

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa:

Pertama, ekstrak etanol dan fraksi (n-heksan, etil asetat dan air) dari daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam) De Wit.) pada konsentrasi 20%, 30% dan 40% mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, fraksi etil asetat dari daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam) De Wit.) adalah fraksi paling aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yaitu pada konsentrasi 40% dengan diameter zona hambat sebesar 13,47 mm.

Ketiga, Konsentrasi Hambat Minimum tidak dapat ditentukan karena larutan berwarna gelap dan kepekatan tinggi. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi etil asetat dari ekstrak daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam) De Wit.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yaitu pada konsentrasi 20%.

B. Saran

Penelitian yang telah dilakukan masih terdapat banyak kekurangan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai:

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan uji aktivitas antibakteri daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam) De Wit.) terhadap mikroorganisme lainnya.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk isolasi senyawa aktif dari fraksi etil asetat daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam) De Wit.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes G. 2009. *Teknologi Bahan Alam. (Serial Farmasi Industri-2) ed. Revisi*. Jakarta: ITB.
- Ajizah A. 2004. Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* terhadap Ekstrak *Psidium Guajava* L. *Bioscientiae* 2:31-38.
- Alhazmi A. 2015. *Pseudomonas aeruginosa* – Pathogenesis and Pathogenic Mechanisms. *International Journal of Biology* 7(2).
- Amini E, Nabuini M, Baharara J, Parivar K, Asili J. 2014. Hemolytic and cytotoxic effects of saponin like compounds isolated from Persian Gulf brittle star (*Ophiocoma erinaceus*). *Journal of Coastal Life Medicine* 2(8):614-620.
- A'yun Q, Laily AN. 2015. Analisis Fitokimia Daun Pepaya (*Carica papaya* L). *Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam* 134-137.
- Bimonisha M, Karthiga P, Lakshmi RG, Mohan AC, Dhanarajan MS. 2017. Phytochemical Analysis and Partial Characterization Caralluma Attenuata Extract by TLC. *Texila International Journal of Basic Medical Science* 2(1):1-7.
- Brooks G, Carroll KC, Butel J, Morse S. 2013. *Jawetz, Melnick & Adelbergs Medical Microbiology* 26/E. Blacklick: McGraw-Hill Publishing. hlm 239-242.
- Brooks G, Geo F, Carroll KC, Butel J, Morse S, Mietzner T. 2010. *Jawetz, Melnick & Adelbergs Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. hlm 354-358.
- Chaurasia S, Sharma Preeti. 2015. Evaluation of Antibacterial and Antimutagenic Potential of *Acokanthera oppositifolia* and *Leucaena leucocephala*. *American Journal of Pharmacy and Health Research* 3(1):246-258.
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2017. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute. hlm 198.
- Cornelissen CN. 2015. *Ilustrasi Berwarna Mikrobiologi*. Edisi Ketiga. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Cunha BA. 2015. *Antibiotic Essentials Fourteenth Edition*. 14th edition. London: Jaypee Brothers Medical Publishers Pvt. Ltd. hlm 54.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1987. *Analisis Obat Tradisional*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Edisi V*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. hlm 1030-1035.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia Suplemen III. Edisi 1*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. hlm 106-107.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Badan Litbangkes.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Famakope Indonesia Edisi V*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Djoyem JP, Eloff JN. 2015. Anti-inflammatory Anticholierase and Antioxident Activity of Leaf Extracts of Twelve Plants Used Traditional to Alleviate Pain and Inflammation in South Africa. *Journal of Ethnopharmacology* 160:194-201.
- Elshikh AA, Garbi MI, Kabbashi AS, Ishag OA, Omer AB, Ali MM. 2018. Detection of Alkaloid for 26 Plants Used in Ethnoveterinary Medicine in Sudan. *Journal of Biotechnology Research* 4(5):19-28.
- Gallo MBC, Sarachine MJ. 2009. Biological Activities of Lupeol. *International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Science* 3 (Special Issue 1): 46-66.
- Gellatly SL, Hancock REW. 2013. *Pseudomonas aeruginosa: New Insights Into Pathogenesis and Host Defenses*. Federation Microbiological Societies: Blackwell Publishing Ltd. *Pathogens and Disease* 67:159-173.
- Gill MM *et al.* 2011. Frequency and Antibigram of Multi-drug Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan* 21(9):531-534.
- Goodman, Gilman. 2001. *Dasar Farmakologi Terapi Volume 2 Edisi 10*. Jakarta: EGC. hlm 1156-1158.
- Harborne JB. 1984. *Phytochemical Methods-a Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. hlm 8-192.
- Harti AS. 2015. *Mikrobiologi Kesehatan*. Yogyakarta: Andi. hlm 117-193.
- Hasanuddin, Kusyanti. 2016. Jenis Tumbuhan sebagai Obat Penyakit Diabetes Mellitus pada Masyarakat Rundeng Kota Subussalam. *Prosiding Seminar Nasional Biotik*. hlm 95-100.
- Hayati EK, Fasyah AG, Sa'adah L. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Kimia* 4(2): 193-200.
- Hugo WB, Russell AD. 2004. *Pharmaceutical Microbiology. Seventh edition*. Blackwell Science Ltd.

- Ibrahim MT. 2017. Cytotoxic Activities of Flavonoid Glycosides Isolated from *Leucaena leucocephala* Pods Cultivated in Egypt. *Journal of Pharmacy Research* 11(2):108-115.
- Irianti T, Puspitasari A, Suryani. 2011. Aktivitas Penangkapan Radikal 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil oleh Ekstrak Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Miers) dan Fraksi-fraksinya. *Majalah Obat Tradisional* 16(3):139-146.
- Jamous RM, Ali-Shtayeh MS, Abu-Zaitoun SY, Markovics A, Azaizeh H. 2017. Effects of Selected Palestinian Plants on the In Vitro Exsheathment of the Third Stage Larvae of Gastrointestinal Nematodes. *BMC Veterinary Research* 13:308.
- Khan H, Khan MA, Abdullah. 2013. Antibacterial, Antioxidant and Cytotoxic Studies of Total Saponin, Alkaloid and Sterols Contents of Decoction of Joshanda: Identification of Components Through Thin Layer Chromatography. *Toxicology and Industrial Health* 31(3): 202–208.
- Kumesan YAN, Yamlean PVY, Supriati HS. 2013. Formulasi dan Uji Aktivitas Gel Antijerawat Ekstrak Umbi Bakung (*Crinum Asiaticum*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Pharmacon* 2(2):18-26.
- Li X, Yang X, Yang Y, Li J. 2017. Thin-Layer Chromatographic Quantification of Three Alkaloid Compounds in *Sophora alopecuroides* and TLC-Bioautography for Screening Antioxidant Components. *Journal of Planar Chromatography* 3:199-204.
- Meena R, Joshi R, Meena, R, Patni V. 2016. Isolation, identification and quantitative analysis of Ellagic acid: a tannin compound from *Helicteres isora*. *Indian J. Pharm. Biol. Res* 4(3):1-4.
- Mohammed RS, Souda SSE, Taie HAA, Moharam ME, Shaker KH. 2015. Antioxidant, Antimicrobial Activities of Flavonoids Glycoside from *Leucaena leucocephala* Leaves. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 5(6):138-147.
- Mustapa MA. 2014. Analisis Kadar Senyawa Flavonoid Ekstrak Metanol Daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis.
- Nariya PB, Shukla VJ, Acharya R, Nariya M. 2017. Isolation and Simultaneous Determination of Three Biologically Active Flavonoid from Some Indigenous *Cordia* Species by Thin-Layer Chromatography with UV Absorption Densitometry Method. *Journal of Planar Chromatography* 4:264-270.
- Paczkowski JE *et al.* 2017. Flavonoids Suppress *Pseudomonas aeruginosa* Virulence through Allosteric Inhibition of Quorum-sensing Receptors. *The Journal Of Biological Chemistry* 292(10):4064-4076.
- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga. hlm 160-162.

- Puspadewi R, Adirestu P, Menawati R. 2013. Khasiat Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) Sebagai Herbal Antimikroba Kulit. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi* 1(1):31-37.
- Radji M. 2011. *Mikrobiologi*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. hlm 10-202.
- Ritna A, Anam S, Khumaidi A. 2016. Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Benalu Batu (*Begonia* sp.) Asal Kabupaten Morowali Utara. *Galenika Journal of Pharmacy* 2(2):83-89.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi keenam. hlm 71-73.
- Sangi M, Runtuwene MRJ, Simbala HEI, Makang VMA. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chem Prog* 1(1):47-53.
- Sari R, Muhani M, Fajriaty I. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria microcarpa* Baill.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis*. *Pharm Sci Res* 4(3):143-154.
- Sartinah A, Astuti P, Wahyuono S. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antibakteri dari Daun Petai Cina (*Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit.). *Majalah Obat Tradisional* 15(3):22-28.
- Satyadev SA, Murthy MV, Saroja R. 2015. Phytochemical Screening and Antitubercular Efficacy of Leaf Extracts of *Leucaena leucocephala*. *Indo-Am J Pharm Res* 5:1023-9.
- Sennang N, Widena, Benny R. 2010. Methicilin resistant *Staphylococcus aureus*, antimicrobial susceptibility laboratory test. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory* 17(1):5-8.
- Seputra KP *et al.* 2015. *Penatalaksanaan Infeksi Saluran Kemih dan Genitalia Pria 2015*. Edisi Kedua. Jakarta: Ikatan Ahli Urologi Indonesia. hlm 7-20.
- Shantabi L, Jagetia G, Vabeiryureilai M, Lalrinzuali K. 2014. Phytochemical Screening of Certain Medicinal Plants of Mizoram, India and Their Folklore Use. *J Biodivers Biopros Dev* 1:136.
- Steenis DCGGJ. 2013. *Flora*. Jakarta: Balai Pustaka. hlm 201.
- Suparno O, Panandita T, Afifah A, Marimin, Purnawati R. 2018. Antibacterial Activities of Leave Extracts as Bactericides for Soaking of Skin or Hide. *Series: Earth and Environmental Science* 141:012028.
- Surayanti V, Marliyana SD, Putri HE. 2016. Effect of Germination on Antioxidant Activity, Total Phenolics, β -Carotene, Ascorbic Acid and α -Tocopherol Contents of Lead Tree Sprouts (*Leucaena leucocephala* (Lmk) de Wit.). *International Food Research Journal* 23(1):167-172.
- Suryana S, Nuraeni YYA, Rostinawati T. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak dari Lima Tanaman terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan

- Metode Mikrodilusi M7-A6CLSI. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 4(1):1-9.
- Susanti SF, Saputra AD. 2016. Daya Hambat Perasan Daun Muda Petai Cina (*Leucaena glauca*. Benth) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Sains* 6(2):28-32.
- Tjitrosoepomo G. 2000. *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hlm 192-204.
- Wells BG, DiPiro JT, Schwinghammer TL, DiPiro CV. 2015. *Pharmacotherapy Handbook. Ninth edition*. Mc Graw Hill. hlm 410-415.
- Zarin MA, Wan HY, Isha A, Armania N. 2016. Antioxindat, Antimicrobial, and Cytotoxic Potential of Condensed Tannins from *Leucaena leucocephala* hybrid-Rendang. *Food Science and Human Wellness* 5:65-75.
- Zayed MZ, Sallam SMA, Shetta ND. 2018. Review Article on *Leucaena leucocephala* as One of the Miracle timber Trees. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 10(1):1-7.
- Zayed MZ, Samling B. 2016. Phytochemical Constituents of the Leaves of *Leucaena leucocephala* from Malaysia. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 8(12):174-179.

$\mathcal{L}$ $\mathcal{A}$ $\mathcal{M}$ $\mathcal{P}$ I $\mathcal{R}$ $\mathcal{A}$ $\mathcal{N}$

Lampiran 1. Determinasi tanaman petai cina



No : 382/DET/UPT-LAB/23/III/2019
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Lintang Astanovseda Wiyati
NIM : 21154588 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Petai cina / *Leucaena glauca* Bth.**
Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 15b. golongan 9 – 197b – 208a – 209b – 210b – 211b – 214b – 215b – 216b – 217b – 218b. familia 58. Mimosaceae. 1a – 2b – 3b – 4b – 5a. *Leucaena glauca* Bth.

Deskripsi :

Habitus : Perdu, tinggi dapat mencapai 10 meter.

Akar : Sistem akar tunggang.

Batang : Bulat silindris, berwarna coklat, pada ujungnya berambut rapat.

Daun : Majemuk menyirip rangkap, sirip 3 – 10 pasang, anak daun tiap sirip 5 – 20 pasang, bentuk garis lanset, ujung runcing, pangkal tidak sama sisi, panjang 6 – 8 mm, lebar lk 5 mm, permukaan bawah hijau biru.

Bunga : Bunga berbilangan lima. Bongkol bertangkai panjang. Tabung kelopak berbentuk lonceng, dengan gigi-gigi pendek, tinggi lk 3 mm. Daun mahkota lepas, berbentuk solet, panjang lk 5 mm. Benang sari 10, panjang lk 1 cm.

Buah : Polongan di atas tanda bekas mahkota bertangkai pendek, bentuk pita, pipih, tipis.

Biji : 15 – 30, melintang polongan, bulat telur terbalik, Bulat telur terbalik, coklat tua.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. KebonSirih 46.Jakarta Pusat, 1978.

Surabaya, 23 Maret 2019
Tim determinasi

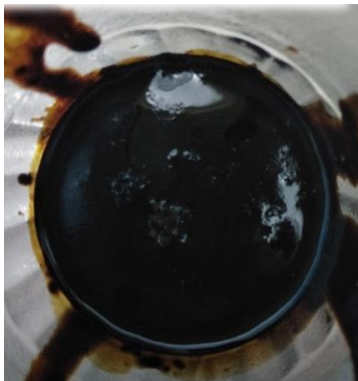
Dra. Kartinah Wirjosoendjojo, SU

Lampiran 2. Bahan dan hasil ekstraksi daun petai cina

Daun petai cina segar



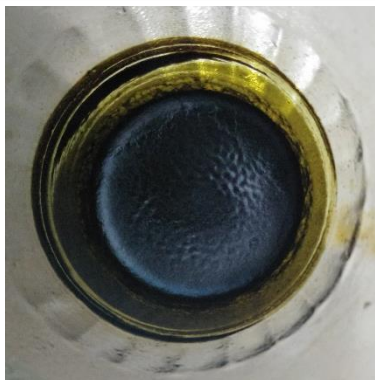
Serbuk daun petai cina



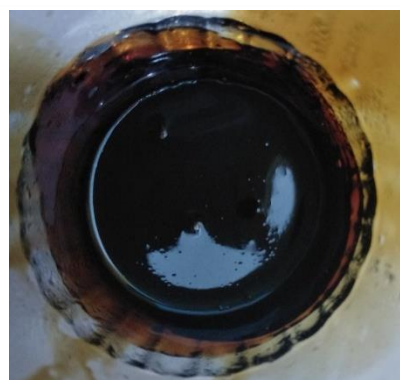
Ekstrak etanol 70% daun petai cina



Fraksi n-heksan

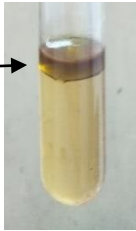
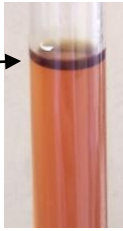
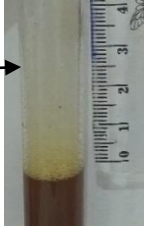


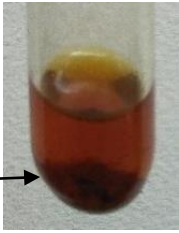
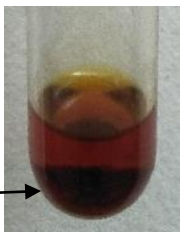
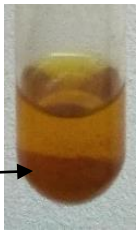
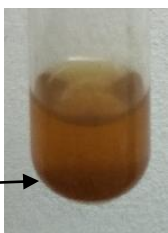
Fraksi etil asetat

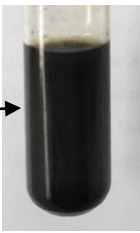
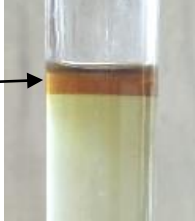


Fraksi air

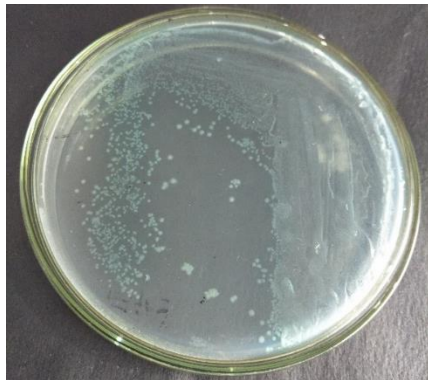
Lampiran 3. Hasil uji kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak

Flavonoid		Saponin	
Serbuk	Ekstrak	Serbuk	Ekstrak
			
Ket: Lapisan amil alkohol		Ket: terbentuknya buih	

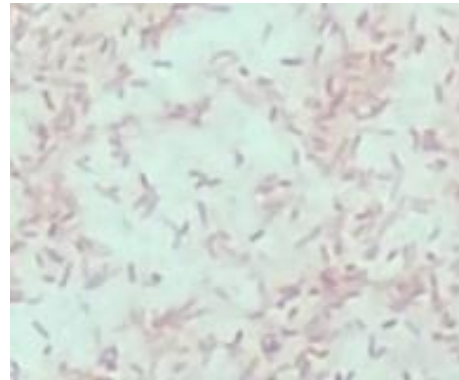
Alkaloid			
Pereaksi Wagner		Pereaksi Dragendorff	
Serbuk	Ekstrak	Serbuk	Ekstrak
			
Ket: Terbentuk endapan coklat		Ket: Terbentuk endapan jingga	

Tanin		Triterpenoid/steroid	
Serbuk	Ekstrak	Serbuk	Ekstrak
			
Ket: Warna hijau kehitaman		Ket: Warna hijau/cincin merah keunguan	

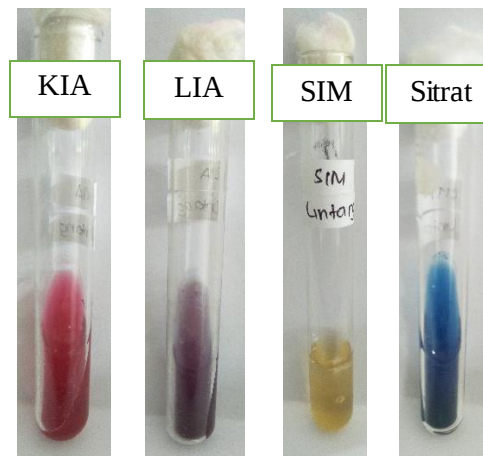
Lampiran 4. Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



a



b



c

Keterangan :

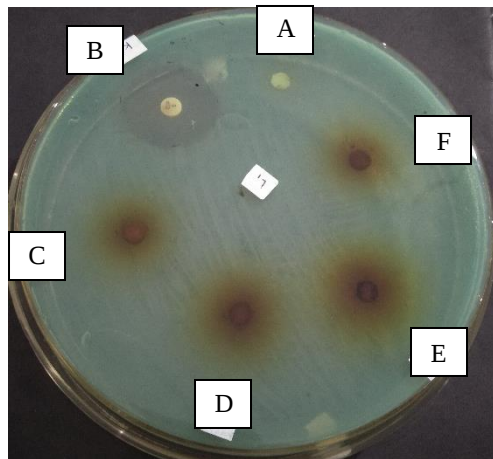
a : Hasil identifikasi bakteri secara goresan pada media PSA

b : Hasil identifikasi bakteri secara pewarnaan Gram

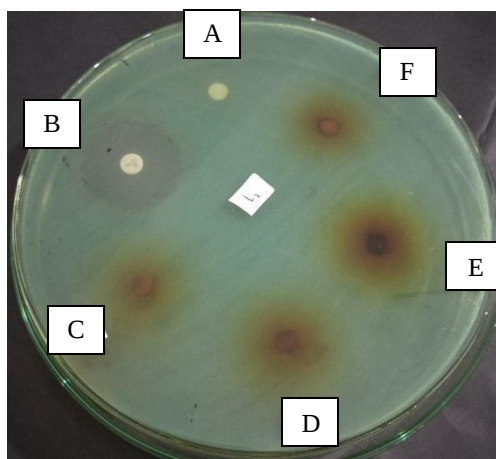
c : Hasil identifikasi bakteri dengan uji biokimia

Lampiran 5. Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi secara difusi

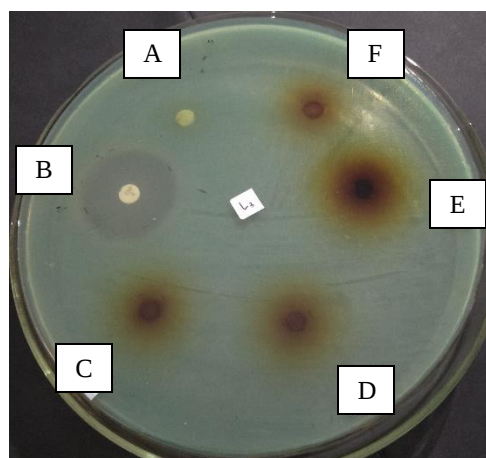
Konsentrasi 30%



Replikasi I

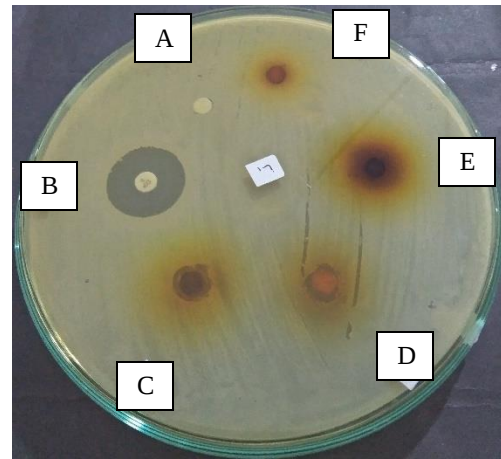


Replikasi II

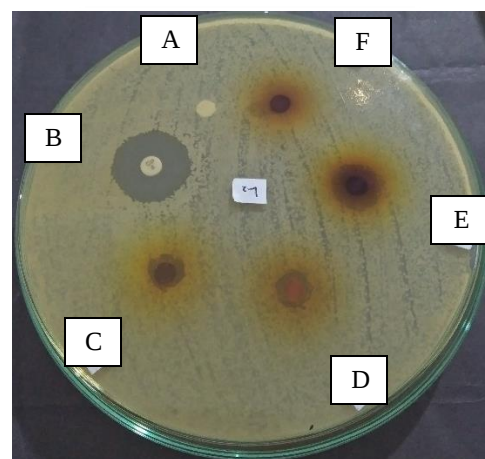


Replikasi III

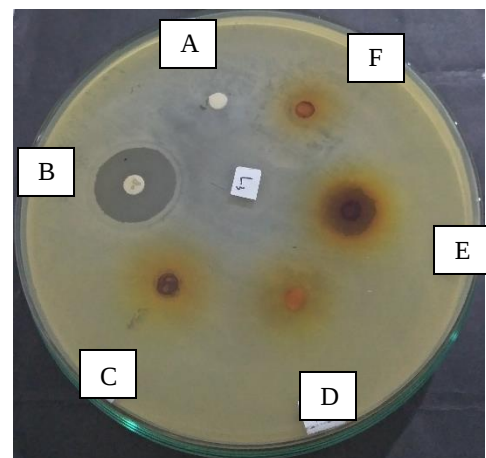
Konsentrasi 40%



Replikasi I

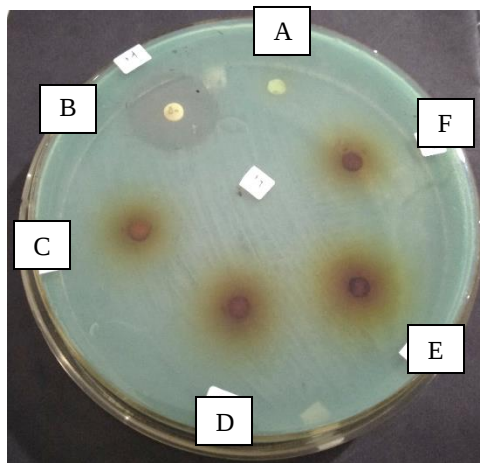


Replikasi II

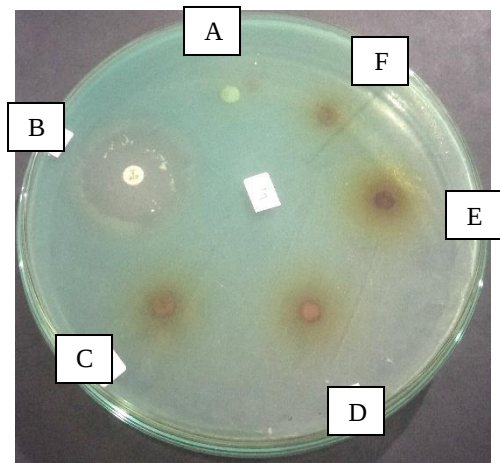


Replikasi III

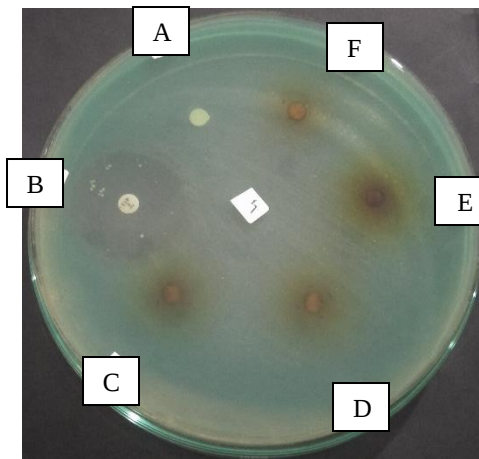
Konsentrasi 20%



Replikasi I



Replikasi II

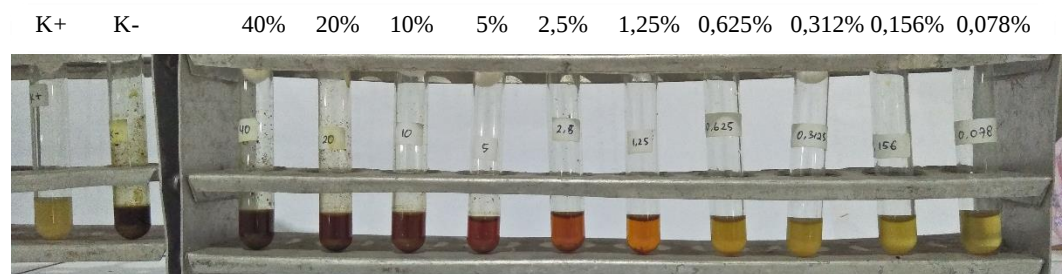


Replikasi III

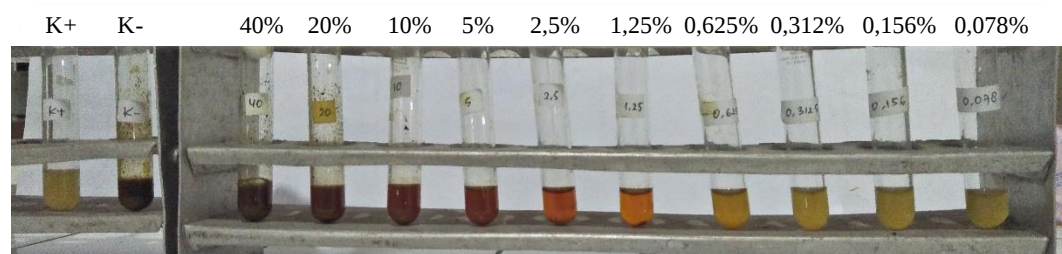
Keterangan:

- A : DMSO 5%
- B : Ciprofloxacin
- C : Ekstrak etanol 70%
- D : Fraksi n-heksan
- E : Fraksi etil asetat
- F : Fraksi air

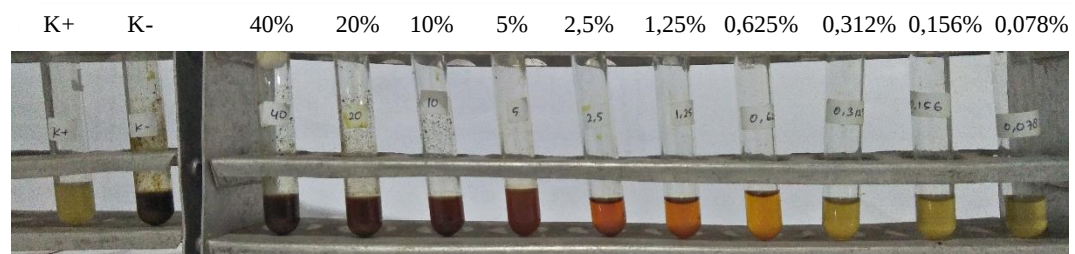
Lampiran 6. Uji aktivitas antibakteri fraksi teraktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara dilusi



Replikasi I

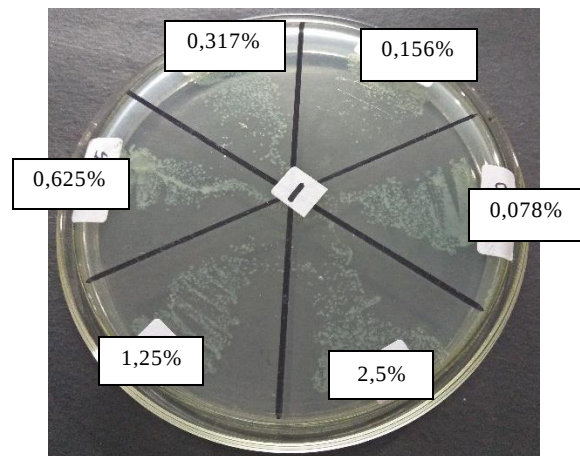
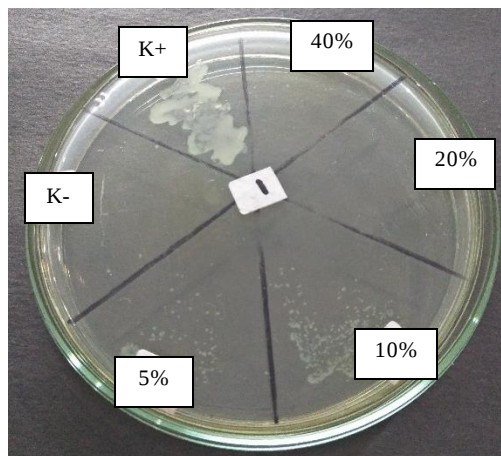


Replikasi II

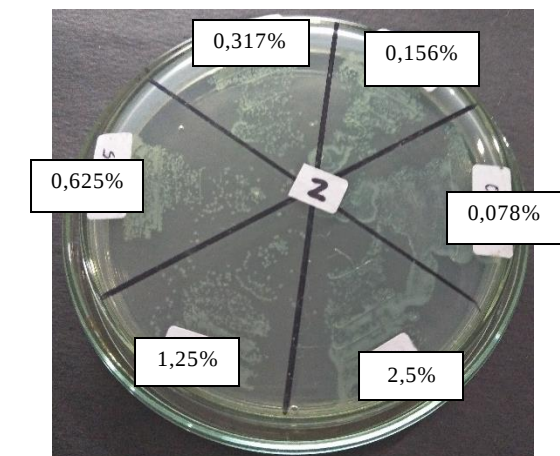
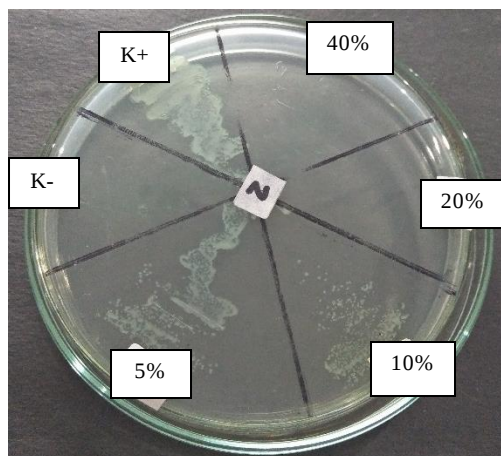


Replikasi III

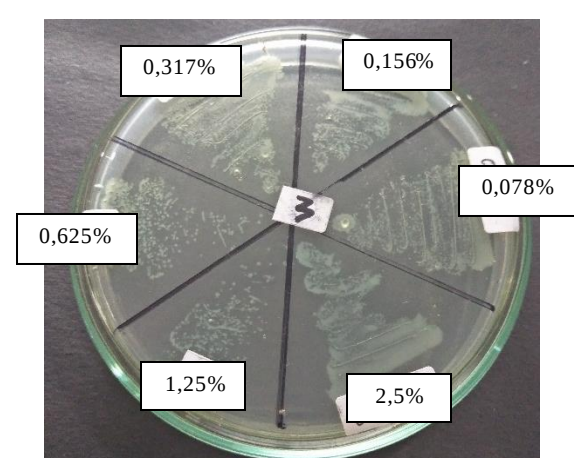
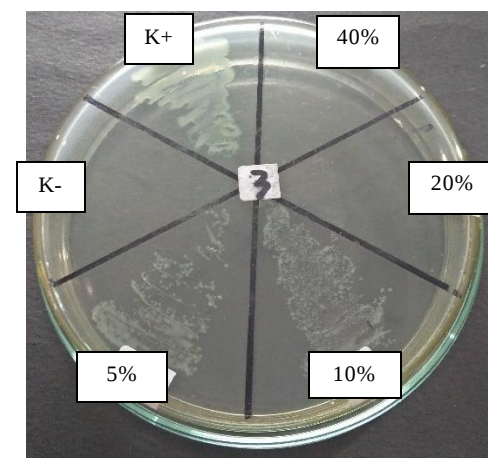
Lampiran 7. Hasil penggoresan dari tabung dilusi pada media PSA



Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

Lampiran 8. Perhitungan rendemen penyiapan bahan tanaman

a. Rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun petai cina

Bobot basah (kg)	Bobot kering (kg)	Rendemen (%)
6,87	2,20	32,02

Perhitungan rendemen:

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

b. Rendemen berat ekstrak terhadap berat serbuk daun petai cina

Berat serbuk kering (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
800	148,69	18,59

Perhitungan rendemen:

$$\% \text{ rendemen ekstrak} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100\%$$

c. Hasil penetapan kadar air serbuk daun petai cina

No.	Berat awal (g)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	20,0	1,2	6,0
2	20,0	1,8	9,0
3	20,0	1,4	7,0
Rata-rata $\pm$ SD			7,33 $\pm$ 1,53

Perhitungan kadar air:

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Volume air}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

d. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun petai cina

No.	Berat awal (g)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	10,0	1,0	10,0
2	10,0	1,0	10,0
3	10,0	1,2	12,0
Rata-rata $\pm$ SD			10,7 $\pm$ 1,15

e. Hasil penetapan bobot jenis ekstrak 1% daun petai cina

No.	Berat pikno kosong (g)	Berat pikno + air (g)	Berat pikno + ekstrak (g)	BJ
1	31,8013	82,0064	74,255	0,8456
2	37,1253	87,3302	79,577	0,8456
3	34,919	85,124	77,3702	0,8455

Perhitungan bobot jenis:

$$d = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0}$$

Keterangan:

d = bobot jenis

W₀ = bobot piknometer kosong (g)

W₁ = bobot piknometer + air (g)

W₂ = bobot piknometer + ekstrak (g)

f. Rendemen fraksi n-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak daun petai cina

Bobot ekstrak (g)	Fraksi	Bobot fraksi (g)	Rendemen
20,0	n-heksan	3,994	19,97
20,0	Etil asetat	2,338	11,69
20,0	Air	10,4	52,00

Perhitungan rendemen:

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

Lampiran 9. Pembuatan larutan stok

a. Perhitungan pengenceran DMSO 5%

Pembuatan DMSO konsentrasi 5% dari 100%

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$V1 \cdot 100\% = 50 \text{ mL} \cdot 5\%$$

$$V1 = 2,5 \text{ mL}$$

Dipipet 2,5 ml dari larutan DMSO 100% dimasukkan ke dalam labu takar kemudian ditambah akuades steril sampai dengan 50 mL.

b. Pembuatan larutan stok konsentrasi uji difusi

1. Konsentrasi 40%

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok 40\%} &= \% \frac{b}{v} = 40 \text{ g/100 mL} \\ &= 0,8 \text{ g/2 mL} \end{aligned}$$

Ditimbang 0,8 gram ekstrak atau fraksi dimasukkan ke dalam vial dan diencerkan dengan DMSO 5% sampai dengan 2 mL.

2. Konsentrasi 30%

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok 30\%} &= \% \frac{b}{v} = 30 \text{ g/100 mL} \\ &= 0,6 \text{ g/2 mL} \end{aligned}$$

Ditimbang 0,6 gram ekstrak atau fraksi dimasukkan ke dalam vial dan diencerkan dengan DMSO 5% sampai dengan 2 mL.

3. Konsentrasi 20%

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok 20\%} &= \% \frac{b}{v} = 20 \text{ g/100 mL} \\ &= 0,4 \text{ g/2 mL} \end{aligned}$$

Ditimbang 0,4 gram ekstrak atau fraksi dimasukkan ke dalam vial dan diencerkan dengan DMSO 5% sampai dengan 2 mL.

c. Pembuatan larutan stok konsentrasi uji dilusi

Larutan stok 40% = % b/v = 40 g/100 mL

Konsentrasi 40% = 2 g/5 ml

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 20\%} \quad V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 1 \text{ ml} \cdot 40\% &= 2 \text{ ml} \cdot C_2 \\ C_2 &= 20\% \end{aligned}$$

Dipipet 1 mL dari larutan stok 40% dimasukkan ke dalam tabung kemudian ditambah BHI 1 mL dan divortek.

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 10\%} \quad 1 \text{ ml} \cdot 20\% &= 2 \text{ ml} \cdot C_2 \\ C_2 &= 10\% \end{aligned}$$

Dipipet 1 mL dari larutan konsentrasi 20% dimasukkan ke dalam tabung kemudian ditambah BHI 1 mL dan divortek.

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 5\%} \quad 1 \text{ ml} \cdot 10\% &= 2 \text{ ml} \cdot C_2 \\ C_2 &= 5\% \end{aligned}$$

Dipipet 1 mL dari larutan konsentrasi 10% dimasukkan ke dalam tabung kemudian ditambah BHI 1 mL dan divortek.

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 2,5\%} \quad 1 \text{ ml} \cdot 5\% &= 2 \text{ ml} \cdot C_2 \\ C_2 &= 2,5\% \end{aligned}$$

Dipipet 1 mL dari larutan konsentrasi 5% dimasukkan ke dalam tabung kemudian ditambah BHI 1 mL dan divortek.

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 1,25\%} \quad 1 \text{ ml} \cdot 2,5\% &= 2 \text{ ml} \cdot C_2 \\ C_2 &= 1,25\% \end{aligned}$$

Dipipet 1 mL dari larutan konsentrasi 2,5% dimasukkan ke dalam tabung kemudian ditambah BHI 1 mL dan divortek.

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 0,625\%} \quad 1 \text{ ml} \cdot 1,25\% &= 2 \text{ ml} \cdot C_2 \\ C_2 &= 0,625\% \end{aligned}$$

Dipipet 1 mL dari larutan konsentrasi 1,25% dimasukkan ke dalam tabung kemudian ditambah BHI 1 mL dan divortek.

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 0,3125\%} \quad 1 \text{ ml} \cdot 0,625\% &= 2 \text{ ml} \cdot C_2 \\ C_2 &= 0,3125\% \end{aligned}$$

Dipipet 1 mL dari larutan konsentrasi 0,625% dimasukkan ke dalam tabung kemudian ditambah BHI 1 mL dan divortek.

$$\begin{array}{lcl} \text{Konsentrasi } 0,15625\% & 1 \text{ ml} \cdot 0,3125\% = 2 \text{ ml} \cdot C_2 & \\ & C_2 & = 0,15625\% \end{array}$$

Dipipet 1 mL dari larutan konsentrasi 0,3125% dimasukkan ke dalam tabung kemudian ditambah BHI 1 mL dan divortek.

$$\begin{array}{lcl} \text{Konsentrasi } 0,078\% & 1 \text{ ml} \cdot 0,15625\% = 2 \text{ ml} \cdot C_2 & \\ & C_2 & = 0,078\% \end{array}$$

Dipipet 1 mL dari larutan konsentrasi 0,15625% dimasukkan ke dalam tabung kemudian ditambah BHI 1 mL dan divortek.

Kontrol negatif (-) berisi 1 ml fraksi etil asetat 40%

Kontrol positif (+) berisi 1 ml suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Lampiran 10. Pembuatan media dan standard McFarland 0,5

1. *Pseudomonas* Selective Agar (PSA)

Komposisi

Pancreatic digest of gelatin	20	gram
Magnesium klorida	1,4	gram
Kalium sulfat	10	gram
Cetrimide	0,3	gram
Agar	13,6	gram
Gliserin	10	ml
Air sampai	1000	ml
pH	7,2 ± 0,2	

Cara pembuatan

Semua komponen (kecuali gliserin) dilarutkan ke dalam air sampai 1000 ml, dipanaskan. Gliserin ditambahkan setelah mendidih, kemudian dipindahkan ke dalam wadah setelah semua komponen larut. Disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. Muller Hinton Agar (MHA)

Komposisi

Beef extract	2	gram
Acid hydrolysate of casein	17,5	gram
Starch	1,5	gram
Agar	17	gram
Air sampai	1000	ml
pH	7,3 ± 0,1	

Cara pembuatan

Semua komponen dilarutkan ke dalam air sampai 1000 ml, dipanaskan sampai mendidih. Sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3. Brain Heart Infusion Broth (BHI broth)

Komposisi

Casein pepton	14,5	gram
Meal pepton	7	gram
Brain heart infusion solids	6	gram
Sodium chloride	5	gram
Disodium phosphate	2,5	gram
Dektrosa	1	gram
Air sampai	1000	ml
pH	7,4 ± 0,2	

Cara pembuatan

Semua komponen dilarutkan ke dalam air sampai 1000 ml dengan pengadukan. Disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

4. Pewarnaan Gram

4.1. Larutan Kristal Violet

Komposisi

Etanol 95%	20 ml
Amonium oksalat	0,8 gram
Air sampai	80 ml

Cara pembuatan

Kristal violet dilarutkan ke dalam etanol dan ammonium oksalat dilarutkan dalam air. Setelah terlarut, didiamkan selama 24 jam agar tercampur.

4.2. Larutan Iodium

Komposisi

Iodium	1 gram
Kalium iodide	2 gram
Air sampai	100 ml

Cara pembuatan

Kalium iodide dilarutkan ke dalam 10 ml air, ditambahkan iodium sedikit demi sedikit. Setelah terlarut, volumenya dibuat 100 ml dalam erlenmeyer.

4.3. Larutan safranin

Komposisi

Safranin O	0,25 gram
Etanol 95%	10 ml
Air sampai	100 ml

Cara pembuatan

Safranin dilarutkan ke dalam etanol 95%, setelah terlarut ditambah air. Volume akhir dibuat 100 ml dalam erlenmeyer.

5. Uji Biokimia

5.1. Media KIA

Komposisi

Pepton	15	gram
HM Pepton B	3	gram
Yeast extract	3	gram
Proteose pepton	5	gram
Laktosa	10	gram
Dektrosa	1	gram
Ferro sulfat	0,2	gram
Sodium klorida	5	gram
Sodium tiosulfat	0,3	gram
Phenol red	0,024	gram
Agar	15	gram
Air sampai	1000	ml
pH	7,4 ± 0,2	

Cara pembuatan

Semua komponen dilarutkan ke dalam air sampai 1000 ml dengan pengadukan. Dipindahkan ke dalam wadah setelah semua komponen larut. Disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Didinginkan dengan posisi wadah miring.

5.2. Media LIA

Komposisi

Pepton	5	gram
Yeast extract	3	gram
Dektrosa	1	gram
L-lisin	10	gram
Ferri ammonium sitrat	0,5	gram
Sodium tiosulfat	0,04	gram
Bromocresol purple	0,02	gram
Agar	15	gram
Air	1000	ml
pH	6,7 ± 0,2	

Cara pembuatan

Semua komponen dilarutkan ke dalam air 1000 ml dengan pengadukan. Dipindahkan ke dalam wadah setelah semua komponen larut. Disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Didinginkan dengan posisi wadah miring.

5.3. Media SIM

Komposisi

Casein pepton	20	gram
Meat pepton	6	gram
Ferri ammonium sitrat	0,2	gram
Sodium tiosulfat	0,3	gram
Agar	3,5	gram
Air sampai	1000	ml
pH	7,3 ± 0,2	

Cara pembuatan

Semua komponen dilarutkan ke dalam air 1000 ml dengan pengadukan. Dipindahkan ke dalam wadah setelah semua komponen larut. Disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

5.4. Media Sitrat

Komposisi

Magnesium sulfat	0,2	gram
Amonium dihidrogen fosfat	1	gram
Dipotassium fosfat	1	gram
Sodium sitrat	2	gram
Sodium klorida	5	gram
Bromtymol blue	0,08	gram
Agar	15	gram
Air sampai	1000	ml
pH	7,0 ± 0,2	

Cara pembuatan

Semua komponen dilarutkan ke dalam air 1000 ml dengan pengadukan. Dipindahkan ke dalam wadah setelah semua komponen terlarut. Disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Didinginkan dengan posisi wadah miring.

6. Pembuatan standard Mc. Farland 0,5

Larutan barium klorida 0,04 M ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1,175%) 0,5 ml

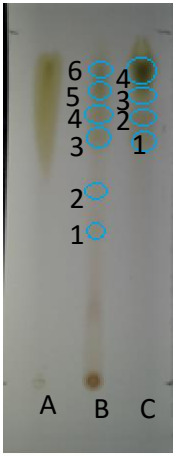
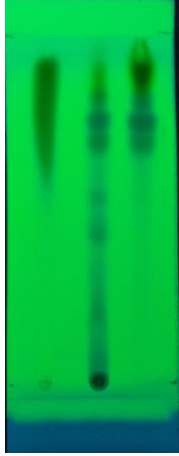
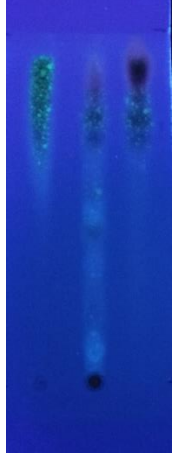
Larutan asam sulfat 0,18 M (H_2SO_4 1%^{b/v}) 9,5 ml

Larutan dimasukkan ke dalam labu takar, dihomogenkan. Suspensi ini digunakan sebagai larutan standar pembanding kekeruhan suspensi bakteri.

Lampiran 11. Hasil identifikasi senyawa ekstrak dan fraksi teraktif daun petai cina secara KLT

Senyawa	Fase gerak	Pereaksi semprot	Hasil setelah disemprot		Keterangan	
			Ekstrak	Fraksi	Ekstrak	Fraksi
Flavonoid	n-butanol:asam asetat:air (4:1:5)	Sitroborat	Kuning	Kuning	(+)	(+)
Alkaloid	Kloroform:metanol (15:1)	Dragendorff	Coklat	Kuning	(+)	(-)
Tanin	Toluen:etil asetat:asam format:metanol (3:3:0,8:0,2)	FeCl ₃	Biru kehitaman	Biru kehitaman	(+)	(+)
Triterpen	Kloroform:metanol (10:1)	Anisaldehyd-asam sulfat	Merah keunguan	Merah keunguan	(+)	(+)

1. Identifikasi KLT senyawa flavonoid

			
Visible	UV 254	UV 366	Sitroborat

Keterangan

A : baku kuersetin

B : ekstrak daun petai cina

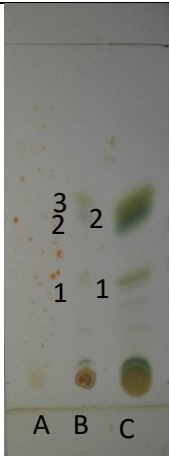
C : fraksi etil asetat daun petai cina

$$\text{Perhitungan } R_f = \frac{\text{jarak bercak}}{\text{jarak tempuh fase gerak}}$$

Ekstrak $B1 = \frac{2,1}{5} = 0,42$ $B2 = \frac{2,6}{5} = 0,52$ $B3 = \frac{3,4}{5} = 0,68$	$B4 = \frac{3,7}{5} = 0,74$ $B5 = \frac{4,1}{5} = 0,82$ $B6 = \frac{4,2}{5} = 0,84$
---	---

Fraksi $C1 = \frac{3,4}{5} = 0,68$ $C2 = \frac{3,7}{5} = 0,74$	$C3 = \frac{4}{5} = 0,8$ $C4 = \frac{4,4}{5} = 0,88$
---	---

2. Identifikasi senyawa alkaloid

		
Pereaksi Dragendorff	UV 254	UV 366

Keterangan

A : baku nikotin

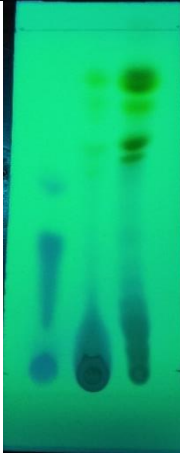
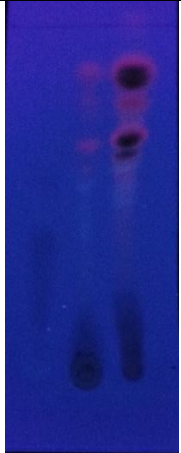
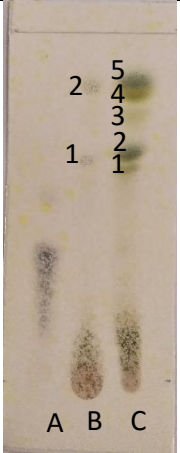
B : ekstrak daun petai cina

C : fraksi etil asetat daun petai cina

$$\text{Perhitungan } R_f = \frac{\text{jarak bercak}}{\text{jarak tempuh fase gerak}}$$

Ekstrak $B1 = \frac{1,9}{5} = 0,38$ $B2 = \frac{2,3}{5} = 0,46$ $B3 = \frac{2,5}{5} = 0,5$	Fraksi $C1 = \frac{1,5}{5} = 0,3$ $C2 = \frac{2,4}{5} = 0,48$
--	--

3. Identifikasi senyawa tanin

			
Visible	UV 254	UV 366	FeCl ₃

Keterangan

A : baku asam galat

B : ekstrak daun petai cina

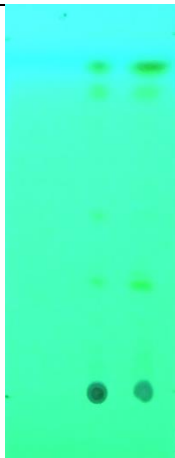
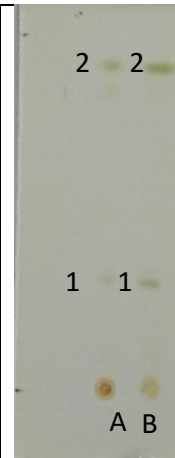
C : fraksi etil asetat daun petai cina

$$\text{Perhitungan } R_f = \frac{\text{jarak bercak}}{\text{jarak tempuh fase gerak}}$$

Baku asam galat	Ekstrak
$A = \frac{2,6}{5} = 0,52$	$B1 = \frac{3,2}{5} = 0,64$
	$B2 = \frac{4,2}{5} = 0,84$

Fraksi	
$C1 = \frac{2,9}{5} = 0,58$	$C4 = \frac{4,1}{5} = 0,82$
$C2 = \frac{3,2}{5} = 0,64$	$C5 = \frac{4,2}{5} = 0,84$
$C3 = \frac{3,7}{5} = 0,74$	

4. Identifikasi senyawa triterpenoid

				
Visible	UV 254	UV 366	Anisaldehyd-asam sulfat	

Keterangan:

A : ekstrak daun petai cina

B : fraksi etil asetat daun petai cina

$$\text{Perhitungan } R_f = \frac{\text{jarak bercak}}{\text{jarak tempuh fase gerak}}$$

Ekstrak	Fraksi
$A1 = \frac{1,5}{5} = 0,3$	$B1 = \frac{1,5}{5} = 0,3$
$A2 = \frac{4,5}{5} = 0,9$	$B2 = \frac{4,5}{5} = 0,9$

Lampiran 12. Analisis Data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		zonahambat
N		42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9.6657
	Std. Deviation	4.80916
	Absolute	.177
Most Extreme Differences	Positive	.175
	Negative	-.177
Kolmogorov-Smirnov Z		1.148
Asymp. Sig. (2-tailed)		.143

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	15,825	2	7,912	,331	,720 ^b
	Residual	932,165	39	23,902		
	Total	947,990	41			

a. Dependent Variable: Zonahambat

b. Predictors: (Constant), Konsentrasi, Bahan

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Zonahambat

F	df1	df2	Sig.
9,043	13	28	,000

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

a. Design: Intercept + Bahan + Konsentrasi +
Bahan * Konsentrasi

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zonahambat

Tukey HSD

(I) Bahan	(J) Bahan	Mean	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Difference (I- J)			Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak	Fraksi n-heksan	,8500	,29600	,075	-,0545	1,7545
	Fraksi etil asetat	-2,3500*	,29600	,000	-3,2545	-1,4455
	Fraksi air	2,5933*	,29600	,000	1,6888	3,4979
	Ciprofloksasin	-13,1111*	,41860	,000	-14,3903	-11,8319
	DMSO	9,6556*	,41860	,000	8,3764	10,9348
Fraksi n- heksan	Ekstrak	-,8500	,29600	,075	-1,7545	,0545
	Fraksi etil asetat	-3,2000*	,29600	,000	-4,1045	-2,2955
	Fraksi air	1,7433*	,29600	,000	,8388	2,6479
	Ciprofloksasin	-13,9611*	,41860	,000	-15,2403	-12,6819
	DMSO	8,8056*	,41860	,000	7,5264	10,0848
Fraksi etil asetat	Ekstrak	2,3500*	,29600	,000	1,4455	3,2545
	Fraksi n-heksan	3,2000*	,29600	,000	2,2955	4,1045
	Fraksi air	4,9433*	,29600	,000	4,0388	5,8479
	Ciprofloksasin	-10,7611*	,41860	,000	-12,0403	-9,4819
	DMSO	12,0056*	,41860	,000	10,7264	13,2848
Fraksi air	Ekstrak	-2,5933*	,29600	,000	-3,4979	-1,6888
	Fraksi n-heksan	-1,7433*	,29600	,000	-2,6479	-,8388
	Fraksi etil asetat	-4,9433*	,29600	,000	-5,8479	-4,0388
	Ciprofloksasin	-15,7044*	,41860	,000	-16,9836	-14,4252
	DMSO	7,0622*	,41860	,000	5,7830	8,3414
Ciprofloksas in	Ekstrak	13,1111*	,41860	,000	11,8319	14,3903
	Fraksi n-heksan	13,9611*	,41860	,000	12,6819	15,2403
	Fraksi etil asetat	10,7611*	,41860	,000	9,4819	12,0403
	Fraksi air	15,7044*	,41860	,000	14,4252	16,9836
	DMSO	22,7667*	,51268	,000	21,2000	24,3334
DMSO	Ekstrak	-9,6556*	,41860	,000	-10,9348	-8,3764

Fraksi n-heksan	-8,8056*	,41860	,000	-10,0848	-7,5264
Fraksi etil asetat	-12,0056*	,41860	,000	-13,2848	-10,7264
Fraksi air	-7,0622*	,41860	,000	-8,3414	-5,7830
Ciprofloksasin	-22,7667*	,51268	,000	-24,3334	-21,2000

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,394.

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

Homogeneous Subsets

Zonahambat

Tukey HSD^{a,b,c}

Bahan	N	Subset				
		1	2	3	4	5
DMSO	3	,0000				
Fraksi air	9		7,0622			
Fraksi n-heksan	9			8,8056		
Ekstrak	9			9,6556		
Fraksi etil asetat	9				12,0056	
Ciprofloksasin	3					22,7667
Sig.		1,000	1,000	,259	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,394.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,400.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = ,05.