

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Pertama, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun alamanda (*A. Cathartica* L.) memiliki efek penghambatan pembentukan biofilm *S. mutans* ATCC 25175.

Kedua, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun alamanda (*A. Cathartica* L.) mempunyai aktivitas paling efektif dalam menghambat pembentukan biofilm *S. mutans* ATCC 25175.

Ketiga, nilai IC_{50} dari ekstrak, fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana dari daun alamanda dalam menghambat pembentukan biofilm *S. mutans* ATCC 25175 adalah 1,90; 1,65; 1,38; dan 1,69 mg/mL.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan pengukuran aktivitas pertumbuhan biofilm menggunakan *Confocal Laser Scanning Microscope* (CLSM) supaya dapat mengetahui secara kualitatif dan kuantitatif pertumbuhan biofilm yang terjadi.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut aktivitas antibiofilm daun alamanda (*A. cathartica* L.) terhadap bakteri patogen lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, Bahar. 2007. *Chemistry Of Natural Products*. New Delhi: Departemen of Pharmaceutical Chemistry of Science. Jamia Hamdard.
- Anintia Nitami Faradillah, Risna Agustina, Laode Rijai. 2015. Aktivitas Sediaan Gel Antiseptik Berbahan Aktif Fraksi *n*-Butanol Daun Alamanda (*Allamanda cathartica* L.). Samarinda: Research and Development Farmaka Tropical Laboratory. Samarinda: Faculty of Pharmacy, Mulawarman University. East Kalimantan.
- Arananurudin AS, Winarsih, Winayat M. 2004. Uji efektivitas dekok bunga belimbing wuluh sebagai antimikroba terhadap bakteri *Salmonella typhi* secara in vitro. *Jurnal kedokteran Brawijaya* 20: 1.
- Archer, N.K., M.J. Mazaitis, J.W. Costerton, J.G. Leid, M.E. Powers, M.E. Shirtliff. 2011. *Staphylococcus Aureus* Biofilms Properties, Regulation and Roles in Human Disease. *Landes Bioscience. Virulence* 2:5, 445- 459.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kemenkes RI. 2013. Riset Kesehatan Dasar. Badan Penelitian Pengembangan Kesehatan. Jakarta.
- Banu, R. H., Nagarajan, N. 2014. TLC and HPTLC fingerprinting of leaf extracts of *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merrill. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2(6). 29-33
- Branen LA, Davidson PM. 1993. *Antimicrobial in Foods*. New York: Marcel Dekker.
- Chamdit, S. and P. Siripermpool. 2012. Antimicrobial Effect of Clove and Lemongrass Oils Against Planktonic Cells and Biofilm of *Staphylococcus aureus*. *Mahidol University Juournal of Pharmaceuticl Sciences*. 39 (2). 28-36.
- Costerton JW, Stewart PS. 2001. *Battling Biofilm*. *Scientific American*. Hlm: 61-67.
- Davey ME, G O'Toole, 2000. Microbial Biofilm: from Ecology to Molecular Genetics. *Mic and Mol. Reviews*. 64(4): 847-867.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2005. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia* (1). Jilid II. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Farmakope Herbal Indonesia*. 1st edn. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Donlan, R. M. 2002. *Biofilms: microbial life on surfaces*. *Emerging infectious disease*. 8(9): 881-890.

- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam: Farmakognosi*. Jilid ke-1 Jakarta: Penebar Swadaya.
- Harbone JB. 2006. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi III. Penerbit ITB. Bandung.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Padmawinata K, Sudiro I, penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Method*.
- Harborne JB. 2007. *Metode Fitokimia: Penuntun Dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan* 4th, Kosasih P, Iwang S. Penerjemah; Sofia N, Editor. Bandung: ITB Press. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Hidayat, R.S., Rodame, M. N. 2015. *Kitab Tanaman Obat*. Agriflo (Penebar Swadaya Grup. Jakarta.
- Huang R, Li M, Gregory RL. 2011. *Bacterial interactions in dental biofilm Virulence*. 2(5):435- 4.
- Jagani, S., R. Chelikani, D. Kim. 2008. Effect of Phenol and Natural Phenolic Compounds on Biofilm Formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research* Volume 25, Issue 4
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Maulany, R. F., dan Edinugroho, penerjemah; Salemba Medika, Jakarta. hlm 49, 335, 372.
- Jawetz, Melnick & Adelberg. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika.
- Jouvenaz D P M S Blum, J G Macconnell. 1972. *Antibacterial Activity of Venom Alkaloids from the Imported Fire Ant, Solenopsis invicta Burenl, Antimicrob. Agent Chemother* 2: 291-293.
- Karou, D. 2006. *Antibacterial activity of alkaloids from Sida acuta*. *African J. of Biotechnology*. 5: 195-200.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Kristijono A. 2008 *Obat Tradisional dan Fitofarmaka*, Kediri: Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri.
- Kusmiati, Erlindha gangga, Evi Irmawati. 2014. Di dalam: Prodi Pendidikan Biologi FKIP UNS, editor. *Uji Aktivitas Antimikroba Dan Toksisitas Dengan Metode Bslt Serta Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Alamanda (Allamanda cathartica L.)*. *Prosiding Seminar Biologi Vol 11. No 1 (2014): Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi*. Hlm 131-137.
- Kusuma GA, Longdong SNJ, Tumbal RA. 2011. Uji daya hambat dari ekstrak tanaman pacar air (*Imptiens balsamica L.*) terhadap perumbuhan bakteri

Aeromonas hydrophila. *Jurnal Ilmiah Agrobisnis Perikanan UNSRAT*.

- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba Di Laboratorium*. Jakarta: Erlangga.
- Lee, J-H. *et al.* 2013. Antibiofilm Activities of Quercetin and Tannic Acid Against *Staphylococcus aureus*. *Biofouling: The Journal of 7 Bioadhesion and Biofilm Research*. Vol 29. Issue 5.
- Lenny S. 2006. Senyawa flavonoida, fenil propanoid, dan alkaloid. [Skripsi]. Medan: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara.
- Lewis K. 2001. *Riddle of biofilm resistance. Antimicrob agents chemotherapy*. Hlm: 999-1007.
- List P. H., P. C. Schmidt. 2000. *Phytopharmaceuticals Technology*. Alih bahasa: David Eilaby. Florida CRC Press.
- Madduliri, Suresh, Rao, K. Babu. Sitaram, B. 2013. In vitro evaluation of five Indigenous plants extract Againsts five bacterial Patogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Phrmaceutical Science*. 5(4) : 679-684.
- Mah TFC, O'Toole GA. 2001. *Mechanism Of Biofilm Resistance To Antimicrobial Agent*. Vol 9. No.1.
- Manoi, F. dan Balitro. 2009. Binahong (*Anredera Cordifolia*) Sebagai Obat. Bogor : Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Marliana, S. D., Suryanti, V., Suyono. 2005, Skrining Fitiokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol. Surakarta: FMIPA UNS.
- Melchior, MB, H Vaarkamp and J Fink-Gremmels, 2006. Biofilm: Arole in reurrent mastitis infection The Vet. Journal 171: 398407.
- Nikolic, et al. 2014. *Antibacterial and anti-biofilm of ginger (Zingiber officinale (Roscoe)) ethanolic extract*. laboratory of microbiology, departemen of biology and ecology. Faculty of science, University of Kragujevac. Hal. 129-136.
- Nishino C, Enoki N, dan Tawata. 1987. Antibacterial activity of flavonoids againsts *Staphylococcus epidermidis* a skin bacterium. *Journal Agric Biochem*. 51-139- 143.
- Nuryastuti, T. 2010. Environmental Signals Affecting ica-expression in *Staphylococcus epidermidis* Biofilm [Thesis]. University Medical Center Groningen, University of Groningen, Netherlands.
- Okada, A., E. Sato, T. Kouchi, R. Kimizuka, T. Kato, K. Okuda. 2008. Inhibitory Effect of Cranberry Polyphenol on Cariogenic Bacteria. *Bull Tokyo Dent Coll*, 49(3):107-112.

- O'Toole, G. A. 2011. Microtiter dish biofilm formation assay. *Journal of visualized experiments*: hlm 47.
- Parikesit, Mario. 2011. *Khasiat dan manfaat belimbing wuluh*. Surabaya: Stomata.
- Prakash B., B.M. Veeregowda and G. Krishnappa. 2003. *Biofilms: A Survival Strategy of Bacteri*. *Current Sci.*, 85: 1299-1307.
- Pratiwi, S. U., Lagendijk, E. L., Hertiani, T., De Weert, S., dan Van Den Hondel, C. A. 2015. Antimicrobial effects of Indonesian medicinal plants extracts on planktonic and biofilm growth of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Horticulture*.
- Pratiwi, Sylvia. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Putri, W.S., Warditiani, N.K., Larasanty, L.P.F. 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). Jimbaran: FMIPA, Universitas Udayana.
- Radji, Maksun dan Manurung, Juli. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi Kedokteran*. Buku Kedokteran EGC, Jakarta. Hlm 98-153.
- Rasamiravaka T, Labtani Q, Duez P, El Jaziri M. 2015. The formation of biofilm by *pseudomonas aeruginosa*: a review of the natural and synthetic compounds interfering with control mechanisms. *BioMed Research International*. 2015:759348.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi VI. Kosasih Padmawinata, penerjemah; Bandung: ITB Press. Terjemahan dari: *The Organic Constituents of Higher plants*.
- Rohde, H., S. Frankenberger, U. Zahringer, D. Mack. 2010. Structure, Function and Contribution of Polysaccharide Intercellular Adhesin (PIA) to *Staphylococcus epidermidis* Biofilm Formation and Pathogenesis of Biomaterial Associated Infections. Elsevier. *European Journal of Cell Biology*. Vol 89. Issue 1.
- Samarayanke LP. 2002. *Essential Microbiology For Dentistry*. Philadelphia: Saunders Company.
- Silvana, Rimpok. Billy J. Kepel. Krista V. Siagian. 2015. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia Steenis*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara In Vitro. Fakultas Kedokteran. UNSRAT.
- Simoës AO, Castro MM de, Kinoshita LS. 2006. Calycine colleters of seven species of *Apocynaceae* (Apocynoideae) from Brazil. *Botanic J Linn Soc* 152(3):387-98.
- Sri Ramayanti, Idral P. 2013. Peran makanan terhadap kejadian karies gigi. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. Maret 2013 - September 2013. Vol. 7. No. 2.

- Sumastuti dan Sonlimar M. 2002. Efek Sitotoksik ekstrak buah dan daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (scheff.) Boerl.) terhadap sel hela. *Media* 28 (12): 773-777.
- Taganna, J.C., J.P. Quanico, R.M. Perono, E.C. Amor, W.L. Rivera. 2011. Tannin-rich Fraction from *Terminalia catappa* Inhibits Quorum Sensing (QS) in *Chromobacterium violaceum* and the QS-Controlled Biofilm Maturation and LasA Staphylolytic Activity in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal Ethnopharmacol.* 2011 Apr 12;134(3):865-71.
- Tarigan. 2012. Karies Gigi. *Kasus Karies pada Anak Balita*. Medan : EGC. <http://health.kompas.com> [4 April 2019].
- Tatiana, S. 2018. Ekstrak dan fraksi teh hijau (*Camellia sinensis* L. Kuntze.) sebagai antibiofilm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dan *staphylococcus aureus* ATCC 25923. [Tesis]. Surakarta: Pasca Sarjana Universitas Setia Budi Surakarta.
- Tiwari P., Bimleshk., MandeepK., Gurpreetk., Harleen K. 2011. *Skrining Fitokimia dan ekstraksi. Internasional Pharmaceutical Science Jan-Maret 2011* : Vool 1. Halaman 113-116.
- Vikram, A., G.K. Jayaprakasha, P.R. Jesudhasan, S.D. Pillai, B.S. Patil. 2010. Suppression of Bacterial Cell-Cell Signalling, Biofilm Formation and Type III Secretion System by Citrus Flavonoids. *Journal Appl Microbiol.* 2010 Aug;109(2):515-27.
- Willi W. Masfiah. Siti nurul. 2018. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun binahong (*anredera cordifolia* (ten.) Steenis) terhadap penghambatan bakteri *streptococcus mutans* secara in vitro. Fakultas Farmasi, Unissula.
- Winarno, Fardiaz D, Fardiaz S. 1973. Ekstraksi, Kromatografi, dan Elektroforesis. Bogor: Fateta, IPB.
- Yarwood, J.M., D.J. Bartels, E.M. Volper, E.P. Greenberg. 2004. Quorum Sensing in *Staphylococcus aureus* Biofilms. *Journal Bacteriol*, vol. 186 no. 6 1838-1850.
- Yuanita N K. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Rambutuan (*Nephelium Lappaceum*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Determinasi tanaman alamanda (*A. Cathartica* L.)



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS BIOLOGI
LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN

Jalan Teknika Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telpun (0274) 6492262/6492272; Fax: (0274)580839

SURAT KETERANGAN

Nomor : 014654/S.Tb./VIII/2019

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

Nama : Ismin Yulianti
NIM : 22164951A
Asal instansi : Fakultas Farmasi Universitas Setian Budi Surakarta

telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

Kingdom : Plantae
Divisio : Tracheophyta
Classis : Magnoliopsida
Ordo : Apocynales
Familia : Apocynaceae
Genus : *Alamanda*
Species : *Allamanda cathartica* L.
Sinonim : *Allamanda hendersonii* W.Bull ex Dombrain.,
Allamanda latifolia C.Presl., *Allamanda linnaei* Pohl.,
Allamanda salicifolia hort.
Nama Lokal : Alamanda

identifikasi tersebut dibantu oleh Prof. Dr. Purnomo, M.S.

Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Mengetahui,
Dekan Fakultas Biologi
Universitas Gadjah Mada

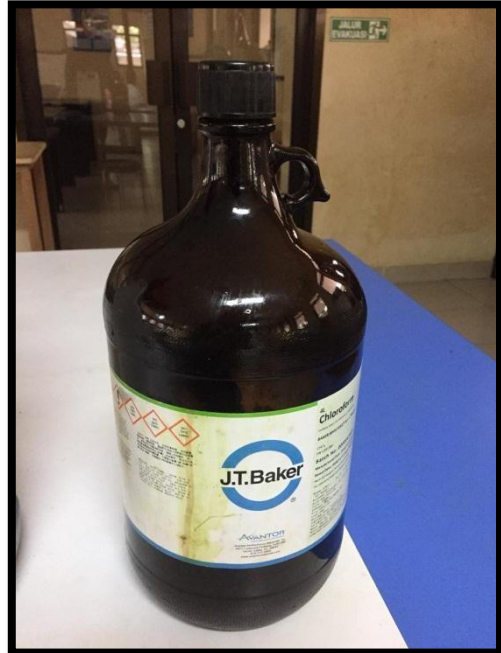


Prof. Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc.
NIP. 197003261995121001

Yogyakarta, 19 Agustus 2019
Kepala Laboratorium
Sistematika Tumbuhan
Fakultas Biologi UGM

Prof. Dr. Purnomo, M.S.
NIP. 195504211982031005

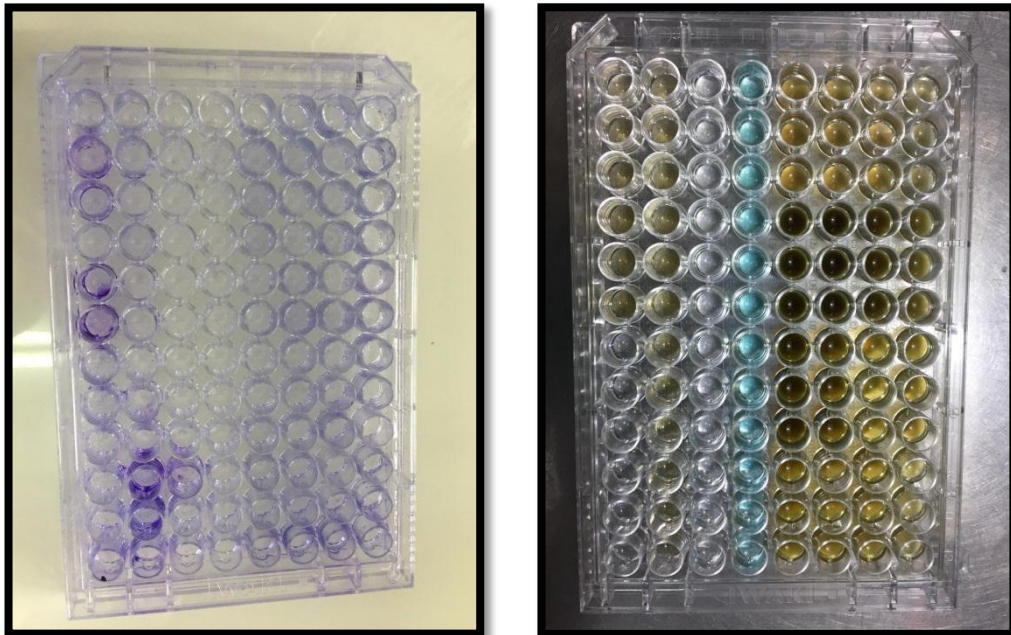
Lampiran 2. Gambar botol maserasi dan serbuk daun alamanda



Lampiran 3. Gambar kain flannel dan corong pisah



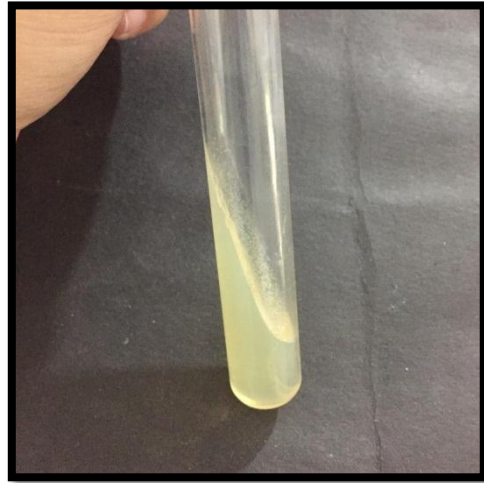
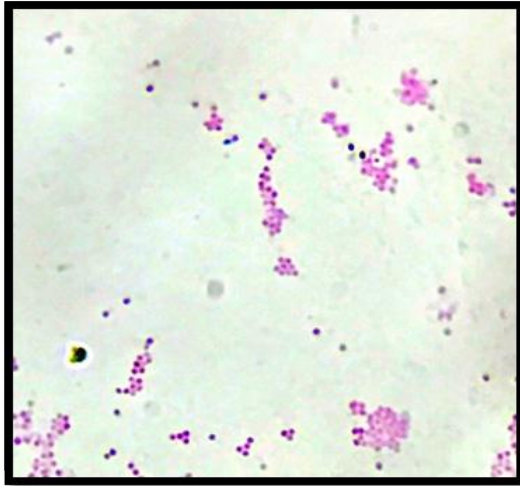
Lampiran 4. Gambar *microplate*



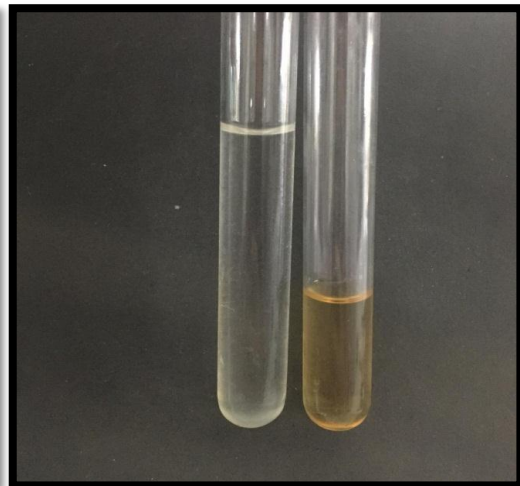
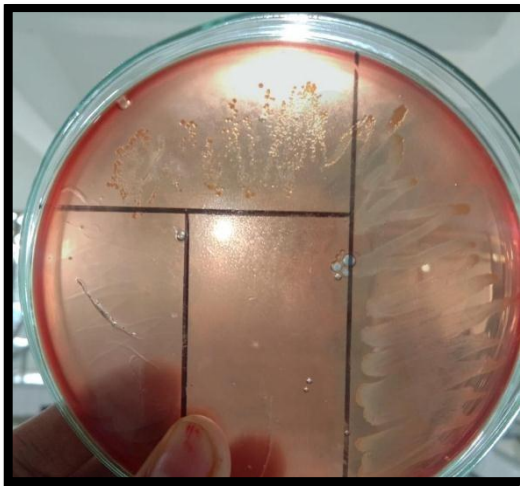
Lampiran 5. Gambar kristal violet dan alat *elisa reader*












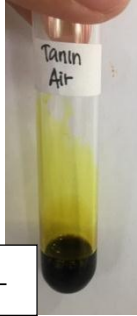




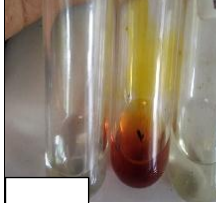





Lampiran 6. Gambar koloni bakteri dan bakteri *S. mutans* ATCC 25175



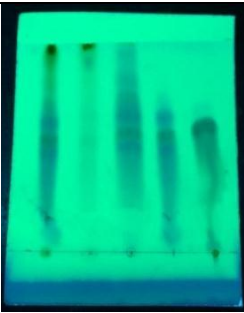
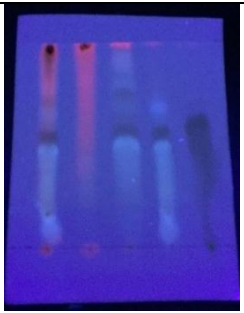
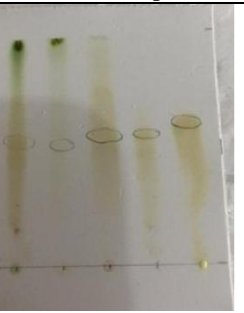
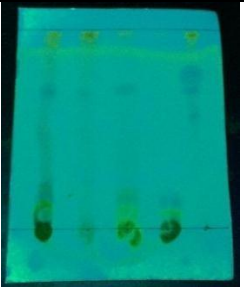
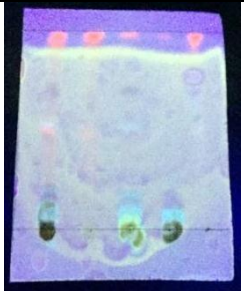
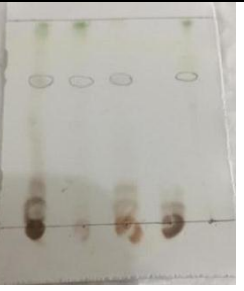
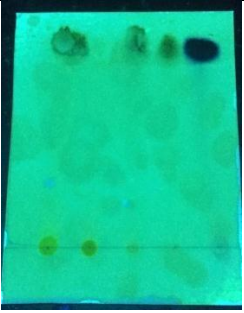
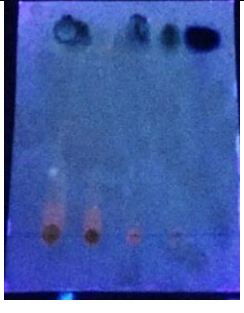
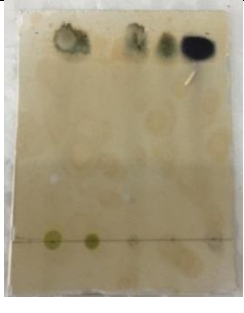
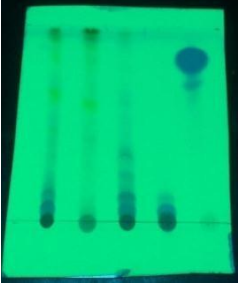
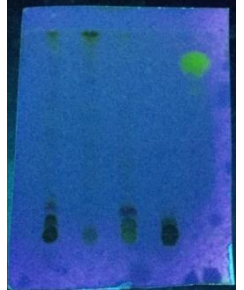
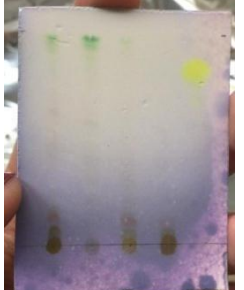
Lampiran 7. Gambar media agar darah dan suspensi bakteri



Lampiran 8. Gambar hasil identifikasi serbuk, ekstrak dan fraksi daun alamanda

Senyawa	Bahan Uji				
	Serbuk	Ekstrak	<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
F L A V O N O I D	 +	 +	 -	 +	 +
T A N I N	 +	 +	 +	 +	 +
A L K A L O I D	 +	 +	 +	 +	 -
S A P O N I N	 +	 +	 +	 +	 +

Lampiran 9. Hasil identifikasi senyawa kimia dengan kromatografi lapis tipis

Identifikasi	UV 254 nm	UV 366 nm	Setelah disemprot	Keterangan
Flavonoid				<ol style="list-style-type: none"> 1. Ekstrak 2. Fraksi n-heksan 3. Fraksi etil 4. Fraksi air 5. Baku pembanding (Kuersetin)
Steroid				<ol style="list-style-type: none"> 1. Ekstrak 2. Fraksi n-heksan 3. Fraksi etil 4. Fraksi air 5. Baku pembanding (Stigmasterol)
Tanin				<ol style="list-style-type: none"> 1. Ekstrak 2. Fraksi n-heksan 3. Fraksi etil 4. Fraksi air 5. Baku pembanding (Asam galat)
Alkaloid				<ol style="list-style-type: none"> 1. Ekstrak 2. Fraksi n-heksan 3. Fraksi etil 4. Fraksi air 5. Baku Pembanding (Papaverin HCl)

Lampiran 10. Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah daun alamanda

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (%)b/b
4.400	1000	22,73%

$$\begin{aligned} \text{Rumus} &= \frac{\text{Bobot kering}}{\text{Bobot basah}} \times 100\% \\ &= \frac{1.000}{4.400} \times 100\% = 22,73\% \end{aligned}$$

Lampiran 11. Penetapan kadar air ekstrak daun alamanda.

Ekstrak	Penimbangan (g)	Volume air (mL)	Kadar air (%)
Daun alamanda	20,092	1,4	7
	20,128	1,3	6,5
	20,103	1,5	7,5
Rata-rata	20,108	1,4	7

Perhitungan

$$\text{Kadar} = \frac{\text{Volume terbaca}}{\text{Berat bahan}} \times 100\%$$

1. Penimbangan I

Berat ekstrak : 20,092 gram

Volume pada skala : 1,4

$$\text{Kadar air} = \frac{1,4}{20,092} \times 100\% = 7\%$$

2. Penimbangan II

Berat ekstrak : 20,128 gram

Volume pada skala : 1,3

$$\text{Kadar air} = \frac{1,3}{20,128} \times 100\% = 6,5\%$$

3. Penimbangan III

Berat ekstrak : 20,103 gram

Volume pada skala : 1,5

$$\text{Kadar air} = \frac{1,5}{20,103} \times 100\% = 7,5\%$$

Lampiran 12. Perhitungan rendemen ekstrak dan fraksi daun alamanda.

Serbuk (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
700	176,934	25,27

Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun alamanda

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Bobot kering}}{\text{Bobot basah}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{176,934}{700} \times 25,27\%$$

Bobot ekstrak etanol (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)
30	6,178	20,59

Perhitungan rendemen fraksi *n*-heksan

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{6,178}{30} \times 100\% = 20,59\%$$

Bobot ekstrak etanol (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)
30	3,092	10,30

Perhitungan rendemen fraksi etil asetat

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{3,092}{30} \times 10,30\%$$

Bobot ekstrak etanol (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)
30	8,021	26,73

Perhitungan rendemen fraksi air

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Bobot fraksi}}{\text{Bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{8,021}{30} \times 26,73\%$$

Lampiran 13. Hasil uji biokimia



Uji katalase



Uji koagulase

Lampiran 14. Hasil optimasi panjang gelombang maksimum biofilm *S. mutans* ATCC 25175.

No	Absorbansi		
	490nm	550nm	630nm
1	0,098	0,275	0,189
2	0,081	0,119	0,104
3	0,118	0,170	0,156
4	0,044	0,060	0,070
5	0,046	0,053	0,060
6	0,039	0,052	0,049
7	0,056	0,071	0,066
RATA-RATA	0,069	0,114	0,099

Lampiran 15. Hasil optimasi pembentukan biofilm *S. mutans* ATCC 25175

No	ABSORBANSI	
	HARI KE-1	HARI KE-4
1	0,101	0,275
2	0,132	0,119
3	0,088	0,170
4	0,094	0,060
5	0,111	0,053
6	0,105	0,052
7	0,097	0,071
RATA-RATA	0,104	0,114

Lampiran 16. Hasil uji aktivitas antibiofilm ekstrak dan fraksi daun alamanda terhadap biofilm *S. mutans* ATCC 25175.

Sampel		Absorbansi Penghambatan biofilm							
		2 mg/ml	4 mg/ml	6 mg/ml	8 mg/ml	Kontrol +	Kontrol pelarut	Kontrol -	Kontrol media
Ekstrak	I	0,097	0,087	0,105	0,103	0,109	0,143	0,122	0,092
	II	0,097	0,114	0,124	0,132	0,118	0,09	0,142	0,086
	III	0,096	0,102	0,102	0,091	0,107	0,125	0,085	0,115
Rata-rata		0,091	0,101	0,110	0,108	0,111	0,119	0,116	0,097
Fraksi air	I	0,085	0,096	0,081	0,083	0,112	0,073	0,076	0,093
	II	0,117	0,097	0,111	0,093	0,101	0,083	0,09	0,118
	III	0,123	0,078	0,104	0,103	0,087	0,091	0,098	0,109
Rata-rata		0,108	0,090	0,098	0,093	0,1	0,082	0,088	0,107
Fraksi etil asetat	I	0,125	0,12	0,083	0,097	0,086	0,082	0,096	0,096
	II	0,095	0,091	0,086	0,077	0,085	0,083	0,066	0,143
	III	0,096	0,096	0,085	0,08	0,08	0,066	0,075	0,15
Rata-rata		0,105	0,102	0,084	0,846	0,084	0,077	0,079	0,129
Fraksi n heksana	I	0,097	0,11	0,095	0,099	0,085	0,065	0,07	0,154
	II	0,184	0,095	0,107	0,082	0,1	0,081	0,075	0,164
	III	0,11	0,103	0,097	0,112	0,092	0,099	0,064	0,081
Rata-rata		0,130	0,103	0,099	0,097	0,092	0,082	0,069	0,133

- Perhitungan Aktivitas Penghambatan ekstrak pada dosis 2mg/ml biofilm *S. mutans* ATCC 25175 (%).

$$\% \text{ penghambatan} = \left(1 - \left(\frac{xODt - xODmc}{xODvc} \right) \right) \times 100\%$$

$$\% \text{ penghambatan} = \left(1 - \left(\frac{0,097 - 0,122}{0,143} \right) \right) \times 100\%$$

Sampel		Aktivitas Penghambatan biofilm <i>S. mutans</i> ATCC 25175 (%).			
Ekstrak		2 mg/ml	4 mg/ml	6 mg/ml	8 mg/ml
	I	82,52	75,53	88,11	86,72
	II	52,22	68,89	80	88,89
	III	92	86,4	86,4	95,2
Rata-rata		75,58	76,94	84,837	90,27
Fraksi air	I	87,67	72,6	93,84	90,42
	II	67,47	91,57	74,22	96,63
	III	72,53	78,02	93,41	94,18
Rata-rata		75,89	80,73	87,157	93,743
Fraksi etil asetat	I	64,39	72,93	77,32	89,03
	II	67,11	71,93	75,78	86,87
	III	73,34	68,18	84,5	82,43
Rata-rata		68,28	71,013	79,2	86,11
Fraksi n heksana	I	58,46	38,46	60	55,39
	II	34,56	75,31	49,63	91,36
	III	53,34	60,61	66,67	57,52
Rata-rata		48,787	58,127	58,767	68,09

Regresi linier aktivitas penghambatan biofilm *S. mutans* ATCC 25175

No	Sampel	Regresi Linier
		<i>S. mutans</i> ATCC 25175
1	Ekstrak	$Y=0,6891 + 0,0259X$
2	Fraksi air	$Y=0,6938 + 0,0299X$
3	Fraksi etil asetat	$Y=0,5906 + 0,0358X$
4	Fraksi <i>n</i> -heksana	$Y=0,4379 + 0,0292X$

- Perhitungan IC 50 penghambatan biofilm *S. mutans* ATCC 25175.

Fraksi air $Y = 0,6938 + 0,0299X$

$$X = \frac{50-0,6938}{0,0299} = 1649 \text{ ppm}$$

Fraksi etil asetat $Y = 0,5906 + 0,0358X$

$$X = \frac{50-0,5906}{0,0358} = 1380 \text{ ppm}$$

Fraksi *n* heksana $Y = 0,4379 + 0,0292X$

$$X = \frac{50-0,4379}{0,0292} = 1692 \text{ ppm}$$

Ekstrak $Y = 0,6891 + 0,0259X$

$$X = \frac{50-0,6891}{0,0259} = 1903 \text{ ppm}$$

Lampiran 17. Hasil Uji Statistik Aktivitas Penghambatan biofilm *S. Mutans* ATCC 25175.

1. Uji Normalitas *One-Sample Kolmogorov Smirnov*

Tujuan Uji Normalitas *One-Sample Kolmogorov Smirnov* adalah ntuk melihat normalitas distribusi data densitas optik uji penghambatan biofilm *S. mutans* ATCC 25175.

		absorbansi	Sampel
N		51	51
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,09916	3,35
	Std. Deviation	,018778	1,246
Most Extreme Differences	Absolute	,134	,169
	Positive	,134	,155
	Negative	-,079	-,169
Kolmogorov-Smirnov Z		,957	1,205
Asymp. Sig. (2-tailed)		,319	,109

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hipotesis :

Ho : Data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm terdistribusi normal

Ha : Data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm tidak terdistribusi normal.

Pengambilan Kesimpulan:

- Bila signifikansi $\leq 0,05$ Ho ditolak
- Bila signifikansi $\geq 0,05$ Ho diterima

Kesimpulan : Data densitas optik penghambatan biofilm *S. mutans* ATCC 25175 terdistribusi normal ($p \geq 0,05$).

2. Uji Homogenitas (*Levene*)

Tujuan uji homogenitas (*Levene*) adalah untuk melihat homogenitas data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm *S. mutans* ATCC 25175.

Test of Homogeneity of Variances

absorbansi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,595	4	46	,668

Hipotesis :

Ho : Data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm bervariasi homogen

Ha : Data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm tidak bervariasi homogen

Pengambilan Kesimpulan:

- Bila signifikansi $\geq 0,05$ Ho diterima
- Bila signifikansi $\leq 0,05$ Ho ditolak

Kesimpulan : Data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm *S. mutans* ATCC 25175 bervariasi homogen ($p \geq 0,05$). sehingga dilanjutkan dengan uji Anova.

3. Uji *One-Way* ANOVA

Tujuan uji *One-Way* ANOVA untuk melihat data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm *S. mutans* ATCC 25175 antar konsentrasi terdapat perbedaan secara bermakna atau tidak.

a. Anova

absorbansi

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,004	4	,001	3,154	,023
Within Groups	,014	46	,000		
Total	,018	50			

Hipotesa :

Ho : Data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm tidak berbeda secara bermakna

Ha : Data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm berbeda secara bermakna

Pengambilan Kesimpulan:

- Bila signifikansi $\geq 0,05$ Ho diterima.
- Bila signifikansi $\leq 0,05$ Ho ditolak

Kesimpulan : Data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm berbeda secara bermakna ($p \leq 0,05$), sehingga dilanjutkan uji *post-hoc*

Hasil uji post hoc penghambatan biofilm *S. mutans* ATCC 25175.

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: absorbansi						
Bonferroni						
(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	5% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	Ekstrak	-,032833*	,011195	,042	-,06585	,00018
	fraksi etil asetat	-,022917*	,011195	,044	-,05593	,01010
	fraksi n-heksan	-,036250*	,011195	,022	-,06926	-,00324
	fraksi air	-,026250*	,011195	,034	-,05926	,00676
ekstrak	kontrol negatif	,032833*	,011195	,042	-,00018	,06585
	fraksi etil asetat	,009917	,007080	1,000	-,01096	,03080
	fraksi n-heksan	-,003417	,007080	1,000	-,02430	,01746
	fraksi air	,006583	,007080	1,000	-,01430	,02746
fraksi etil asetat	kontrol negatif	,022917*	,011195	,044	-,01010	,05593
	Ekstrak	-,009917	,007080	1,000	-,03080	,01096
	fraksi n-heksan	-,013333	,007080	,660	-,03421	,00755
	fraksi air	-,003333	,007080	1,000	-,02421	,01755
fraksi n-heksan	kontrol negatif	,036250*	,011195	,022	,00324	,06926
	ekstrak	,003417	,007080	1,000	-,01746	,02430
	fraksi etil asetat	,013333	,007080	,660	-,00755	,03421
	fraksi air	,010000	,007080	1,000	-,01088	,03088
fraksi air	kontrol negatif	,026250*	,011195	,034	-,00676	,05926
	ekstrak	-,006583	,007080	1,000	-,02746	,01430
	fraksi etil asetat	,003333	,007080	1,000	-,01755	,02421
	fraksi n-heksan	-,010000	,007080	1,000	-,03088	,01088

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

Kesimpulan : Data densitas optik penghambatan biofilm berbeda secara signifikan ($p \geq 0,05$).

Lampiran 18. Pembuatan Larutan Sampel dan Pembuatan Media.

1. Pembuatan Sampel.

- 2 mg/ml : ditimbang 2 mg sampel di larutkan 1 ml DMSO 5%.
- 4 mg/ml : ditimbang 4 mg sampel di larutkan 1 ml DMSO 5%.
- 6 mg/ml : ditimbang 6 mg sampel di larutkan 1 ml DMSO 5%.
- 8 mg/ml : ditimbang 8 mg sampel di larutkan 1 ml DMSO 5%.

2. Formulasi dan pembuatan brain haert infusion

- | | |
|-------------------------|------------|
| - Infus dari otak sapi | 200,0 gram |
| - Infus dari hati sapi | 250,0 gram |
| - Protase peptone | 10,0 gram |
| - Dekstrosa | 2,0 gram |
| - NaCl | 5,0 gram |
| - Dinatrium fosfate | 5,0 gram |
| - Aquadest ad 1000,0 ml | |

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri.