

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, ekstrak etanol 70% dari kayu secang merupakan yang paling aktif sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Ketiga, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol 70% kayu secang terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 adalah 3,12%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) sebagai antibakteri pada bakteri gram negatif yang lain selain *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk dibuat sediaan cream untuk luka bakar yang dapat digunakan oleh masyarakat.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* terhadap ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.).

DAFTAR PUSTAKA

- Benson dan Harold J. 2002. *Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology*. New York: McGraw-Hill.
- Cappuccino, James G, Sherman, Natalie. 2013. *Manual Laboratorium Biologi*. Jakarta: EGC.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. Diakses pada tanggal 11 Juni 2010, pukul 20.00 WIB.
- Cushnie TP and Lamb AJ. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. Hlm 343-356.
- Davis WW and Stout TR. 1971. Disc plate methods of microbiological antibiotics assay. *Applied Microbiology*.
- [DEPKES RI]. 1979. *Farmakope Indonesia*. Ed ke-3. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI]. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. hlm 47-52.
- [DEPKES RI]. 2005. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (1)*. Jilid II. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI]. 2010. *Supl I Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 91.
- Dipiro JT, Welss BG, Schwinghammer TL, Cecily VD. *Pharmacotherapy Handbook*. Ed ke-9. New York: Mc Graw-Hill Education. hlm 421.
- Djide dan Sartini. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Farmasi*. Makasar: Lephass. hlm 81.
- Goldman E dan Green LH, editor. 2009. *Practical handbook of microbiology*. Ed ke-2. New York: CRC Press. hlm 231-235.
- Gilman AG. 2007. *Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi*. Diterjemahkan oleh Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB. Ed ke-10. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Hada SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. 2008. *Extraction Technologies For Meddical And Aromatic Plants*. Italy: Italian ministry of foreign affairs.

- Harborne JB. 1996. *Phytochemical Methods a Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Ed ke-2. New York: Chapman and Hall. hlm 7.
- Harborne JB. 2006. *Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Padmawinata K dan Soediro I, penerjemah. Bandung: Penerbit ITB.
- Hariana A. 2006. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri I*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Haryanto S. 2009. *Ensiklopedi Tanaman Obat Indonesia*. Yogyakarta: Palmall. hal 456-458.
- Hassan A, Rahman S, Deebe F, Mahmud S. 2009. Antimicrobial activity of some plant extracts having hepatoprotective effects. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3(1):20.
- Hermawan A. 2007. Pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi disk. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Hidayat S dan Napitupulu RM. 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. Jakarta: AgriFlo.
- https://itis.gov/servlet/SingleRpt/RefRpt?search_type=source&search_id=source_id&search_id_value=533. Diakses pada tanggal 11 Juni 2019, pukul 20.17 WIB
- Jawetz *et al.* 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg*. Ed ke-23. Jakarta: EGC.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2012. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Ed ke-25. Boning G, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG.
- Jawetz, Melnick, dan Adelbergs's. 2013. *Medical Microbiology*. Ed ke-26. New York: Mc-Graw Hill.
- Kusmayati dan Agusini N W R. 2007. Uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga (*Porphyridium cruentum*). *Biodiversitas*. 8(1):48-53.
- Madhubala S, Poongothai M, Kumar ME. 2018. Antibacterial and antiacne activity of *Caesalpinia sappan* L. and *Cinamomum verum* J.Presl – a comparison. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*. 5:118-122.
- Muhaimin AA, Siswanto HP, Tyasningsih W, dan Suryanie. 2013. Perbedaan warna koloni *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada media

- ekstrak daging sapi dan sari kacang hijau yang ditambah sitrat dan bromthymol blue. *Jurnal Veterinaria Medica*. Vol 6(1).
- Nirmal NP, Rajput MS, Prasad RG, Ahmad M. 2015. Brazilin from *Caesalpinia sappan* heartwood and its pharmacological: a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 8(6):421-430.
- Nuria CM, Faizatun A, dan Sumantri. 2009. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhii* ATCC 1408. *Mediagro*. Vol 5(2):26-37.
- Pelczar MJ dan Chan ES. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Ed ke-2. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Permatasari G, Besung INK, dan Mahatmi H. 2013. Daya hambat perasan daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Medicus Veterinus*. Vol 2(2):162-169.
- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Ed ke-6 Bandung: ITB.
- Sarker SD, Latif Z, dan Gray AI, editor. 2006. *Methods in Biotechnology Natural Products Isolation*. Ed ke-2. New York: Humana press.
- Sarker SD dan Lutfun N, editor. 2012. *Methods in Molecular Biology Natural Products Isolation*. Ed ke-3. New York: Humana press. hlm 341.
- Schroeter. 1872. <https://www.gbif.org/species/3223154>. Diakses tanggal 11 Juni 2019 pukul 19.44 WIB.
- Senthilkumar N *et al*. 2011. Biochemical estimation and antimicrobial activities of the extracts of *Caesalpinia sappan* Linn. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*. 46(4):429-436.
- Setyowati WA, Ariani SR, Ashadi, Mulyani B, Rahmawati CP. 2014. Skrining fitokimia dan identifikasi komponen utama ekstrak metanol kulit durian (*Durio zibethinus* Murr.) varietas petruk. *Jurnal Kimia Organik* : 1-10
- Sireeratawong S *et al*. 2010. Toxicity evaluation of sappan wood extract in rats. *Journal of the Medical Association of Thailand*. Thailand: JMed Assoc. 93(7): S50-S57.
- Srinivasan R, Selvam GG, Karthik S, Mathivanan K. 2012. *In vitro* antimicrobial activity of *Caesalpinia sappan* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. S136-S139.

- Strohl WA, Rouse H, Fisher BD. 2001. *Microbiology*. USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Tiwari P, Bimlesh K, Mandeep K, Gupreet K, Harleen K. 2011. Phytochemical screening and extraction. *Internationale Pharmaceutica Sciecia*.
- Victor L. 1980. *Antibiotics in Laboratory Test*. USA: The Williams and Wilkins Company.
- Volk dan Wheeler. 1990. *Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima Jilid Dua*. Jakarta: Erlangga.
- Widigdyo A, Widodo E, Djunaidi IH. 2017. Extract of *Caesalpinia sappan* L. as antibacterial feed additive on intestinal microflora of laying quail. *J. Exp. Life Sci.* 7(1):7-8.
- Yulandani RA, Irene MK, Rahfiludin MZ. 2015. Pengaruh pemberian ekstrak secang (*Caesalpinia sappan* l.) terhadap kualitas sensoris dan mikrobiologis kue bolu kukus tahun 2014. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 3(1):278-285.
- Yuliani R, Prasetyo MN, Liberitera S. 2017. Skrining aktivitas antibakteri beberapa ekstrak tanaman terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. *The 6th University Research Colloquium*. Universitas Muhammadiyah Magelang.

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

Lampiran 1. Determinasi kayu secang



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Ir. Sutami 36A Ketingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail: biologi@mpa.uns.ac.id

Nomor : 225/UN27.9.6.4/Lab/2018
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Julinar Intan Pratiwi
NIM : 21154502A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Caesalpinia sappan* L.
Familia : Caesalpinaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :

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-59a-60b-64b-66b-67b-69b

106. Caesalpinaceae

1a-2b-3b-4a-5b-6a-7b

28. *Caesalpinia*

1a-2b-3b-5b-7b-8a

Caesalpinia sappan L.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : semak atau pohon kecil, menahun, tinggi 5-10 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan hingga coklat kekuningan. Batang : tegak, bercabang banyak dan panjang, berbentuk bulat, berkayu, mempunyai lentisel, permukaan berduri, bentuk duri bengkok, tersebar, kulit batang berwarna merah. Daun : majemuk menyirip, panjang 25-40 cm, terdiri atas 9-16 pasang sirip, panjang sirip 6.5-17 cm, setiap sirip mempunyai 10-20 pasang anak daun yang berhadapan; anak daun tidak bertangkai, bentuk oval atau oval memanjang, panjang 10-25 mm, lebar 6-11 mm, pangkal anak daun hampir rata, ujung anak daun bundar, tepi anak daun rata, pertulangan anak daun menyirip; panjang daun penumpu 3-4.5 cm. Bunga : tersusun dalam bunga majemuk/perbungaan berupa tandan, terdapat di ujung, panjang tandan 10-40 cm, panjang ibu tangkai bunga 15-20 cm, panjang tangkai bunga 1.5-2.5 cm; pinggir kelopak bunga berambut, panjang daun kelopak yang terbawah ± 10 mm, lebar ± 4 mm; mahkota bunga memencar, berwarna kuning terang, helaian bendera membundar bergaris tengah 4-6 mm, 4 helai daun mahkota bunga lainnya juga membundar dan bergaris tengah ± 10 mm; panjang benang sari ± 15 mm; panjang putik ± 18 mm. Buah : berupa buah polong, berwarna hitam ketika masak dan hijau ketika masih mentah/muda, berbentuk oval atau oval memanjang, pipih, panjang 6.5-9.5 cm, lebar 2.5-4 cm, berisi 2-4 biji. Biji : panjang biji 15-18 mm, lebar 8-11 mm, tebal 5-7 mm.

Surakarta, 30 November 2018

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

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

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 2. Foto tanaman kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.)



Kayu secang kering



Serbuk kayu secang

Lampiran 3. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
1500	1180	78,67 %

$$\begin{aligned}
 \% \text{ rendemen bobot kering} &= \frac{1180 \text{ (g)}}{1500 \text{ (g)}} \times 100 \% \\
 &= 78,67 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 4. Perhitungan rendemen ekstrak etanol dan fraksi kayu secang

Rendemen ekstrak kayu secang

Bobot serbuk	Bobot ekstrak	Rendemen ekstrak (%b/v)
800 gram	90,154 gram	11,269 %

$$\begin{aligned}
 \% \text{ rendemen ekstrak} &= \frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{90,154 (g)}{800 (g)} \times 100 \% \\
 &= 11,269 \%
 \end{aligned}$$

Rendemen hasil fraksi kayu secang

Rendemen hasil fraksi *n*-heksana dari ekstrak kayu secang

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)
17	0,334	1,96
17	0,330	1,94
17	0,335	1,97
Rata-rata		1,96

$$\begin{aligned}
 1. \% \text{ rendemen fraksi } n\text{-heksana} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,334(g)}{17 (g)} \times 100 \% \\
 &= 1,96\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \% \text{ rendemen fraksi } n\text{-heksana} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,330(g)}{17 (g)} \times 100 \% \\
 &= 1,94\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \% \text{ rendemen fraksi } n\text{-heksana} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,335(g)}{17 (g)} \times 100 \% \\
 &= 1,97\%
 \end{aligned}$$

Rendemen hasil fraksi etil asetat dari ekstrak kayu secang

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)
17	11,40	67,06
17	11,38	66,94
17	11,35	66,76
Rata-rata		66,92

$$\begin{aligned}
 1. \% \text{ rendemen fraksi etil asetat} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{11,40(g)}{17 (g)} \times 100 \% \\
 &= 67,06 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \% \text{ rendemen fraksi etil asetat} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{11,38(g)}{17 (g)} \times 100 \% \\
 &= 66,94 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \% \text{ rendemen fraksi etil asetat} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{11,35(g)}{17 (g)} \times 100 \% \\
 &= 66,76 \%
 \end{aligned}$$

Rendemen hasil fraksi air dari ekstrak kayu secang

Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)
17	2,75	16,18
17	2,75	16,18
17	2,78	16,35
Rata-rata		16,24

$$\begin{aligned}
 1. \% \text{ rendemen fraksi air} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{2,75 \text{ (g)}}{17 \text{ (g)}} \times 100 \% \\
 &= 16,18 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \% \text{ rendemen fraksi air} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{2,75 \text{ (g)}}{17 \text{ (g)}} \times 100 \% \\
 &= 16,18 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \% \text{ rendemen fraksi air} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{2,78 \text{ (g)}}{17 \text{ (g)}} \times 100 \% \\
 &= 16,35 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 5. Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak kayu secang menggunakan alat *Moisture balance*

Susut pengeringan serbuk kayu secang

Replikasi	Berat awal serbuk (gram)	Susut pengeringan (%)
1	2,0	4,5 %
2	2,0	4,0 %
3	2,0	3,4 %
Rata-rata		3,97 %

Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk kayu secang

$$\begin{aligned}\text{Rata - rata} &= \frac{4,5\% + 4,0\% + 3,4\%}{3} \\ &= 3,97 \%\end{aligned}$$

Susut pengeringan ekstrak kayu secang

Replikasi	Berat awal ekstrak (gram)	Susut pengeringan (%)
1	2,0	0,4 %
2	2,0	0,5 %
3	2,0	0,6 %
Rata-rata		0,5 %

Perhitungan penetapan susut pengeringan ekstrak kayu secang

$$\begin{aligned}\text{Rata - rata} &= \frac{0,4\% + 0,5\% + 0,6\%}{3} \\ &= 0,5 \%\end{aligned}$$

Lampiran 6. Foto ekstrak dan fraksi kayu secang



Ekstak etanol kayu secang



Fraksi *n*-heksana kayu secang



Fraksi etil asetat kayu secang



Fraksi air kayu secang



Proses maserasi



Proses fraksinasi

Lampiran 7. Foto hasil uji bebas etanol dan identifikasi kandungan kimia



Uji bebas etanol

Fraksi etil asetat



Ekstrak

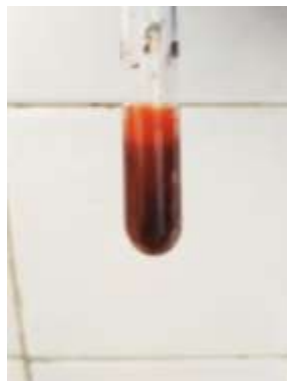


Uji flavonoid

Ekstrak



Fraksi etil asetat



Uji saponin

Ekstrak**Fraksi etil asetat****Uji alkaloid dengan peraksi Dragendorff****Fraksi etil asetat****Ekstrak****Uji tanin**

Lampiran 8. Foto hasil isolasi dan identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



Isolasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada media PSA

SIM



KIA



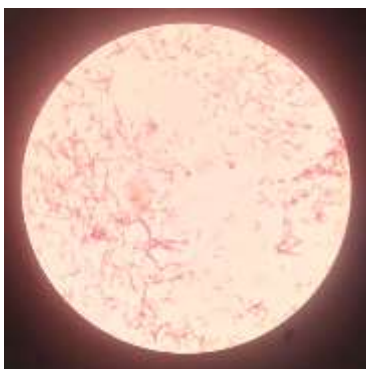
LIA



CITRAT



Identifikasi uji biokimia *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



Identifikasi uji pewarnaan Gram *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Lampiran 9. Pembuatan sediaan ekstrak dan fraksi untuk uji difusi dan dilusi

Pembuatan larutan stok konsentrasi 50 %

Konsentrasi 50 % b/v = 50 g / 100 ml

$$= 1,5 \text{ g} / 3 \text{ ml}$$

Timbang 1,5 g ekstrak tambahkan aseton ad 3 ml

Konsentrasi 25 % b/v = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

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

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

Memipet 1 ml larutan induk konsentrasi 50 % dimasukkan ke dalam vial yang sudah dikalibrasi dan diencerkan dengan aseton ad 2 ml

Konsentrasi 12,5 % b/v = $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

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

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

Memipet 1 ml larutan induk konsentrasi 25 % dimasukkan ke dalam vial yang sudah dikalibrasi dan diencerkan dengan aseton ad 2 ml

Pembuatan larutan stok dilusi konsentrasi 50 % dari ekstrak etanol

Tabung	Konsentrasi (%)	V1 (ml)	C1 (%)	V2 (ml)	C2 (%)	keterangan
1	K (-) 50 %	-	-	-	-	1 ml larutan stok
2	50	-	-	-	-	0,5 ml larutan stok + BHI ad 1 ml
3	25	0,5	50	1	25	0,5 ml tabung 2 + BHI ad 1 ml
4	12,5	0,5	25	1	12,5	0,5 ml tabung 3 + BHI ad 1 ml
5	6,25	0,5	12,5	1	6,25	0,5 ml tabung 4 + BHI ad 1 ml
6	3,125	0,5	6,25	1	3,125	0,5 ml tabung 5 + BHI ad 1 ml
7	1,56	0,5	3,125	1	1,56	0,5 ml tabung 6 + BHI ad 1 ml
8	0,78	0,5	1,56	1	0,78	0,5 ml tabung 7 + BHI ad 1 ml
9	0,39	0,5	0,78	1	0,39	0,5 ml tabung 8 + BHI ad 1 ml
10	K (+)	-	-	-	-	1 ml suspensi bakteri

Keterangan :

Tabung 1 = kontrol (-) larutan stok 50 % 1 ml

Tabung 3 = konsentrasi 25 %

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

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

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

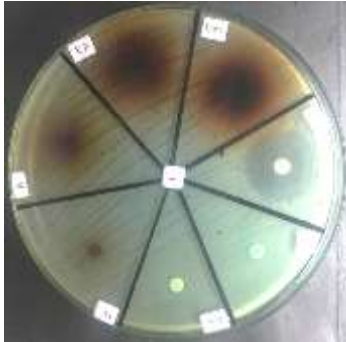
Tabung 9 = setelah dihomogenkan lalu dibuang 0,5 ml

Tabung 10 = kontrol (+) suspensi bakteri 1 ml

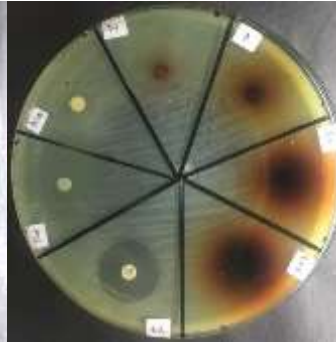
Tabung 2 – 9 ditambah suspensi bakteri 0,5 ml

Lampiran 10. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi-fraksi kayu secang terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara difusi

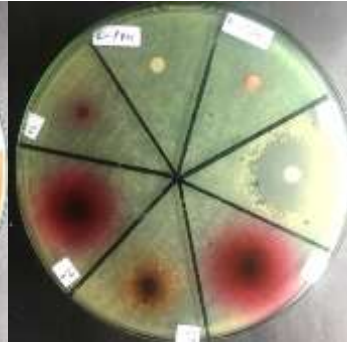
Replikasi 1



Replikasi 2

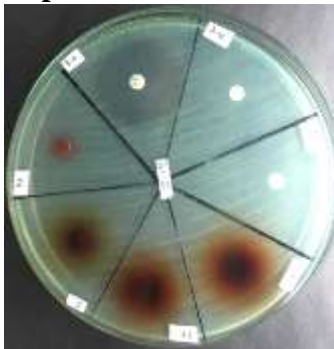


Replikasi 3



Uji difusi konsentrasi 50%

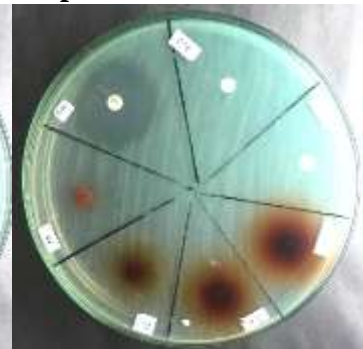
Replikasi 1



Replikasi 2

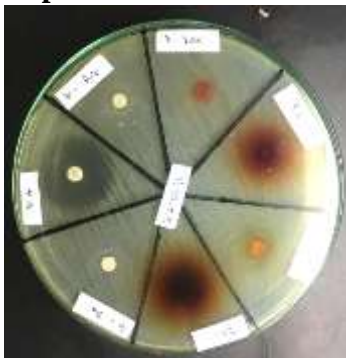


Replikasi 3

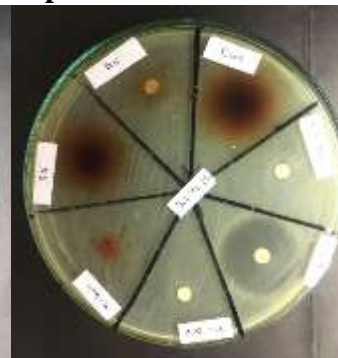


Uji difusi konsentrasi 25%

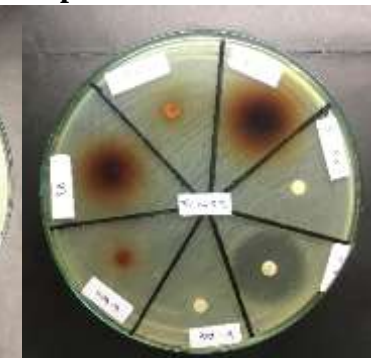
Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3



Uji difusi konsentrasi 12,5%

Lampiran 11. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat kayu secang terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara dilusi



Foto pengenceran tabung fraksi etil asetat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3



Inokulasi fraksi etil asetat kayu secang terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada media PSA

Lampiran 12. Alat penelitian**Moisture balance*****Rotary evaporator*****Oven****Vorteks****Inkubator**

Lampiran 13. Formulasi dan pembuatan media

a. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Infus dari otak sapi	12,5 g
Infus dari hati sapi	5 g
Protease peptone	10 g
Glukosa	2 g
Sodium chloride	5 g
Disodium fosfat	2,5 g
Ph	$7,4 \pm 0,1$

Cara : Reagen di atas ditimbang 37 gram dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, dituang ke dalam tabung reaksi steril kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Formulasi dan pembuatan *Muller Hinton Agar* (MHA)

Meat infusion	300 g
Amilum	1,5 g
Kasein hydrolysate	17,5 g
Agar-agar	17 g
pH	$7,3 \pm 0,1$

Cara : Reagen di atas ditimbang 38 gram dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, dituang ke dalam tabung reaksi steril kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

c. Formulasi dan pembuatan *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA)

Peptone from gelatin	20 g
Magnesium chloride	1,4 g
Potassium sulfat	10 g
Irgasan	25 mg
Gliserol	20 ml
Agar-agar	13,6 g
pH	7,2

Cara : Reagen di atas ditimbang 76 gram dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, dituang ke dalam tabung reaksi steril kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

d. Formulasi dan pembuatan Sulfida Indol Motility (SIM)

Peptone from casein	20 g
Peptone from meat	6,6 g
Ammonium iron (II) citrate	0,2 g
Sodium thiosulfate	0,2 g
Agar-agar	3,2 g
pH	$7,3 \pm 0,2$

Cara : Reagen di atas ditimbang 26 gram dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, dituang ke dalam tabung reaksi steril kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

e. Formulasi dan pembuatan Klinger Iron Agar (KIA)

Lab. Lemco powder	3 g
Peptone	20 g
Yeast extract	3 g
Sodium chloride	5 g
Laktosa	10 g
Glukosa	1 g
Sodiumthiosulfat	0,3 g
Phenol red	0,5 g
Ferisitat	0,3 g
Ph	7,4 ± 0,2

Cara : Reagen di atas ditimbang 56 gram dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, dituang ke dalam tabung reaksi steril kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

f. Formulasi dan pembuatan Lysine Iron Agar (LIA)

Pancreatic dan digest of gelatin	5 g
Yeast extract	3 g
Dextrose	1 g
Lysine monohydrochloride	10 g
Ammonium iron (II) citrat	0,5 g
Sodium thiosulfat	0,04 g
Bromo cresol purple	0,02 g
Agar-agar	13,5 g
pH	6,7 ± 0,2

Cara : Reagen di atas ditimbang 33 gram dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, dituang ke dalam tabung reaksi steril kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

g. Formulasi dan pembuatan Citrate Agar

Ammonium hydrogen fosfat	1 g
Dipotassium hydrogen fosfat	1 g
Sodium chloride	5 g
Sodium citrate	2 g
Magnesium sulfat	0,2 g
Bromo thymol blue	0,08 g
Agar-agar	15 g
pH	6,9 ± 0,2

Cara : Reagen di atas ditimbang 24 gram dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, dituang ke dalam tabung reaksi steril kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

Lampiran 14. Uji Statistik

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: zonadayahambat

F	df1	df2	Sig.
2,840	13	28	,276

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		zonadayahambat
N		42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	14,879
	Std. Deviation	9,0704
Most Extreme Differences	Absolute	,173
	Positive	,173
	Negative	-,104
Kolmogorov-Smirnov Z		1,122
Asymp. Sig. (2-tailed)		,161

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
sampel	1	etanol	9
	2	etil asetat	9
	3	n-hexana	9
	4	air	9
	5	kontrol +	3
	6	kontrol -	3
konsentrasi	1	12,5%	12
	2	25%	12
	3	50%	12
	4	k+	3
	5	k-	3

Descriptive Statistics

Dependent Variable: zonadayahambat

Sampel	konsentrasi	Mean	Std. Deviation	N
Etanol	12,5%	19,267	,6110	3
	25%	20,800	1,0440	3
	50%	24,433	1,4048	3
	Total	21,500	2,4779	9
etil asetat	12,5%	12,100	1,7059	3
	25%	19,167	,6429	3
	50%	23,000	,8888	3
	Total	18,089	4,8948	9
n-hexana	12,5%	6,900	,4359	3
	25%	8,433	,9074	3
	50%	9,500	,2646	3
	Total	8,278	1,2458	9
air	12,5%	8,300	,0000	3
	25%	11,333	1,5535	3
	50%	9,300	,7000	3
	Total	9,644	1,5868	9
kontrol +	k+	35,767	,6110	3
	Total	35,767	,6110	3
kontrol -	k-	,000	,0000	3
	Total	,000	,0000	3
Total	12,5%	11,642	5,0718	12
	25%	14,933	5,4948	12
	50%	16,558	7,5359	12
	k+	35,767	,6110	3
	k-	,000	,0000	3
	Total	14,879	9,0704	42

Estimated Marginal Means

Konsentrasi

Dependent Variable: zonadayahambat

konsentrasi	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
12,5%	11,642 ^a	,266	11,096	12,187
25%	14,933 ^a	,266	14,388	15,479
50%	16,558 ^a	,266	16,013	17,104
k+	35,767 ^a	,533	34,676	36,857
k-	-1,222E-013 ^a	,533	-1,091	1,091

Post Hoc Tests

sampel

Multiple Comparisons

Dependent Variable: zonadayahambat

Tukey HSD

(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Etanol	etil asetat	3,411*	,4348	,000	2,082	4,740
	n-hexana	13,222*	,4348	,000	11,894	14,551
	Air	11,856*	,4348	,000	10,527	13,184
	kontrol +	-14,267*	,6149	,000	-16,146	-12,388
	kontrol -	21,500*	,6149	,000	19,621	23,379
etil asetat	Etanol	-3,411*	,4348	,000	-4,740	-2,082
	n-hexana	9,811*	,4348	,000	8,482	11,140
	Air	8,444*	,4348	,000	7,116	9,773
	kontrol +	-17,678*	,6149	,000	-19,557	-15,799
	kontrol -	18,089*	,6149	,000	16,210	19,968
n-hexana	Etanol	-13,222*	,4348	,000	-14,551	-11,894
	etil asetat	-9,811*	,4348	,000	-11,140	-8,482
	Air	-1,367*	,4348	,041	-2,695	-,038
	kontrol +	-27,489*	,6149	,000	-29,368	-25,610
	kontrol -	8,278*	,6149	,000	6,399	10,157
Air	etanol	-11,856*	,4348	,000	-13,184	-10,527
	etil asetat	-8,444*	,4348	,000	-9,773	-7,116
	n-hexana	1,367*	,4348	,041	,038	2,695
	kontrol +	-26,122*	,6149	,000	-28,001	-24,243
	kontrol -	9,644*	,6149	,000	7,765	11,523
kontrol +	etanol	14,267*	,6149	,000	12,388	16,146
	etil asetat	17,678*	,6149	,000	15,799	19,557
	n-hexana	27,489*	,6149	,000	25,610	29,368
	Air	26,122*	,6149	,000	24,243	28,001
	kontrol -	35,767*	,7531	,000	33,465	38,068
kontrol -	etanol	-21,500*	,6149	,000	-23,379	-19,621
	etil asetat	-18,089*	,6149	,000	-19,968	-16,210
	n-hexana	-8,278*	,6149	,000	-10,157	-6,399
	Air	-9,644*	,6149	,000	-11,523	-7,765
	kontrol +	-35,767*	,7531	,000	-38,068	-33,465

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,851.

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

Homogeneous Subsets

zonadayahambat

Tukey HSD^{a,b,c}

Sampel	N	Subset				
		1	2	3	4	5
kontrol -	3	,000	8,278	18,089	21,500	35,767
n-hexana	9					
Air	9					
etil asetat	9					
Etanol	9					
kontrol +	3	1,000	,179	1,000	1,000	1,000
Sig.						

konsentrasi

Multiple Comparisons

Dependent Variable: zonadayahambat

Tukey HSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval
					Lower Bound
12,5%	25%	-3,292 [*]	,3765	,000	-4,389
	50%	-4,917 [*]	,3765	,000	-6,014
	k+	-24,125 [*]	,5954	,000	-25,860
	k-	11,642 [*]	,5954	,000	9,907
25%	12,5%	3,292 [*]	,3765	,000	2,195
	50%	-1,625 [*]	,3765	,002	-2,722
	k+	-20,833 [*]	,5954	,000	-22,568
	k-	14,933 [*]	,5954	,000	13,199
50%	12,5%	4,917 [*]	,3765	,000	3,820
	25%	1,625 [*]	,3765	,002	,528
	k+	-19,208 [*]	,5954	,000	-20,943
	k-	16,558 [*]	,5954	,000	14,824
k+	12,5%	24,125 [*]	,5954	,000	22,390
	25%	20,833 [*]	,5954	,000	19,099
	50%	19,208 [*]	,5954	,000	17,474
	k-	35,767 [*]	,7531	,000	33,573
k-	12,5%	-11,642 [*]	,5954	,000	-13,376
	25%	-14,933 [*]	,5954	,000	-16,668
	50%	-16,558 [*]	,5954	,000	-18,293
	k+	-35,767 [*]	,7531	,000	-37,961

Homogeneous Subsets**Zonadayahambat**Tukey HSD^{a,b,c}

konsentrasi	N	Subset			
		1	2	3	4
k-	3	,000			
12,5%	12		11,642		
25%	12			14,933	
50%	12			16,558	
k+	3				35,767
Sig.		1,000	1,000	,050	1,000

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
zonadayahambat	42	14,879	9,0704	,0	36,3