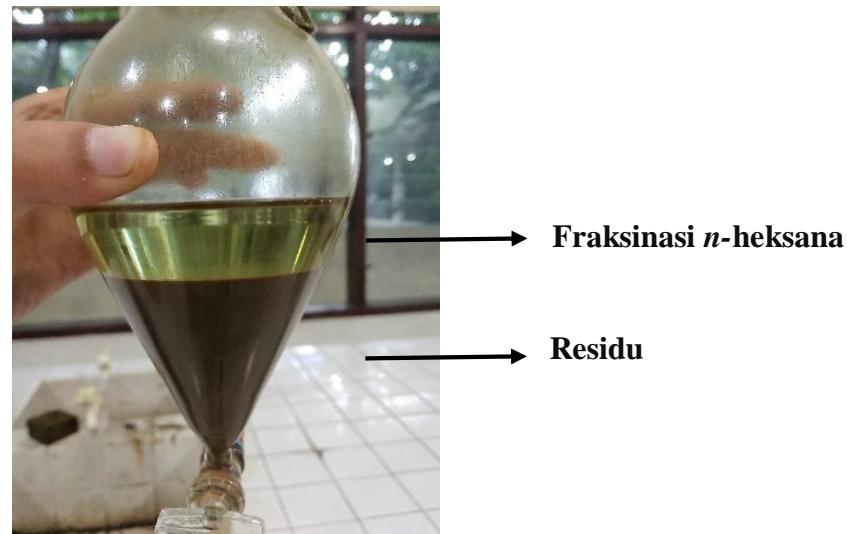
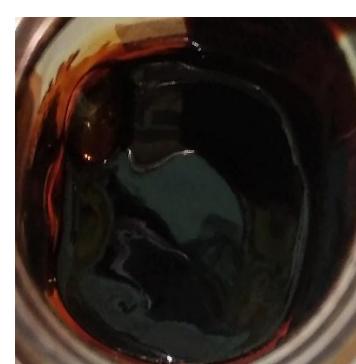


Gambar hasil penetapan kadar lembab ekstrak daun karandas

Lampiran 8. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun karandas

Identifikasi	Prosedur	Hasil
Uji bebas etanol	Ekstrak + H ₂ SO ₄ + CH ₃ COOH → dipanaskan	Tidak tercium bau ester

**Gambar ekstrak etanol daun karandas****Gambar uji bebas etanol**

Lampiran 9. Hasil fraksinasi**Fraksi n-heksana****Fraksi kloroform****Fraksi air**

Lampiran 10. Hasil Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana, fraksi kloroform dan fraksi air daun karandas

Nama Pelarut	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Fraksi (g)	Rendemen % (b/b)
<i>n</i> -heksana	100	4,20	4,20
Kloroform	100	25,04	25,04
Air	100	61,09	61,09

➤ Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana dari ekstrak etanol daun karandas :

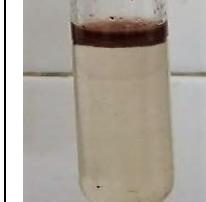
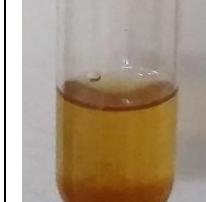
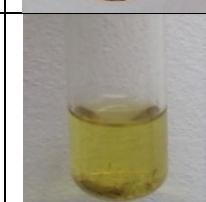
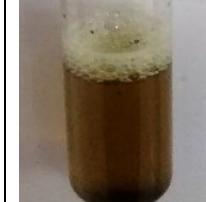
$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen fraksi } n\text{-heksana} = \frac{4,20 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 4,20\%$$

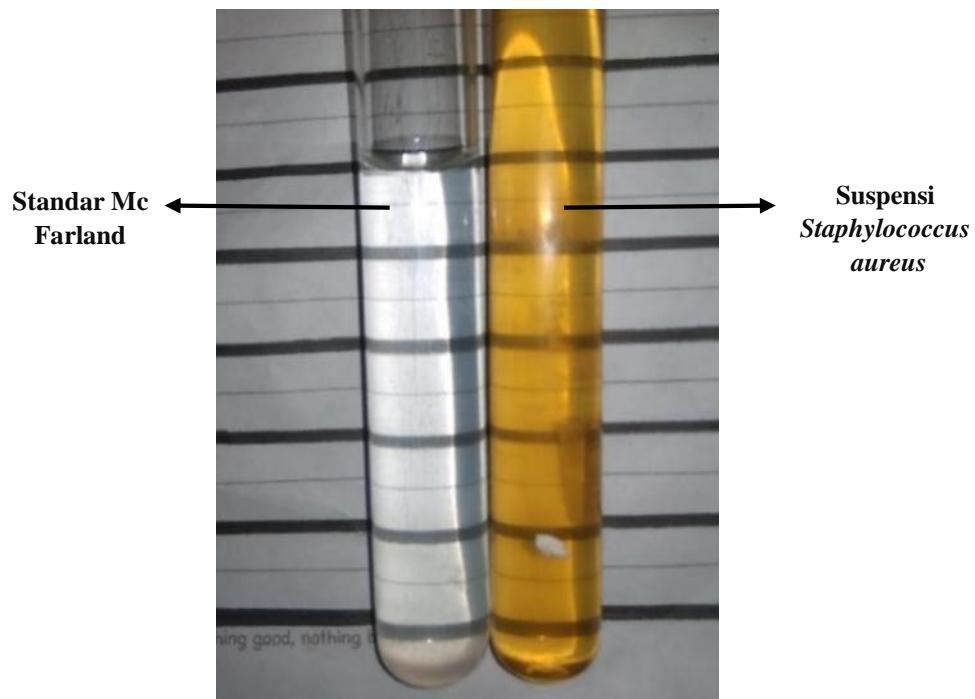
$$\% \text{ Rendemen fraksi kloroform} = \frac{25,04 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 25,04\%$$

$$\% \text{ Rendemen fraksi air} = \frac{61,09 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\% = 61,09\%$$

Lampiran 11. Hasil identifikasi kandungan kimia dari serbuk dan ekstrak daun karandas

Kandungan kimia	Serbuk	Ekstrak	Gambar identifikasi Serbuk	Gambar identifikasi ekstrak	Ket
Flavonoid	Warna merah pada lapisan amil alkohol	Warna merah pada lapisan amil alkohol			(+)
Alkaloid (Dragendroff)	Dragendof : Terbentuk endapan jingga	Dragendof : Terbentuk endapan jingga			(+)
Alkaloid (Mayer)	Mayer: Terbentuk endapan putih	Mayer: Terbentuk endapan putih			(+)
Tanin	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman			(+)
Saponin	Buih tetap setinggi 2 cm	Buih tetap setinggi 2 cm			(+)
Triterpenoid/ Steroid	Terbentuk cincin warna merah	Terbentuk cincin warna merah			(+)

Lampiran 12. Hasil pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

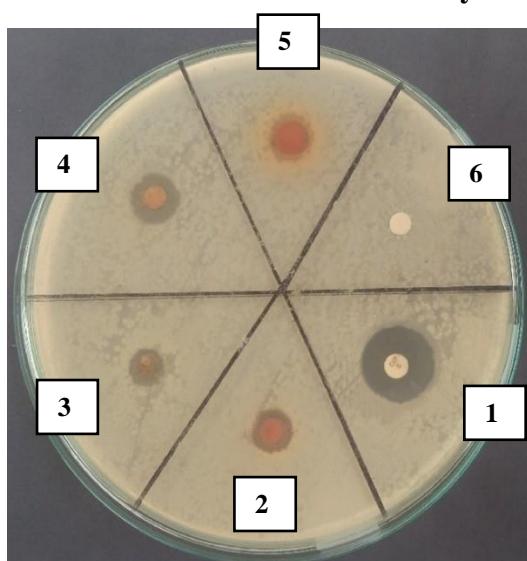


Lampiran 13. Hasil pengujian aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi

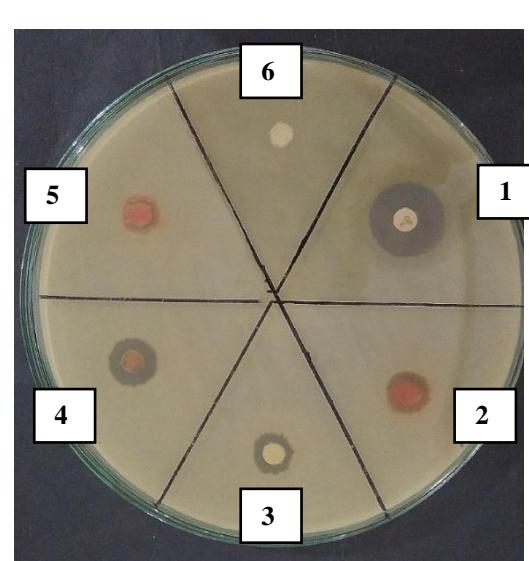
A. Gambar larutan stok Ekstrak, fraksi *n*-heksana, kloroform dan air



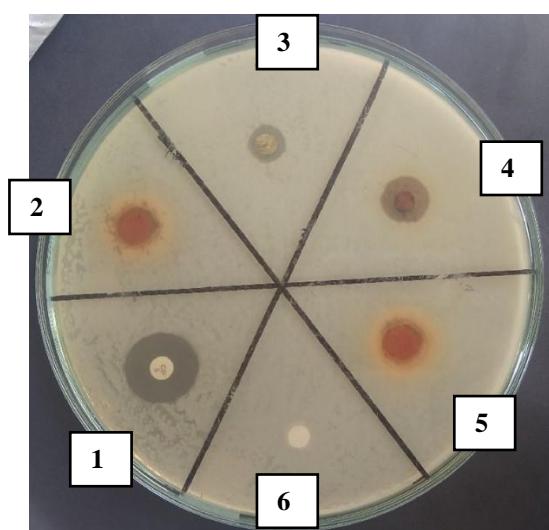
B. Diameter daya hambat konsentrasi 50%



Replikasi I



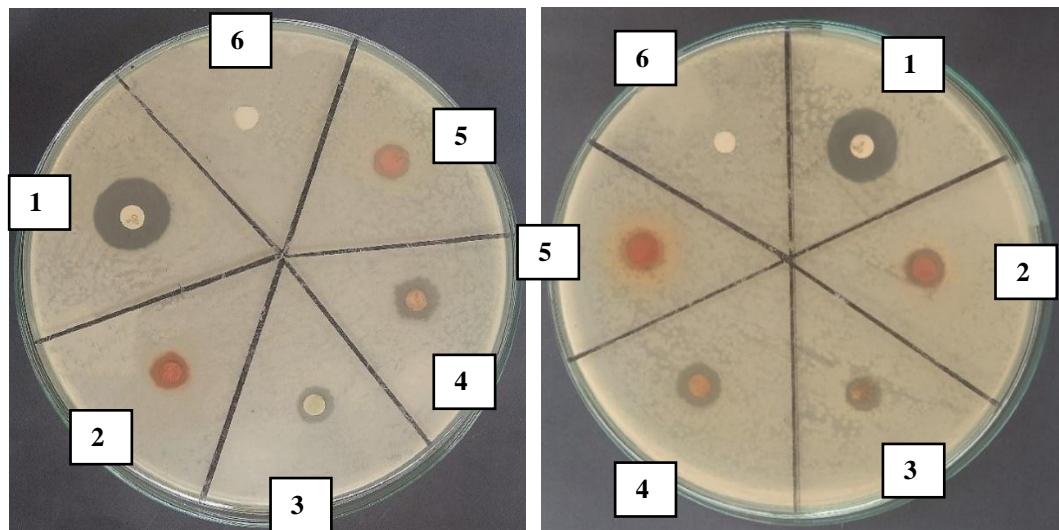
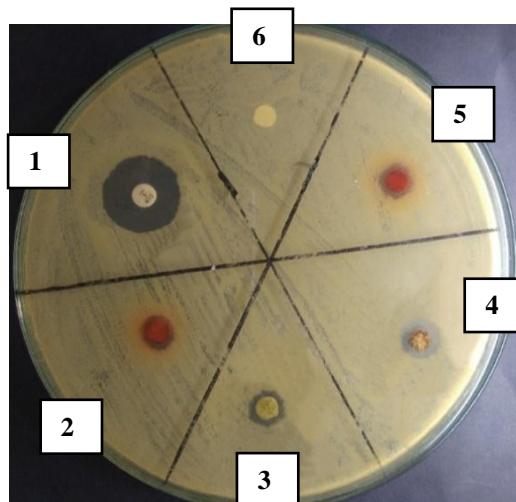
Replikasi II



Replikasi III

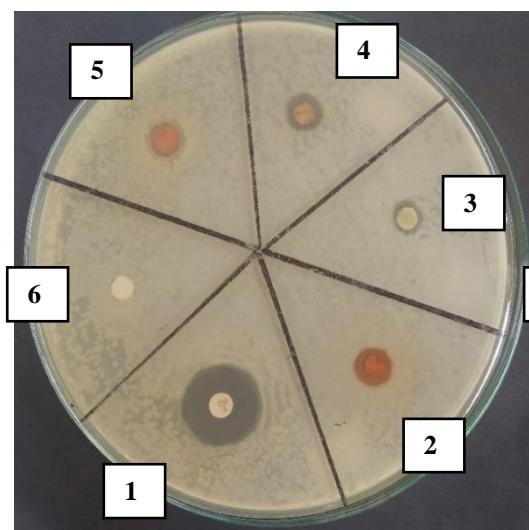
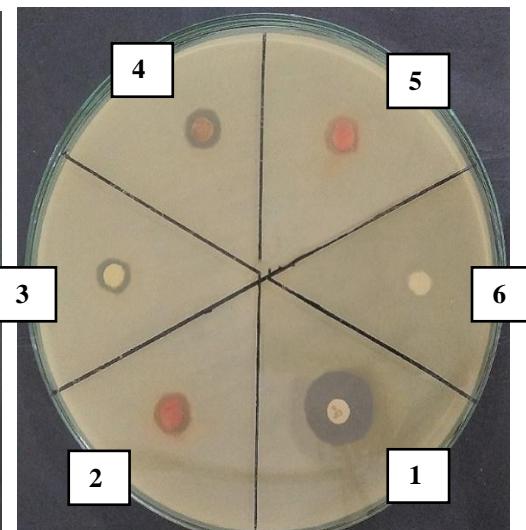
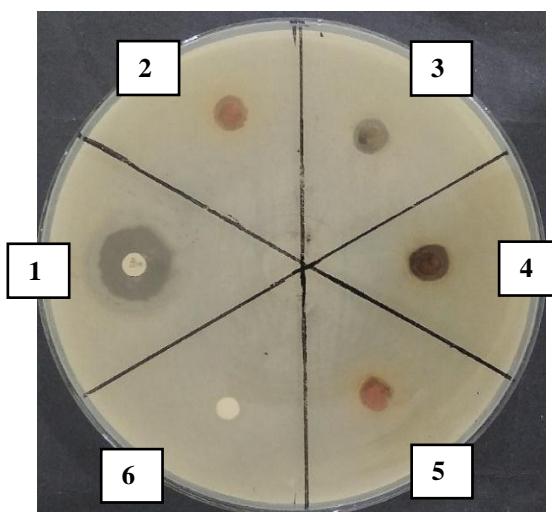
Keterangan :

1. Siprofloksasin
2. Ekstrak etanol 50%
3. Fraksi *n*-heksana 50%
4. Fraksi kloroform 50%
5. Fraksi air 50%
6. DMSO 5%

C. Diameter daya hambat konsentrasi 25%**Replikasi I****Replikasi II****Replikasi III**

Keterangan :

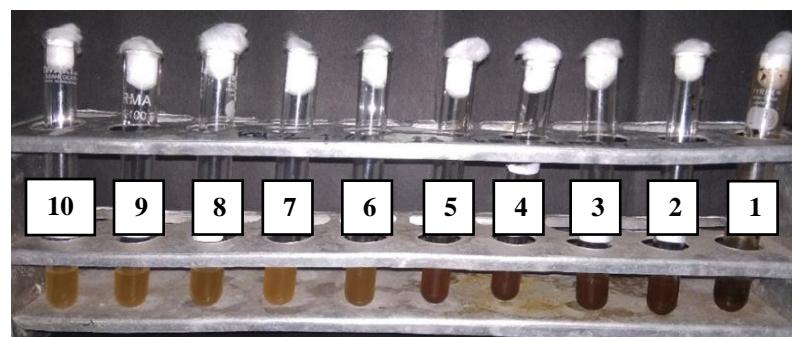
1. Siprofloksasin
2. Ekstrak etanol 25%
3. Fraksi *n*-heksana 25%
4. Fraksi kloroform 25%
5. Fraksi air 25%
6. DMSO 5%

D. Diameter daya hambat konsentrasi 12,5%**Replikasi I****Replikasi II****Replikasi III**

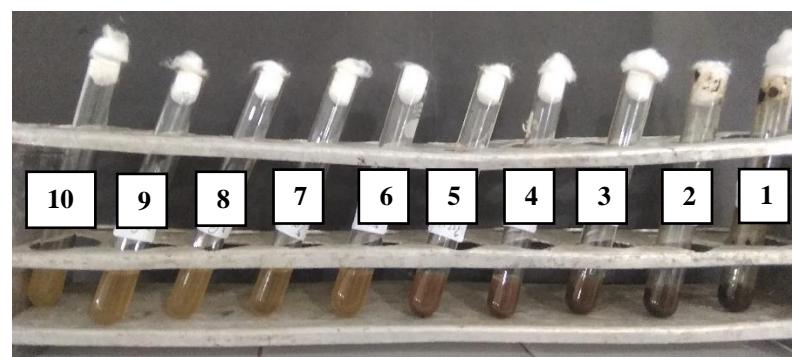
Keterangan :

1. Siprofloksasin
2. Ekstrak etanol 12,5%
3. Fraksi *n*-heksana 12,5%
4. Fraksi kloroform 12,5%
5. Fraksi air 12,5%
6. DMSO 5%

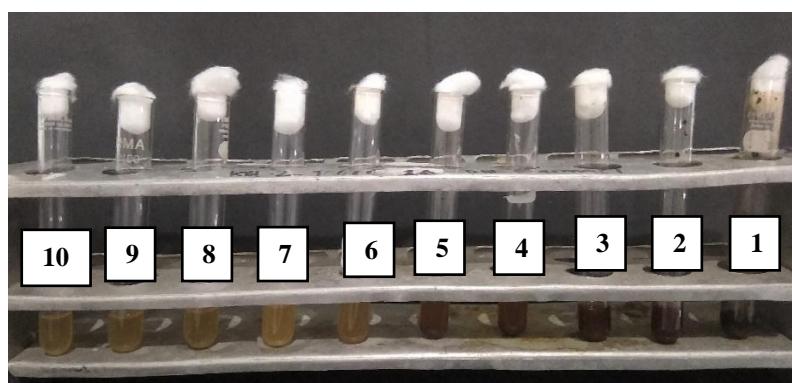
Lampiran 14. Hasil penentuan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum dari fraksi teraktif kloroform terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Gambar larutan stok replikasi I

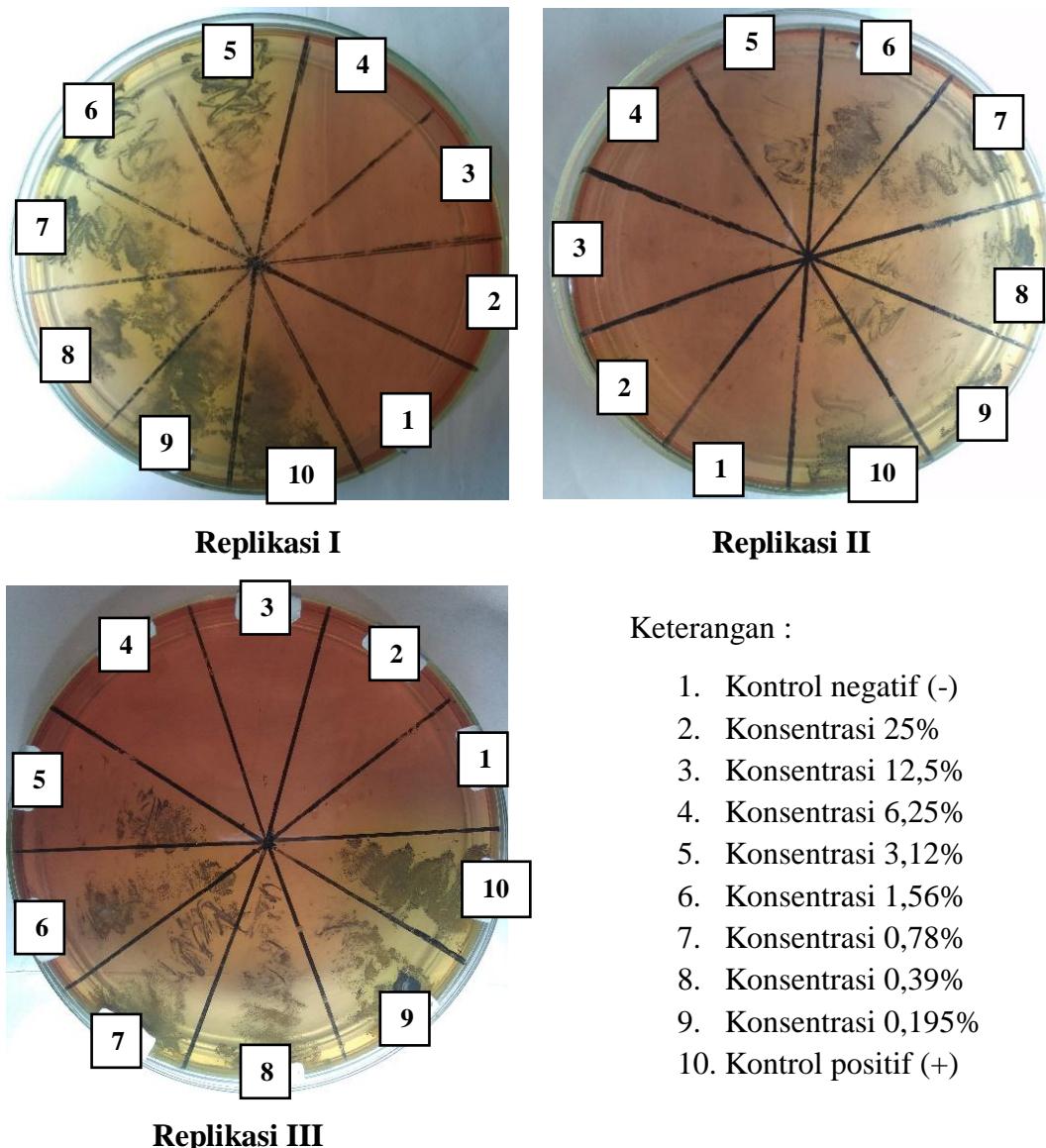


Gambar larutan stok replikasi II



Gambar larutan stok replikasi III

Hasil inokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fraksi kloroform daun karandas



Keterangan :

1. Kontrol negatif (-)
2. Konsentrasi 25%
3. Konsentrasi 12,5%
4. Konsentrasi 6,25%
5. Konsentrasi 3,12%
6. Konsentrasi 1,56%
7. Konsentrasi 0,78%
8. Konsentrasi 0,39%
9. Konsentrasi 0,195%
10. Kontrol positif (+)

Kontrol + : suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Kontrol - : fraksi kloroform dengan konsentrasi 50%

Tabung 2-9 : larutan uji dan suspensi bakteri

Lampiran 15. Perhitungan pengenceran DMSO (Dimetil sulfoksida) 5%

1. Konsentrasi 5%

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

$$V_1 \cdot 100\% = 15 \text{ mL} \cdot 5\%$$

$$V_1 = 0,75 \text{ mL}$$

Dipipet 0,75 mL dari larutan DMSO konsentrasi 100% kemudian ditambah aquadest steril sampai 15 mL.

Lampiran 16. Perhitungan pembuatan seri konsentrasi fraksi *n*-heksana

2. Konsentrasi 50%

Menimbang 0,5 gram fraksi *n*-heksana dilarutkan *n*-heksana sampai 1 mL.

3. Konsentrasi 25%

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

$$V_1 \cdot 50\% = 1 \text{ mL} \cdot 25\%$$

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

Dipipet 0,5 mL dari sediaan konsentrasi 50% kemudian ditambah *n*-heksana sampai 1 mL.

4. Konsentrasi 12,5%

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

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

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

Dipipet 0,5 mL dari sediaan konsentrasi 25% kemudian ditambah *n*-heksana sampai 1 mL.

Lampiran 17. Perhitungan pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi kloroform, dan fraksi air metode difusi

1. Konsentrasi 50%

Menimbang 1 gram ekstrak/fraksi kloroform/fraksi air dilarutkan DMSO 5% sampai 2 mL.

2. Konsentrasi 25%

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

$$V_1 \cdot 50\% = 2 \text{ mL} \cdot 25\%$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Dipipet 1 mL dari sediaan konsentrasi 50% kemudian ditambah DMSO 5% sampai 2 mL.

3. Konsentrasi 12,5%

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

$$V_1 \cdot 25\% = 2 \text{ mL} \cdot 12,5\%$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Dipipet 1 mL dari sediaan konsentrasi 25% kemudian ditambah DMSO 5% sampai 2 mL.

Lampiran 18. Perhitungan larutan stok fraksi kloroform metode dilusi

➤ Konsentrasi 50% (Larutan stok) = $b/v = 50 \text{ gram}/100 \text{ mL} = 1 \text{ gram}/2 \text{ mL}$

Ditimbang 1 gram fraksi kloroform lalu diencerkan dengan larutan DMSO 5% sampai 2 mL.

$$\begin{aligned} \text{➤ Konsentrasi 25% (tabung reaksi 2)} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &= V_1 \cdot 50\% &= 1 \text{ mL} \cdot 25\% \\ &V_1 &= 0,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Dipipet 0,5 mL dari larutan stok kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi 2 yang telah berisi BHI 0,5 mL.

$$\begin{aligned} \text{➤ Konsentrasi 12,5% (tabung reaksi 3)} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &= V_1 \cdot 25\% &= 1 \text{ mL} \cdot 12,5\% \\ &V_1 &= 0,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Dipipet 0,5 mL dari larutan dalam tabung 2 kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi 3 yang telah berisi BHI 0,5 mL.

$$\begin{aligned} \text{➤ Konsentrasi 6,25% (tabung reaksi 4)} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &= V_1 \cdot 12,5\% &= 1 \text{ mL} \cdot 6,25\% \\ &V_1 &= 0,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Dipipet 0,5 mL dari larutan dalam tabung 3 kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi 4 yang telah berisi BHI 0,5 mL.

$$\begin{aligned} \text{➤ Konsentrasi 3,12% (tabung reaksi 5)} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &= V_1 \cdot 6,25\% &= 1 \text{ mL} \cdot 3,12\% \\ &V_1 &= 0,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Dipipet 0,5 mL dari larutan dalam tabung 4 kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi 5 yang telah berisi BHI 0,5 mL.

$$\begin{aligned} \text{➤ Konsentrasi 1,56% (tabung reaksi 6)} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &= V_1 \cdot 3,12\% &= 1 \text{ mL} \cdot 1,56\% \\ &V_1 &= 0,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Dipipet 0,5 mL dari larutan dalam tabung 5 kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi 6 yang telah berisi BHI 0,5 mL.

➤ Konsentrasi 0,78% (tabung reaksi 7) = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$
 $= V_1 \cdot 1,56\% = 1 \text{ mL} \cdot 0,78\%$
 $V_1 = 0,5 \text{ mL}$

Dipipet 0,5 mL dari larutan dalam tabung 6 kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi 7 yang telah berisi BHI 0,5 mL.

➤ Konsentrasi 0,39% (tabung reaksi 8) = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$
 $= V_1 \cdot 0,78\% = 1 \text{ mL} \cdot 0,39\%$
 $V_1 = 0,5 \text{ mL}$

Dipipet 0,5 mL dari larutan dalam tabung 7 kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi 8 yang telah berisi BHI 0,5 mL.

➤ Konsentrasi 0,195% (tabung reaksi 9) = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$
 $= V_1 \cdot 0,39\% = 1 \text{ mL} \cdot 0,195\%$
 $V_1 = 0,5 \text{ mL}$

Dipipet 0,5 mL dari larutan dalam tabung 8 kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi 9 yang telah berisi BHI 0,5 mL.

- Kontrol positif (+) (tabung reaksi 10) = 1 mL suspensi bakteri *S. aureus*
- Kontrol negatif (-) (tabung reaksi 1) = 1 mL fraksi kloroform (50%)

Lampiran 19. Hasil Perhitungan Rf

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut pengembang}}$$

1. Flavonoid

➤ Rf ekstrak

$$Rf = \frac{3,7}{5} = 0,74$$

$$Rf = \frac{1,6}{5} = 0,32$$

➤ Rf fraksi kloroform

$$Rf = \frac{3,7}{5} = 0,74$$

➤ Rf kuersetin (baku)

$$Rf = \frac{3,7}{5} = 0,74$$

3. Tanin

➤ Rf ekstrak

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

$$Rf = \frac{3,6}{5} = 0,72$$

$$Rf = \frac{2}{5} = 0,4$$

➤ Rf fraksi kloroform

$$Rf = \frac{3,7}{5} = 0,74$$

$$Rf = \frac{3,4}{5} = 0,68$$

➤ Rf fraksi asam galat (baku)

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

5. Triterpenoid

➤ Rf ekstrak

$$Rf = \frac{4,8}{5} = 0,96$$

$$Rf = \frac{4,4}{5} = 0,88$$

$$Rf = \frac{3,4}{5} = 0,68$$

$$Rf = \frac{2}{5} = 0,4$$

➤ Rf fraksi kloroform

$$Rf = \frac{4,8}{5} = 0,96$$

$$Rf = \frac{3,4}{5} = 0,68$$

$$Rf = \frac{1,2}{5} = 0,24$$

2. Alkaloid

➤ Rf ekstrak

$$Rf = \frac{4}{5} = 0,8$$

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

$$Rf = \frac{2,3}{5} = 0,46$$

$$Rf = \frac{2}{5} = 0,4$$

➤ Rf fraksi kloroform

$$Rf = \frac{4}{5} = 0,8$$

$$Rf = \frac{2,3}{5} = 0,46$$

4. Steroid

➤ Rf ekstrak

$$Rf = \frac{4}{5} = 0,8$$

$$Rf = \frac{3,9}{5} = 0,78$$

$$Rf = \frac{3,4}{5} = 0,68$$

➤ Rf fraksi kloroform

$$Rf = \frac{4}{5} = 0,8$$

$$Rf = \frac{3,9}{5} = 0,78$$

➤ Rf stigmasterol (baku)

$$Rf = \frac{4}{5} = 0,8$$

Lampiran 20. Hasil uji Kolmogorov-Smirnov, Levene Statistic dan ANOVA

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
zonahambat	42	9,8631	4,95289	,00	24,00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		zonahambat
N		42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9,8631
	Std. Deviation	4,95289
	Absolute	,186
Most Extreme Differences	Positive	,183
	Negative	-,186
Kolmogorov-Smirnov Z		1,208
Asymp. Sig. (2-tailed)		,108

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

zonahambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,979	13	28	,064

ANOVA

zonahambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	990,775	13	76,213	142,265	,000
Within Groups	15,000	28	,536		
Total	1005,775	41			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: zonahambat

Tukey HSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
siprofloksasin	DMSO 5%	23,00000*	,59761	,000	20,8125	25,1875
	Ekstrak 50%	11,91667*	,59761	,000	9,7292	14,1042
	Ekstrak 25%	14,33333*	,59761	,000	12,1458	16,5208
	Ekstrak 12,5%	15,33333*	,59761	,000	13,1458	17,5208
	Fraksi n-heksana 50%	13,25000*	,59761	,000	11,0625	15,4375
	Fraksi n-heksana 25%	14,58333*	,59761	,000	12,3958	16,7708
	Fraksi n-heksana 12,5%	16,16667*	,59761	,000	13,9792	18,3542
	Fraksi kloroform 50%	8,00000*	,59761	,000	5,8125	10,1875
	Fraksi kloroform 25%	10,41667*	,59761	,000	8,2292	12,6042
	Fraksi kloroform 12,5%	14,00000*	,59761	,000	11,8125	16,1875
DMSO 5%	Fraksi air 50%	13,08333*	,59761	,000	10,8958	15,2708
	Fraksi air 25%	14,41667*	,59761	,000	12,2292	16,6042
	Fraksi air 12,5%	15,41667*	,59761	,000	13,2292	17,6042
	siprofloksasin	-23,00000*	,59761	,000	-25,1875	-20,8125
	Ekstrak 50%	-11,08333*	,59761	,000	-13,2708	-8,8958
	Ekstrak 25%	-8,66667*	,59761	,000	-10,8542	-6,4792
	Ekstrak 12,5%	-7,66667*	,59761	,000	-9,8542	-5,4792
	Fraksi n-heksana 50%	-9,75000*	,59761	,000	-11,9375	-7,5625
	Fraksi n-heksana 25%	-8,41667*	,59761	,000	-10,6042	-6,2292
	Fraksi n-heksana 12,5%	-6,83333*	,59761	,000	-9,0208	-4,6458
Ekstrak 50%	Fraksi kloroform 50%	-15,00000*	,59761	,000	-17,1875	-12,8125
	Fraksi kloroform 25%	-12,58333*	,59761	,000	-14,7708	-10,3958
	Fraksi kloroform 12,5%	-9,00000*	,59761	,000	-11,1875	-6,8125
	Fraksi air 50%	-9,91667*	,59761	,000	-12,1042	-7,7292
	Fraksi air 25%	-8,58333*	,59761	,000	-10,7708	-6,3958
	Fraksi air 12,5%	-7,58333*	,59761	,000	-9,7708	-5,3958
	siprofloksasin	-11,91667*	,59761	,000	-14,1042	-9,7292
	DMSO 5%	11,08333*	,59761	,000	8,8958	13,2708
	Ekstrak 25%	2,41667*	,59761	,020	,2292	4,6042
	Ekstrak 12,5%	3,41667*	,59761	,000	1,2292	5,6042
	Fraksi n-heksana 50%	1,33333	,59761	,612	-,8542	3,5208
	Fraksi n-heksana 25%	2,66667*	,59761	,007	,4792	4,8542

	Fraksi n-heksana 12,5%	4,25000*	,59761	,000	2,0625	6,4375
	Fraksi kloroform 50%	-3,91667*	,59761	,000	-6,1042	-1,7292
	Fraksi kloroform 25%	-1,50000	,59761	,436	-3,6875	,6875
	Fraksi kloroform 12,5%	2,08333	,59761	,074	-,1042	4,2708
	Fraksi air 50%	1,16667	,59761	,782	-1,0208	3,3542
	Fraksi air 25%	2,50000*	,59761	,015	,3125	4,6875
	Fraksi air 12,5%	3,50000*	,59761	,000	1,3125	5,6875
	siprofloksasin	-14,33333*	,59761	,000	-16,5208	-12,1458
	DMSO 5%	8,66667*	,59761	,000	6,4792	10,8542
	Ekstrak 50%	-2,41667*	,59761	,020	-4,6042	-,2292
	Ekstrak 12,5%	1,00000	,59761	,909	-1,1875	3,1875
	Fraksi n-heksana 50%	-1,08333	,59761	,853	-3,2708	1,1042
	Fraksi n-heksana 25%	,25000	,59761	1,000	-1,9375	2,4375
Ekstrak 25%	Fraksi n-heksana 12,5%	1,83333	,59761	,173	-,3542	4,0208
	Fraksi kloroform 50%	-6,33333*	,59761	,000	-8,5208	-4,1458
	Fraksi kloroform 25%	-3,91667*	,59761	,000	-6,1042	-1,7292
	Fraksi kloroform 12,5%	-,33333	,59761	1,000	-2,5208	1,8542
	Fraksi air 50%	-1,25000	,59761	,700	-3,4375	,9375
	Fraksi air 25%	,08333	,59761	1,000	-2,1042	2,2708
	Fraksi air 12,5%	1,08333	,59761	,853	-1,1042	3,2708
	siprofloksasin	-15,33333*	,59761	,000	-17,5208	-13,1458
	DMSO 5%	7,66667*	,59761	,000	5,4792	9,8542
	Ekstrak 50%	-3,41667*	,59761	,000	-5,6042	-1,2292
	Ekstrak 25%	-1,00000	,59761	,909	-3,1875	1,1875
	Fraksi n-heksana 50%	-2,08333	,59761	,074	-4,2708	,1042
	Fraksi n-heksana 25%	-,75000	,59761	,989	-2,9375	1,4375
Ekstrak 12,5%	Fraksi n-heksana 12,5%	,83333	,59761	,975	-1,3542	3,0208
	Fraksi kloroform 50%	-7,33333*	,59761	,000	-9,5208	-5,1458
	Fraksi kloroform 25%	-4,91667*	,59761	,000	-7,1042	-2,7292
	Fraksi kloroform 12,5%	-1,33333	,59761	,612	-3,5208	,8542
	Fraksi air 50%	-2,25000*	,59761	,039	-4,4375	-,0625
	Fraksi air 25%	-,91667	,59761	,949	-3,1042	1,2708
	Fraksi air 12,5%	,08333	,59761	1,000	-2,1042	2,2708
	siprofloksasin	-13,25000*	,59761	,000	-15,4375	-11,0625
	DMSO 5%	9,75000*	,59761	,000	7,5625	11,9375
Fraksi n-heksana 50%	Ekstrak 50%	-1,33333	,59761	,612	-3,5208	,8542
	Ekstrak 25%	1,08333	,59761	,853	-1,1042	3,2708
	Ekstrak 12,5%	2,08333	,59761	,074	-,1042	4,2708
	Fraksi n-heksana 25%	1,33333	,59761	,612	-,8542	3,5208
	Fraksi n-heksana 12,5%	2,91667*	,59761	,002	,7292	5,1042

	Fraksi kloroform 50%	-5,25000*	,59761	,000	-7,4375	-3,0625
	Fraksi kloroform 25%	-2,83333*	,59761	,004	-5,0208	-,6458
	Fraksi kloroform 12,5%	,75000	,59761	,989	-1,4375	2,9375
	Fraksi air 50%	-,16667	,59761	1,000	-2,3542	2,0208
	Fraksi air 25%	1,16667	,59761	,782	-1,0208	3,3542
	Fraksi air 12,5%	2,16667	,59761	,054	-,0208	4,3542
	siprofloksasin	-14,58333*	,59761	,000	-16,7708	-12,3958
	DMSO 5%	8,41667*	,59761	,000	6,2292	10,6042
	Ekstrak 50%	-2,66667*	,59761	,007	-4,8542	-,4792
	Ekstrak 25%	-,25000	,59761	1,000	-2,4375	1,9375
	Ekstrak 12,5%	,75000	,59761	,989	-1,4375	2,9375
Fraksi n-heksana 25%	Fraksi n-heksana 50%	-1,33333	,59761	,612	-3,5208	,8542
	Fraksi n-heksana 12,5%	1,58333	,59761	,356	-,6042	3,7708
	Fraksi kloroform 50%	-6,58333*	,59761	,000	-8,7708	-4,3958
	Fraksi kloroform 25%	-4,16667*	,59761	,000	-6,3542	-1,9792
	Fraksi kloroform 12,5%	-,58333	,59761	,999	-2,7708	1,6042
	Fraksi air 50%	-1,50000	,59761	,436	-3,6875	,6875
	Fraksi air 25%	-,16667	,59761	1,000	-2,3542	2,0208
	Fraksi air 12,5%	,83333	,59761	,975	-1,3542	3,0208
	siprofloksasin	-16,16667*	,59761	,000	-18,3542	-13,9792
	DMSO 5%	6,83333*	,59761	,000	4,6458	9,0208
Fraksi n-heksana 12,5%	Ekstrak 50%	-4,25000*	,59761	,000	-6,4375	-2,0625
	Ekstrak 25%	-1,83333	,59761	,173	-4,0208	,3542
	Ekstrak 12,5%	-,83333	,59761	,975	-3,0208	1,3542
	Fraksi n-heksana 50%	-2,91667*	,59761	,002	-5,1042	-,7292
	Fraksi n-heksana 25%	-1,58333	,59761	,356	-3,7708	,6042
	Fraksi kloroform 50%	-8,16667*	,59761	,000	-10,3542	-5,9792
	Fraksi kloroform 25%	-5,75000*	,59761	,000	-7,9375	-3,5625
	Fraksi kloroform 12,5%	-2,16667	,59761	,054	-4,3542	,0208
	Fraksi air 50%	-3,08333*	,59761	,001	-5,2708	-,8958
	Fraksi air 25%	-1,75000	,59761	,224	-3,9375	,4375
Fraksi kloroform 50%	Fraksi air 12,5%	-,75000	,59761	,989	-2,9375	1,4375
	siprofloksasin	-8,00000*	,59761	,000	-10,1875	-5,8125
	DMSO 5%	15,00000*	,59761	,000	12,8125	17,1875
	Ekstrak 50%	3,91667*	,59761	,000	1,7292	6,1042
	Ekstrak 25%	6,33333*	,59761	,000	4,1458	8,5208
	Ekstrak 12,5%	7,33333*	,59761	,000	5,1458	9,5208
	Fraksi n-heksana 50%	5,25000*	,59761	,000	3,0625	7,4375

	Fraksi kloroform 25%	2,41667*	,59761	,020	,2292	4,6042
	Fraksi kloroform 12,5%	6,00000*	,59761	,000	3,8125	8,1875
	Fraksi air 50%	5,08333*	,59761	,000	2,8958	7,2708
	Fraksi air 25%	6,41667*	,59761	,000	4,2292	8,6042
	Fraksi air 12,5%	7,41667*	,59761	,000	5,2292	9,6042
	siprofloksasin	-10,41667*	,59761	,000	-12,6042	-8,2292
	DMSO 5%	12,58333*	,59761	,000	10,3958	14,7708
	Ekstrak 50%	1,50000	,59761	,436	-,6875	3,6875
	Ekstrak 25%	3,91667*	,59761	,000	1,7292	6,1042
	Ekstrak 12,5%	4,91667*	,59761	,000	2,7292	7,1042
Fraksi kloroform 25%	Fraksi n-heksana 50%	2,83333*	,59761	,004	,6458	5,0208
	Fraksi n-heksana 25%	4,16667*	,59761	,000	1,9792	6,3542
	Fraksi n-heksana 12,5%	5,75000*	,59761	,000	3,5625	7,9375
	Fraksi kloroform 50%	-2,41667*	,59761	,020	-4,6042	-,2292
	Fraksi kloroform 12,5%	3,58333*	,59761	,000	1,3958	5,7708
	Fraksi air 50%	2,66667*	,59761	,007	,4792	4,8542
	Fraksi air 25%	4,00000*	,59761	,000	1,8125	6,1875
	Fraksi air 12,5%	5,00000*	,59761	,000	2,8125	7,1875
	siprofloksasin	-14,00000*	,59761	,000	-16,1875	-11,8125
	DMSO 5%	9,00000*	,59761	,000	6,8125	11,1875
Fraksi kloroform 12,5%	Ekstrak 50%	-2,08333	,59761	,074	-4,2708	,1042
	Ekstrak 25%	,33333	,59761	1,000	-1,8542	2,5208
	Ekstrak 12,5%	1,33333	,59761	,612	-,8542	3,5208
	Fraksi n-heksana 50%	-,75000	,59761	,989	-2,9375	1,4375
	Fraksi n-heksana 25%	,58333	,59761	,999	-1,6042	2,7708
	Fraksi n-heksana 12,5%	2,16667	,59761	,054	-,0208	4,3542
	Fraksi kloroform 50%	-6,00000*	,59761	,000	-8,1875	-3,8125
	Fraksi kloroform 25%	-3,58333*	,59761	,000	-5,7708	-1,3958
	Fraksi air 50%	-,91667	,59761	,949	-3,1042	1,2708
	Fraksi air 25%	,41667	,59761	1,000	-1,7708	2,6042
Fraksi air 50%	Fraksi air 12,5%	1,41667	,59761	,522	-,7708	3,6042
	siprofloksasin	-13,08333*	,59761	,000	-15,2708	-10,8958
	DMSO 5%	9,91667*	,59761	,000	7,7292	12,1042
	Ekstrak 50%	-1,16667	,59761	,782	-3,3542	1,0208
	Ekstrak 25%	1,25000	,59761	,700	-,9375	3,4375
	Ekstrak 12,5%	2,25000*	,59761	,039	,0625	4,4375
	Fraksi n-heksana 50%	,16667	,59761	1,000	-2,0208	2,3542

	Fraksi kloroform 25%	-2,66667*	,59761	,007	-4,8542	-,4792
	Fraksi kloroform 12,5%	,91667	,59761	,949	-1,2708	3,1042
	Fraksi air 25%	1,33333	,59761	,612	-,8542	3,5208
	Fraksi air 12,5%	2,33333*	,59761	,028	,1458	4,5208
	siprofloksasin	-14,41667*	,59761	,000	-16,6042	-12,2292
	DMSO 5%	8,58333*	,59761	,000	6,3958	10,7708
	Ekstrak 50%	-2,50000*	,59761	,015	-4,6875	-,3125
	Ekstrak 25%	-,08333	,59761	1,000	-2,2708	2,1042
	Ekstrak 12,5%	,91667	,59761	,949	-1,2708	3,1042
	Fraksi n-heksana 50%	-1,16667	,59761	,782	-3,3542	1,0208
Fraksi air 25%	Fraksi n-heksana 25%	,16667	,59761	1,000	-2,0208	2,3542
	Fraksi n-heksana 12,5%	1,75000	,59761	,224	-,4375	3,9375
	Fraksi kloroform 50%	-6,41667*	,59761	,000	-8,6042	-4,2292
	Fraksi kloroform 25%	-4,00000*	,59761	,000	-6,1875	-1,8125
	Fraksi kloroform 12,5%	-,41667	,59761	1,000	-2,6042	1,7708
	Fraksi air 50%	-1,33333	,59761	,612	-3,5208	,8542
	Fraksi air 12,5%	1,00000	,59761	,909	-1,1875	3,1875
	siprofloksasin	-15,41667*	,59761	,000	-17,6042	-13,2292
	DMSO 5%	7,58333*	,59761	,000	5,3958	9,7708
	Ekstrak 50%	-3,50000*	,59761	,000	-5,6875	-1,3125
	Ekstrak 25%	-,108333	,59761	,853	-3,2708	1,1042
	Ekstrak 12,5%	-,08333	,59761	1,000	-2,2708	2,1042
	Fraksi n-heksana 50%	-2,16667	,59761	,054	-4,3542	,0208
Fraksi air 12,5%	Fraksi n-heksana 25%	-,83333	,59761	,975	-3,0208	1,3542
	Fraksi n-heksana 12,5%	,75000	,59761	,989	-1,4375	2,9375
	Fraksi kloroform 50%	-7,41667*	,59761	,000	-9,6042	-5,2292
	Fraksi kloroform 25%	-5,00000*	,59761	,000	-7,1875	-2,8125
	Fraksi kloroform 12,5%	-1,41667	,59761	,522	-3,6042	,7708
	Fraksi air 50%	-2,33333*	,59761	,028	-4,5208	-,1458
	Fraksi air 25%	-1,00000	,59761	,909	-3,1875	1,1875

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

zonahambatTukey HSD^a

konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
DMSO 5%	3	,0000							
Fraksi n-heksana 12,5%	3		6,8333						
Fraksi air 12,5%	3			7,5833	7,5833				
Ekstrak 12,5%	3				7,6667	7,6667			
Fraksi n-heksana 25%	3					8,4167	8,4167		
Fraksi air 25%	3						8,5833	8,5833	
Ekstrak 25%	3							8,6667	8,6667
Fraksi kloroform 12,5%	3						9,0000	9,0000	9,0000
Fraksi n-heksana 50%	3							9,7500	9,7500
Fraksi air 50%	3								9,9167
Ekstrak 50%	3								
Fraksi kloroform 25%	3								11,0833
Fraksi kloroform 50%	3								
siprofloksasin	3								
Sig.		1,000	,054	,054	,436	,074	,436	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Lampiran 21. Formulasi dan pembuatan *Vogel Johnson Agar (VJA)*

Tryptone	10,0 gram
Yeast extract.....	5,0 gram
Mannitol	10,0 gram
Dipotassium phosphate.....	5,0 gram
Lithium chloride	5,0 gram
Glycine	10,0 gram
Phenol red.....	0,025 gram
Agar	16,0 gram

Cara Pembuatan :

Timbang 61 gram media, ditambahkan aquadest sampai 1 liter. Dipanaskan hingga mendidih. disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Tambahkan kalium tellurit 2-3 tetes. pH media *Vogel Johnson Agar (VJA)* adalah $7,2 \pm 0,2$ pada suhu 25°C.

Lampiran 22. Formulasi dan pembuatan *Mueller-Hinton Agar (MHA)*

Beef extract.....	2,0 gram
Casein hydrolysate.....	17,5 gram
Starch.....	1,5 gram
Agar	17,0 gram

Cara Pembuatan :

Timbang 38 gram media, ditambahkan aquadest hingga 1 liter. Dipanaskan sampai mendidih. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. pH media *Mueller-Hinton Agar (MHA)* adalah $7,3 \pm 0,1$ pada suhu 25°C.

Lampiran 23. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion (BHI)*

Brain infusion solids	12,5 gram
Beef heart infusion solids.....	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram

Glucose.....2,0 gram

Sodium Chloride5,0 gram

Disodium phosphate2,5 gram

Cara Pembuatan :

Timbang 37 gram media, ditambahkan aquadest sampai 1 liter. Dipanaskan sampai larut. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. pH media *Brain Heart Infusion* (BHI) adalah $7,4 \pm 0,2$ pada suhu 25°C.