

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SALEP EKSTRAK ETANOL BIJI  
KESAMBI (*Schleichera oleosa* Merr.) TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA *IN VIVO***



**Oleh :**

**Clementino Dasilva  
18123398A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2016**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SALEP EKSTRAK ETANOL  
BIJI KESAMBI (*Schleichera oleosa* Merr.) TERHADAP  
BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA *IN VIVO***

**SKRIPSI**

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai Derajat Sarjana Farmasi  
(S. Farm) Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi*

**Oleh :**

**Clementino Dasilva  
18123398A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2016**

**PENGESAHAN SKRIPSI**  
berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI SALEP EKSTRAK ETANOL  
BIJI KESAMBI (*Schleichera oleosa* Merr.) TERHADAP  
BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA *IN VIVO***

Oleh

Clementino Dasilva  
18123398A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 14 Juni 2016



Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi Dekan,

Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama

Dra. Lina Susanti, M.Si

Pembimbing Pendamping,

Dra. Kartinah W, SU

Penguji :

1. Dr. Ana Indrayati, M.,Si
2. Dewi Ekowati, M. Sc.,Apt
3. Dra. Kartinah W, SU
4. Dra. Lina Susanti, M.Si

1.

2.

3.

4.

## HALAMAN PERSEMBAHAN

TUHAN adalah kekuatanku dan perisaiku  
kepada-Nya hatiku percaya..

*(Mazmur 28:7)*

Orang sukses akan mengambil manfaat dari  
kesalahan-kesalahan yang ia lakukan dan akan mencoba  
lagi dengan cara yang berbeda

(Dale Carnegie)

Kupersembahkan skripsi ini untuk :

- ❖ Tuhan yang Maha Esa atas karunia dan penyelenggaraan-Nya
- ❖ Bapak, mama dan kakakku tercinta yang telah memberikan bantuan, dukungan serta doany
- ❖ Saudara/i flobamorata ( keluarga besar iamor solo ), terima kasih atas suportnya
- ❖ Almameter, bangsa dan negaraku

## **PERNYATAAN**

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Dan apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian atau karya ilmiah atau skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum

Surakarta, 14 Juni 2016

  
Clementino Dasilva

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SALEP EKSTRAK ETANOL BIJI KESAMBI (*Schleichera oleosa* Merr.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA *IN VIVO***” ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dra. Lina Susanti, M.Si, selaku Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo, SU, selaku Pembimbing Pendamping yang telah dengan sabar membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak dan Ibu dosen panitia penguji skripsi yang telah memberi masukan demi kesempurnaan skripsi ini.

6. Terimakasih kepada segenap asisten Laboratorium Universitas Setia Budi, Surakarta yang telah banyak membantu.
7. Bapak Thomas dasilva, Mama Martina musu, Kakak Charles dasilva yang telah memberikan kasih sayang, motivasi, semangat, nasehat dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam menyusun skripsi ini. Kritik dan saran dari siapapun yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapapun yang mempelajarinya.

Surakarta, 14 Juni 2016

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	ii
PERNYATAAN.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiii
BAB I    PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II    TINJAUAN PUSTAKA .....	5
A. Tumbuhan Kesambi.....	5
1. Sistematika tanaman.....	5
2. Nama daerah.....	5
3. Deskripsi tanaman .....	6
4. Khasiat tanaman .....	7
5. Kandungan kimia tumbuhan kesambi .....	8
B. Simplisia .....	9
1. Pengertian simplisia .....	9
2. Pengeringan simplisia.....	9
C. Ekstraksi .....	10
1. Pengertian ekstraksi.....	10
2. Pelarut.....	11



3. Metode penyarian .....	11
D. Tinjauan Bakteri .....	12
1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12
1.1. Sistematika bakteri .....	12
1.2. Morfologi .....	13
2. Patogenesis .....	14
E. Salep .....	15
1. Pengertian salep .....	15
2. Dasar salep .....	15
F. Media .....	17
1. Pengertian media .....	17
2. Macam – macam bentuk media .....	18
2.1. Media padat .....	18
2.2. Media cair .....	18
2.3. Media semi cair / semi padat .....	18
G. Antibakteri .....	18
H. Metode pengujian .....	19
I. Landasan Teori .....	20
J. Hipotesis .....	21
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
A. Populasi Dan Sampel .....	22
1. Populasi .....	22
2. Sampel .....	22
B. Variabel Penelitian .....	22
1. Identifikasi variabel utama .....	22
2. Klasifikasi variabel utama .....	22
3. Definisi operasional variabel utama .....	23
C. Bahan dan Alat .....	24
1. Bahan .....	24
1.1. Bahan sampel .....	24
1.2. Bakteri uji .....	25
1.3. Medium .....	25
1.4. Hewan .....	25
1.5. Bahan kimia .....	25
2. Alat .....	25
D. Jalannya Penelitian .....	26
1. Determinasi tanaman .....	26
2. Pengambilan bahan .....	26
3. Pembuatan serbuk biji kesambi ( <i>Schleichera oleosa</i> Merr.) .....	26
4. Penetapan kelembapan serbuk .....	26
5. Pembuatan ekstrak .....	27
6. Identifikasi kandungan senyawa aktif biji kesambi ( <i>Schleichera oleosa</i> Merr.) .....	27
7. Pembuatan suspensi bakteri uji .....	28

8. Identifikasi bakteri uji .....	28
9. Pengujian <i>in vitro</i> ekstrak biji kesambi ( <i>S. oleosa</i> Merr.) .....	29
10. Formulasi dan pembuatan salep hidrokarbon dengan konsentrasi 25% dan 50%. .....	30
11. Pengujian mutu fisik sediaan salep .....	30
11.1 Uji organoleptik.....	30
11.2 Uji homogenitas .....	31
11.3 Uji daya lekat .....	31
11.4 Uji daya sebar.....	31
11.5 Uji viskositas .....	31
12. Pengujian antibakteri <i>S. aureus</i> ATCC 25923 secara <i>in vivo</i> .....	32
E. Analisa Data .....	32
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....	38
A. Hasil Penelitian.....	38
1. Hasil determinasi dan deskripsi tumbuhan kesambi ( <i>S. oleosa</i> Merr.) .....	38
2. Hasil pengeringan dan pembuatan serbuk.....	38
3. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak biji kesambi ( <i>S. oleosa</i> Merr.).....	39
4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji kesambi ( <i>S. oleosa</i> Merr.) .....	39
5. Hasil pembuatan ekstrak biji kesambi ( <i>S. oleosa</i> Merr.).....	40
6. Hasil Pengujian Salep Ekstrak Biji Kesambi .....	41
6.1. Uji organoleptis salep .....	41
6.2. Uji homogenitas salep .....	41
6.3 Uji daya lekat salep .....	42
6.4. Uji daya sebar salep.....	43
6.5. Uji viskositas salep.....	44
7. Hasil Identifikasi Bakteri Uji .....	45
7.1. Hasil identifikasi bakteri uji <i>S. aureus</i> secara goresan ....	45
7.2. Hasil identifikasi bakteri uji <i>S. aureus</i> secara biokimia ..	46
8. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	47
8.1. Uji <i>in vitro</i> .....	47
8.2 Uji <i>in vivo</i> .....	48
9. Hasil Inokulasi dari Suspensi Nanah.....	49
10. Hasil Inokulasi dari Luka Sembuh .....	50
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	52
A. Kesimpulan.....	52
B. Saran .....	52
DAFTAR PUSTAKA .....	53
LAMPIRAN .....	56

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Pohon Kesambi dan Biji Kesambi .....	6
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol biji kesambi  (Schleichera oleosa Merr.) .....	34
Gambar 3. Pengujian aktivitas anti bakteri ekstrak etanol biji kesambi terhadap bakteri <i>S. aureus</i> ATCC 25923 menggunakan metode difusi.. .....	35
Gambar 4. Skema pembuatan salep ekstrak etanol biji kesambi .....	36
Gambar 5. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri secara <i>in vivo</i> .....	37
Gambar 6. Salep ekstrak biji kesambi konsentrasi 25% dan 50% .....	49
Gambar 7. Foto inokulasi suspensi dari nanah.....	50
Gambar 8. Konsentrasi 25 % dan Konsentrasi 50% .....	50

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 1. Formula salep untuk uji antibakteri dengan basis hidrokarbon .....	30
Tabel 2. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah biji kesambi ( <i>S. oleosa</i> Merr.) .....	38
Tabel 3. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia biji kesambi ( <i>S. oleosa</i> Merr.) .....	39
Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji kesambi ( <i>S. oleosa</i> Merr.) .....	40
Tabel 5. Hasil pembuatan ekstrak biji kesambi ( <i>S. oleosa</i> Merr.) .....	40
Tabel 6. Uji organoleptis salep biji kesambi ( <i>S. oleosa</i> Merr.) .....	41
Tabel 7. Hasil uji homogenitas salep biji kesambi ( <i>S. oleosa</i> Merr.) .....	42
Tabel 8. Hasil uji daya lekat salep biji kesambi ( <i>S. oleosa</i> Merr.) .....	43
Tabel 9. Hasil uji daya menyebar salep biji kesambi ( <i>S. oleosa</i> Merr.) .....	43
Tabel 10. Hasil uji viskositas biji kesambi ( <i>S. oleosa</i> Merr.) .....	44
Tabel 11. Hasil uji <i>in vitro</i> .....	47
Tabel 12. Waktu penyembuhan infeksi <i>S.aureus</i> pada kulit punggung kelinci dengan kontrol (+), kontrol (-), konsentrasi 25% dan 50% .....	48

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman kesambi ( <i>S. oleosa Merr.</i> ).....	56
Lampiran 2. Surat keterangan penggunaan kelinci. ....	57
Lampiran 3. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah biji kesambi.....	58
Lampiran 4. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak biji kesambi.....	59
Lampiran 5. Perhitungan hasil rendemen ekstrak biji kesambi secara maserasi menggunakan pelarut etanol.....	60
Lampiran 6. Gambar pengujian salep .....	62
Lampiran 7. Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 ...	63
Lampiran 8. Gambar uji <i>in vitro</i> ekstrak biji kesambi terhadap bakteri <i>s.</i> <i>aureus</i> ATCC 25923.....	64
Lampiran 9. Gambar uji <i>in vivo</i> efektifitas antibakteri salep ekstrak biji kesambi dengan empat konsentrasi salep pada kulit punggung kelinci yang dibuat infeksi <i>S.aureus</i> ATCC 25923 .....	65
Lampiran 10. Gambar kemasan salep merk X dan salep ekstrak biji kesambi konsentrasi 25% dan 50%. ....	68
Lampiran 11. Gambar tanaman kesambi. ....	69
Lampiran 12. Gambar alat dan bahan .....	70
Lampiran 13. Gambar hasil inokulasi koloni bakteri dari nanah punggung kelinci setelah pemberian salep ekstrak biji kesambi.....	73
Lampiran 14. Perhitungan salep ekstrak biji kesambi dengan konsentrasi 25% dan 50% dengan basis hidrokarbon. ....	74
Lampiran 15. Perhitungan pembuatan larutan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25% dan 50% .....	75
Lampiran 16. Hasil pengamatan kulit punggung kelinci setelah pemberian salep ekstrak biji kesambi dengan konsentrasi 25% dan 50%. ....	76
Lampiran 17. Formulasi Pembuatan media .....	77

## INTISARI

**DASILVA, C., 2016. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BIJI KESAMBI (*Schleichera oleosa* Merr.), TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA *IN VIVO*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Biji kesambi (*Schleichera oleosa* Merr.) mengandung tanin, saponin, alkaloid dan triterpenoid. Biji kesambi dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit dalam, kudis dan luka-luka. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri salep ekstrak etanol biji kesambi terhadap infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada punggung kelinci yang dinyatakan dengan waktu penyembuhan luka infeksi dengan konsentrasi 25% dan 50%.

Biji kesambi diekstraksi dengan metode maserasi, ekstrak dibuat salep dengan basis hidrokarbon dengan konsentrasi 25% dan 50%. Salep dioleskan dua kali sehari pada luka infeksi. Pengamatan dilakukan sampai sembuh dengan hilangnya nanah dan keringnya luka.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa salep ekstrak biji kesambi yang paling efektif adalah salep dengan konsentrasi 50%.

Kata kunci : biji kesambi (*S. oleosa* Merr.), antibakteri, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, kelinci.

## ABSTRAK

**DASILVA, C., 2016 ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST ETANOL EXTRACT KESAMBI SEEDS (*Schleichera oleosa* Merr.), AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ON THE *IN VIVO*, Thesis, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Kesambi seeds (*Schleichera oleosa* Merr.) contains tannins, saponin, alkaloids and triterpenoids. Kesambi seeds can be used as a traditional medicine to treat internal disease, scabies and wounds. The purpose of this study is to investigate antibacterial activity of ethanol extract ointment kesambi seeds against bacterial infection *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in rabbits back stated by the healing wound infections in concentration of 25% and 50%.

Kesambi seeds extracted with maceration method, extracts is made a ointment with base hydrocarbons with a concentration of 25% and 50%. The ointment is applied once daily on infected wound observations performed until it heals with the loss of pus and dried sores.

Results of this study showed that the most effective ointment extract of kesambi seeds was ointment with concentration 50%.

Keywords : Kesambi seeds (*S. oleosa* Merr.), Antibacterial, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, rabbit.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Manusia tidak pernah lepas dengan obat-obatan modern yang cenderung memberikan efek cepat dalam mengobati dan mencegah penyakit yang diderita. Obat-obatan modern banyak dijual bebas dan mudah didapatkan dengan harga yang bermacam-macam baik dari harga yang terjangkau oleh masyarakat menengah dan menengah keatas. Masyarakat sekarang telah beralih kembali menggunakan obat tradisional dari beberapa tumbuhan obat yang ada di sekitar lingkungannya. Obat-obatan modern yang dikonsumsi dengan jangka waktu yang lama memberikan efek samping.

Obat tradisional dari tumbuhan obat mudah didapatkan dan murah. Obat tradisional dengan penggunaan yang tepat, sedikit sekali menimbulkan efek samping bahkan tidak menimbulkan efek samping. Manusia mengalami berbagai macam penyakit dan telah banyak dilakukan pengobatan dengan menggunakan tumbuhan obat tradisional. Masyarakat dapat menggunakan tumbuhan obat yang didapatkan dari lingkungan sekitar. Penyakit yang dapat diobati oleh tumbuhan tradisional, adalah penyakit kulit seperti bisul dan eksim yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (Jawetz *et al* 2008). Bisul sering dianggap sebagai penyakit biasa, namun dengan adanya bisul dibagian tubuh manusia, tetap mengganggu kesehatan dan aktivitas sehari-hari. Tumbuhan obat yang digunakan



masyarakat Belu – Nusa Tenggara Timur untuk mengobati penyakit bisul yaitu biji kesambi yang dihancurkan dan diletakan pada area sekitar bisul.

Kesambi termasuk salah satu tumbuhan hutan yang mudah beradaptasi mempunyai manfaat yang serbaguna (multi purpose) serta bernilai ekonomis dan sangat potensial untuk dikembangkan. Buah pohon kesambi digemari dan dapat dimakan oleh manusia, binatang dan burung. Pohon kesambi dapat menjadi alternatif tanaman unggulan di dalam dan di luar kawasan hutan (Suita 2012). Kulit kayu kesambi dapat digunakan sebagai bahan penyamak kulit, karena menurut hasil penelitian, dalam kulit kesambi ditemukan 6,1-14,3 % zat penyamak. Masyarakat menggunakan kulit kesambi sebagai obat kulit yang sangat manjur, terutama terhadap penyakit kudis dan penyakit kulit lainnya.

Biji kesambi dilapisi dan diselimuti oleh kulit yang berwarna coklat. Bentuknya bulat panjang dengan ukuran antara 6-14 mm. Biji kesambi mengandung 70 persen minyak sangat berguna sebagai bahan pembuatan minyak gosok. Minyak yang berasal dari biji kesambi sangat baik untuk mengobati penyakit dalam, kudis dan luka-luka. Dalam upaya pengembangan biodisel, biji kesambi dapat diolah menjadi minyak pelumas, pembuatan lilin, industri batik, dan bahan membuat (Suita 2012)

Pada hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi air dari kulit batang kesambi (*Schleichera oleosa* Merr.) pada konsentrasi 25% mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dengan rata-rata diameter hambat berturut-turut adalah 11,667 mm; 16,667 mm dan 17,333 mm (Fernandez 2014).

Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) yang dibuat dalam sediaan salep. Uji antibakteri secara *in vivo* perlu dilakukan pada hewan uji sebelum dilakukan uji klinis dan salah satu hewan uji yang biasa dilakukan dalam penelitian ini adalah kelinci.

### **B. Perumusan Masalah**

Perumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

Pertama, apakah ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923 secara *in vitro* dengan metode difusi ?

Kedua, apakah salep ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) mempunyai aktivitas antibakteri secara *in vivo* terhadap *S. aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada hewan kelinci ?

### **C. Tujuan Penelitian**

Pertama, untuk mengetahui ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923 secara *in vitro* dengan metode difusi.

Kedua, untuk mengetahui salep ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) mempunyai aktivitas antibakteri secara *in vivo* terhadap *S. aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada hewan kelinci.

#### **D. Manfaat Penelitian**

Tumbuhan kesambi yang digunakan dalam penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat dalam menambah ilmu pengetahuan dalam bidang obat tradisional tumbuhan asli Indonesia sehingga dapat memberikan manfaat bagi masyarakat umum sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tumbuhan Kesambi**

##### **1. Sistematika tanaman**

Menurut Hutapea 1994, klasifikasi secara lengkap Tanaman kulit batang kesambi dalam taksonomi adalah sebagai berikut :

Devisi : Spermathopyta  
Sub devisi : Angiospermae  
Kelas : Dicotyledoneae  
Bangsa : Sapindales  
Suku : Sapindaceae  
Marga : *Schleichera*  
Jenis : *Schleichera oleosa* Merr.

##### **2. Nama daerah**

Kesambi atau kosambi (*S. oleosa* Merr.) adalah nama sejenis pohon daerah kering, berkerabat dengan jenis rambutan yang berasal dari suku Sapindaceae. Beberapa nama daerah lainnya adalah : kasambi (Sunda.); kesambi, kusambi, sambi (Jawa, Bali.); kasambhi (Madura.); kusambi, usapi (Timor.); kasembi, kahembi (Sumba); kehabe (Sawu); kabahi (Solor); kalabai (Alor); kule, ule (Rote); bado (Makasar.); ading (Bugis.) (Suita 2012).

### 3. Deskripsi tanaman



**Gambar 1. Pohon Kesambi dan Biji Kesambi**

Pohon kesambi dapat mencapai tinggi hingga 40 m, dengan diameter hingga 2 m. Biasanya batang pohon kesambi selalu bengkok dan bermata kayu serta berbanir. Kulitnya halus, berwarna abu-abu, batangnya silindris, berkerut dan tipis, berbulu pendek berwarna kuning kemerahan ketika muda dengan kelenjar tertentu hitam, kemudian coklat kekuningan seperti abu. Daunnya bersirip genap, anak daun terakhir seringkali seperti ujung anak daun.

Bentuk daunnya lanset, berseling, panjang 11-25 cm, lebar 2-6 cm, tepi rata, ujung lancip, pertulangan menyirip, tangkai bulat, panjang +1 cm dan berwarna hijau. Bunga terletak pada bagian cabang yang tidak berdaun, kadang-kadang terletak diketiak daun, warna kuning pucat hingga hijau pucat. Bunga kesambi adalah bunga majemuk, berbentuk tandan, di ketiak daun atau ujung batangan,

kelopak 4-6 lembar, bersatu di pangkal, berduri, hijau dan warna mahkotanya putih. Buah dan biji berbentuk bulat dengan diameter biji 6-10 cm, buah terdiri atas 1 - 2 biji, biji dikelilingi oleh kulit berwarna coklat kehitaman. Termasuk akar tunggang dan berwarna coklat muda (Suita 2012).

#### **4. Khasiat tanaman**

Kulit kayu kesambi dapat digunakan sebagai penyamak kulit, kulit kesambi sebagai obat yang sangat manjur, terutama terhadap penyakit kudis dan penyakit kulit lainnya. Biji kesambi mengandung 70 persen minyak sangat berguna sebagai bahan pembuatan minyak gosok. Biji kesambi digunakan untuk mengobati penyakit dalam, kudis dan luka-luka. Dalam upaya pengembangan biodisel, biji kesambi dapat diolah menjadi minyak pelumas, pembuatan lilin, industri batik, dan bahan membuat sabun. Menurut beberapa hasil penelitian, kulit biji kesambi dapat dijadikan kompos dan sangat cocok untuk pertumbuhan jagung lokal (Suita 2012).

Daun kesambi berkhasiat sebagai obat eksem, obat kudis, obat koreng dan obat radang telinga, untuk obat eksem dipakai  $\pm$  15 gram daun segar kemudian dicuci dan direbus dengan 3 gelas air selama 25 menit selanjutnya disaring. Hasil saringan didinginkan sampai airnya hangat untuk mencuci eksim sampai bersih. Daun kesambi yang telah kering dapat dibakar dan asapnya digunakan untuk pengobatan (pengasapan) penyakit kudis dan gatal-gatal (Suita 2012).

Buah yang masih hijau dapat dimakan dan diolah sebagai asinan. Buah yang sudah masak berwarna kuning atau kemerah-merahan, dapat dijadikan buah meja dengan ciri rasa asam agak manis. Buah kesambi yang sudah masak sangat

digemari oleh monyet dan burung, termasuk anak-anak. Dibeberapa daerah buah kesambi yang sudah masak dapat dibuat manisan (Suita 2012).

## **5. Kandungan kimia tumbuhan kesambi**

**Tanin** merupakan senyawa yang bersifat fenol yang mempunyai rasa yang sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Tanin larut dalam air dan membentuk larutan koloid. Tanin merupakan senyawa polifenol yang diduga mempunyai mekanisme kerja dengan cara merusak permeabilitas barier dalam mikroorganisme sehingga bersifat sebagai antibakteri (Harborne 1987).

**Saponin** merupakan golongan senyawa glikosida yang umumnya larut dalam pelarut polar misalnya etanol (Voigt 1994). Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menghemolisis sel darah merah. Saponin mampu membersihkan kulit dari kotoran karena adanya busa yang terbentuk. Tumbuhan yang mengandung saponin telah digunakan sebagai racun ikan selama beratus-ratus tahun, di samping itu beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba. Kelarutan saponin adalah dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Robinson 1995).

**Alkaloid** merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid sering bersifat racun bagi manusia dan banyak mempunyai fisiologis yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan (Fitriyah 2013)

**Triterpenoid** adalah senyawa metabolit sekunder yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berbentuk siklik atau asiklik dan sering memiliki gugus alkohol, aldehida atau asam karboksilat. Kegunaan triterpenoid adalah sebagai antifungi, insektisida, antibakteri dan antivirus. Golongan triterpenoid dan steroid lebih mudah larut dalam pelarut nonpolar (Harbone 1987; Robinson 1995).

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman dan eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum zat kimia murni. Simplisia mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

### **2. Pengeringan simplisia**

Pengeringan simplisia bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif,



memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya. Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan alat pengering. Saat pengeringan, yang perlu diperhatikan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan. Pengeringan panas sinar matahari paling banyak digunakan di Indonesia karena lebih mudah dan murah (Gunawan & Mulyani 2004).

### **C. Ekstraksi**

#### **1. Pengertian ekstraksi**

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut. Pelarut yang diinginkan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel 1989).

Ekstrak dapat dibagi dalam dua katagori, yaitu ekstrak kasar dan ekstrak murni. Ekstrak kasar artinya ekstrak yang mengandung semua bahan yang tersari dengan menggunakan pelarut organik, sedangkan ekstrak murni adalah ekstrak kasar yang telah dimurnikan dari senyawa-senyawa inert melalui proses penghilangan lemak, penyaringan menggunakan resin atau adsorben. Ekstrak murni lebih disukai karena mempunyai bahan aktif atau komponen kimia yang jauh lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasar. Bila ekstrak telah dimurnikan, kandungan senyawa aktifnya akan jauh lebih tinggi dibandingkan bila ekstrak tidak dimurnikan (Hernani *et al* 2007).

Ekstraksi menggunakan pelarut merupakan salah satu cara pemurnian ekstrak dari bahan alami. Keberhasilan proses pemurnian suatu ekstrak sangat eratkaitannya dengan rendemen, mutu dan kadar senyawaaktif yang dihasilkan, antara lain dengan ekstraksi menggunakan pelarut yang immiscible (tidak dapat bercampur) dan mempunyai idensitas yang berbeda, pengendapan, penyaringan, pemanasan, adsorpsi menggunakan adsorben ataupun dengan resin penukar ion. Ekstraksi menggunakan pelarut merupakan salah satu cara pemurnian ekstrak dari bahan alami (Hernani *et al* 2007).

## **2. Pelarut**

Untuk mendapatkan ekstraksi yang menyeluruh dan mendapatkan senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas farmakologi maka pemilihan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi merupakan faktor yang penting (Arifianti *et al* 2014). Pemilihan pelarut dalam ekstraksi kesambi (*S. oloesa* Merr.) yang harus diperhatikan adalah toksisitas, ketersediaan, harga, sifat tidak mudah terbakar, rendahnya suhu kritis, dan tekanan kritis untuk meminimalkan biaya operasi dan reaktivitas. Dengan mempertimbangkan faktor-faktor tersebut, pelarut yang dipilih untuk ekstraksi pada penelitian ini adalah etanol, karena jumlah dan kualitas ekstraksi yang dihasilkan paling baik (Damayanti 2012).

## **3. Metode penyarian**

Metode penyarian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi, maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana, maserasi dilakukan dengan cara merendam dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif

tersebut akan larut karena ada perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan diluar sel, larutan yang lebih pekat (di dalam sel) didesak keluar masuk ke dalam larutan di luar sel. Peristiwa tersebut terjadi berulang sehingga terjadi kesinambungan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Depkes 1986).

Maserasi biasanya dilakukan pada temperatur 15-20°C dalam waktu 5 hari sampai bahan-bahan yang larut dapat melarut. Metode maserasi dilakukan dengan mencampur 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok ke dalam sebuah bejana, kemudian dituangi dengan 70 bagian penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sesekali dikocok berulang-ulang (Ansel 1989).

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugian maserasi adalah cara pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Ansel 1989).

## **D. Tinjauan Bakteri**

### **1. *Staphylococcus aureus***

**1.1. Sistematika bakteri.** *S. aureus* dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisio	: Protophyta
Subdivisio	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales

Familia : Micrococcaceae  
Genus : Staphylococcus  
Spesies : *Staphylococcus aureus* (Salle 1978).

**1.2. Morfologi.** *S. aureus* adalah bakteri berbentuk bulat dengan diameter kira-kira 1  $\mu\text{m}$ , biasanya hidup bergerombol seperti buah anggur. Biakan cair juga terlihat kokus yang tunggal, berpasangan, tetrad, atau berbentuk rantai. Kokus muda bersifat gram positif, pada biakan tua banyak sel menjadi gram negatif, *S. aureus* tidak bergerak dan tidak membentuk spora (Jawetz *et al.* 1986).

*S. aureus* mudah tumbuh pada perbenihan bakteriologi dalam keadaan aerobik atau mikro-aerobik. *S. aureus* tumbuh paling cepat pada 37°C tetapi paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar. Koloni pada perbenihan bulat, halus, menonjol, dan berkilau-kilauan, membentuk pigmen. *S. aureus* berwarna kuning emas (Jawetz *et al.* 1986).

*S. aureus* dapat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. Aktivitas proteolitik sangat bervariasi, tetapi katalase dihasilkan secara tetap. *S. aureus* relatif resisten terhadap pengeringan, terhadap panas (bakteri ini tahan 50°C selama 30 menit).

*S. aureus* berbeda-beda kepekaannya terhadap sulfonamide dan antibiotika, dan mutan yang resistensi terhadap obat ditemukan pada kebanyakan strain. Banyak strain resistensi terhadap penisilin karena membentuk penisilinase (beta-laktamase), suatu enzim yang merusak penisilin dengan memecahkan cincin beta-laktam. Pembentukannya diatur oleh plasmid yang dapat dipindahkan oleh bakteriofage (transduksi). Plasmid juga membawa kontrol genetik resistensi

terhadap antibiotika lainnya, misalnya tetrasiklin dan eritromisin (Jawetz *et al.* 1986).

## **2. Patogenesis**

Sebagian bakteri *S. aureus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *S. aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulasi, dan mampu meragikan manitol (Warsa, 1994).

Infeksi oleh *S. aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis. *S. aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik (Ryan, *et al.*, 1994; Warsa, 1994).

Bisul atau abses setempat, seperti jerawat dan borok merupakan infeksi kulit di daerah folikel rambut, kelenjar sebacea, atau kelenjar keringat. Mula-mula terjadi nekrosis jaringan setempat, lalu terjadi koagulasi fibrin di sekitar lesi dan pembuluh getah bening, sehingga terbentuk dinding yang membatasi proses nekrosis. Infeksi dapat menyebar ke bagian tubuh lain melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah, sehingga terjadi peradangan pada vena, trombosis, bahkan bakterimia. Bakterimia dapat menyebabkan terjadinya endokarditis, osteomielitis akut hematogen, meningitis atau infeksi paru-paru (Warsa, 1994; Jawetz *et al.*, 1995).

## **E. Salep**

### **1. Pengertian salep**

Salep ( Unguenta ) adalah preparat setengah padat untuk pemakaian luar. Salep dapat mengandung obat atau tidak mengandung obat, yang tidak mengandung obat biasanya dikatakan sebagai dasar salep ( basis ointment ) dan digunakan sebagai pembawa dan penyiapan salep yang mengandung obat (Ansel 1989).

### **2. Dasar salep**

Dasar salep digolongkan menjadi 4 kelompok

**Dasar salep hidrokarbon;** Dasar bersifat lemakbebas air, preparat yang berair mungkin dapat dicampurkan hanya dalam jumlah sedikit saja, bila lebih minyak sukar bercampur. Dasar hidrokarbon dipakai terutama untuk efek emolien. Dasar salep tersebut bertahan pada kulit untuk waktu yang lama dan tidak memungkinkan lembab dan sukar dicuci. Kerjanya sebagai penutup saja. Tidak mengering atau tidak ada perubahan dengan berjalannya waktu (Naibaho *et al* 2013).

**Dasar salep absorpsi ;** Dasar salep absorpsi dibedakan menjadi 2 tipe, pertama yang memungkinkan pencampuran larut berair, hasil dari pembentukan emulsi air dan minyak, kedua yang sudah menjadi emulsi air dan minyak ( dasar emulsi ) memungkinkan bercampurnya sedikit penambahan jumlah larutan berair. Dasar salep ini biasanya berguna sebagai emolien walaupun tidak menyediakan derajat penutupan seperti yang dihasilkan dasar salepberlemak. Seperti dasar berlemak, dasar salep absorpsi tidak mudah dihilangkan dari kulit oleh air. Dasar

salep ini juga berfaedah dalam farmasi untuk pencampuran larutan berair kedalam larutan berlemak. Misalnya larutan air mula-mula dapat diabsorpsi kedalam dasar salep absorpsi, kemudian campuran ini dengan mudah dicampurkan ke dalam dasar salep berlemak. Dalam melakukan hal ini sejumlah ekuivalen dari dasar salep berlemak dalam formula digantikan dengan dasar salep absorpsi (Naibaho *et al* 2013).

**Dasar salep yang dapat dibersihkan dengan air** ; merupakan emulsi minyak dalam air yang dapat dicuci dari kulit dan pakaian dengan air. Atas dasar ini bahan tersebut sering dikatakan bahan dasar salep tercuci air. Dasar salep ini yang nampaknya seperti krim dapat diencerkan dengan air atau larutan berair. Dari sudut pandang terapi mempunyai kemampuan untuk mengabsorpsi cairan serosal yang keluar dari dalam kondisi dermatologi. Bahan obat tertentu dapat diabsorpsi lebih baik oleh kulit jika ada dasar salep tipe ini daripada dasar salep lainnya (Naibaho *et al* 2013).

**Dasar salep larut dalam air** ; tidak seperti dasar salep yang tidak larut dalam air, yang mengandung kedua-duanya, komponen yang larut maupun tidak larut dalam air, dasar yang larut dalam air hanya mengandung komponen yang larut dalam air. Tetapi, seperti dasar salep yang dapat dibersihkan dengan air basis yang larut dalam air dapat dicuci dengan air. Basis yang larut dalam air biasanya disebut sebagai greaseless karena tidak mengandung bahan berlemak. Karena dasar salep ini mudah melunak dengan penambahan air, larutan air tidak efektif dicampurkan ke dalam dasar salep ini. Nampaknya dasar salep ini lebih baik digunakan untuk dicampurkan dengan bahan tidak berair atau bahan padat (Naibaho *et al* 2013).

Pada umumnya absorpsi obat pada sediaan salep (absorpsi perkutan) tidak hanya tergantung pada sifat fisika dan kimia dari bahan obat saja tetapi juga tergantung pada sifat pembawa dan juga kondisi kulit hewan uji. Pada hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa sediaan salep dengan basis hidrokarbon lebih cepat dalam proses penyembuhan infeksi yang ditandai dengan hilangnya nanah dan eritema pada punggung kelinci dibandingkan dengan basis lainnya. Selain itu basis hidrokarbon juga memiliki pengukuran daya sebar yang lebih besar dibandingkan basis lainnya. Daya sebar suatu sediaan menunjukkan kemampuan sediaan tersebut untuk menyebar pada kulit. Semakin luas permukaan kulit tempat sediaan menyebar maka absorpsi dari bahan obat yang terkandung akan meningkat (Naibaho *et al*2013).

## **F. Media**

### **1. Pengertian media**

Media adalah bahan yang terdiri dari zat-zat kimia organik dan atau anorganik yang setelah melalui proses pengolahan tertentu dapat digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroba. Media yang digunakan dalam mikrobiologi harus memenuhi syarat-syarat yaitu harus mengandung unsur-unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroba mempunyai tekanan osmose, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Selain itu media juga harus steril, tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan dan tidak bersifat toksik (Suriawiria 1985).



Mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik di dalam media, diperlukan persyaratan tertentu yaitu media harus mengandung semua nutrisi yang sudah digunakan oleh mikroba, tekanan osmotik dan tegangan permukaan serta pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba, media tidak mengandung zat-zat penghambat, media harus steril (Hadioetomo 1985).

## **2. Macam – macam bentuk media**

Bentuk media ditentukan oleh ada tidaknya penambahan zat padat seperti agar-agar, gelatin, dan sebagainya, maka bentuk media dikenal tiga jenis.

**2.1. Media padat.** Medium padat merupakan medium yang ditambahkan bahan padat kedalam medium kaldu. Media ini biasanya digunakan untuk mengamati penampilan atau morfologi koloni dan mengisolasi biakan murni.

**2.2. Media cair.** Medium cair seperti kaldu nutrient atau kaldu glukosa dapat dipergunakan untuk pembiakan organisme dalam jumlah besar, penelaahan fermentasi dan berbagai macam uji.

**2.3. Media semi padat.** Medium mengandung gelatin atau agar-agar namun dalam konsentrasi lebih kecil dari medium padat. Umumnya diperlukan untuk pertumbuhan atau menguji ada tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi (Hadioetomo 1985).

## **G. Antibakteri**

Antibakteri yaitu suatu zat yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan dari bakteri khususnya yang bersifat patogen bagi manusia berupa zat kimia sintesis atau produk alam (Syarif *et al* 1995). Mekanisme kerja

antibakteri dibagi dalam 5 kelompok, yaitu mengganggu metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis ke dinding sel, mengganggu permeabilitas membran sel, menghambat sintesis protein sel, dan menghambat sintesis / merusak asam nukleat sel mikroba.

Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri untuk menentukan potensi suatu zat antibakteri dalam larutan, konsentrasi suatu zat antibakteri terhadap cairan badan dan jaringan, dan kepekaan suatu bakteri terhadap konsentrasi-konsentrasi yang dikenal (Jawetz *et al* 1986). Kontrol positif yang dipakai adalah gentamisin salep.

#### **H. Metode pengujian**

Dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah *in vitro* secara difusi dengan menggunakan konsentrasi ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) 6,25%, 12,5%, 25% dan 50%, aquadest steril sebagai kontrol negative, gentamisin sebagai kontrol positif. Setelah diketahui konsentrasi 25% dan 50% pada uji *in vitro* paling efektif maka dilanjutkan dengan pembuatan salep untuk pengujian *in vivo*. Dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan hewan uji kelinci dengan berbagai macam konsentrasi salep ekstrak biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) yaitu konsentrasi yang paling efektif dari hasil uji *in vitro*, gentamisin sebagai kontrol positif dan aquadest steril sebagai kontrol negatif.

## I. Landasan Teori

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kesambi (*S. oleosa* Merr). Tanaman ini berkhasiat sebagai obat eksem, obat kudis, obat koreng, dan obat radang telinga. Oleh karena itu pohon kesambi dapat menjadi alternatif tanaman unggulan di dalam dan di luar kawasan hutan.

Tumbuhan kesambi pada penelitian sebelumnya mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923. *S. aureus* adalah bakteri berbentuk bulat dengan diameter kira-kira 1  $\mu\text{m}$ , biasanya hidup bergerombol seperti buah anggur. Biakan cair juga terlihat kokus yang tunggal, berpasangan, tetrad, atau berbentuk rantai. Kokus muda bersifat Gram positif, pada biakan tua banyak sel menjadi Gram negatif. *S. aureus* tidak bergerak dan tidak membentuk spora.

Bakteri *S. aureus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *S. aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulasi, dan mampu meragikan manitol.

Infeksi oleh *S. aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis. *S. aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik.

Antibakteri yaitu suatu zat yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan dari bakteri khususnya yang bersifat patogen bagi manusia berupa zat kimia sintesis atau produk alam.

Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri untuk menentukan potensi suatu zat antibakteri dalam larutan, konsentrasi suatu zat antibakteri terhadap cairan badan dan jaringan, dan kepekaan suatu bakteri terhadap konsentrasi-konsentrasi yang dikenal. Kontrol positif yang dipakai adalah gentamisin salep.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *in vitro* secara difusi dan *in vivo*, pada pengujian *in vitro* secara difusi menggunakan konsentrasi ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) 6,25%, 12,5%, 25% dan 50% , kontrol positif menggunakan gentamisin dan kontrol negatifnya menggunakan aquadest steril setelah diketahui konsentrasi 25% dan 50% pada uji *in vitro* paling efektif maka dilanjutkan dengan pembuatan salep untuk pengujian *in vivo*, aquadest steril sebagai kontrol negative dan salep gentamisin 0,1% sebagai kontrol positif.

## **J. Hipotesis**

Berdasarkan landasan teori yang ada dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian sebagai berikut :

Pertama, ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* ATCC 25923 secara *invitro* dengan metode difusi.

Kedua, salep ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) mempunyai aktivitas antibakteri secara *in vivo* terhadap *S.aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi pada hewan kelinci.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi Dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman kesambi (*S. oleosa* Merr.) yang diambil dari Belu, Nusa Tenggara Timur.

##### **2. Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biji tanaman kesambi (*S. oleosa* Merr.) yang diambil dari Belu, Nusa Tenggara Timur.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pertama adalah ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25% dan 50%. Variabel utama kedua adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) terhadap *S. aureus* ATCC 25923 secara *in vitro* dengan metode difusi. Variabel utama ketiga adalah aktivitas antibakteri salep ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) terhadap *S. aureus* ATCC 25923 secara *in vivo*.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol, variabel moderator dan variabel tergantung.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian adalah konsentrasi ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)

Variabel terkendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulangi oleh penelitian lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kondisi laboratorium meliputi kondisi entkas, alat, dan bahan yang digunakan harus steril dan media yang digunakan dalam penelitian. Variabel moderator adalah variabel yang kemungkinan mempengaruhi variabel tergantung tetapi tidak diutamakan untuk diteliti.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah adanya pertumbuhan *S. aureus* pada kulit punggung kelinci.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, tanaman segar biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) yang diambil dari daerah Belu, Nusa Tenggara Timur.

Kedua, serbuk kesambi adalah biji kesambi yang kemudian dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, diiris, dikeringkan dengan dijemur, kemudian diblender menjadi serbuk.

Ketiga, ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) adalah ekstrak pekat yang diperoleh dari hasil maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.

Keempat, Uji *in vitro* dengan metode difusi adalah membuat enam sumuran yaitu ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.), kontrol (+) gentamisin dan kontrol (-) aquadest steril selanjutnya ditetesi larutan uji dalam konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25% dan 50%.

Kelima, yang kemudian di uji secara *in vivo* dalam bentuk salep. Salep ekstrak etanol biji kesambi adalah sediaan salep yang mengandung ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) dengan konsentrasi 25% dan 50%.

Keenam, uji aktivitas antibakteri secara *in vivo* adalah penyembuhan luka infeksi *S.aureus* pada kulit punggung kelinci yang ditandai dengan hilangnya nanah dan luka menghilang.

Ketujuh, bakteri uji dalam penelitian ini *S. aureus* adalah *S. aureus* ATCC 25923 yang diinfeksi ke hewan kelinci dengan disuntik secara subkutan pada luka dengan kadar ( $\pm 0,25$  ml/ jumlah *S. aureus*).

Kedelapan, kelinci adalah kelinci jantan, umur 3 bulan, bobot 1,5 – 2 kg yang kulit punggungnya dilukai dan diinfeksi bakteri *S.aureus* pada 4 titik lokasi.

## C. Bahan dan Alat

### 1. Bahan

**1.1. Bahan sampel.** Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) yang diambil dari daerah Belu, Nusa Tenggara Timur.

**1.2. Bakteri uji.** Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *S. aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari pembiakan sendiri dari laboratorium mikrobiologi Universitas Setia Budi.

**1.3. Medium.** Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Brain Heart Infusion (BHI)* dan *Vogel Johnson agar (VJA)*.

**1.4. Hewan.** Hewan uji yang digunakan adalah kelinci jantan umur 3 bulan, bobot 1,5 – 2 kg.

**1.5. Bahan kimia.** Bahan kimia yang digunakan adalah pelarut etanol 70%,  $H_2SO_4$  pekat, asetat anhidrida, aquadest steril, larutan Mayer, asam asetat,  $H_2SO_4$  pekat,  $H_2O_2$  3%, kalium tellurit 1 %, DMSO 1 %, asam klorida 2 N, HCl 2N,  $FeCl_3$  1%, alkohol.

## 2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat timbang analisa yang mempunyai ketelitian baca minimum 0,1 mg dan daya muat maksimum 100 gram, ayakan 40 Mesh, bejana maserasi, boor prop, ose platina, cawan petri, flakon, tabung reaksi, gelas ukur, erlenmeyer, pipet tetes, neraca analitis, volume pipet (10 ml; 5 ml; 1ml; 0,5 ml), siring, pinset, inkubator, kertas saring, kapas, corong kaca, autoklaf, mikroskop, *moisture balance*, kaca obyek, deglas, penangas air, mortir, stamper, pembakar spiritus, kasa, kaki tiga, selang, dan corong kaca.



## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi tanaman**

Penelitian ini diawali dengan menetapkan kebenaran sampel tanaman kesambi (*S. oleosa* Merr.) yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis dan mencocokkan morfologis yang ada dalam tanaman yang akan diteliti dengan kunci determinasi, dibuktikan di Laboratorium Biologi Universitas Sebelas Maret.

### **2. Pengambilan bahan**

Biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) diambil dari daerah Belu, Nusa Tenggara Timur.

### **3. Pembuatan serbuk biji kesambi (*Schleichera oleosa* Merr.)**

Biji kesambi dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran dan cemaran, diiris tipis lalu dikeringkan dibawah sinar matahari kemudian digiling menjadi serbuk halus. Biji kesambi yang telah kering kemudian diayak dengan ayakan 40 Mesh. Serbuk yang dihasilkan kemudian disimpan dalam wadah kering yang kemudian akan digunakan dalam penelitian.

### **4. Penetapan kelembapan serbuk**

Penetapan kelembapan serbuk biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) menggunakan alat *moisture balance*. Serbuk ditimbang sebanyak 2 gram kemudian diukur kelembapannya dengan menggunakan alat *moisture balance* yang telah disetting sebanyak 2 gram. Menurut ketentuan PERMENKES No.661/Menkes/SK/II/1994 kelembapan serbuk tidak boleh lebih dari 10%.

## 5. Pembuatan ekstrak

Serbuk biji kesambi ditimbang kemudian dimasukkan kedalam bejana maserasi yang berwarna gelap kemudian ditambahkan pelarut etanol 70 % lalu didiamkan selama 5 hari sambil sesekali dikocok. Setelah 5 hari, saring rendaman kemudian filtratnya ditampung lalu dipekatkan.

## 6. Identifikasi kandungan senyawa aktif biji kesambi (*Schleichera oleosa* Merr.)

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk mendapatkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat dalam biji kesambi. Identifikasi senyawa tanin, saponin, alkaloid dan triterpenoids dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Identifikasi kandungan kimia meliputi :

**Tanin;** Identifikasi tanin dengan cara 0,5 g serbuk biji kesambi ditambah 10 ml air panas kemudian dididihkan selama 15 menit dan saring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan A. Sebanyak 5 ml larutan A ditambah pereaksi besi (III) klorida 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna violet (Robinson 1995).

**Saponin;** Sebanyak 10 ml air panas dalam tabung reaksi didinginkan kemudian ditambahkan 0,5 g serbuk biji kesambi dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Depkes RI 1995).

**Alkaloid;** Identifikasi Alkaloid, 0,5 gram serbuk ditambah dengan sedikit larutan HCl 2 N, dipanaskan kemudian ditambahkan larutan Mayer terbentuk

endapan menggupal berwarna putih atau kuning dan dengan Dragendrof terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, maka ada kemungkinan terdapat alkaloid (Depkes RI 1977).

**Triterpenoids;** larutkan ekstrak sebanyak 2 mg kedalam asetat anhidrida lalu dipanaskan sampai mendidih kemudian didinginkan. Teteskan 1 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi, terbentuknya warna merah muda menunjukkan adanya triterpenoid (Saha *et al* 2011).

## **7. Pembuatan suspensi bakteri uji**

Bakteri uji *S. aureus* diambil sebanyak 2 ose dari biakan murni pada media NA kemudian dibuat suspensi dalam tabung yang berisi media BHI yang kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan Standart Brown II yang dianggap setara dengan 758 juta per ml bakteri *S. aureus* lalu diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 2 – 5 jam (Bonang dan Koeswardono 1982).

## **8. Identifikasi bakteri uji**

Bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923 yang telah dibuat dalam bentuk suspensi diinokulasikan pada medium VJA yang sudah ditambahkan kalium tellurit 1 %, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Hasil pengujiannya ditunjukkan dengan adanya warna koloni hitam dan warna medium di sekitar koloni kuning. Selanjutnya hasil dari identifikasi *S. aureus* ATCC 25923 pada media VJA diberi perlakuan dengan uji biokimia yaitu uji koagulase dan uji katalase. Uji koagulase menggunakan plasma kelinci atau manusia yang telah diberi sitrat, diencerkan 1:5 dicampur dengan biakan kaldu yang sama banyaknya dan dieramkan sebagai kontrol. Tabung-tabung sering diperiksa untuk melihat

pembekuan setiap masa 1-4 jam. Jika tabung tes dibalik gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung maka hasilnya positif. Uji katalase, suspensi bakteri uji ditanam pada medium nutrisi cair dengan volume 0,5 ml lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C ditambahkan 2-3 tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 %.

*S. aureus* mempunyai enzim katalase sehingga apabila muncul gelembung udara maka hasilnya positif. Penambahan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> akan terurai menjadi H<sub>2</sub> dan O<sub>2</sub>. Hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara.

#### **9. Pengujian *in vitro* ekstrak biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)**

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Salah satu metode difusi agar adalah metode sumuran. Metode sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Jawetz *et al* 1996).

Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran untuk mengetahui ekstrak biji kesambi teraktif agar dapat dilanjutkan pembuatan sediaan salep untuk pengujian secara *in vivo* pada hewan uji kelinci. Metode difusi sumuran dilakukan dengan cara suspensi bakteri uji digoreskan merata pada media VJA dengan menggunakan kapas lidi steril, selanjutnya dibuat enam sumuran dengan alat *boor prop*. Dua sumuran ditetesi dengan aquadest steril sebagai kontrol negatif dan gentamisin sebagai kontrol

positif, 4 sumuran lainnya ditetesi dengan ekstrak biji kesambi, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Daerah jernih yang teramati pada daerah sumuran diukur diameter hambatannya. Konsentrasi ekstrak etanol biji kesambi adalah 6,25%, 12,5%, 25% dan 50%. Pada uji *in vitro* konsentrasi 25% dan 50% memiliki daya hambat yang besar sehingga konsentrasi yang digunakan dalam pembuatan salep untuk uji *in vivo* adalah konsentrasi 25% dan 50% .

#### 10. Formulasi dan pembuatan salep hidrokarbon dengan konsentrasi 25% dan 50%.

**Tabel 1. Formula salep untuk uji antibakteri dengan basis hidrokarbon (Agoes2008).**

No	Komposisi	Formulasi	
		I	II
1	Ekstrak biji kesambi ( <i>S. oleosa</i> Merr.)	25%	50%
2	Nipasol	0,02 g	0,02 g
3	Vaselin Album	Ad 100 g	Ad 100 g

Pembuatan salep ekstrak biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) dengan konsentrasi 25% dan 50% dimulai dengan menimbang basis salep pada cawan porselin menggunakan neraca analitik. Basis salep diaduk kemudian dicampur dengan ekstrak diaduk sampai homogen. Sediaan salep yang telah didapat kemudian dimasukkan dalam pot salep.

#### 11. Pengujian mutu fisik sediaan salep

##### 11.1 Uji organoleptik. Diamati bentuk, warna dan bau sediaan salep.

Pengujian ini dilakukan untuk melihat secara visual penampilan fisik dari sediaan salep yang dibuat. Pengujian organoleptik dilakukan dengan mengamati sediaan salep dari bentuk, bau dan warna sediaan (Anief, 1997).

**11.2 Uji homogenitas.** Salep dari masing-masing konsentrasi diamati dengan cara dioleskan pada sekeping kaca transparan. Diambil sediaan pada bagian atas, tengah dan bawah. Pengujian ini dilakukan untuk melihat secara fisik mengenai keseragaman bentuk salep. Sediaan salep dikatakan homogen apabila tidak terdapat gumpalan atau butiran kasar pada tiap tiap bagian. Susunan partikel-partikel tidak ada yang menggumpal atau tidak tercampur (Anonim, 1979).

**11.3 Uji daya lekat.** Sediaan salep biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) secukupnya diletakkan diatas obyek glass yang telah ditentukan luasnya. Obyek glass yang lain diletakkan di atas salep biji kesambi yang akan diuji daya lekatnya. Obyek glass tersebut ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Obyek glass tadi dipasangkan pada alat uji. Beban seberat 80 gram dilepaskan dan dicatat waktunya hingga kedua obyek glass tersebut terlepas.

**11.4 Uji daya sebar.** Pengujian dilakukan dengan menimbang  $\pm 0,5$  gram sediaan salep biji kesambi (*S. oleosa* Merr. ) kemudian diletakkan ditengah kaca bulat. Kaca yang satunya ditimbang kemudian diletakkan diatas masa salep dan dibiarkan selama 1 menit. Diameter salep yang menyebar kemudian diukur. 50 gram beban tambahan ditambahkan dan didiamkan selama 1 menit dan catat diameter salep yang menyebar seperti sebelumnya. Beban 50 gram ditambahkan hingga 250 gram dan dicatat diametersalep yang menyebar setelah 1 menit.

**11.5 Uji viskositas.** Viskometer di pasang pada klemnya dengan arah horizontal/tegak lurus dengan arah klem. Rotor dipasang pada viskotester dengan menguncinya berlawanan arah dengan jarum jam. Sampel dimasukkan ke dalam

mangkuk, kemudian alat dihidupkan. Kekentalan yang di dapat di catat setelah jarum pada viskositas stabil.

## **12. Pengujian antibakteri *S. aureus* ATCC 25923 secara *in vivo***

Pengujian efek antibakteri ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) secara *in vivo* dilakukan dengan menggunakan hewan uji kelinci jantan berumur  $\pm$  3 bulan sebanyak 3 ekor dengan bobot badan 1,5-2 kg. Bulu pada punggung kelinci dicukur kemudian dipilih 4 lokasi penyuntikan ekstrak etanol biji kesambi (*S.oleosa* Merr.) dengan konsentrasi 25% dan 50% dioleskan pada 2 lokasi, 2 lokasi berikutnya sebagai kontrol negatif dan kontrol positif dengan jarak masing-masing lokasi  $\pm$  5 cm. Pada masing-masing lokasi kulit punggung kelinci yang telah disiapkan, diinfeksi secara subkutan sebanyak 0,25 ml dengan suspensi *S. aureus* ATCC 25923.

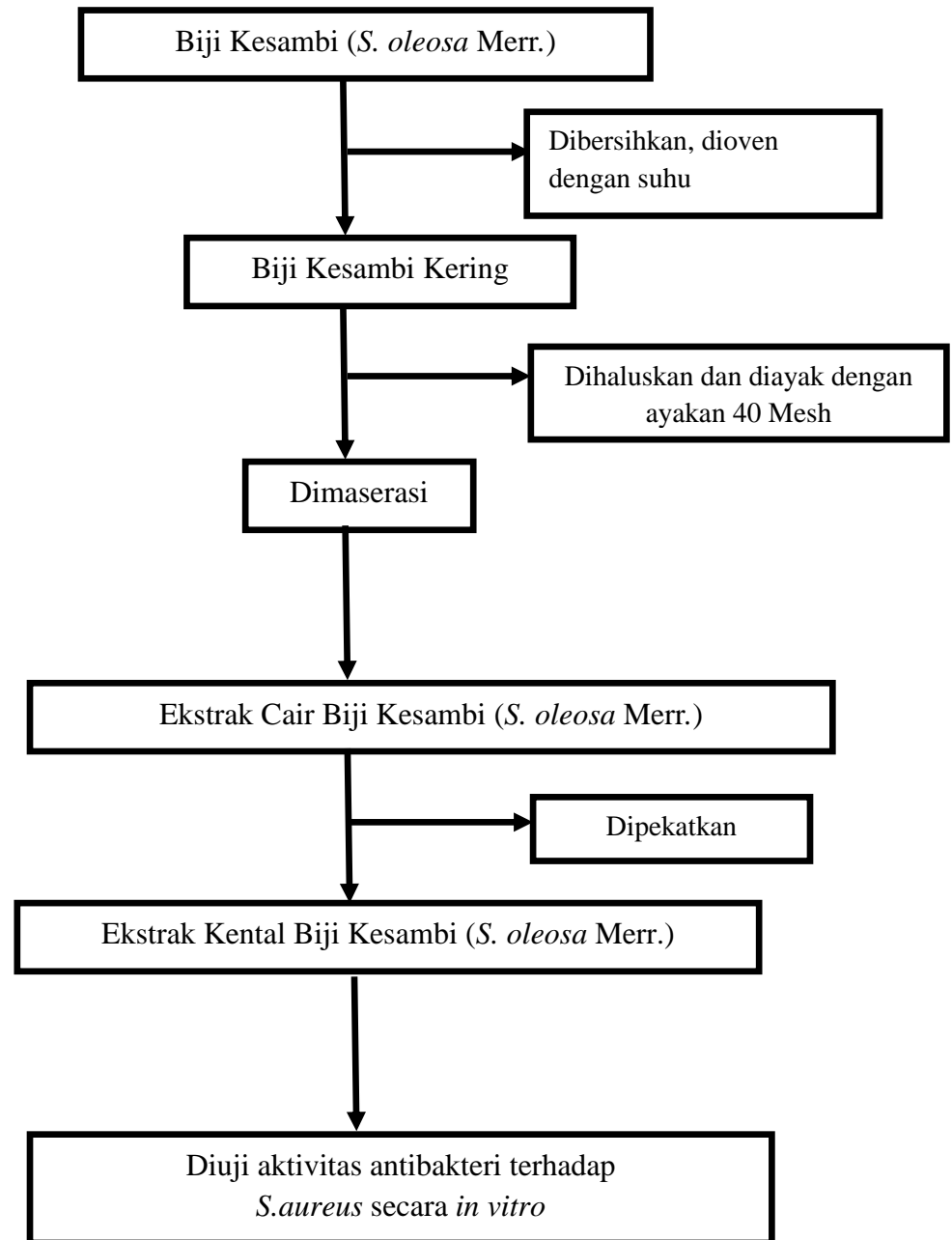
Untuk mencegah terjadinya kontaminasi bakteri, luka ditutup dengan verban steril. Pemberian ekstrak etanol biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) dilakukan setiap hari dan pengamatannya dilakukan sampai luka pada punggung hewan uji kelinci yang diinfeksi bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dinyatakan sembuh lalu dihitung waktu sembuhnya.

## **E. Analisa Data**

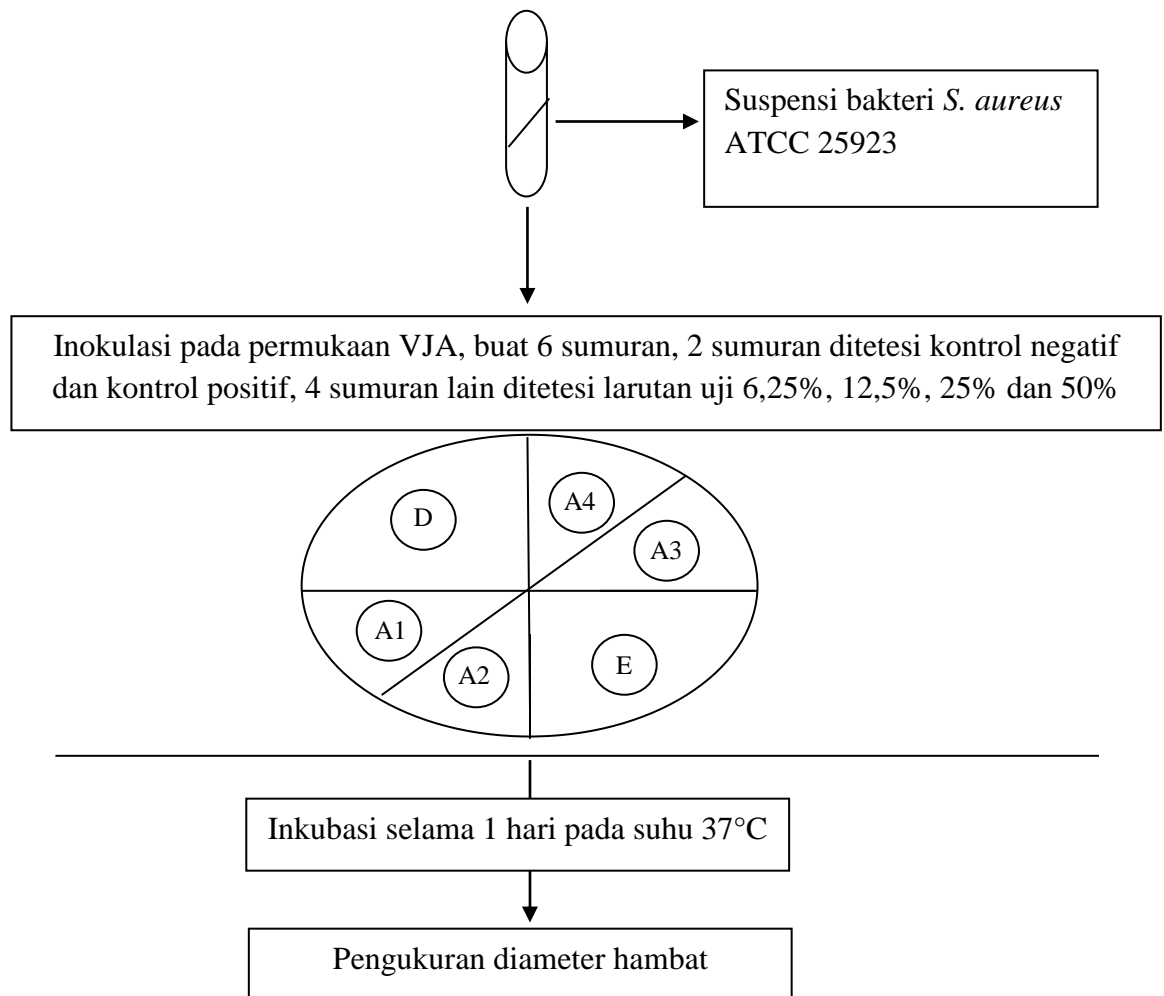
Analisis data dilakukan dengan menentukan waktu penyembuhan pada kulit punggung kelinci.

Data yang didapat akan membandingkan salep ekstrak biji kesambi konsentrasi 25% dan 50% dengan hari penyembuhan luka yang diinfeksi bakteri *S. aureus* ATCC 25923 pada punggung hewan uji kelinci.





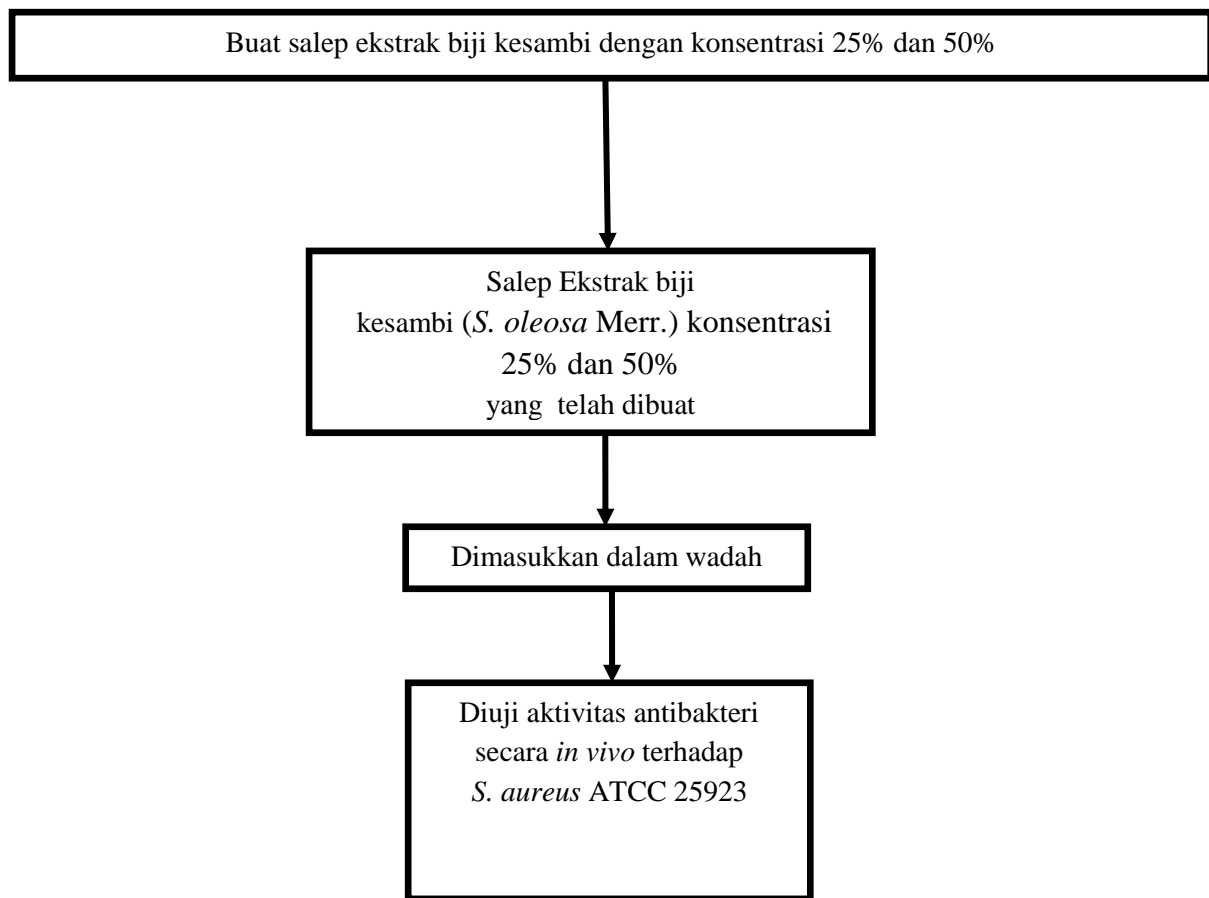
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol biji kesambi (*Schleichera oleosa* Merr.)



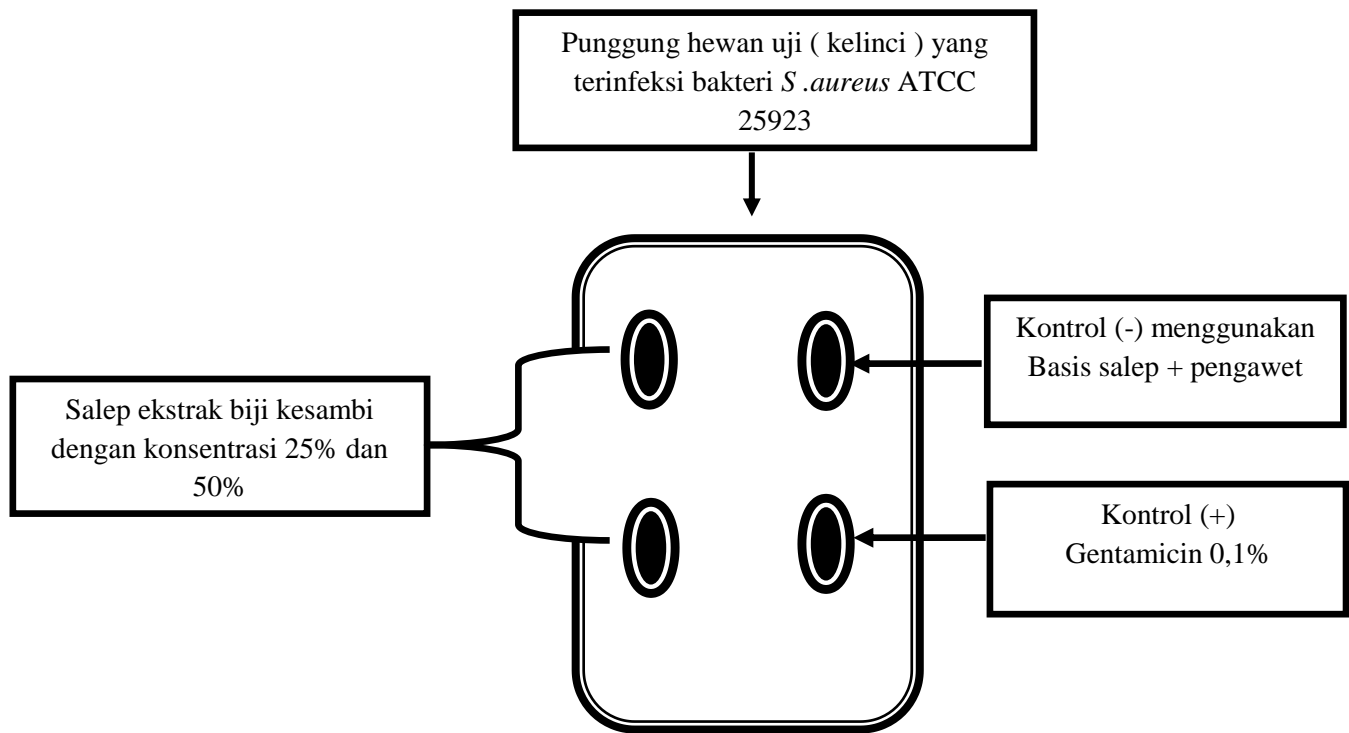
Keterangan :

- |    |   |
|----|---|
| A1 | = larutan uji konsentrasi 6,25%               |
| A2 | = larutan uji konsentrasi 12,5%               |
| A3 | = larutan uji konsentrasi 25%                 |
| A4 | = larutan uji konsentrasi 50%                 |
| D  | = Gentamisin 0,1% sebagai kontrol positif (+) |
| E  | = Aquades steril sebagai kontrol negatif (-)  |

**Gambar 3.** Pengujian aktivitas anti bakteri ekstrak etanol biji kesambi terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 menggunakan metode difusi.



**Gambar 4. Skema pembuatan salep ekstrak etanol biji kesambi**



**Gambar 5.** Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri secara *in vivo*

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

##### 1. Hasil determinasi dan deskripsi tumbuhan kesambi (*S. oleosa* Merr.)

Determinasi tanaman kesambi (*S. oleosa* Merr.) dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, untuk menghindari kesalahan dalam mengumpulkan bahan serta kemungkinan tercampurnya dengan bahan tumbuhan lain. Determinasi dilakukan di Universitas Sebelas Maret. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

##### 2. Hasil pengeringan dan pembuatan serbuk

Biji kesambi dikeringkan dalam oven pada suhu 50° C selama  $\pm 1-2$  hari bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah tumbuhnya jamur dan bakteri yang menyebabkan pembusukan serta mencegah perubahan kimiawi yang menurunkan mutu. Bahan yang telah kering mempermudah proses penyerbukan, biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) yang telah dikeringkan dan dihitung bobot kering terhadap bobot basah biji kesambi dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 2. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)**

No	Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Randeman (%)
1.	9000	1640	18,22

Prosentase rata - rata pengeringan biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)

didapatkan 18,22 %. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 3.

### 3. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)

**Tabel 3. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)**

No	Kandungan kimia	Identifikasi	Hasil pengamatan	Pustaka
1.	Saponin	0,5 g filtrat ditambah aquades panas, lalu dikocok	Terbentuknya buih putih	( Depkes RI 1995 )
2.	Tanin	0,5 g filtrat ditambah aquades panas kemudian ditambah FeCl <sub>3</sub> 1%	Warna violet	( Robinson 1995 )
3.	Alkaloid	0,5 g filtrat ditambah HCL 2N lalu dipanaskan, + Lartutan Mayer, + Dragendrof	+ Lar.Mayer terbentuk endapan putih , + Dragendrof terbentuk endapan coklat kehitaman	( Depkes RI 1977 )
4.	Triterpenoid	2 g filtrat dimasukan dalam Asetat anhidrida lalu dipanaskan , teteskan 1 ml asam sulfat pekat	Warna merah muda	( Saha <i>et al</i> 2011 )

Berdasarkan pada tabel 3, mengenai kandungan kimia dalam serbuk ekstrak biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) telah sesuai pustaka, sehingga bisa diambil kesimpulan bahwa ekstrak biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) mengandung tanin, saponin, alkaloid, dan triterpenoid. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak biji kesambi dapat dilihat pada lampiran 4.

### 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)

Data hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)**

No	Penimbangan (gram)	Kadar (%)
1.	2,0	6,0
2.	2,0	6,0
3.	2,0	6,5
4.	2,0	6,5
5.	2,0	6,5
<b>Rata-rata</b>		6,3

Kadar air suatu simplisia yang memenuhi syarat adalah tidak boleh lebih dari 10% (Depkes 1995), hal ini menunjukkan bahwa kadar air simplisia biji kesambi memenuhi syarat. Kadar air yang tinggi menyebabkan perubahan kerja enzim dan perubahan kimia zat aktif sehingga menurunkan mutu serbuk, serta dalam penyimpanan akan ditumbuhi jamur.

#### **5. Hasil pembuatan ekstrak biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)**

Data hasil pembuatan ekstrak biji kesambi dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 5. Hasil pembuatan ekstrak biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)**

No	Bobot Serbuk (gram)	Hasil maserasi (gram)	Prosentase (% <sup>b</sup> / <sub>b</sub> )
1.	100	16,52	16,52
2.	100	18,28	18,28
3.	100	17,15	17,15
	$\Sigma = 300$	$\Sigma = 51,95$	$\Sigma = 51,95$
	= 100	= 17,31	= 17,31

Serbuk biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) yang di maserasi, bobot rata-ratanya 100 gram direndam dalam pelarut etanol sebanyak 750 ml menghasilkan ekstrak biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) sebesar 16,52 gram; 18,28 gram; 17,15 gram berarti prosentase ekstrak hasil maserasi masing-masing sebesar 16,52%; 18,28%; 17,15%. Hasil prosentase rata-rata ekstrak biji kesambi adalah 17,31%. Sampel dilakukan perhitungan SD, dengan persyaratan hasil perhitungan penolakan data dengan rumus yang ditetapkan tidak boleh lebih dari dua kali SD maka dapat diambil kesimpulan bahwa semua data prosentase ekstrak hasil maserasi diterima.

Perhitungan prosentase bobot ekstrak hasil maserasi biji kesambi dapat dilihat pada lampiran 5.

## 6. Hasil Pengujian Salep Ekstrak Biji Kesambi

**6.1. Uji organoleptis salep.** Salep biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) diuji warna dan bau dengan memperhatikan ada tidaknya perubahan fisik setelah penyimpanan. Hasil pengujian salep biji kesambi dapat di lihat pada tabel 6.

**Tabel 6. Uji organoleptis salep biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)**

Pengamatan krim (minggu)	Konsentrasi			
	25%		50%	
	Bau	Warna	Bau	Warna
1.	Khas	Coklat	Khas	Coklat tua
2.	Khas	Coklat	Khas	Coklat tua
3.	Khas	Coklat	Khas	Coklat tua
4.	Khas	Coklat	Khas	Coklat tua
5.	Khas	Coklat	Khas	Coklat tua
6.	Khas	Coklat	Khas	Coklat tua

Tabel 6. Menunjukkan hasil uji organoleptis meliputi bau dan warna dari sediaan salep dengan melakukan pengamatan visual pada salep. Dari hasil pengamatan bau salep dengan berupa bau khas. Penambahan ekstrak membuat salep berwarna coklat gelap. Pengamatan sediaan salep ekstrak biji kesambi dengan konsentrasi 25% dan 50% dilakukan selama 6 minggu.

**6.2. Uji homogenitas salep.** Salep biji kesambi diuji homogenitasnya pada sekeping kaca dan diamati homogenitas dari sediaan tersebut. Hasil pengamatan uji homogenitas dapat dilihat pada tabel 6.



**Tabel 7. Hasil uji homogenitas salep biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)**

<b>Pengujian</b>	<b>Hasil pengamatan</b>
Konsentrasi 25%	Homogen
Konsentrasi 50%	Homogen

Tabel 7 menunjukkan bahwa salep biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) yang dioleskan pada sekeping kaca menunjukkan susunan yang homogen, salep jika dioleskan pada sekeping kaca atau bahan transparan lain yang cocok, harus menunjukkan susunan yang homogen. Sediaan salep yang homogen mengindikasikan bahwa ketercampuran dari bahan-bahan salep serta ekstrak biji kesambi yang digunakan baik sehingga tidak didapati gumpalan ataupun butiran kasar pada sediaan. Suatu sediaan salep harus homogen dan rata agar terdistribusi merata ketika digunakan (Naibaho *et al* 2013). Gambar uji homogenitas salep dapat dilihat pada lampiran 6.

**6.3 Uji daya lekat salep.** Uji daya lekat salep merupakan salah satu pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kekuatan salep melekat pada kulit. Salep yang sudah ditimbang secukupnya diletakkan di atas gelas obyek yang telah ditentukan luasnya, lalu diletakkan gelas obyek yang lain di atas salep tersebut dan ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Selanjutnya dipasang gelas obyek pada alat tes. Dilepas beban seberat 80 gram, dan dicatat waktunya hingga kedua gelas obyek tersebut terlepas (Naibaho dkk., 2013). Hasil pengamatan uji daya lekat dapat dilihat pada tabel 7.

**Tabel 8. Hasil uji daya lekat salep biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)**

No	Konsentrasi	Rata-rata lama melekat (detik)
1.	25 %	170
2.	50 %	210

Tabel 8. Menunjukkan bahwa salep biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) yang diuji daya lekatnya memiliki waktu relatif singkat untuk melekat pada kulit. Salep yang di tekan dengan beban 1 kg selama 5 menit kemudian dilepas dengan beban 80 gram untuk salep dengan konsentrasi 25% lama melekatnya 170 detik dan salep dengan konsentrasi 50% lama melekatnya 210 detik. Daya lekat merupakan kemampuan salep untuk melapisi permukaan kulit secara kedap dan tidak menyumbat pori-pori dan tidak menyumbat fungsi fisiologis kulit (Voigt 1984). Semakin lama salep melekat pada kulit maka akan semakin efektif pengobatannya, sebaliknya jika salep mudah terlepas dari kulit maka efektifitasnya kurang maksimal (Tiara 2010). Salep ekstrak biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) dengan konsentrasi 50 % lebih lama melekatnya dari pada salep dengan konsentrasi 25%.

**6.4 . Uji daya sebar salep.** Salep biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) diuji daya menyebarnya untuk mengetahui seberapa luas penyebaran salep pada kulit. Salep ekstrak biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) diuji pada kaca bulat berdiameter dengan menambahkan beban dan diamati berapa diameter salep yang menyebar. Hasil pengamatan uji daya menyebar salep dapat dilihat pada tabel 9.

**Tabel 9. Hasil uji daya menyebar salep biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)**

No	Beban	Diameter (cm)
----	-------	---------------

	(g)	25%	50%
1	Kaca (47,47)	1,2	1,4
2	Kaca + 50	1,6	1,6
3	Kaca + 100	1,8	2,0
4	Kaca + 150	2,0	2,2
5	Kaca + 200	2,2	2,4
6	Kaca + 250	2,4	2,6

Tabel 9. Menunjukkan luas daya sebar salep biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)

konsentrasi 50% dan 25% berturut - turut adalah 2,6 cm dan 2,4 cm.

Perbedaan daya sebar sangat berpengaruh pada kecepatan difusi zat aktif dalam melewati membran (Hasyim *et al* 2012). Pada pengujian salep biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) daya sebar yang dihasilkan kecil seiring dengan lamanya waktu penyimpanan. Hal ini terjadi karena adanya pemisahan pada sediaan salep sehingga daya sebar pada sediaan menurun. Gambar pengujian daya sebar salep dapat dilihat pada lampiran 6.

**6.5. Uji viskositas salep.** Salep biji kesambi diuji viskositasnya dengan alat viskometer. Hasil pengamatan uji viskositas dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 10. Hasil uji viskositas biji kesambi (*S. oleosa* Merr.)

No	Konsentrasi	Rata – rata viskositas (dPa)
1.	25%	180
2.	50%	220

Tabel 10. Menunjukkan bahwa salep ekstrak biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) yang diuji pada alat viskometer menunjukkan bahwa salep ekstrak biji kesambi (*S.oleosa* Merr.) dengan konsentrasi 25 % memiliki viskositas yang kecil dibanding dengan salep ekstrak biji kesambi (*S.oleosa* Merr.) dengan konsentrasi dan 50%. Viskositas menunjukkan kekentalan suatu bahan cairan atau fluida. Viskositas yang baik akan memiliki nilai yang tinggi. Semakin tinggi viskositas

suatu bahan, maka bahan tersebut akan makin stabil karena pergerakan partikel cenderung lebih sulit dengan semakin kentalnya suatu bahan (Schmitt & Williams 1996), sehingga salep ekstrak biji kesambi dengan konsentrasi 50% viskositas yang besar karena memiliki kekentalan yang lebih besar, diikuti viskositas salep konsentrasi 25% . Gambar uji viskositas salep dapat dilihat pada lampiran 6.

Sediaan salep ekstrak biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) yang paling bagus menurut hasil pengujian pada uji daya sebar salep, viskositas salep, dan daya lekat salep adalah salep dengan konsentrasi 50%, dibandingkan salep konsentrasi 25%. Pada uji homogenitas salep ekstrak biji kesambi ekstrak biji kesambi (*S.oleosa* Merr.) semua konsentrasi menunjukkan hasil yang homogen dan pada uji organoleptis yang meliputi warna dan bau, semua konsentrasi salep tidak mengalami perubahan warna dan bau selama 6 minggu.

## **7. Hasil Identifikasi Bakteri Uji**

### **7.1. Hasil identifikasi bakteri uji *S. aureus* secara goresan.**

Identifikasi *S.aureus* yang diinokulasi pada medium *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang sudah ditambah kalium tellurit 1 % setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C berdasarkan pengamatan koloni yang dihasilkan berwarna hitam, warna medium disekitar koloni kuning (Jawetz *et al* 2007). Hasil ini dikarenakan *S.aureus* mereduksi tellurit menjadi metalik tellurit dan adanya fenol reduksi, manitol diubah dalam suasana asam menjadi berwarna kuning (Jawetz *et al* 2007).Gambar dapat dilihat pada lampiran 7.

## 7.2. Hasil identifikasi bakteri uji *S.aureus* secara biokimia

Uji identifikasi *S. aureus* secara biokimia dengan menggunakan uji katalase memberikan hasil positif ditandai dengan timbulnya gelembung udara setelah penambahan  $\text{H}_2\text{O}_2$  3 % (Jawetz *et al* 2007). Gambar dapat dilihat pada lampiran 7.

Uji katalase untuk *S. aureus* dilakukan dengan cara suspensi bakteri ditambah tiga tetes  $\text{H}_2\text{O}_2$  3 %. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya gelembung-gelembung udara sebab *S. aureus* mempunyai enzim katalase dan pada penambahan  $\text{H}_2\text{O}_2$  3 % akan terurai menjadi air dan oksigen yang ditandai dengan adanya gelembung udara. Uji katalase digunakan untuk membedakan antara bakteri *S. aureus* dan *Streptococcus*.

Uji kedua dengan uji koagulase hasilnya positif ditunjukkan dengan terdapat gumpalan plasma yang tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung jika tabung tes dibalik, hal ini disebabkan karena terdapat suatu protein yang mirip enzim yang dapat menggumpalkan plasma yang mengandung oksalat atau sitrat. Koagulase berikatan dengan protrombin, bersama-sama keduanya menjadi aktif secara enzimatik dan menginisiasi polimerisasi fibrin. Faktor penggumpal merupakan kandungan permukaan *S. aureus* yang berfungsi melekatkan organisme ke fibrin atau fibrinogen, bila berada dalam plasma maka *S. aureus* membentuk gumpalan. Uji ini yang digunakan untuk membedakan antara *S. aureus* dengan jenis *Staphylococcus* yang lain (Jawetz *et al* 2007). Gambar dapat dilihat pada lampiran 7.

## 8. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

**8.1. Uji *in vitro*.** Ekstrak biji kesambi dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50% , kontrol positif gentamicin dan kontrol negatif aquades. Pengenceran ekstrak untuk pengujian *in vitro* menggunakan DMSO 1%. Pengujian aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi dengan waktu inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Daya antibakteri dari tiap konsentrasi dapat dilihat dari ada atau tidaknya zona hambat yang diukur dalam satuan mm dan dibandingkan dengan kontrol positif yaitu gentamicin. Hasil pengukuran diameter hambat dapat dilihat pada tabel 10. Gambar dapat dilihat pada lampiran 11.

**Tabel 11. Hasil uji *in vitro***

Konsentrasi	Diameter Hambat
6,25%	10,78 mm
12,5%	14,76 mm
25%	18,57 mm
50%	19,86 mm
Kontrol (+)	22,65 mm
Kontrol (-)	-

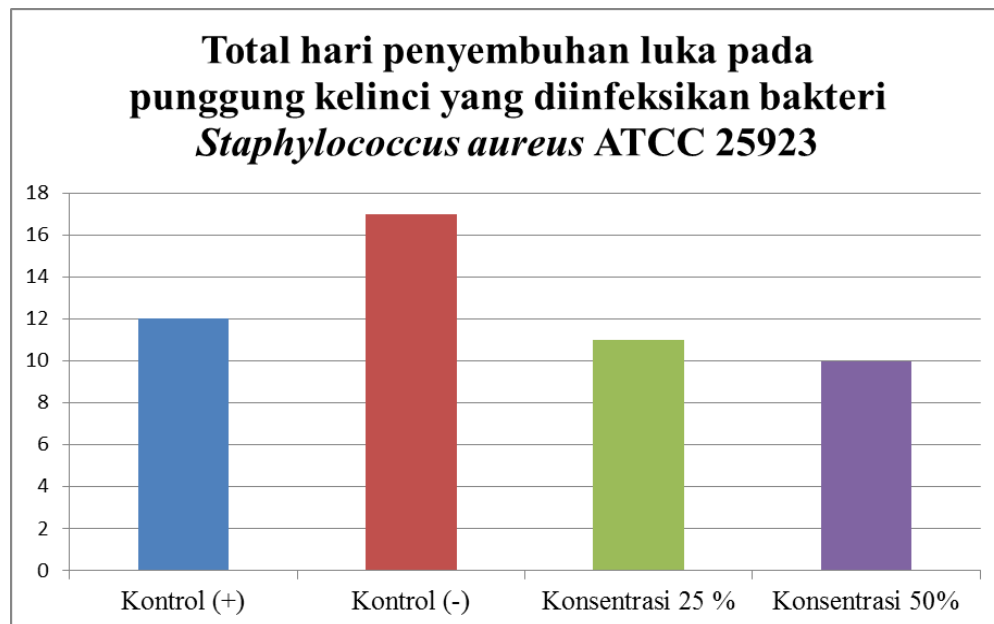
Zona hambat pada konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50% dan kontrol positif berturut – turut adalah 10,785 mm, 14,765 mm, 18,570 mm dan 19,860 mm 22,65 mm sedangkan kontrol negatif tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. DMSO 1% digunakan dalam pengenceran ekstrak karena DMSO 1% tidak dapat membunuh bakteri. Ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri paling optimal yang dapat dilanjutkan pada uji *in vivo* adalah ekstrak dengan konsentrasi 25% dan 50 %.

**8.2 Uji *in vivo*.** Sediaan salep ekstrak biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) dengan basis hidrokarbon dengan konsentrasi 25% dan 50% telah dilakukan pengujian efek antibakteri terhadap kulit punggung kelinci yang dibuat infeksi *S.aureus*. Pengujian salep ekstrak biji kesambi (*S. oleosa* Merr.) dengan basis hidrokarbon terhadap efek antibakteri pada kulit punggung kelinci yang diinfeksi *S. aureus*, dengan jumlah bakteri yang diinfeksi 0,25 ml. Efek antibakteri dapat dilihat dari cepat sembuhnya infeksi yang dapat diamati dengan hilangnya nanah dan keringnya luka dalam ukuran hari dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Hasil uji aktivitas antibakteri salep ekstrak biji kesambi dapat dilihat pada tabel 11 perhitungan dapat dilihat pada lampiran 9.

**Tabel 12. Waktu penyembuhan infeksi *S. aureus* pada kulit punggung kelinci dengan kontrol (+), kontrol (-), konsentrasi 25% dan 50%.**

Replikasi	Waktu penyembuhan infeksi setelah pemberian salep (hari)			
	Kontrol (+)	Kontrol (-)	Konsentrasi 25%	Konsentrasi 50%
	A	B	C	D
1	12	16	12	11
2	13	17	11	10
3	12	17	11	10
Total	37	50	34	31
Rata - rata	12,4	16,6	11,3	10,3

Tabel 12. Menunjukkan rata - rata waktu penyembuhan luka infeksi *S.aureus* dengan dua konsentrasi pada kulit punggung kelinci. Salep ekstrak biji kesambi dengan konsentrasi 25% dapat menyembuhkan dalam waktu 11-12 hari sedangkan konsentrasi 50% dapat menyembuhkan dalam waktu 10-11 hari. Kontrol negatif dapat sembuh dalam waktu 16-17 hari, sedangkan kontrol positif dapat menyembuhkan dalam waktu 12-13 hari.



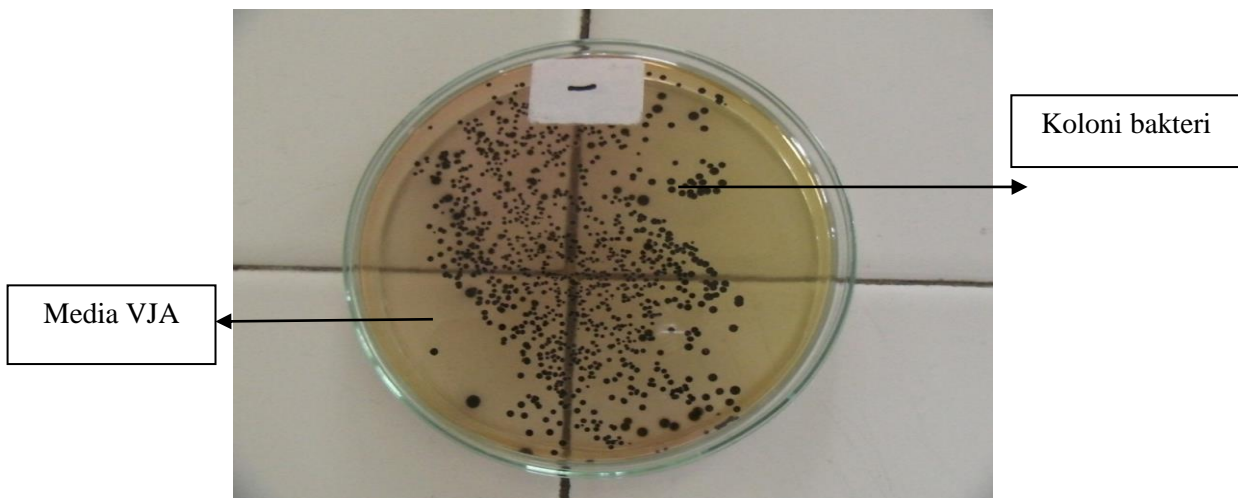
**Gambar 6. Salep ekstrak biji kesambi konsentrasi 25% dan 50%**

Uji aktivitas antibakteri salep ekstrak biji kesambi dengan basis hidrokarbon konsentrasi 25% dan 50% dilakukan untuk mengetahui konsentrasi mana yang paling efektif sebagai antibakteri. Tabel 12 dan gambar 6 menunjukkan waktu penyembuhan pada konsentrasi 25% dan 50% lebih efektif dibanding dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan salep tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* yang ditunjukkan dengan hilangnya nanah dan keringnya luka pada punggung kelinci. Salep ekstrak biji kesambi dengan konsentrasi 25% dan 50% dapat digunakan sebagai antibakteri. Gambar dapat dilihat pada lampiran 9.

## **9. Hasil Inokulasi dari Suspensi Nanah**

*S. aureus* yang berasal dari eritema pada punggung kelinci diinokulasi pada medium *Vogel Johnson Agar* (VJA), terbentuk koloni-koloni yang berwarna hitam dan disekitar koloni media berwarna kuning.

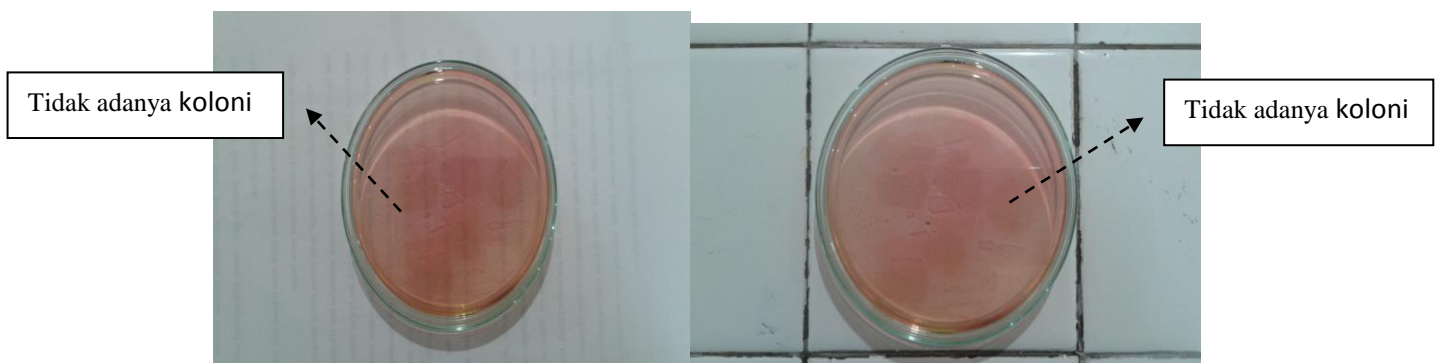




Gambar 7. Foto inokulasi suspensi dari nanah

#### 10. Hasil Inokulasi dari Luka Sembuh

Hasil inokulasi goresan dari luka sembuh pada medium *Vogel Johnson Agar* (VJA) memberikan hasil tidak adanya bakteri *S.aueus* pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA). Media *Vogel Johnson Agar* (VJA) merupakan media selektif untuk *S.aureus* karena mengandung sebagian bahan-bahan atau nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya.



Gambar 8. Konsentrasi 25 % dan Konsentrasi 50%

Penggunaan salep biji kesambi konsentrasi 25% dan 50% memiliki efek

penyembuhan yang baik sebagai antibakteri karena. Kontrol positif memiliki efek penyembuhan yg lebih lama dibandingkan salep biji kesambi konsentrasi 25% dan 50% sedangkan kontrol negatif yang hanya menggunakan basis salep hidrokarbon berupa vaselin album putih memiliki daya penyembuhan luka infeksi paling lama dibandingkan dengan salep ekstrak biji kesambi konsentrasi 25%. Kontrol negatif yang menggunakan vaselin album putih hanya memberikan efek melembabkan bagian atas kulit.

Pemakaian basis salep pada luka infeksi *S.aureus* memberikan efek penyembuhan yang paling lama karena tidak memiliki kandungan bahan aktif sebagai penyembuhan luka infeksi. Luka infeksi hanya diberikan basis salep dapat menyembuhkan luka infeksi dalam jangka waktu yang lama, ditandai dengan menurunnya jumlah koloni dan kesembuhan luka pada kulit punggung kelinci karena pada tubuh yang sehat mempunyai kemampuan alami untuk melindungi dan memulihkan dirinya (Taylor 1997). Hasil pengamatan koloni dari luka infeksi *S.aureus* dengan salep konsentrasi 25% dan 50% kontrol positif dan kontrol negatif pada kulit punggung kelinci dapat dilihat pada lampiran 15.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Hasil penelitian uji aktivitas ekstrak biji kesambi terhadap infeksi buatan yang diberi *S. aureus* ATCC 25923 pada kulit punggung kelinci dapat disimpulkan:

Pertama, ekstrak biji kesambi konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25% dan 50% mempunyai aktivitas antibakteri secara *in vitro* terhadap *S. aureus* ATCC 25923 pada hewan kelinci.

Kedua, sediaan salep ekstrak biji kesambi dengan basis hidrokarbon, konsentrasi 25% dan 50% mempunyai aktivitas antibakteri paling efektif dibanding dengan konsentrasi 6,25% dan 12,5%.

#### **B. Saran**

Penelitian ini masih terdapat banyak kekurangan sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai:

Pertama, perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen lain.

Kedua, untuk pembuatan salep ekstrak biji kesambi disarankan untuk memilih basis hidrokarbon dengan konsentrasi 25% dan 50%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2008. *Pengembangan Sediaan Farmasi*. Bandung: ITB-Press. hlm. 74 – 78.
- Anief. 1997. *Formulasi Obat Topikal Dengan Dasar Penyakit Kulit*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada. hlm. 34.
- Anonim. 1979. *Farmakope Indonesia*, Ed ke-3. Jakarta: Depertemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm. 8-33.
- Arifianti L, Oktarina RD, Kusumawati I. 2014. Pengaruh jenis pelarut pengestraksi terhadap sinensetin dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus Benth*. *E-Journal Planta Husada* 2(1):1-2.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi 1V. Farida Ibrahim, Asmanitar, Lis Ais Aisyah, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. hlm. 12.
- Bonang G, Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta : Gramedia. hlm. 410-417, 605-608, 618-619.
- Damayanti A, Fitriana EA. 2012. Pemungutan Minyak Atsiri Maswar (Rose Oil) dengan Metode Maserasi. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan* 1 (2):2.
- Darmandi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika. hlm 80-81.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia* . Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 9, 13.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hlm 4-11, 25-26.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia*. Edisi V. Jakarta: Depkes RI. hlm. 7, 854.
- Fernandez R. 2014. Uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi air dari ekstrak etanolik kulit batang kesambi (*Schleichera oleosa* Merr.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara in vitro. [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Gunawan, D. dan Mulyani, S. 2004. *Farmakognosi*. Jakarta: Penebar Swadaya. hlm. 9-13.

- Hadioetomo RS. 1985. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT Gramedia. Jakarta. hlm 42-44.
- Harborne JB. 1987. Metode Fitokimia. Ed II. Padmawinata K, Soediro I, Penerjemah; Bandung: ITB Bandung. Terjemahan dari *Phytochemical Methods*. hlm. 102 , 152.
- Hasyim, N., K. L. Pare, I. Junaid, A. Kurniati. 2012. Formulasi dan Uji Efektivitas Gel Luka Bakar Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata L.*) pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 16(2): 89-94
- Hernani, Mawarti. T, Winarti. C.2007. Pemilihan Pelarut pada Pemurnian Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galanga*) secara Ekstraksi. *Pasca panen* 4(1): 1-8.
- Hutapea JR. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia III*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm. 249.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Microbiology)*. Tonang H, penerjemah; Bonang Gerard, editor. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran. hlm.25,263.
- Jawetz, E., J.L. Melnick., E.A. Adelberg., G.F. Brooks., J.S. Butel., dan L.N. Ornston. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-20 (Alih bahasa : Nugroho & R.F.Maulany). Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. hlm. 211,213,215.
- Jawetz, E., Joseph, M., Edward, A., A., Geo, A., Janet, S., B., Nicholas, L., O. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-20 (Alih Bahasa : Edi Nugroho, R.F.Maulany). Editor : Irawati Setiawan. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. hlm. 50-51,212,214,238,242.
- Jawetz, E., J. Melnick, dan E. Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran* Edisi 23. EGC. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. hlm. 213 -217.
- Naibaho HO, Yamlean PVY, Wiyono W. 2013. Pengaruh Basis Salep Terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum L.*) Pada Kulit Punggung Kelinci yang dibuat Infeksi *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi* 2 (2):30-31.
- Ryan, K.J., J.J. Champoux, S. Falkow, J.J. Plonde, W.L. Drew, F.C. Neidhardt, and C.G. Roy. 1994. *Medical Microbiology An Introduction to Infectious Diseases*. 3<sup>rd</sup> ed. Connecticut: Appleton&Lange. hlm. 254.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung : ITB Republik. hlm 249.

- Saha S, Subrahmanyam EVS, Kodangala C, Shastry SC. 2011. Isolation and Characterization of Triterpenoids and Fatty acid ester of Triterpenoid form Leaves of *Bahunia Variegata*. *Der Pharma Chemica* 3(4): 28-37.
- Salle AJ. 1978. *Fundamental Principles of Bacteriology*. 7<sup>th</sup> ed. Tata Mc Graw-Hill. Publishing Company LRD. Inc. New Delli. hlm 559.
- Suita E.2012.*Seri Teknologi Perbenihan Tanaman Hutan Kesambi (Scheichera oleosa MERR.)*. Bogor: Balai Penelitian Teknologi Perbenihan Tanaman Hutan. hlm. 7-11.
- Suriawiria U. 1985. *Pengantar Mikrobiologi Umum* Bandung: Penerbit Angkasa Bandung. hlm. 60-61, 57-58.
- Syarif A, Setiawan A dan Muchtar A. 1995. *Farmakologi dan terapi*, Edisi IV, Bagian Farmakologi, Jakarta : Universitas Indonesia. hlm. 514-524.
- Taylor, C, Lilis, C, LeMone, P. 1997. *Fundamental Of Nursing : The Art And Science Of Nursing Care*. Lippinott-Raven Publishers : Philadelphia
- Tiara, N.Y. 2010. *Uji Antibakteri Salep Ekstrak Etil Asetat Daun Jengkol (Pithecollobium labatum Benth)* terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara in vivo [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Voigt, R., 1994.*Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, diterjemahkan oleh Soendani Noerono, UGM Press, Yogyakarta. hlm. 561 – 564.
- Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi umum*. Malang : UMM Press. hlm. 41-47.
- Warsa, U.C. 1994. *Staphylococcus dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Jakarta : Penerbit Binarupa Aksara. hlm. 103-110.

LAMPIRAN

## Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tanaman kesambi (*S.oleosa* Merr.)



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](mailto:biologi@mipa.uns.ac.id)

Nomor : 38/UN27.9.6.4/Lab/2016  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Clementino Dasilva  
NIM : 18123398 A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Schleichera oleosa* MERR  
Familia : Sapindaceae

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-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76a-77a-78b-103c-104b-106b-107b-186a-187b-203b-204b-205a-206b-211b-212b-214b-215b-217b-218b-219c-220b-222b-223a-224b-229b-230a-231b  
1b-2b-4a-5b-7b-8b-9b-25b-26b-27a  
137. Sapindaceae  
10. *Schleichera*  
1 *Schleichera oleosa* MERR

### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : pohon, menahun, tumbuh tegak, tinggi bisa mencapai 15-40 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan atau coklat muda. Batang : bentuk bulat, berkayu, bercabang banyak, kulit batang berwarna coklat abu-abu, permukaan sedikit berambut hingga gundul, kasar. Daun : tersusun spiral, majemuk menyirip ganda, terdiri atas 2- 8 anak daun; anak daun berbentuk bulat telur atau bulat telur sungsgang atau memanjang, panjang 3.75-18 cm, lebar 2-9 cm, permukaan sedikit berambut hingga gundul, pangkal tumpul, tepi rata, ujung runcing, pertulangan menyirip, daun muda berwarna ungu sedangkan daun dewasa berwarna hijau muda hingga hijau tua; tangkai anak daun sedikit berambut hingga gundul, tebal, panjang 1-3 mm. Bunga : bunga majemuk tipe malai, umumnya terletak di ketiak, panjang 1.5-13 cm, terdapat bunga jantan dan bunga benci, bunga bersimetri banyak (*actinomorphic*); panjang tangkai bunga 2-5 mm, berambut; kelopak bunga terdiri atas 4-6 daun yang berlepasan, sedikit berambut hingga gundul, diameter 1.5 mm; umumnya tidak ada daun mahkota; benang sari 5-8, tangkai benang sari diselaputi rambut-rambut panjang khususnya di bagian pangkalnya; putik terdiri atas 3-4 kepala putik, berkembang dengan baik di bunga benci tetapi mereduksi pada bunga jantan, tangkai kepala putik berkembang dengan baik, bakal buah beruang 3-4, masing-masing ruangan berisi 1 bakal biji. Buah : bentuk bola atau elips sampai semi globular, panjang 2.5 cm, kulit buah tebal, berwarna hijau ketika mentah dan kuning ketika masak, kulit buah tipis dan keras, tidak mudah pecah. Biji : elipsoid dengan selubung biji (*arillus*) yang berdaging dan berair berwarna kuning yang rasanya masam, umumnya terdiri atas 1 embrio.

Surakarta, 22 Maret 2016

Kepala Lab/Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, 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 3. Perhitungan Prosentase bobot kering terhadap bobot basah  
biji kesambi**

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Randeman (%)
9000	1640	18,222
Total		18,222

Perhitungan prosentase bobot kering =

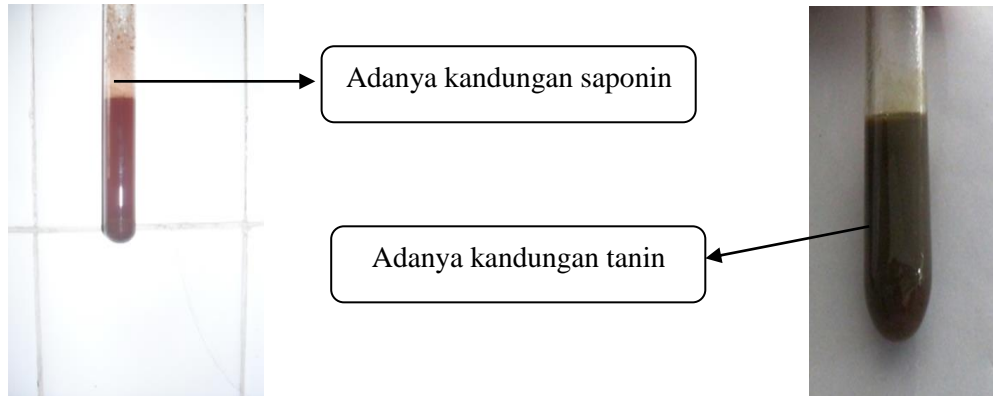
$$\text{Bobot kering I} = \frac{1640}{1000} \times 100\%$$

$$= 18,222\%$$

Kesimpulan :

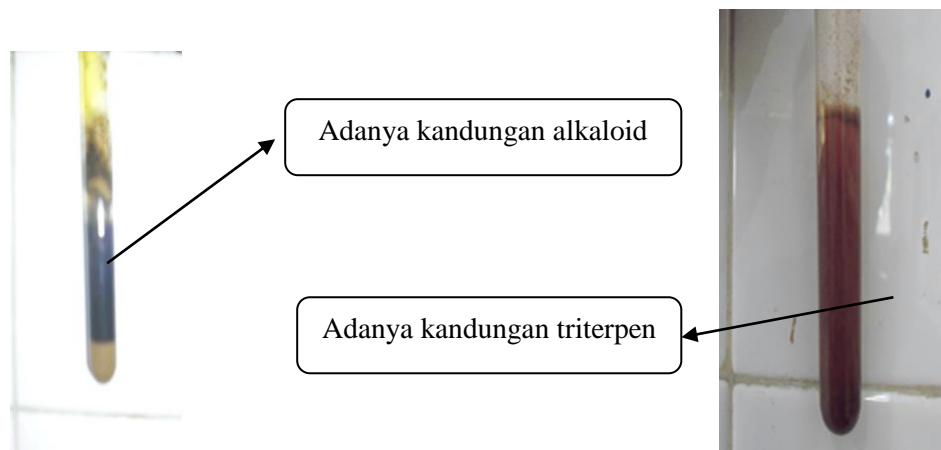
Prosentase bobot kering terhadap bobot basah biji kesambi adalah 18,222 %.

**Lampiran 4. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak biji kesambi**



Saponin

Tanin



Alkaloid

Triterpen

**Lampiran 5. Perhitungan hasil rendemen ekstrak biji kesambi secara maserasi menggunakan pelarut etanol**

No	Bobot Serbuk (gram)	Hasil maserasi (gram)	Prosentase (% <sup>b/b</sup> )
1.	100	16,52	16,52
2.	100	18,28	18,28
3.	100	17,15	17,15
	$\Sigma = 300$	$\Sigma = 51,95$	$\Sigma = 51,95$
	$= 100$	$= 17,31$	$= 17,31$

Prosentase diperoleh dengan rumus =  $\frac{\text{hasil maserasi}}{\text{bobot serbuk}} \times 100\%$

$$\begin{aligned} \text{Bobot kering I} &= \frac{16,52}{100} \times 100\% \\ &= 16,52\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot kering II} &= \frac{18,28}{100} \times 100\% \\ &= 18,28\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot kering III} &= \frac{17,15}{100} \times 100\% \\ &= 17,15\% \end{aligned}$$

Hasil perhitungan prosentase rendemen ekstrak biji kesambi diatas terdapat satu data yang menyimpang 18,28% jika dibanding dengan kedua data yang lain, sehingga patut dicurigai. Data ini akan dianalisis dengan menggunakan perhitungan standar deviasi sebagai berikut :

$$\text{Rumus SD} = \sqrt{\frac{\Sigma (X - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

Keterangan :

$\bar{X}$  : prosentase rendemen

$\bar{X}$  : rata – rata prosentase rendemen

n : banyaknya perlakuan

SD : standar devisiasi

Kriteria penolakan SD adalah  $|X - \bar{X}| > 2 \text{ SD}$ , dimana X adalah data yang dicurigai.

Prosentase	$\bar{X}$	d = $ X - \bar{X} $	d <sup>2</sup>
16,52	17,31	0,79	0,6241
18,28		0,97	0,9409
17,15		0,16	0,0256
			$\Sigma = 061,59$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{1,5906}{3-1}}$$

$$= 0,88$$

$$2 \text{ SD} = 2 \times 0,88$$

$$= 1,76 \text{ dan } X = 18,28$$

$$\bar{X} = \frac{16,52 + 17,15}{2} = 16,83$$

Kriteria penolakan standar deviasi adalah sebagai berikut :

$$|X - \bar{X}| > 2 \text{ SD} \text{ dimana data yang dicurigai, } |16,52 - 16,83| = 0,316 < 2 \text{ SD } (1,76)$$

maka data diterima.

$$\text{Prosentase rata-rata randemen ekstrak etanol adalah} = \frac{16,52 + 18,28 + 17,15}{3} = 17,31 \%$$

Kesimpulan :

Prosentase rendemen ekstrak biji kesambi secara maserasi adalah 17,31 %.

### Lampiran 6. Gambar pengujian salep

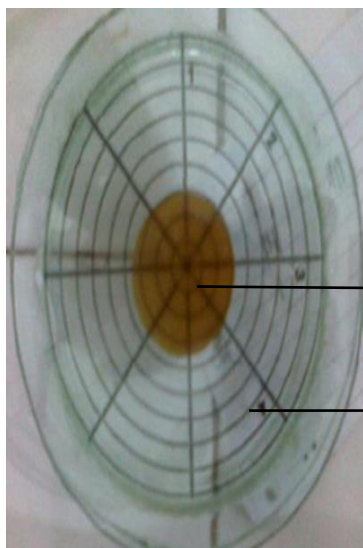


**Pengujian viskositas salep**

- Serbuk biji kesambi
- Alat *moisture balance*
- Alat uji viskositas salep
- Salep ekstrak biji kesambi

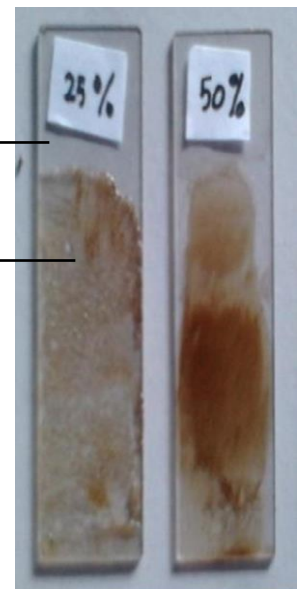


**Uji susut pengeringan serbuk**

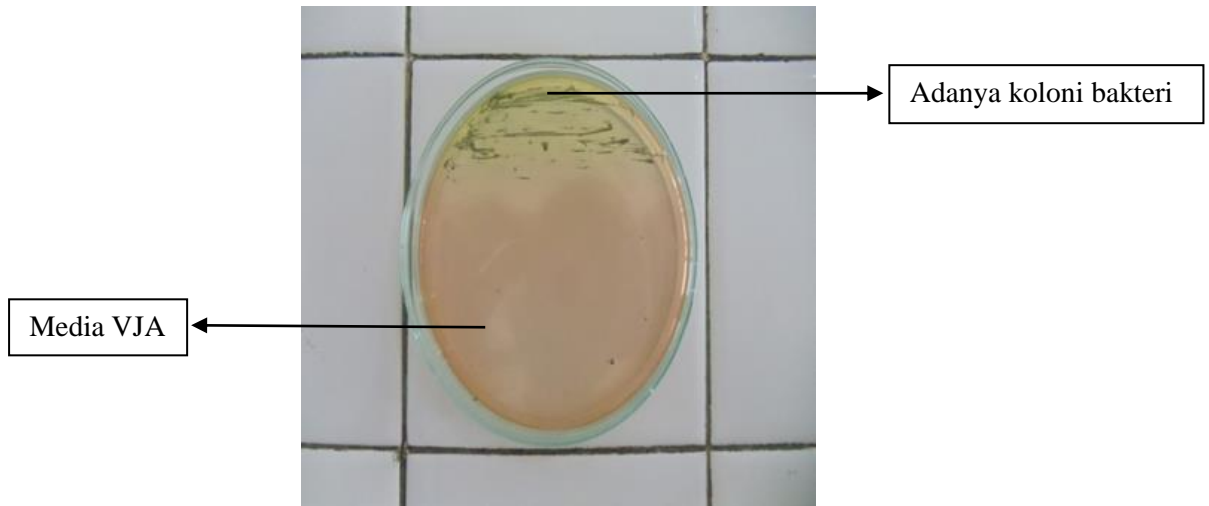
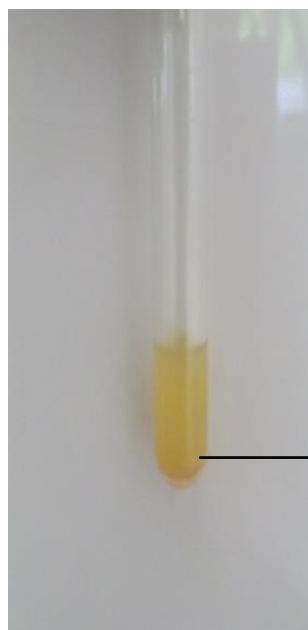


**. Uji daya sebar salep**

- Alat uji homogenitas
- Salep ekstrak biji kesambi
- Salep ekstrak biji kesambi
- Alat uji daya sebar

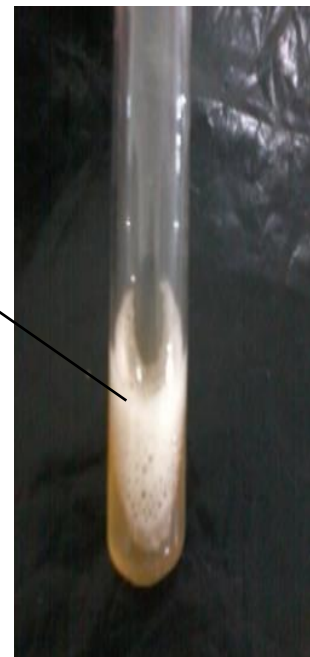


**Uji homogenitas salep**

**Lampiran 7. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923****Identifikasi Bakteri****Uji koagulase**

Adanya gelembung udara  
menunjukkan uji katalase (+)

Adanya plasma yang tertepel pada  
dinding tabung menunjukkan uji  
koagulase (+)

**Uji katalase**

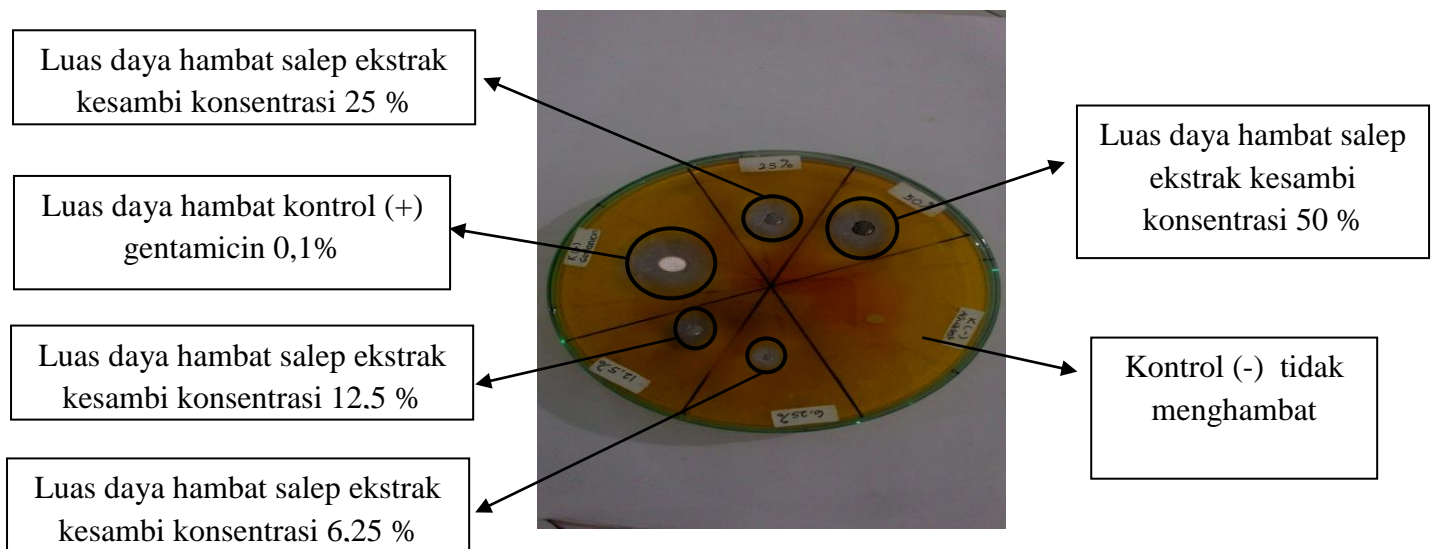
**Lampiran 8. Gambar uji *in vitro* ekstrak biji kesambi terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 25923**



**Media VJA dalam tabung**



**Suspensi bakteri**



**Hasil uji *in vitro***



**Lampiran 9. Gambar uji *in vivo* efektifitas antibakteri salep ekstrak biji kesambi dengan empat konsentrasi salep pada kulit punggung kelinci yang dibuat infeksi *S.aureus* ATCC 25923**

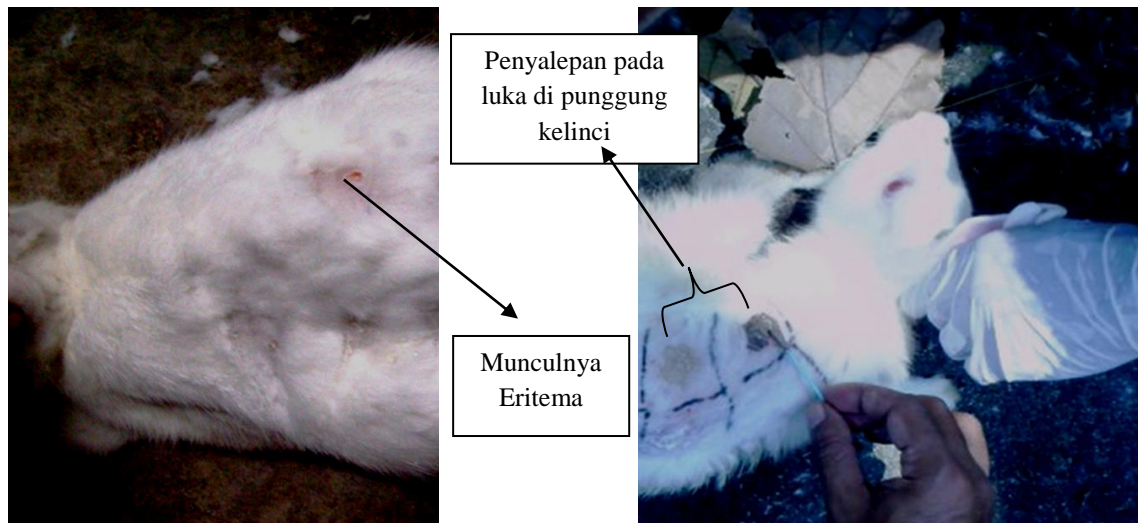


Hewan kelinci sebelum diinfeksi bakteri



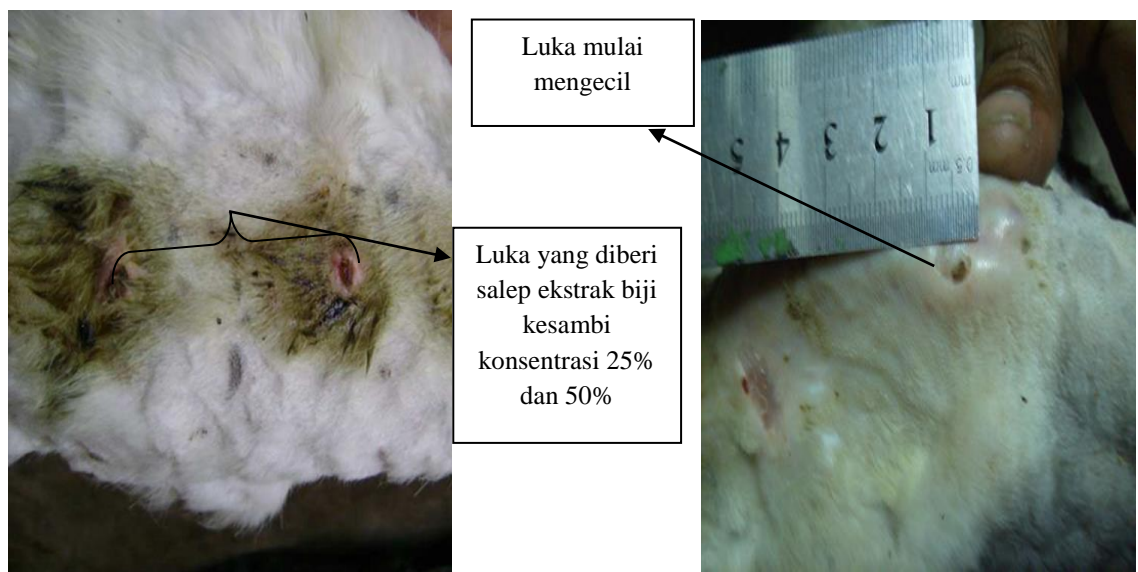
Kelinci diinfeksi bakteri *S. aureus* secara subkutan

**Injeksi Bakteri**



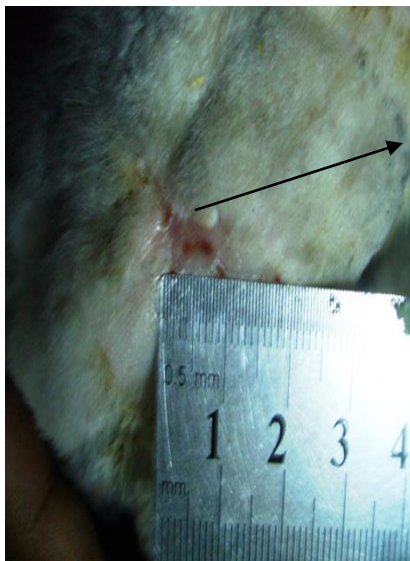
**Munculnya eritema (48 jam)**

**Hari 1 penyalepan**



**Hari 3 penyalepan**

**Hari 5 penyalepan**



**Hari 7 penyalepan**

Luka mulai mengecil dan mengering

Luka sudah sangat kecil



**Hari 9 penyalepan**

Luka sembuh



**Hari 10 penyalepan**

**Lampiran 10. Gambar kemasan salep merk X dan salep ekstrak biji kesambi konsentrasi 25% dan 50%.**



**Salep ekstrak biji kesambi**



**Salep gentamicin kontrol (+)**



**Lampiran 11. Gambar tanaman kesambi.**



**Tanaman kesambi**



**biji kesambi**



**Ekstrak biji kesambi**



**. Serbuk biji kesambi**

**Lampiran 12. Gambar alat dan bahan****Botol tempat maserasi****Alat viskometer****Alat moisture balance****Alat ukur diameter salep**



**Mesin penggiling**



**Oven**



**Inkubator**

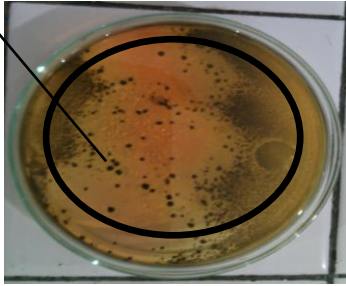


**VJA****BHI****Water bath****Autoclave**



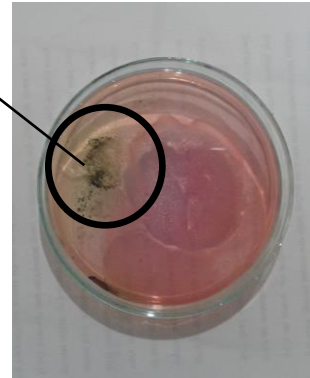
**Lampiran 13. Gambar hasil inokulasi koloni bakteri dari nanah punggung kelinci setelah pemberian salep ekstrak biji kesambi.**

Koloni bakteri



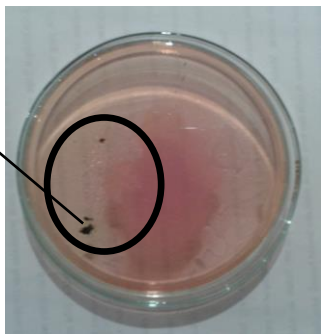
**Hari 2 adanya koloni bakteri**

Koloni bakteri



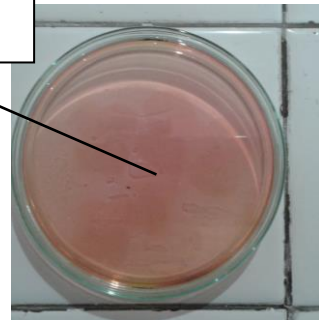
**Hari 4 adanya koloni bakteri**

Koloni bakteri



**Hari 6 adanya koloni bakteri**

Tidak adanya koloni bakteri



**Hari 8 tidak adanya koloni bakteri**

**Lampiran 14. Perhitungan salep ekstrak biji kesambi dengan konsentrasi 25% dan 50% dengan basis hidrokarbon.**

Sediaan salep biji kesambi untuk masing-masing konsentrasi dibuat 100 gram dengan penambahan nipasol 0,02 gram tiap konsentrasi. Perhitungan sebagai berikut :

1. Konsentrasi 25 %

$$\begin{aligned}
 \text{Ekstrak biji kesambi} &= \frac{25}{100} \times 100 \text{ g} \\
 &= 25 \text{ g} \\
 \text{Nipasol} &= 0,02 \text{ g} \\
 \text{Basis (vaselin album)} &= 100 \text{ g} - 25 \text{ g} - 0,02 \text{ g} \\
 &= 74,98 \text{ g}
 \end{aligned}$$

2. Konsentrasi 50 %

$$\begin{aligned}
 \text{Ekstrak biji kesambi} &= \frac{50}{100} \times 100 \\
 &= 50 \text{ g} \\
 \text{Nipasol} &= 0,02 \text{ g} \\
 \text{Basis (vaselin album)} &= 100 \text{ g} - 50 \text{ g} - 0,02 \text{ g} \\
 &= 49.98 \text{ g}
 \end{aligned}$$

**Lampiran 15. Perhitungan pembuatan larutan konsentrasi 6,25%, 12,5%,  
25% dan 50%**

1. Pembuatan konsentrasi 50 %

$$\begin{aligned} 50\% &= 50\text{g} / 100\text{ ml} \\ &= 1\text{g} / 2\text{ ml} \end{aligned}$$

Menimbang 1 g hasil ekstrak biji kesambi kemudian dilarutkan dalam DMSO  
1% sebanyak 2 ml.

2. Pembuatan konsentrasi 25%

$$\begin{aligned} 25\% &= 25\text{ g} / 100\text{ ml} \\ &= 1\text{ g} / 4\text{ ml} \end{aligned}$$

Menimbang 1 g hasil ekstrak biji kesambi kemudian dilarutkan dalam DMSO  
1% sebanyak 4 ml.

3. Pembuatan konsentrasi 12,5 %

$$\begin{aligned} 12,5\% &= 12,5\text{ g} / 100\text{ ml} \\ &= 1\text{ g} / 8\text{ ml} \end{aligned}$$

Menimbang 1 g hasil ekstrak biji kesambi kemudian dilarutkan dalam DMSO  
1% sebanyak 8 ml.

4. Pembuatan konsentrasi 6,25%

$$\begin{aligned} 6,25\% &= 6,25\text{ g} / 100\text{ ml} \\ &= 1\text{ g} / 16\text{ ml} \end{aligned}$$

Menimbang 1 g hasil ekstrak biji kesambi kemudian dilarutkan dalam DMSO

1% sebanyak 8 ml.

**Lampiran 16. Hasil pengamatan kulit punggung kelinci setelah pemberian salep ekstrak biji kesambi dengan konsentrasi 25% dan 50%.**

Basis salep hidrokarbon	Replikasi			Pengamatan infeksi <i>Staphylococcus aureus</i> setelah pengobatan (hari)																	
		24 jam	48 jam	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	Hari
Konsentrasi 25%	I	e	e	n	n	n	n	n	n	n	k	k	k	k	s	s	s	s	s	s	12
	II	e	e	n	n	n	n	n	n	n	k	k	k	s	s	s	s	s	s	s	11
	III	e	e	n	n	n	n	n	n	n	n	k	k	k	s	s	s	s	s	s	12
Konsentrasi 50 %	I	e	e	n	n	n	n	n	n	n	k	k	s	s	s	s	s	s	s	s	11
	II	e	e	n	n	n	n	n	n	n	k	k	s	s	s	s	s	s	s	s	10
	III	e	e	n	n	n	n	n	n	k	k	k	s	s	s	s	s	s	s	s	11
Kontrol -	I	e	e	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	k	k	s	s	16
	II	e	e	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	k	k	k	s	17
	III	e	e	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	k	k	k	s	17
Kontrol +	I	e	e	n	n	n	n	n	n	n	n	k	k	k	s	s	s	s	s	s	12
	II	e	e	n	n	n	n	n	n	n	n	k	k	k	k	s	s	s	s	s	13
	III	e	e	n	n	n	n	n	n	n	k	k	k	k	s	s	s	s	s	s	12

Keterangan:

Kontrol + = salep antiseptik merk X  
 Kontrol - = tanpa perlakuan  
 e = eritema  
 k = kering  
 n = nanah  
 s = sembuh

### Lampiran 17. Formulasi Pembuatan media

#### Formulasi dan pembuatan *Vogel Jhonson Agar* (VJA)

Peptone from casein	10,0 gram
Yeast extract	5,0 gram
di-potasium hydrogen phosphate	10,0 gram
D(-)mannitol	10,0 gram
Lithium chloride	5,0 gram
Glycine	10,0 gram
Phenol red	0,025gram
Agar	13,0 gram

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 pH 7,4.

#### Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain infusion	12,5 gram
Heart infusion	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium choride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram

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 tabung pH 7,4 .

**Lampiran 18. Analisa data hari penyembuhan luka konsentrasi 50% , 25%, kontrol (-) dan kontrol (+) yang diinfeksi bakteri *S.aureus* pada punggung kelinci .**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kontrol positif	3	12.3333	.57735	12.00	13.00
Kontrol negatif	3	16.6667	.57735	16.00	17.00
Konsentrasi pertama	3	11.3333	.57735	11.00	12.00
Konsentrasi kedua	3	10.3333	.57735	10.00	11.00

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Kontrol positif	Kontrol negatif	Konsentrasi pertama	Konsentrasi kedua
N		3	3	3	3
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	12.3333	16.6667	11.3333	10.3333
	Std. Deviation	.57735	.57735	.57735	.57735
Most Extreme Differences	Absolute	.385	.385	.385	.385
	Positive	.385	.282	.385	.385
	Negative	-.282	-.385	-.282	-.282
Kolmogorov-Smirnov Z		.667	.667	.667	.667
Asymp. Sig. (2-tailed)		.766	.766	.766	.766

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Kontrol positif	12.3333	3	.57735	.33333
	Kontrol negatif	16.6667	3	.57735	.33333
Pair 2	Kontrol positif	12.3333	3	.57735	.33333
	Konsentrasi pertama	11.3333	3	.57735	.33333
Pair 3	Kontrol positif	12.3333	3	.57735	.33333
	Konsentrasi kedua	10.3333	3	.57735	.33333
Pair 4	Kontrol negatif	16.6667	3	.57735	.33333
	Konsentrasi pertama	11.3333	3	.57735	.33333
Pair 5	Kontrol negatif	16.6667	3	.57735	.33333
	Konsentrasi kedua	10.3333	3	.57735	.33333
Pair 6	Konsentrasi pertama	11.3333 <sup>a</sup>	3	.57735	.33333
	Konsentrasi kedua	10.3333 <sup>a</sup>	3	.57735	.33333

a. The correlation and t cannot be computed because the standard error of the difference is 0.

**Paired Samples Correlations**

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Kontrol positif & Kontrol negatif	3	.500	.667
Pair 2	Kontrol positif & Konsentrasi pertama	3	-.500	.667
Pair 3	Kontrol positif & Konsentrasi kedua	3	-.500	.667
Pair 4	Kontrol negatif & Konsentrasi pertama	3	-1.000	.000
Pair 5	Kontrol negatif & Konsentrasi kedua	3	-1.000	.000

**Paired Samples Test**

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 Kontrol positif - Kontrol negatif	-4.33333	.57735	.33333	-5.76755	-2.89912	-13.000	2	.006
Pair 2 Kontrol positif - Konsentrasi pertama	1.00000	1.00000	.57735	-1.48414	3.48414	1.732	2	.225
Pair 3 Kontrol positif - Konsentrasi kedua	2.00000	1.00000	.57735	-.48414	4.48414	3.464	2	.074
Pair 4 Kontrol negatif - Konsentrasi pertama	5.33333	1.15470	.66667	2.46490	8.20177	8.000	2	.015
Pair 5 Kontrol negatif - Konsentrasi kedua	6.33333	1.15470	.66667	3.46490	9.20177	9.500	2	.011