



**PENAPISAN FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK ETANOLIK DAUN WOWO (*Flagellaria indica*)
TERHADAP *Bacillus cereus***

SKRIPSI

Oleh:

Wahyu Agustina

NIM 132210101025

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017



**PENAPISAN FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK ETANOLIK DAUN WOWO (*Flagellaria indica*)
TERHADAP *Bacillus cereus***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Studi Farmasi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

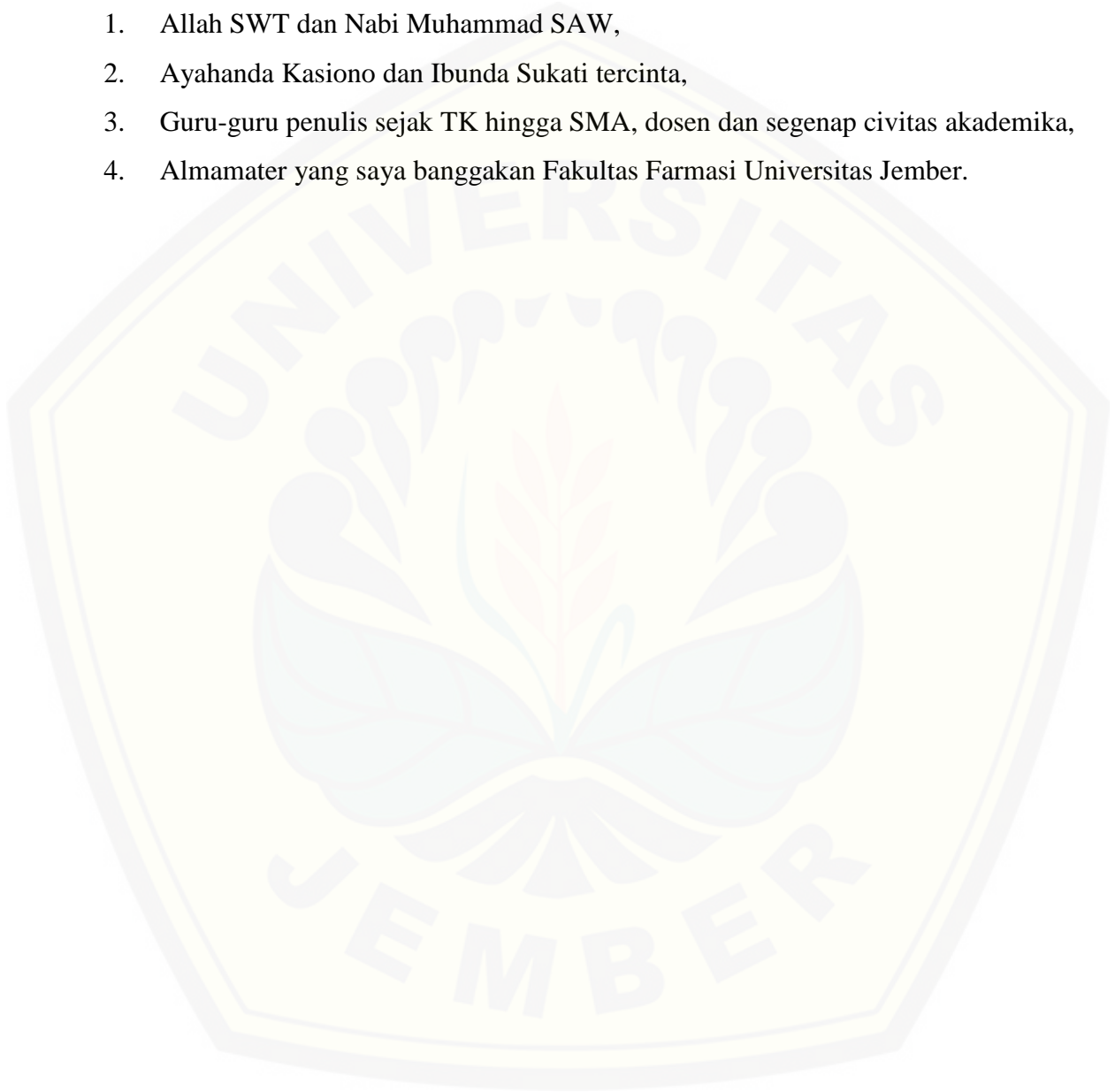
**Wahyu Agustina
NIM 132210101025**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW,
2. Ayahanda Kasiono dan Ibunda Sukati tercinta,
3. Guru-guru penulis sejak TK hingga SMA, dosen dan segenap civitas akademika,
4. Almamater yang saya banggakan Fakultas Farmasi Universitas Jember.



MOTTO

Allah tidak membebani seseorang melainkan
sesuai dengan kadar kesanggupannya
(Q.S Al-Baqarah: 286)

Janganlah kamu berputus asa dari rahmat Allah,
Sesungguhnya tiada putus asa dari rahmat Allah
melainkan orang-orang yang kufur
(Q.S Yusuf: 87)

Lihatlah orang-orang yang berada dibawa kamu,
jangan lihat orang yang berada diatas kamu, karena dengan begitu
kamu tidak meremehkan nikmat Allah yang diberikan-Nya kepada kamu
(HR Bukhari dan Muslim)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Wahyu Agustina

NIM : 132210101025

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Penapisan Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Wowo (*Flagellaria indica*) Terhadap *Bacillus cereus*” adalah benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari ini tidak benar.

Jember, 26 Juli 2017

Yang menyatakan,

(Wahyu Agustina)

Nim132210101025

SKRIPSI

**PENAPISAN FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
ETANOLIK DAUN WOWO (*Flagellaria indica*)
TERHADAP *Bacillus cereus***

Oleh
Wahyu Agustina
NIM 132210101025

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Indah Purnama sary, S.Si., M.Farm., Apt

Dosen Pembimbing Anggota : Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Penapisan Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Wowo (*Flagellaria indica*) Terhadap *Bacillus cereus*” telah diuji dan disahkan pada :

Hari, Tanggal : Rabu, 26 Juli 2017

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt. NIP 198304282008122004

Dewi Dianasari, S. Farm., M. Farm., Apt. NIP 198712082014042002

Tim Penguji

Tim Penguji I,

Tim Penguji II,

Endah Puspitasari, S.Farm., M. Sc., Apt. NIP 198107232006042002

Viddy Agustian R., S.Farm., M.Sc., Apt. NIP 198608302009121007

Mengesahkan
Dekan,

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.
NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Penapisan Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Wowo (*Flagellaria indica*) Terhadap *Bacillus cereus*; Wahyu Agustina, 132210101025; 2017: 44 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyakit infeksi menjadi salah satu permasalahan kesehatan di dunia baik di negara maju maupun negara berkembang, termasuk Indonesia. Penyakit infeksi mendominasi sepuluh penyakit terbanyak pada pasien rawat jalan maupun rawat inap di RS diantaranya, infeksi saluran napas atas, diare dan gastroenteritis penyebab infeksi tertentu (kolitis infeksi) serta tuberkulosis. Pada tahun 2015 jumlah penderita penyakit saluran pernapasan khususnya pneumonia balita mengalami kenaikan sebesar 33,98% dari tahun 2014. Selain itu angka kematian akibat diare juga meningkat menjadi 2,47% yang semula 1,92%.

Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan karena adanya mikroorganisme patogen, salah satunya bakteri. Penyakit infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri dapat diatasi menggunakan antibiotik. Intensitas penggunaan antibiotik perlu diperhatikan karena penggunaan yang tidak rasional dapat menimbulkan berbagai permasalahan dan resistensi bakteri.

Salah satu alternatif pengobatan infeksi adalah melalui eksplorasi senyawa bioaktif dari bahan alam. Pemanfaatan tanaman untuk pengobatan semakin meningkat dengan meningkatnya pengetahuan tentang khasiat berbagai tanaman. Salah satu tanaman yang dapat dijadikan sebagai agen antibakteri adalah *Flagellaria indica* (Tumbuhan Wowo). Tumbuhan wowo secara empiris digunakan untuk pengobatan sakit perut, diare, disentri, demam, mual, influenza, batuk, dan sakit mata.

Dalam penelitian ini dilakukan uji penapisan fitokimia dan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun wowo terhadap bakteri *Bacillus cereus* dengan menggunakan metode mikrodilusi. Berdasarkan hasil uji penapisan fitokimia ekstrak etanolik daun wowo mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol,

saponin, triterpenoid. Berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya golongan senyawa tersebut dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri.

Pada uji aktivitas antibakteri metode mikrodilusi menggunakan 7 seri konsentrasi ekstrak etanolik daun wowo yaitu 7,8125; 15,625; 31,25; 62,5; 125; 250 dan 500 $\mu\text{g/ml}$ dengan tiga kali replikasi dan menggunakan kontrol positif gentamisin. Uji mikrodilusi digunakan untuk mengetahui nilai IC_{50} ekstrak etanolik daun wowo. Bahan uji yang telah dimasukkan kedalam *microplate 96 well* diinkubasi selama 18-24 jam selanjutnya diukur dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm karena absorbansi tertinggi terdapat pada rentang panjang gelombang 550-600 nm.

Nilai IC_{50} ekstrak etanolik daun wowo dalam menghambat pertumbuhan bakteri sebesar $39,399 \pm 1,9 \mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} ekstrak etanolik daun wowo dibawah 100 $\mu\text{g/ml}$ yang menunjukkan bahwa ekstrak etanolik daun wowo merupakan agen antibakteri yang selektif dan relevan. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah gentamisin. Berdasarkan hasil pengujian nilai IC_{50} gentamisin sebesar $2,772 \pm 0,202$.

PRAKATA

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penapisan Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak etanolik Daun Wowo (*Flagellaria indica*) Terhadap *Bacillus cereus*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ayahanda Kasiono serta Ibunda Sukati yang tiada hentinya memberikan semangat dan doa kepada penulis. Terima kasih atas kesabaran, jeri payah serta kasih sayang yang tiada batas.
2. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.;
3. Ibu Lusia Oktora R. K.S, S.F.,M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Ibu Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Dewi Dianasari, S.farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang penuh kesabaran memberi bimbingan, dorongan, meluangkan waktu, pikiran, perhatian dan saran kepada penulis selama penyusunan skripsi ini sehingga bisa terlaksana dengan baik;
5. Ibu Endah puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji I dan Bapak Viddy Agustian R., S.Farm., M.Sc., Apt selaku Dosen Penguji II, terima kasih atas saran, kritik dan bimbingan yang diberikan demi kesempurnaan skripsi ini;
6. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu dan bimbingan kepada penulis;

7. Ibu Wayan, mbak Hanny, Ibu Widi , mbak Parka, mbak Dini dan Mbak Indri Selaku teknisi Laboratorium Kimia, Biologi dan Biomedik Fakultas Farmasi, terima kasih atas segala bantuannya selama proses penyelesaian skripsi ini;
8. Sahabat seperantauan Cynthia Oktavia, terima kasih atas semangat, dukungan, nasihat dan doa yang senantiasa mengiringi setiap langkah bagi perjuangan dan keberhasilan selama penyusunan skripsi ini.
9. Teman seperjuangan skripsi TNMB crew Carina Puspita Kaderwenny, Riza Putri Agustina, Agka Enggar Niken P dan Siti Marfu'ah. Terimakasih atas kerja sama dan kebersamaan menjalani suka duka selama penelitian ini;
10. Sahabat tersayang Maulidia Maharani, Wakika Khosnul Hotimah, Nurul Shalikha dan Estu Hariyati. Terimakasih atas persaudaraannya, doa, keceriaan, tawa dan semangat yang telah dihadirkan;
11. Teman-teman skripsi “Lab. Kimia dan Biologi Mbak Reno, Elsa, kakak Putri, tanjung, via, Putri Evina yang selalu siap memberi bantuan tenaga dan pikiran pada proses penelitian ini.
12. Teman-teman seperjuangan angkatan 2013 Farmasetamol yang telah berjuang bersama-sama demi sebuah gelar Sarjana Farmasi;
13. Teman-teman “Kos Putri pak sung ”, Farah,Wenny, Reni.
14. Guru dan Teman-teman sekolah dari TK AN-NUR., SDN Pandanwangi I, SMPN 2 Jombang dan SMAN 3 Jombang;
15. Seluruh civitas akademika dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis juga sangat menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat

Jember, Juli 2017

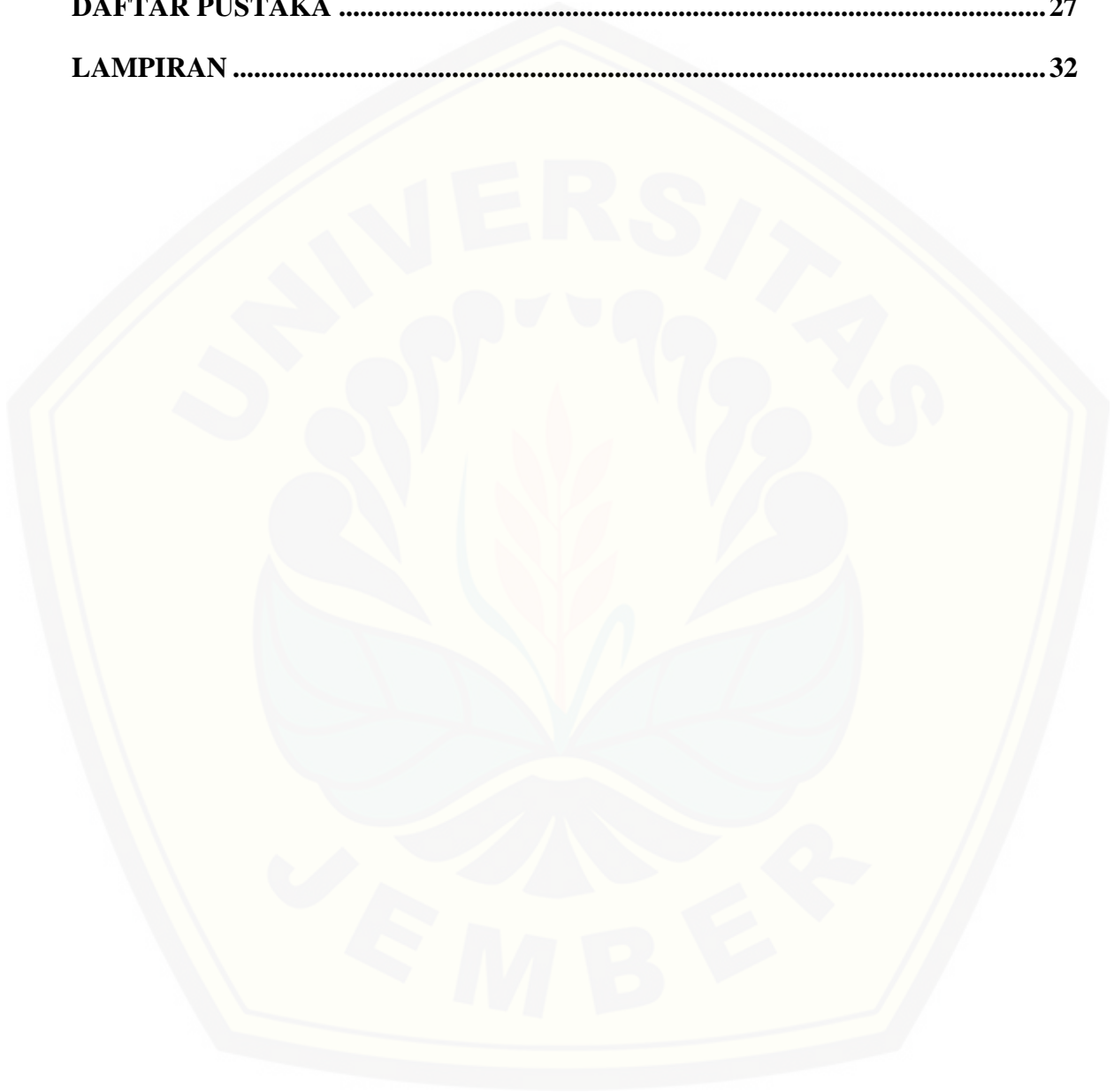
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	iv
PERNYATAAN	v
PENGESAHAN	vii
RINGKASAN.....	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR PERSAMAAN	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan Infeksi	5
2.2 Tinjauan Antibakteri	5
2.3 Tinjauan <i>Bacillus cereus</i>	7
2.4 Tinjauan <i>Flagellaria indica</i>	8
BAB III. METODE PENELITIAN.....	10

3.1	Jenis Penelitian	10
3.2	Rancangan Penelitian	10
3.3	Tempat dan Waktu Penelitian	11
3.4	Alat dan Bahan	11
3.4.1	Alat	11
3.4.2	Bahan	11
3.5	Variabel Penelitian	12
3.5.1	Variabel Bebas	12
3.5.2	Variabel Terikat.....	12
3.5.3	Variabel Terkendali	12
3.6	Definisi Operasional	12
3.7	Prosedur Penelitian	12
3.7.1	Determinasi Tumbuhan wowo	12
3.7.2	Pembuatan Simplisia	13
3.7.3	Pembuatan Ekstrak Etanolik Daun Wowo	13
3.7.4	Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak etanolik Daun Wowo	13
3.7.5	Uji Aktivitas Antibakteri	15
3.8	Analisis Data	17
3.9	Skema Penelitian	20
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN		21
4.1	Determinasi Tanaman	21
4.2	Ekstraksi Daun Wowo	21
4.3	Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Mikrodilusi	21
4.4	Penapisan Fitokimia	22
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN		26

5.1 Kesimpulan	26
5.2 Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	32



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2. 1 Morfologi <i>Bacillus cereus</i>	8
2. 2 Tanaman <i>Flagellaria indica</i>	9
3. 1 Skema rancangan penelitian metode mikrodilusi	10
3. 2 Desain <i>microplate 96-well</i>	18
3. 3 Skema penelitian	20
4. 1 Hasil penampisan fitokimia	24

DAFTAR PERSAMAAN

	Halaman
3.1 Rumus persen penghambatan pertumbuhan bakteri	18



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
4. 1 Hasil Determinasi Tanaman Wowo	32
4. 2 Perhitungan Persen Rendemen Ekstrak Etanolik Daun Wowo.....	33
4. 3 Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Etanolik Daun Wowo	33
4. 4 Perhitungan Konsentrasi Gentamisin.....	34
4. 5 Hasil Absorbansi dan Perhitungan persen penghambatan Pertumbuhan Bakteri pada Uji Mikrodilusi Ekstrak Etanolik Daun Wowo.....	35
4. 6 Hasil Analisis Probit IC ₅₀ Ekstrak Etanolik Daun Wowo.....	35
4. 7 Hasil Absorbansi dan Persen Penghambatan Pertumbuhan Bakteri pada Uji Mikrodilusi Gentamisin.....	40
4. 8 Hasil Analisis Probit IC ₅₀ Gentamisin terhadap <i>Bacillus cereus</i>	40

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi masih menjadi permasalahan kesehatan di dunia termasuk di Indonesia. Penyakit infeksi mendominasi sepuluh penyakit terbanyak pada pasien rawat jalan maupun rawat inap di RS diantaranya, infeksi saluran napas atas, diare dan gastroenteritis penyebab infeksi tertentu (kolitis infeksi) serta tuberculosi (Kemenkes RI, 2011). Pada tahun 2015 jumlah penderita penyakit saluran pernapasan khususnya pneumonia balita mengalami kenaikan sebesar 33,98% dari tahun 2014. Selain itu angka kematian akibat diare juga meningkat menjadi 2,47% yang semula 1,92% (Kemenkes RI 2016). Penyakit ini timbul terutama disebabkan karena patogen yang berasal dari pangan dan air. Bakteri *Bacillus cereus* merupakan salah satu bakteri yang memiliki prevalensi tinggi menyebabkan infeksi melalui makanan (WHO, 2008). *Bacillus cereus* merupakan bakteri gram positif yang tersebar luas di alam dengan spora yang lebih tahan terhadap stres lingkungan daripada sel vegetatifnya. Gejala infeksi dapat ditemukan pada 1–6 jam setelah makan makanan yang terkontaminasi bakteri *B. cereus* (Zein, 2004). *B.cereus* juga dapat menyebabkan infeksi kulit lokal, pneumonia dan infeksi mata (Morris dkk., 2013).

Penyakit infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri dapat diatasi menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik perlu diperhatikan karena penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat menimbulkan berbagai permasalahan dan resistensi bakteri. Resistensi terjadi apabila antibiotik tidak dapat membunuh bakteri patogen yang mengakibatkan efek terapeutik suatu antibiotik tidak tercapai (Kuswandi, 2011). Salah satu alternatif pengobatan infeksi adalah melalui eksplorasi senyawa bioaktif dari bahan alam, utamanya tanaman obat yang sering digunakan masyarakat. Tanaman obat berpotensi dikembangkan lebih lanjut untuk pengobatan penyakit

infeksi, namun masih banyak yang belum dibuktikan bioaktivitasnya secara ilmiah (Setyani dkk., 2016).

Pemanfaatan tanaman untuk pengobatan semakin meningkat dengan meningkatnya pengetahuan tentang khasiat berbagai tanaman. Selain aspek kesehatan yang menjadi pendorong utama berbagai penelitian obat dari bahan alam, aspek ekonomi juga menjadi pendorong penting dalam menggali potensi yang ada di negara kita. Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati terkaya kedua setelah Brazil (Korompis dkk., 2010). Salah satu taman nasional yang memiliki keanekaragaman hayati yaitu Taman Nasional Meru Betiri (TNMB) di Provinsi Jawa Timur (Balai TNMB, 2006). Kekayaan jenis tumbuhan obat di dalam kawasan konservasi tersebut berpotensi sebagai agen antibakteri, salah satunya adalah *Flagellaria indica* (tumbuhan wowo) (Sujanapal dan Sankaran, 2016).

Menurut penelitian Gnanaraj dkk (2015) ekstrak daun wowo dengan pelarut metanol, heksana, butanol, kloroform, etil asetat, dan air dilaporkan memiliki kandungan kimia flavonoid, saponin, tanin, polifenol, dan alkaloid. Senyawa alkaloid dilaporkan mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Flavonoid efektif sebagai substansi antibakteri karena kemampuan flavonoid membentuk ikatan dengan protein terlarut (Cowan, 1999). Saponin mempunyai efek antibakteri dengan membentuk kompleks pada membran sel (Cheeke, 1999).

Wowo oleh masyarakat sekitar TNMB digunakan sebagai diuretik, perawatan rambut, obat luka, dan astringen (Dephut dan IPB, 2000). Bagian batang dan daun dari tanaman wowo dimanfaatkan sebagai tanaman obat oleh penduduk Papua New Guinea untuk menyembuhkan sakit perut, diare, disentri, asma, sesak napas, dan demam (WHO, 2009). Daun wowo juga dimanfaatkan untuk pengobatan sakit mata (Stuart, 2016). Sediaan dekok dari akar tanaman wowo di Malaysia digunakan untuk mengobati mual, influenza dan batuk (Ahmad dan Holdsworth, 1995). Penelitian sebelumnya tentang tanaman wowo banyak dilakukan pada bagian daun, diantaranya penelitian efek hepatoprotektor dari ekstrak air daun wowo (Gnanaraj dkk., 2016). dan uji aktivitas antioksidan dari variasi ekstrak daun wowo (Gnanaraj dkk., 2015;).

Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu diadakannya penelitian tentang penapisan fitokimia karena belum adanya penelitian sebelumnya mengenai penapisan fitokimia dari ekstrak daun wowo dengan pelarut etanol dan dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun wowo terhadap *B. cereus* untuk mengetahui golongan senyawa dan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanolik daun wowo.

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian diatas, permasalahan yang dapat dirumuskan dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah ekstrak etanolik daun wowo mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, tanin, triterpenoid dan polifenol?
2. Apakah ekstrak etanolik daun wowo memiliki aktivitas antibakteri terhadap *B. cereus*
3. Berapa nilai *Inhibitory Concentration* 50 (IC_{50}) ekstrak etanolik daun wowo terhadap bakteri *B. cereus* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini memiliki tujuan antara lain :

1. Untuk mengetahui adanya golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, tanin, terpenoid dan polifenol dari ekstrak etanolik daun wowo
2. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun wowo terhadap *B.cereus*.
3. Untuk mengetahui nilai IC_{50} dari ekstrak etanolik daun wowo terhadap *B. cereus*.

1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan yang ingin dicapai, maka penelitian ini diharapkan mempunyai manfaat sebagai berikut:

1. Hasil dari penelitian dapat dijadikan bahan informasi penggunaan daun wowo sebagai sumber antibakteri baru yang mempunyai nilai ekonomis dalam mengobati penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *B. cereus*.
2. Hasil dari penelitian dapat dijadikan dasar dalam penelitian selanjutnya untuk pengembangan obat baru dari bahan alam.



BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Infeksi

Mikroorganisme memiliki kemampuan menginfeksi manusia, hewan serta tanaman. Infeksi adalah masuknya mikroorganisme patogen ke dalam tubuh dan berkembang biak. Infeksi yang ditimbulkan bisa berdampak ringan hingga berdampak kematian. Kemampuan suatu organisme patogen untuk menyebabkan infeksi tidak hanya dipengaruhi oleh sifat-sifat mikroba itu sendiri, tetapi juga oleh kemampuan inang untuk menahan infeksi (Pelczar dan Chan, 1988).

Proses infeksi bakteri di dalam tubuh meliputi, bakteri yang menyebabkan penyakit pertama-tama melekat pada sel inang, biasanya sel-sel epitel. Setelah bakteri menetapkan situs utama infeksi, bakteri berkembang biak dan menyebar langsung melalui jaringan atau melalui sistem limfatik ke aliran darah. Infeksi ini (bakteremia) dapat bersifat sementara atau persisten. Bakteremia memungkinkan bakteri untuk menyebar luas dalam tubuh dan memungkinkan bakteri untuk mencapai jaringan yang sesuai untuk pengandaan bakteri (Brooks dkk., 2013).

Tanda-tanda infeksi antara lain jumlah leukosit meningkat. Peningkatan leukosit mengindikasikan adanya infeksi. Adanya infeksi juga didukung oleh peningkatan nadi dan respiratory rate (RR) meskipun peningkatan RR tidak terlalu tinggi. Selain itu juga diikuti dengan peningkatan suhu tubuh. Pada pemeriksaan berikutnya, terjadi penurunan leukosit. hal ini mengindikasikan adanya respon terhadap terapi antibiotik (Kemenkes RI, 2011).

2.2 Tinjauan Antibakteri

Bahan antibakteri merupakan bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri, sehingga dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan

membunuh bakteri. Cara kerja bahan antibakteri antara lain dengan merusak dinding sel, mengubah permeabilitas sel, mengubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim, serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Pelczar dan Chan, 1988).

Secara umum aktivitas agen antibakteri dapat bersifat bakteristatik atau bakterisida. Agen antibakteri yang bersifat bakteristatik hanya menghambat pertumbuhan atau multiplikasi bakteri sedangkan agen antimikroba yang bersifat bakteriosida bekerja dengan membunuh bakteri (Sosa dkk., 2010).

Penggunaan antibiotik yang tidak rasional menimbulkan berbagai permasalahan dan merupakan ancaman global bagi kesehatan terutama resistensi bakteri terhadap antibiotik. Resistensi terjadi apabila antibiotik tidak dapat membunuh bakteri patogen yang mengakibatkan efek terapeutik suatu antibiotik tidak tercapai (Kuswandi, 2011).

Ada beberapa golongan besar antibiotik anatara lain, golongan penisilin, golongan sefalosporin, golongan kloramfenikol, golongan tetrasiklin, golongan makrolida, golongan aminoglikosida, golongan sulfonamide dan golongan flourokuinolon. Penisilin diklasifikasikan sebagai obat β -laktam karena cincin laktam mereka yang unik. Sefalosporin mirip dengan penisilin secara kimiawi, cara kerja, dan toksisitas. Hanya saja sefalosporin lebih stabil terhadap banyak beta-laktamase bakteri sehingga memiliki spektrum yang lebih luas. Kloramfenikol merupakan inhibitor yang poten terhadap sintesis protein mikroba. Kloramfenikol bersifat bakteristatik dan memiliki spektrum luas dan aktif terhadap masing – masing bakteri gram positif dan negatif. Golongan aminoglikosida memiliki spektrum kerja yang luas. Aktifitasnya adalah bakterisid, berdasarkan dayanya untuk menembus dinding bakteri dan mengikat diri pada ribosom di dalam sel. Contohnya streptomisin, gentamisin, amikasin, neomisin, dan paranomisin (Katzung, 2007).

2.3 Tinjauan *Bacillus cereus*

Klasifikasi secara ilmiah bakteri *Bacillus cereus* sebagai berikut:

Kingdom	: Prokaryota
Divisio	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Bacillaceae
Genus	: <i>Bacillus</i>
Spesies	: <i>B. cereus</i> (Breed dan Smith, 1957).

B. cereus termasuk golongan bakteri gram positif, bersifat aerob fakultatif, dan motil. *B. cereus* merupakan bakteri yang menyebabkan keracunan pada makanan. *B. cereus* ditemukan pada sampel produk makanan sekitar 25% meliputi, puding, daging, rempah-rempah, kentang kering, susu bubuk dan nasi. Kontaminasi produk makanan umumnya terjadi sebelum dimasak. Bentuk vegetatif dari *B. cereus* dapat tumbuh dan menghasilkan enterotoksin pada berbagai suhu mulai dari 25-42 °C (77°-108 °F). Spora dapat bertahan hidup pada suhu yang ekstrim, dan ketika dibiarkan dingin relatif lama, mereka akan tumbuh dan berkembang biak (Brooks dkk., 2013). Ada dua tipe penyakit yang disebabkan oleh *B.cereus* yaitu, tipe emetik dan tipe diare. Tipe emetik ditandai dengan mual dan muntah, muncul gejala setelah masa inkubasi sekitar 1-6 jam. Tipe diare ditandai dengan rasa sakit perut dan buang air besar, muncul gejala setelah masa inkubasi sekitar 6-24 jam. *B.cereus* juga dapat menyebabkan infeksi kulit lokal, pneumoniae dan infeksi mata (Morris dkk., 2013). Morfologi *Bacillus cereus* ditunjukkan oleh Gambar 2. 1.



Gambar 2. 1 Morfologi *Bacillus cereus* (Frederick, 2007)

2.4 Tinjauan *Flagellaria indica*

a. Klasifikasi Tanaman *Flagellaria indica*

Klasifikasi Tanaman *Flagellaria indica* menurut ITIS (2011) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Divisi	: Tracheophyta
Super Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Poales
Famili	: Flagellariaceae
Genus	: <i>Flagellaria</i> L.
<i>Species</i>	: <i>Flagellaria indica</i> L.
Nama lokal	: rotan tikus (Mal.), lumpui, owar, kokrok, wowo, rotan dapit, rotan dini, rotan kroh, rotan laki, rotan macik (Ind.), anudd, ingual, audi, audi sigayang, venagalang (Phil.), mây nu'ó'c (Viet.), pdao ondawk (Giesen dkk., 2006).

b. Deskripsi Tanaman

Flagellaria indica (wowo) merupakan tanaman memanjat dengan panjang batang 2-15 m. Panjang daun 10-30 cm dan memiliki panjang tangkai daun 3-10 mm. Ujung daun menggulung membentuk sulur. Bagian bunga umumnya dikelompokkan dalam kelompok bunga terminal. Memiliki buah yang mencolok, bulat, halus, mengkilap, berwarna merah muda hingga *orange berry*. Wowo umumnya tumbuh memanjat di hutan lembab, hutan rawa dan hutan rawa gambut, di sepanjang tepi hutan, dan sepanjang sungai. Selain itu juga ditemukan disepanjang margin mangrove (Giesen dkk., 2006).

Flagellaria indica mengandung konstituen bioaktif seperti flavonoid, tanin, saponin, steroid, triterpenoid dan alkaloid. Antrakuinon dan glikosida antrakuinon tidak ditemukan dalam daun wowo (Gnanaraj dkk., 2015). Tanaman wowo banyak digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan diantaranya oleh masyarakat sekitar TNMB digunakan sebagai obat batuk, diuretik, obat luka dan astringen (Dephut dan IPB, 2000). Wowo juga dimanfaatkan sebagai tanaman obat oleh penduduk Papua New Guinea. Bagian batang dari tanaman wowo dipotong kecil-kecil kemudian direbus dan filtratnya diminum untuk menyembuhkan sakit perut, diare dan disentri. Daun wowo direbus kemudian diminum untuk mengobati asma, sesak napas, dan demam (WHO, 2009). Sediaan dekok dari akar tanaman wowo di Malaysia digunakan untuk mengobati mual, influenza dan batuk (Ahmad dan Holdsworth, 1995). Tanaman *Flagellaria indica* ditunjukkan oleh Gambar 2.2



Gambar 2. 1 Tanaman *Flagellaria indica* (Sumber: Hossain, 2015)

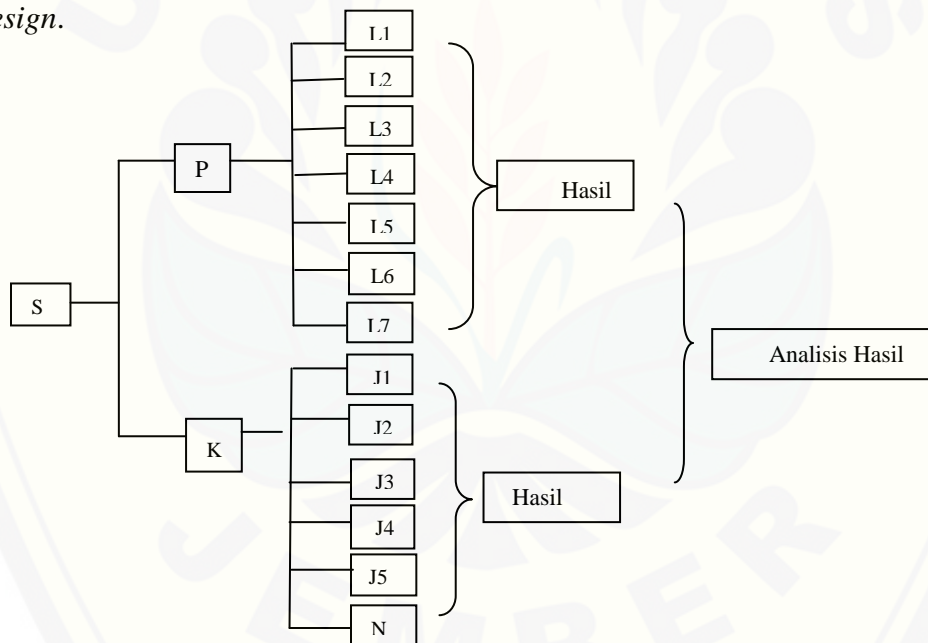
BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penapisan fitokimia dan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun wowo terhadap bakteri *Bacillus cereus* merupakan penelitian *true experimental laboratories*.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah *the post test control only group design*.



Gambar 3. 1 Skema rancangan penelitian metode mikrodilusi.

Keterangan:

S = sampel.

P = kelompok perlakuan

K = kelompok kontrol

L1-7 = Ekstrak uji konsentrasi 7,8125; 15,625; 31,25; 62,5; 125; 250 dan 500 µg/ml.

J1-5 = konsentrasi kontrol posif gentamisin 0,5; 1; 2; 4; dan 8 µg/ml.

N = Kontrol negatif

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Analisis Instrumen Bagian Kimia Fakultas Farmasi dan Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Farmasi Universitas Jember mulai bulan Januari–Juli 2017.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, alat penggiling, maserator, rotavapor (Stroglase Strike 300), corong buchner, oven, jarum ose, inkubator (CLIFTON), autoklaf (ALP), mikropipet (SOCOREX ASBA S.A), microplate flat bottom 96 wells (SPL), microplate reader (DIA-LAB), hot plate (Thermo Cimarex), pembakar spiritus, yellow tip, blue tip, spatula logam, timbangan analitik (Ohaus), laminar air flow (Airtech), lemari asam (FH 120 G Standart)

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun wowo yang sudah dikeringkan dan diserbuk sehingga menjadi serbuk kering daun wowo. Bahan kimia yang digunakan untuk identifikasi senyawa adalah pereaksi Wagner, Mayer, Dragendorf, Magnesium, HCl 2N, NaCl, H₂SO₄ pekat, n-heksana, asam asetat anhidrat, HCl pekat, butanol, gelatin, NaCl 10% dan FeCl₃, Silika gel F₂₅₄, etil asetat, metanol, akuades, anisaldehyd asam sulfat, asam asetat glasial, uap ammonia dan kloroform. Bahan yang digunakan untuk uji antibakteri adalah akuades steril, NaCl fisiologis, tween 80 0,5%, DmsO 10%, standar Mc Farland 0,5, bakteri uji yang digunakan adalah *B.cereus* ATCC 11778. Media bakteri yang digunakan untuk peremajaan biakan murni adalah *Nutrient Agar* (NA) (Merck). Media bakteri yang digunakan untuk uji mikrodilusi adalah *Trythton Soy Broth* (TSB) (Merck). Kontrol positif antibakteri yang digunakan untuk uji mikrodilusi adalah injeksi gentamisin 40 mg/ml (merck).

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanolik daun wowo sebesar 7,8125; 15,625; 31,25; 62,5; 125; 250 dan 500 µg/ml.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai IC_{50} dari ekstrak etanolik daun wowo terhadap *B.cereus* pada media TSB menggunakan *microplate reader*.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi remaserasi daun wowo, media NB, Media TSB, waktu inkubasi, prosedur penelitian, cara pengukuran untuk uji antibakteri.

3.6 Definisi Operasional

Berikut definisi operasional dari penelitian adalah:

- a. Tumbuhan wowo yang digunakan pada penelitian adalah bagian daun segar yang diambil secara acak dari tumbuhan wowo yang sudah berbunga sempurna. Diambil pada bulan Mei 2016 dari Taman Nasional Meru Betiri (TNMB).
- b. Daun wowo diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%.
- c. Bakteri yang digunakan merupakan bakteri gram positif *B. cereus* ATCC 11778.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Determinasi Tumbuhan wowo

Tumbuhan wowo yang diambil dari TNMB dideterminasi di LIPI Purwodadi. Perawakan lengkap tanaman wowo dibawa ke LIPI Purwodadi untuk memastikan bahwa tanaman yang diuji merupakan spesies *Flagellaria indica*.

3.7.2 Pembuatan Simplisia

Sampel tanaman daun wowo yang didapat dari TNMB disortasi basah, kemudian dicuci untuk menghilangkan kotoran yang melekat. Setelah itu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat yang terhindar dari sinar matahari langsung hingga didapat daun wowo kering. Daun wowo kering disortasi untuk memisahkan daun yang digunakan untuk penelitian dan pengotor sehingga diperoleh simplisia daun wowo. Simplisia daun wowo kemudian digiling untuk mengecilkan ukuran partikelnya sehingga didapatkan serbuk kering daun wowo.

3.7.3 Pembuatan Ekstrak Etanolik Daun Wowo

Ditimbang 250 g serbuk kering daun wowo. Serbuk daun wowo dimasukkan ke dalam maserator tertutup, ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 1 liter. Dilakukan ekstraksi selama 5 hari dalam maserator tertutup dan dilakukan pengadukan setiap 24 jam. Setelah itu disaring dengan menggunakan corong Buchner. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan rotavapor pada suhu 50 °C dengan kecepatan 60-75 rpm. Residunya dilakukan remaserasi. Hasil ekstraksi yang diperoleh diletakkan dalam vial. Ekstrak dalam vial dipanaskan dengan *oven* pada suhu 40 °C hingga terbentuk ekstrak kental dan dihitung rendemen yang diperoleh.

3.7.4 Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak etanolik Daun Wowo

a. Identifikasi alkaloid

Sejumlah 0,3 gram ekstrak ditambah dengan beberapa tetes HCl 2N, dipanaskan diatas penangas air selama 2-3 menit, sambil diaduk. Setelah dingin ditambah 0,3 gram NaCl, diaduk rata kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambah 5 ml HCl 2N, Kemudian ditambah NH₄OH 28% hingga larutan menjadi basah kemudian diekstraksi dengan 5 ml kloroform dan disaring. Filtrat diuapkan hingga kering selanjutnya dilarutkan dengan metanol kemudian ditotolkan pada lempeng KLT

dengan fase gerak etil asetat, metanol dan air (9:2:2) menggunakan penampak noda pereaksi Dragendorft. Hasil uji dinyatakan positif jika terdapat noda berwarna jingga.

b. Identifikasi Flavonoid

Sejumlah 0,3 gram ekstrak dimasukkan tabung reaksi, dicuci dengan heksana sampai jernih. Residu dilarutkan dalam 20 ml etanol kemudian disaring. Selanjutnya ditotolkan pada lempeng KLT dengan fase gerak butanol, asam asetat glasial dan air (4:1:5) menggunakan penampak noda uap ammonia. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya noda berwarna kuning.

c. Identifikasi Saponin, Terpenoid, dan Steroid

Sejumlah 0,3 gram ekstrak dimasukkan tabung reaksi, kemudian ditambah akuades sebanyak 10 ml, dan dikocok kuat-kuat selama 30 detik. Tes buih positif mengandung saponin bila terjadi buih yang stabil selama lebih dari 30 menit dengan tinggi 3 cm diatas permukaan cairan.

Sejumlah 0.3 gram ekstrak ditambah dengan 5 ml HCl 2N kemudian dididihkan dan ditutup dengan corong berisi kapas basah selama 2 jam untuk menghidrolisis saponin. setelah dingin dinetralkan dengan ammonia selanjutnya diekstraksi dengan 3 ml n-heksana sebanyak 3 kali dan diuapkan hingga tinggal 0,5 ml. Selanjutnya ditotolkan pada lempeng KLT dan dieluasi dengan fase gerak n-heksana dan etil asetat (4 :1) menggunakan penampak noda anisaldehyd asam sulfat. Adanya sapogenin ditunjukkan dengan noda berwarna ungu.

Ekstrak sebanyak 0,3 gram ditambah dengan beberapa tetes etanol hingga larut kemudian ditotolkan pada lempeng KLT dan dieluasi dengan fase gerak n-heksana dan etil asetat (4 :1) menggunakan penampak noda anisaldehyd asam sulfat. Hasil uji dinyatakan mengandung golongan senyawa terpenoid atau steroid ditunjukkan dengan adanya noda berwarna ungu.

d. Identifikasi Polifenol dan Tanin

Sejumlah 0,3 gram ekstrak ditambah 10 ml akuades panas, diaduk dan dibiarkan sampai suhu kamar, lalu ditambahkan beberapa tetes NaCl 10%, diaduk dan disaring. Filtrat dibagi menjadi tiga bagian disebut sebagai larutan A, B dan C. Larutan

C diberi beberapa tetes FeCl_3 , kemudian diamati terjadinya perubahan warna. Jika terjadi warna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin. Jika filtrat ditambah gelatin dan NaCl tidak timbul endapan, setelah ditambahkan larutan FeCl_3 terjadi perubahan warna menjadi hijau biru hingga hitam menunjukkan adanya senyawa polifenol. Larutan B ditambah dengan gelatin dan 5 ml NaCl 10%, jika terjadi endapan putih menunjukkan adanya tanin. Larutan C ditotolkan pada lempeng KLT dan dieluasi dengan fase gerak toluene: aseton: asam formiat (6:6:1). Hasil positif adanya polifenol ditunjukkan dengan adanya noda berwarna gelap (Hitam atau coklat tua) dengan penampak noda FeCl_3 .

3.7.5 Uji Aktivitas Antibakteri

a. Sterilisasi alat dan bahan

Alat yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri disterilisasi dengan cara dicuci bersih, dikeringkan, dan dibungkus satu persatu dengan kertas coklat kemudian dilakukan proses sterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Ose disterilkan dengan cara pemijaran.

b. Penyiapan media

1) Pembuatan media *Trypticase Soy Broth* (TSB)

Pembuatan media *Trypticase Soy Broth* (TSB) dilakukan dengan menimbang 1,5 gram TSB. Kemudian dilarutkan dalam 50 ml akuades. Larutan media dituangkan ke dalam 5 tabung reaksi dengan volume masing-masing 10 ml. Media TSB disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit.

2) Pembuatan media *Nutrient Agar Slant* (NAS)

Pembuatan media *Nutrient Agar Slant* (NAS). Dilakukan penimbangan 0,4 gram NAS dilarutkan dalam 20 ml air dilakukan pemanasan dan pengadukkan hingga larut sempurna. Larutan media dituang ke dalam 4 tabung reaksi masing-masing 5 ml. Media NAS disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan

tekanan 15 psi selama 15 menit. Tabung yang berisi media yang telah dsterilisasi dimiringkan agar membentuk agar miring.

c. Pembuatan standar Mc Farland 0,5

BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 ml dicampur dengan 9,95 ml H₂SO₄ 1% sehingga setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU (koloni/ml).

d. Peremajaan biakan murni

Biakan bakteri murni diremajakan pada media *Nutrient Agar Slant* (NAS) dalam tabung reaksi dengan cara menggosokkan pada media NAS miring. Proses tersebut dilakukan secara aseptis yaitu dengan mendekatkan mulut tabung reaksi pada nyala api dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Setelah itu media dalam tabung reaksi yang berisi bakteri ditutup rapat dengan menggunakan kapas dan *plastic wrap*, kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator pada suhu 37 °C.

e. Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri uji *B.cereus* dari kultur peremajaan biakan murni diambil menggunakan ose steril, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml NaCl 0,9% steril secara aseptis dan dihomogenkan menggunakan vortex kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 625 nm hingga absorbansinya sama dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu antara 0,08 -0,1. Larutan ini berfungsi sebagai biakan aktif.

f. Pembuatan Kontrol Positif Larutan Gentamisin

Kontrol positif yang digunakan untuk uji mikrodilusi adalah injeksi gentamisin dengan kadar 40 mg/ml. Konsentrasi kontrol positif gentamisin dibuat dengan memipet 10 µl injeksi gentamisin kemudian dilarutkan dalam akuades hingga 2 ml sehingga konsentrasinya 200 µg/ml. Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga menjadi konsentrasi 0,5; 1; 2; 4 dan 8 µg/ml.

g. Pembuatan Larutan Uji

Uji aktivitas antibakteri metode mikrodilusi menggunakan tujuh seri konsentrasi. Ketujuh seri konsentrasi tersebut berasal dari pengenceran larutan induk dengan konsentrasi 25.000 µg/ml. Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga

menjadi konsentrasi 7,8125 µg/ml 15,625 µg/ml ; 31,25 µg/ml; 62,5 µg/ml; 125 µg/ml; 250 µg/ml; 500 µg/ml. Prosedur pembuatan larutan uji dilakukan dalam *laminar air flow* (LAF).

h. Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Mikrodilusi

Penentuan IC_{50} dari aktivitas antibakteri daun wowo dilakukan menggunakan metode mikrodilusi. Larutan uji terdiri dari suspensi bakteri uji sejumlah 50 µl, 50 µl media TSB dan 100 µl ekstrak etanolik daun wowo dengan seri konsentrasi 7,8125 µg/ml; 15,625 µg/ml ; 31,25 µg/ml; 62,5 µg/ml; 125 µg/ml; 250 µg/ml; 500 µg/ml dimasukkan ke dalam masing-masing sumur *microplate 96 well* sebanyak 3 kali replikasi. Kontrol negatif merupakan campuran 50 µl media TSB, 50 µl bakteri uji, dan 100 µl akuades steril. Kontrol positif merupakan Campuran 100 µl larutan gentamisin masing-masing konsentrasi, 50 µl media TSB dan 50 µl suspensi bakteri uji. Untuk kontrol ekstrak terdiri dari campuran 100 µl ekstrak etanolik daun wowo masing-masing konsentrasi, 50 µl media tanpa bakteri, dan 50 µl NaCl 0,9 % dimasukkan ke dalam sumuran. Campuran 50 µl media TSB tanpa bakteri, 50 µl NaCl 0,9 % steril dan 100 µl akuades digunakan sebagai kontrol media. Kontrol gentamisin merupakan campuran 50 µl media TSB, 50 µl NaCl 0,9 % steril dan 100 µl gentamisin. Seluruh prosedur diatas dilakukan didalam LAF. Desain *microplate* ditunjukkan oleh Gambar 3.3.

Pengamatan dilakukan setelah inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37° C. Densitas sel dihitung menggunakan instrument *microplate reader* dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 595 nm. IC_{50} ditetapkan sebagai konsentrasi yang menghambat 50 % pertumbuhan bakteri uji.

3.8 Analisis Data

Nilai IC_{50} hasil uji mikrodilusi dianalisis menggunakan analisis probit. Rumus yang digunakan dalam menghitung persen penghambatan pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Persamaan 3.1.

Persen penghambatan pertumbuhan bakteri= $\left(1 - \frac{(Abs\ R - Abs\ S)}{(Abs\ p - Abs\ Q)}\right) \times 100\% \dots (3.1)$

(Dimodifikasi dari Quave dkk, 2008).

Keterangan :

Abs = absorbansi

P = kontrol negatif (media TSB+ *Bacillus cereus*)

Q = kontrol media TSB

R = uji (media TSB + *Bacillus cereus* + ekstrak /gentamisin)

S = kontrol ekstrak (Media TSB + ekstrak /gentamisin)

Microplate 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
B	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
C	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
D	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
E	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
F	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
G	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
H	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green

Microplate 2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Purple	Purple	Purple	Purple	Light Purple	Light Purple	Light Purple	Light Purple	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
B	Purple	Purple	Purple	Purple	Light Purple	Light Purple	Light Purple	Light Purple	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
C	Purple	Purple	Purple	Purple	Light Purple	Light Purple	Light Purple	Light Purple	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
D	Purple	Purple	Purple	Purple	Light Purple	Light Purple	Light Purple	Light Purple	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
E	Purple	Purple	Purple	Purple	Light Purple	Light Purple	Light Purple	Light Purple	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
F	Purple	Purple	Purple	Purple	Light Purple	Light Purple	Light Purple	Light Purple	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
G	Purple	Purple	Purple	Purple	Light Purple	Light Purple	Light Purple	Light Purple	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
H	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red

Gambar 3. 3 Desain microplate 96 well

Keterangan:







= media TSB + ekstrak etanol daun wawo+ suspensi bakteri uji



= media TSB+ gentamisin + suspensi bakteri uji (kontrol positif)

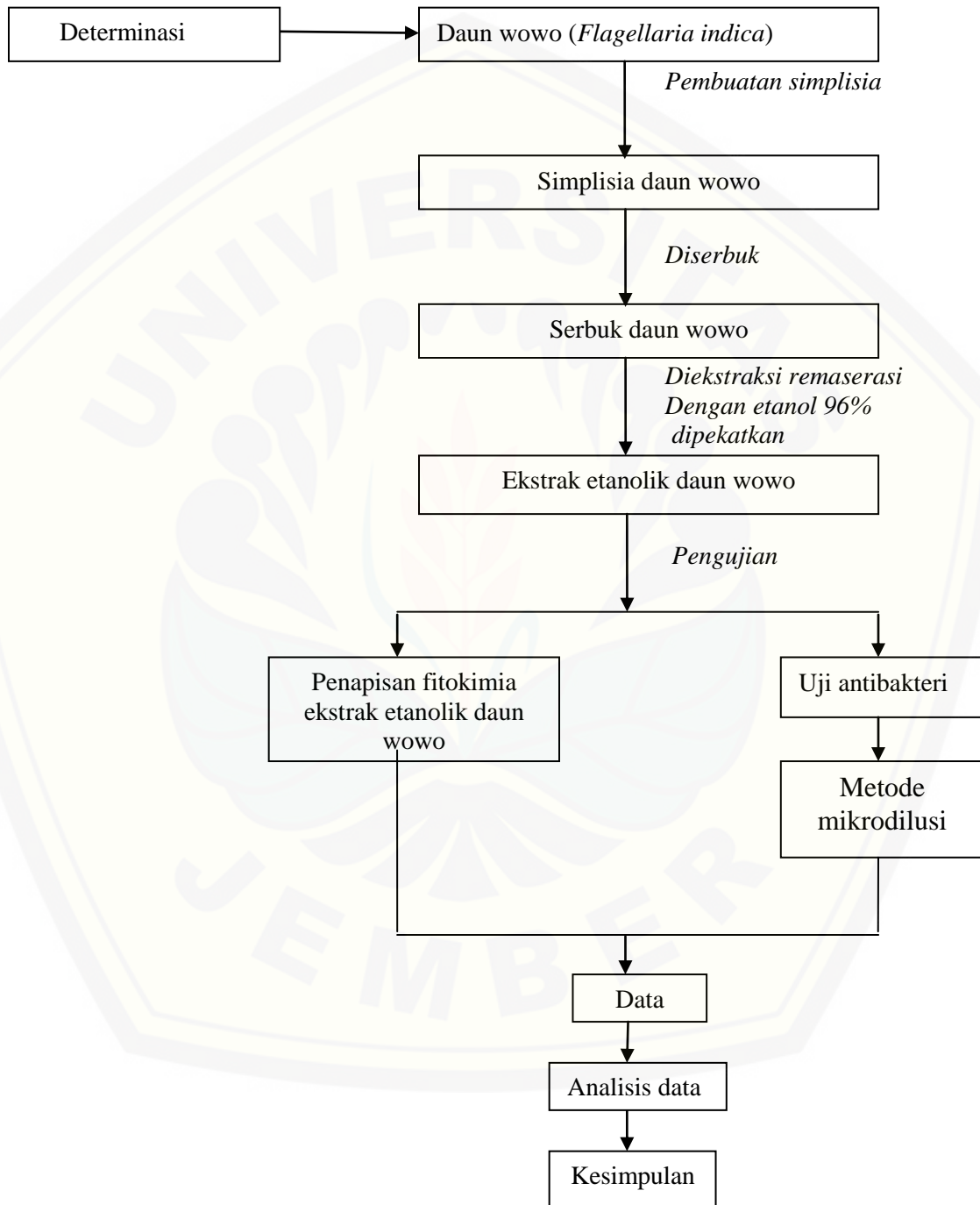


= media TSB + suspensi bakteri uji + Akuades (kontrol negatif)

-  = media TSB + ekstrak etanol daun wawo + NaCl 0,9% (kontrol ekstrak)
-  = media TSB + gentamisin + NaCl 0,9% (kontrol gentamisin)
-  = media TSB + akuades + NaCl 0,9% (kontrol media)
-  = Pengujian lain



3.9 Skema Penelitian



Gambar 3. 2 Skema penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanolik daun wowo mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid dan polifenol.
2. Pada pengujian dengan metode mikrodilusi ekstrak etanolik daun wowo memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus cereus*
3. Pada pengujian menggunakan metode mikrodilusi didapatkan nilai (IC_{50}) ekstrak etanol daun wowo sebesar $39,399 \pm 1,9 \mu\text{g/ml}$.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian yang diperoleh, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memisahkan golongan senyawa bioaktif ekstrak etanolik daun wowo sehingga dapat diketahui golongan senyawa yang spesifik menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung: Penerbit ITB Press
- Ahmad, F. B. dan D. K. Holdsworth. 1995. Traditional medicinal plants of sabah, malaysia part III the rungun people of kudat. *Pharmaceutical Biology*. 33(3): 262–264.
- Ansel, H. C. 1989. *Pengantar Bentuk sediaan Farmasi Edisi 4*. Jakarta: UI Press.
- Balai TNMB. 2006. *Tumbuhan Obat Taman Nasional Meru Betiri*. Jember: Balai Taman Nasional Meru Betiri.
- Balouiri, M., M. Sadiki, dan S. K. Ibsouda. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2): 71–79.
- Breed, R.S. Murray, E.G.D. dan Smith N.R. 1957. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Seventh Edition*. U.S.A: The williams and Wil kins Company.
- Brooks, G. F., K. C. Carroll, J. Butel, S. A. Morse, dan T. Mietzner. 2013. *Medical Microbiology 26th edition*. US: The McGraw-Hill Companies.
- Cheeke, P. R. 1999. Actual and Potential Applications of Yucca schidigera and Quillaja saponaria Saponins in Human and Animal Nutrition. *American Society of Animal Science*. 1-10.
- Cos, P., A. J. Vlietinck, D. Vanden, dan L. Maes. 2006. Anti-infective potential of natural products : how to develop a stronger in vitro “ proof-of-concept ”. 106: 290–302.
- Cowan. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4): 564-582.
- Departemen Kehutanan dan IPB. 2000. *Inventarisasi, Identifikasi, Dan Pemetaan Potensi Wanafarma*. Jawa Timur: Departemen Kehutanan dan Perkebunan.
- Dewi, F. K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia, Linnaeus*) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi*.

Surakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.

Freedrick, 2007. *Bacillus cereus*
https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bacillus_cereus. [Diakses pada 4 april 2016].

Giesen, W., Wulffraat, S., Zieren, M. dan Scholten, L. 2006. *Mangrove Guidebook For Southeast Asia part II vines dan climber*. Bangkok: FAO and Wetlands International.

Gigantelli, J. W., J. T. Gomez, dan M. S. Osatol. 1991. In vitro susceptibilities of ocular *Bacillus cereus* isolates to clindamycin, gentamicin, and vancomycin alone or in combination. 35(1): 201–202.

Gnanaraj, C., M. D. Shah, E. A. T. M. Haque, dan M. Iqbal. 2015. Phytochemical screening, antioxidant properties in various extracts from the leaves of *Flagellaria indica l.* from sabah, malaysia. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 7(9): 510–512.

Gnanaraj, C., M. D. Shah, E. A. T. M. Haque, dan M. Iqbal. 2016. Hepatoprotective effects of *Flagellaria indica* are mediated through the suppression of pro inflammatory cytokines and oxidative stress markers in rats. *Pharmaceutical Biology*. 0(0): 1–14.

Harborne, J., 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Cetakan kedua*. Bandung: Penerbit ITB.

ITIS. 2011. *Taxonomy Flagellaria indica*.
https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=897286#null. [Diakses pada 27 Desember 2016].

Karou, D., M. H. Dicko, J. Simpore , dan A. S. Traore. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from plant of Burkina Faso. *African journal of Biotechnology*. 4(8): 823-828.

Katzung, B. G. *Farmakologi Dasar dan Klinik. 10th ed.* Jakarta: EGC

Kementerian Kesehatan RI. 2011. *Profil Kesehatan Indonesia 2010*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.

Kementrerian Kesehatan RI. 2011. *Pedoman Interpretasi Data Klinis*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI

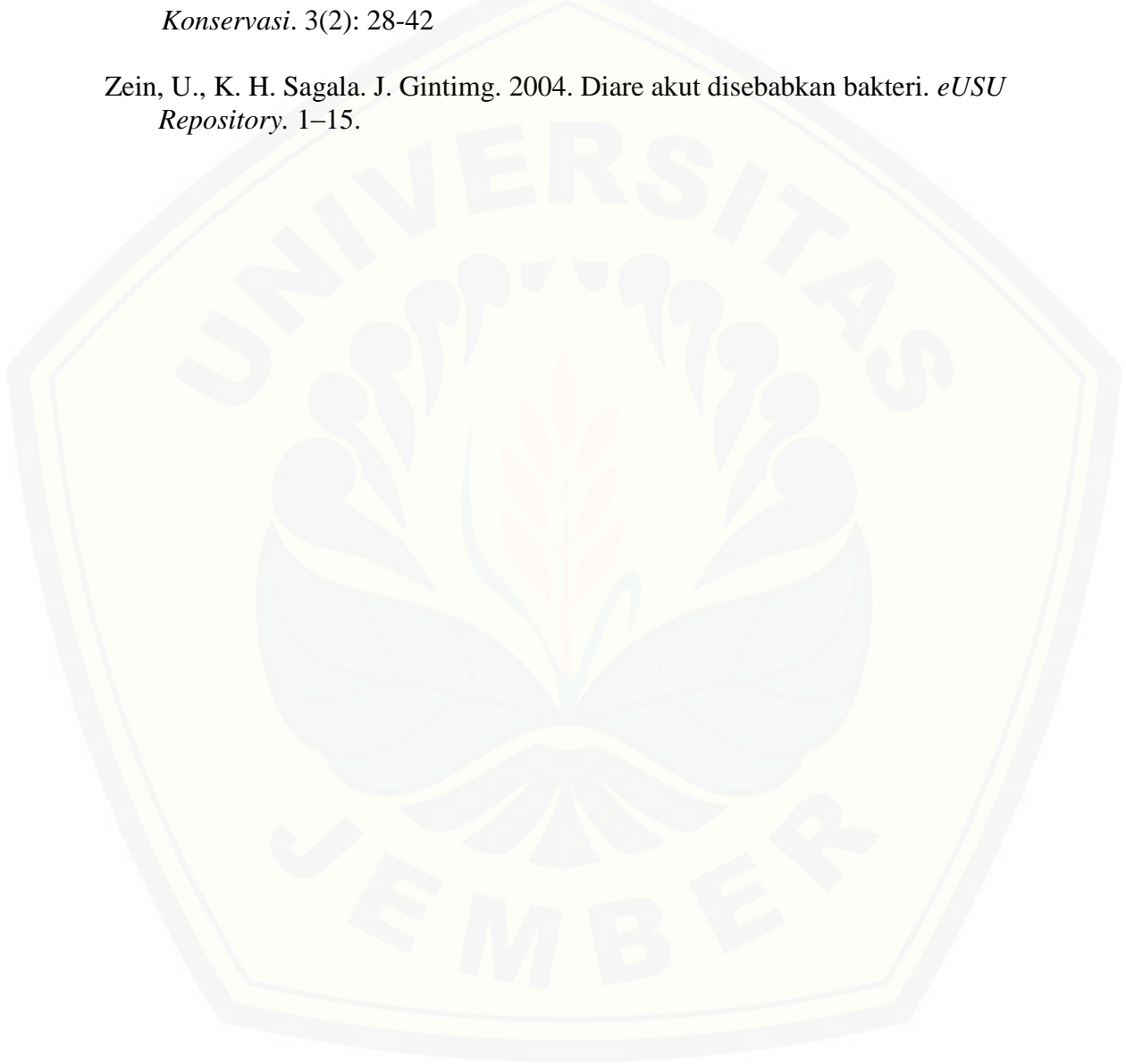
- Kementerian Kesehatan RI. 2016. *Profil Kesehatan Indonesia 2015*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Korompis, G. E. C., V. R. Danes, dan O. J. Sumampouw. 2010. Uji invitro aktivitas antibakteri dari *Lansium domesticum correa* (langsat). *Chem. Prog.* 3(1): 13–19.
- Kristanti, A. N., N. S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kuswandi, M., 2011, Strategi Mengatasi Bakteri yang Resisten terhadap Antibiotika. Makalah pidato pengukuhan jabatan guru besar. Yogyakarta: Pengukuhan jabatan guru besar pada Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Marliana, S. D., V. Suryanti, dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak etanolik. *Biofarmasi*, 3 (1). Pp. 26-31.
- Matsyoh, L. G., 2014. Antimicrobial Assay and Phytochemical Analysis of *Solanum Nigrum* Complex Growing in Kenya. *African Journal of Microbiology Research*. 8 (50)
- McMurry, J. and R.C. Fay. 2004. *McMurry Fay Chemistry. 4th edition*. Belmont, CA.: Pearson Education International.
- Morris, J. G., M. E. Potter, T. F. El-Arabi, dan M. W. Griffiths. 2013. *Bacillus cereus*. Food borne Infections and Intoxications. 401–407.
- Pelczar, M. J., dan E.C. S. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Prasetyo dkk., 2008. Aktivitas Sediaan Gel Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon dalam Proses Penyembuhan Luka pada Mencit. *Skripsi*. Bogor: Fakultas kedokteran hewan IPB.
- Purwoko, T. 2009. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara
- Puspitaningsih, A., I. Syafi, dan A. F. Sunartomo. 2014. Kajian sosial ekonomi budaya dan partisipasi masyarakat dalam konservasi sumber daya alam pada taman nasional meru betiri kabupaten banyuwangi. *Berkala Ilmiah Pertanian*. 1(1): 1–10.

- Qaromah, E. R. 2014. Uji aktivitas antibakteri dan antibiofilm minyak atsiri rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum val*) terhadap bakteri *staphylococcus epidermidis*. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Quave, C. L., Plano, L. R. W., Pantuso, T., and Bennett, B. C., 2008, Effects of Extracts from Italian Medicinal Plants on Planktonic Growth, Biofilm Formation and Adherence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, *Journal of Ethnopharmacology*. 118 (3): 418–428.
- Radji, M. 2011. Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB
- Santos, A.F., B.Q. Guevera, A.M. Mascardo, and C.Q. Estrada. 1978. Phytochemical, Microbiological and Pharmacological, Screening of Medical Plants. Manila: Research Center University of Santo Thomas.
- Setyani, W., H. Setyowati, dan D. Ayuningtyas. 2016. Pemanfaatan ekstrak terstandarisasi daun som jawa (*talinum paniculatum (jacq.) gaertn*) dalam sediaan krim antibakteri *staphylococcus aureus*. *Farmasi sains dan komunitas* 13(1): 45-51.
- Sosa, A. J., D. K. Byarugaba, C. F. Cuevas, P. Hsueh, S. Kariuki, dan I. N. Okeke. 2010. *Antimicrobial Resistance in Developing Countries*. New York: Springer Science.
- Stuart, G.U. 2016. Philippine Medical Plants. <http://www.stuartxchange.com/Baling-uai.html>. [Diakses pada tanggal 1 Januari 2017).
- Sujanapal, P. dan K. V. Sankaran. 2016. *Common Plants of the Maldives*. Bangkok: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Svehla, G. 1990. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*. Edisi kelima. Jakarta: PT Kalman Media Pusaka.
- Vanderperren, H., V.N. Wouwe, S. behets, I Windal, V.I Overmeire, dan A. Fontaine. 2004. TEQ- value Determination of Animal Feed; Emphasis on the CALUX Bioassay Validation. *Talanta*. 63(2004): 1277-1280.
- Voight, R. 1994. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi V. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Press.

WHO. 2009. *Medicinal plants in papua new guinea*. Manila: WHO press.


Wibowo, T., P. Utama, dan E. Amzu. 1991. Potensi Dan Upaya Pelestarian Pemanfaatan Tumbuhan Obat Di Taman Nasional Meru Betiri. *Media Konservasi*. 3(2): 28-42

Zein, U., K. H. Sagala. J. Ginting. 2004. Diare akut disebabkan bakteri. *eUSU Repository*. 1–15.



LAMPIRAN

Lampiran 4.1 Hasil Determinasi Tanaman Wowo



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 4266046
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN
No: 0759/IPH.06/HM/V/2017

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:

Nama : Wahyu Agustina
NIM : 132210101025
Instansi : Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember.
Tanggal material diterima : 2 Juni 2017

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Division : Magnoliophyta
Class : Liliopsida
Subclass : Commelinidae
Ordo : Restionales
Family : Flagellariaceae
Genus : Flagellaria
Species : *Flagellaria indica* L.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1965. Flora of Java Vol. III. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 23
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVIII

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 10 Juni 2017
An. Kepala
Kec. Koleksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Deden Mudianna, S.Hut., M.Si.

Lampiran 4.2. Perhitungan Persen Rendemen Ekstrak Etanolik Daun Wowo

Berat Simplisia : 250 gram.

Jumlah Pelarut : 2 Liter.

Berat Ekstrak kental : 13,29 gram

$$\begin{aligned} \text{Persen rendemen} &= \frac{\text{Ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{13,29}{250} \times 100\% \\ &= 5,32\% \end{aligned}$$

Lampiran 4.3 Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Etanolik Daun Wowo

Penimbangan ekstrak : 0,025 g = 25 mg

$$\frac{25 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} \times 1000 = 25 \times 10^3 \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran ekstrak

a. Konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$

$$\begin{aligned} 25 \times 10^3 \mu\text{g/ml} \times \text{Volume yang dibutuhkan} &= 1000 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml} \\ \text{Volume yang dibutuhkan} &= 0,16 \text{ ml ad } 4 \text{ ml} \end{aligned}$$

b. Konsentrasi 500 $\mu\text{g/ml}$

$$\begin{aligned} 1000 \mu\text{g/ml} \times \text{Volume yang dibutuhkan} &= 500 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml} \\ \text{Volume yang dibutuhkan} &= 2 \text{ ml ad } 4 \text{ ml} \end{aligned}$$

c. Konsentrasi 250 $\mu\text{g/ml}$

$$\begin{aligned} 500 \mu\text{g/ml} \times \text{Volume yang dibutuhkan} &= 250 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml} \\ \text{Volume yang dibutuhkan} &= 2 \text{ ml ad } 4 \text{ ml} \end{aligned}$$

d. Konsentrasi 125 $\mu\text{g/ml}$

$$\begin{aligned} 250 \mu\text{g/ml} \times \text{Volume yang dibutuhkan} &= 125 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml} \\ \text{Volume yang dibutuhkan} &= 2 \text{ ml ad } 4 \text{ ml} \end{aligned}$$

e. Konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/ml}$

$$125 \mu\text{g/ml} \times \text{Volume yang dibutuhkan} = 62,5 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml}$$

Volume yang dibutuhkan = 2 ml ad 4 ml

f. Konsentrasi 31,25 µg/ml

$$62,5 \mu\text{g/ml} \times \text{Volume yang dibutuhkan} = 31,25 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml}$$

Volume yang dibutuhkan = 2 ml ad 4 ml

g. Konsentrasi 15,625 µg/ml

$$31,25 \mu\text{g/ml} \times \text{Volume yang dibutuhkan} = 15,625 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml}$$

Volume yang dibutuhkan = 2 ml ad 4 ml

Lampiran 4.4 Perhitungan Konsentrasi Gentamisin

$$\frac{40\text{mg}}{\text{ml}} \times 1000 = 4 \times 10^4 \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran gentamisin

a. Konsentrasi 200 µg/ml

$$4 \times 10^4 \mu\text{g/ml} \times \text{Volume yang dibutuhkan} = 200 \mu\text{g/ml} \times 2 \text{ ml}$$

Volume yang dibutuhkan = 0,01 ml ad 2 ml

b. Konsentrasi 16 µg/ml

$$200 \mu\text{g/ml} \times \text{Volume yang dibutuhkan} = 16 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml}$$

Volume yang dibutuhkan = 0,32 ml ad 4 ml

c. Konsentrasi 8 µg/ml

$$16 \mu\text{g/ml} \times \text{Volume yang dibutuhkan} = 8 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml}$$

Volume yang dibutuhkan = 2 ml ad 4 ml

d. Konsentrasi 4 µg/ml

$$8 \mu\text{g/ml} \times \text{Volume yang dibutuhkan} = 4 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml}$$

Volume yang dibutuhkan = 2 ml ad 4 ml

e. Konsentrasi 2 µg/ml

$$4 \mu\text{g/ml} \times \text{Volume yang dibutuhkan} = 2 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml}$$

Volume yang dibutuhkan = 2 ml ad 4 ml

f. Konsentrasi 1 µg/ml

$$2 \mu\text{g/ml} \times \text{Volume yang dibutuhkan} = 1 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml}$$

$$\text{Volume yang dibutuhkan} = 2 \text{ ml ad } 4 \text{ ml}$$

Lampiran 4.5 Hasil Absorbansi dan Perhitungan % penghambatan Pertumbuhan Bakteri pada Uji Mikrodilusi Ekstrak Etanolik Daun Wowo

konsentrasi	Ekstrak			kontrol	Ekstrak- kontrol ekstrak			persen penghambatan		
	R1	R2	R3		R1	R2	R3	R1	R2	R3
500	1,571	1,564	1,571	1,515	0,056	0,049	0,056	88,50889	89,94528	88,50889
250	1,387	1,39	1,384	1,319	0,068	0,071	0,065	86,04651	85,43092	86,66211
125	1,278	1,261	1,278	1,159	0,119	0,102	0,119	75,5814	79,06977	75,5814
62.5	1,214	1,218	1,198	1,001	0,213	0,217	0,197	56,29275	55,47196	59,57592
31.25	1,186	1,181	1,162	0,958	0,228	0,223	0,204	53,21477	54,24077	58,13953
15.625	1,152	1,154	1,15	0,783	0,369	0,371	0,367	24,28181	23,87141	24,6922
7.8125	1,112	1,139	1,12	0,72	0,392	0,419	0,4	19,56224	14,02189	17,92066

Lampiran 4.6 Hasil Analisis Probit IC50 Ekstrak Etanolik Daun Wowo.

Confidence Limits

Proba bility	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.528	.021	2.782	-.277	-1.679	.444
0.02	.876	.044	4.087	-.057	-1.355	.611
0.03	1.208	.071	5.218	.082	-1.149	.717
0.04	1.538	.101	6.272	.187	-.994	.797
0.05	1.871	.135	7.285	.272	-.869	.862
0.06	2.212	.173	8.276	.345	-.762	.918
0.07	2.561	.215	9.256	.408	-.668	.966
0.08	2.921	.261	10.232	.465	-.584	1.010
0.09	3.291	.311	11.209	.517	-.508	1.050

0.1	3.673	.365	12.192	.565	-.437	1.086
0.15	5.790	.713	17.275	.763	-.147	1.237
0.2	8.312	1.213	22.806	.920	.084	1.358
0.25	11.336	1.911	28.965	1.054	.281	1.462
0.3	14.978	2.873	35.926	1.175	.458	1.555
0.35	19.389	4.189	43.897	1.288	.622	1.642
0.4	24.772	5.985	53.134	1.394	.777	1.725
0.45	31.397	8.445	63.980	1.497	.927	1.806
0.5	39.646	11.836	76.906	1.598	1.073	1.886
0.55	50.061	16.565	92.581	1.700	1.219	1.967
0.6	63.451	23.263	112.006	1.802	1.367	2.049
0.65	81.065	32.954	136.752	1.909	1.518	2.136
0.7	104.943	47.369	169.463	2.021	1.675	2.229
0.75	138.660	69.615	215.008	2.142	1.843	2.332
0.8	189.098	105.634	283.570	2.277	2.024	2.453
0.85	271.481	167.806	400.740	2.434	2.225	2.603
0.9	427.904	285.522	651.528	2.631	2.456	2.814
0.91	477.611	321.478	739.869	2.679	2.507	2.869
0.92	538.176	364.148	853.057	2.731	2.561	2.931
0.93	613.672	415.650	1002.356	2.788	2.619	3.001
0.94	710.575	479.269	1206.594	2.852	2.681	3.082
0.95	839.904	560.462	1499.657	2.924	2.749	3.176
0.96	1022.229	669.129	1949.054	3.010	2.826	3.290
0.97	1301.479	825.669	2710.737	3.114	2.917	3.433
0.98	1794.190	1081.634	4242.468	3.254	3.034	3.628
0.99	2975.976	1632.542	8715.235	3.474	3.213	3.940

a. Logarithm base = 10.

- Replikasi 2

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.791	.111	2.627	-.102	-.953	.419
0.02	1.257	.205	3.822	.099	-.688	.582
0.03	1.686	.302	4.849	.227	-.520	.686
0.04	2.103	.405	5.801	.323	-.393	.763
0.05	2.517	.513	6.712	.401	-.290	.827
0.06	2.933	.627	7.601	.467	-.203	.881
0.07	3.355	.748	8.477	.526	-.126	.928
0.08	3.783	.877	9.348	.578	-.057	.971
0.09	4.220	1.012	10.217	.625	.005	1.009
0.1	4.666	1.155	11.090	.669	.063	1.045
0.15	7.076	1.996	15.580	.850	.300	1.193
0.2	9.853	3.079	20.432	.994	.488	1.310
0.25	13.088	4.463	25.806	1.117	.650	1.412
0.3	16.889	6.223	31.852	1.228	.794	1.503
0.35	21.390	8.461	38.748	1.330	.927	1.588
0.4	26.767	11.314	46.713	1.428	1.054	1.669
0.45	33.251	14.968	56.037	1.522	1.175	1.748
0.5	41.164	19.689	67.119	1.615	1.294	1.827
0.55	50.961	25.856	80.528	1.707	1.413	1.906
0.6	63.306	34.031	97.107	1.801	1.532	1.987
0.65	79.217	45.074	118.182	1.899	1.654	2.073
0.7	100.331	60.362	145.960	2.001	1.781	2.164
0.75	129.471	82.215	184.442	2.112	1.915	2.266

0.8	171.983	114.840	241.717	2.235	2.060	2.383
0.85	239.454	166.736	336.863	2.379	2.222	2.527
0.9	363.142	258.744	526.905	2.560	2.413	2.722
0.91	401.567	286.285	589.958	2.604	2.457	2.771
0.92	447.932	318.889	668.394	2.651	2.504	2.825
0.93	505.116	358.223	768.475	2.703	2.554	2.886
0.94	577.652	406.869	900.374	2.762	2.609	2.954
0.95	673.177	469.086	1081.818	2.828	2.671	3.034
0.96	805.777	552.552	1346.833	2.906	2.742	3.129
0.97	1005.104	672.976	1770.545	3.002	2.828	3.248
0.98	1348.408	869.832	2561.010	3.130	2.939	3.408
0.99	2142.649	1291.796	4623.269	3.331	3.111	3.665

a. Logarithm base = 10.

- Replikasi 3

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a 0.01	.520	.000	6.914	-.284	-4.912	.840
0.02	.858	.000	9.499	-.067	-4.345	.978
0.03	1.179	.000	11.628	.071	-3.986	1.065
0.04	1.497	.000	13.545	.175	-3.716	1.132
0.05	1.818	.000	15.339	.260	-3.496	1.186
0.06	2.146	.000	17.057	.332	-3.310	1.232
0.07	2.481	.001	18.725	.395	-3.146	1.272
0.08	2.825	.001	20.359	.451	-3.000	1.309
0.09	3.180	.001	21.973	.502	-2.867	1.342

0.1	3.546	.002	23.574	.550	-2.744	1.372
0.15	5.564	.006	31.598	.745	-2.238	1.500
0.2	7.959	.015	39.973	.901	-1.836	1.602
0.25	10.822	.032	49.010	1.034	-1.493	1.690
0.3	14.260	.065	58.979	1.154	-1.185	1.771
0.35	18.413	.125	70.175	1.265	-.901	1.846
0.4	23.468	.233	82.962	1.370	-.633	1.919
0.45	29.676	.422	97.827	1.472	-.375	1.990
0.5	37.387	.756	115.453	1.573	-.122	2.062
0.55	47.101	1.347	136.852	1.673	.129	2.136
0.6	59.561	2.408	163.604	1.775	.382	2.214
0.65	75.912	4.357	198.356	1.880	.639	2.297
0.7	98.024	8.040	245.934	1.991	.905	2.391
0.75	129.165	15.276	316.212	2.111	1.184	2.500
0.8	175.615	30.173	432.864	2.245	1.480	2.636
0.85	251.232	62.398	667.310	2.400	1.795	2.824
0.9	394.226	135.086	1325.657	2.596	2.131	3.122
0.91	439.548	158.549	1606.559	2.643	2.200	3.206
0.92	494.707	186.589	2001.747	2.694	2.271	3.301
0.93	563.380	220.419	2581.258	2.751	2.343	3.412
0.94	651.405	261.864	3476.541	2.814	2.418	3.541
0.95	768.704	313.890	4957.592	2.886	2.497	3.695
0.96	933.775	381.788	7651.828	2.970	2.582	3.884
0.97	1186.051	476.258	13305.396	3.074	2.678	4.124
0.98	1629.929	623.666	28441.096	3.212	2.795	4.454
0.99	2690.151	920.074	97644.587	3.430	2.964	4.990

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Lampiran 4.7 Hasil Absorbansi dan % Penghambatan Pertumbuhan Bakteri pada Uji Mikrodilusi Gentamisin

Konsentrasi	Kontrol positif			Kontrol Genta	Kontrol positif- Kontrol genta			Persen Penghambatan		
	R1	R2	R3		R1	R2	R3	R1	R2	R3
8	0,511	0,49	0,535	0,428	0,083	0,062	0,107	82,96854	87,2777	78,04378
4	0,686	0,68	0,743	0,519	0,167	0,161	0,224	65,73187	66,96306	54,03557
2	1,072	1,08	1,087	0,799	0,273	0,279	0,288	43,98085	42,74966	40,90287
1	1,136	1,12	1,115	0,755	0,381	0,36	0,36	21,81943	26,12859	26,12859
0.5	1,143	1,16	1,145	0,725	0,418	0,433	0,42	14,22709	11,14911	13,81669

Lampiran 4.8 Hasil Analisis Probit IC₅₀ Gentamisin terhadap *Bacillus cereus*

- Replikasi 1

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.220	.036	.527	-.658	-1.446	-.278
0.02	.297	.057	.660	-.527	-1.244	-.181
0.03	.360	.077	.761	-.444	-1.115	-.119
0.04	.415	.096	.847	-.382	-1.019	-.072
0.05	.467	.115	.925	-.331	-.941	-.034
0.06	.516	.134	.996	-.288	-.874	-.002
0.07	.563	.153	1.064	-.250	-.816	.027
0.08	.609	.172	1.128	-.216	-.764	.052
0.09	.653	.192	1.190	-.185	-.716	.076

0.1	.698	.213	1.250	-.156	-.673	.097
0.15	.915	.322	1.535	-.039	-.492	.186
0.2	1.135	.448	1.808	.055	-.349	.257
0.25	1.365	.593	2.083	.135	-.227	.319
0.3	1.611	.762	2.369	.207	-.118	.375
0.35	1.879	.961	2.672	.274	-.017	.427
0.4	2.174	1.195	3.001	.337	.077	.477
0.45	2.503	1.473	3.365	.398	.168	.527
0.5	2.876	1.803	3.776	.459	.256	.577
0.55	3.305	2.200	4.255	.519	.342	.629
0.6	3.806	2.676	4.832	.580	.428	.684
0.65	4.403	3.251	5.556	.644	.512	.745
0.7	5.135	3.941	6.517	.711	.596	.814
0.75	6.062	4.769	7.873	.783	.678	.896
0.8	7.292	5.778	9.920	.863	.762	.997
0.85	9.044	7.069	13.276	.956	.849	1.123
0.9	11.858	8.921	19.564	1.074	.950	1.291
0.91	12.660	9.416	21.533	1.102	.974	1.333
0.92	13.592	9.977	23.914	1.133	.999	1.379
0.93	14.698	10.626	26.857	1.167	1.026	1.429
0.94	16.038	11.391	30.596	1.205	1.057	1.486
0.95	17.718	12.322	35.527	1.248	1.091	1.551
0.96	19.916	13.502	42.383	1.299	1.130	1.627
0.97	22.997	15.093	52.703	1.362	1.179	1.722
0.98	27.841	17.478	70.505	1.445	1.242	1.848
0.99	37.631	21.979	111.779	1.576	1.342	2.048

a. Logarithm base = 10.

- Replikasi 2

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	.204	.033	.492	-.691	-1.478	-.308
0.02	.274	.052	.614	-.562	-1.281	-.212
0.03	.330	.070	.706	-.481	-1.156	-.151
0.04	.380	.087	.785	-.420	-1.062	-.105
0.05	.427	.103	.855	-.370	-.986	-.068
0.06	.471	.120	.920	-.327	-.921	-.036
0.07	.513	.137	.982	-.290	-.864	-.008
0.08	.553	.154	1.040	-.257	-.813	.017
0.09	.593	.171	1.096	-.227	-.767	.040
0.1	.633	.189	1.150	-.199	-.724	.061
0.15	.825	.283	1.406	-.083	-.548	.148
0.2	1.020	.390	1.651	.008	-.409	.218
0.25	1.222	.514	1.897	.087	-.289	.278
0.3	1.438	.657	2.151	.158	-.183	.333
0.35	1.672	.824	2.419	.223	-.084	.384
0.4	1.929	1.020	2.707	.285	.009	.432
0.45	2.216	1.253	3.023	.346	.098	.480
0.5	2.539	1.531	3.377	.405	.185	.529
0.55	2.910	1.865	3.784	.464	.271	.578
0.6	3.342	2.269	4.264	.524	.356	.630
0.65	3.856	2.763	4.854	.586	.441	.686
0.7	4.483	3.369	5.617	.652	.527	.749

0.75	5.276	4.113	6.669	.722	.614	.824
0.8	6.324	5.035	8.239	.801	.702	.916
0.85	7.811	6.214	10.809	.893	.793	1.034
0.9	10.189	7.882	15.628	1.008	.897	1.194
0.91	10.865	8.324	17.134	1.036	.920	1.234
0.92	11.649	8.823	18.953	1.066	.946	1.278
0.93	12.578	9.398	21.196	1.100	.973	1.326
0.94	13.702	10.075	24.039	1.137	1.003	1.381
0.95	15.108	10.895	27.778	1.179	1.037	1.444
0.96	16.945	11.932	32.957	1.229	1.077	1.518
0.97	19.512	13.326	40.717	1.290	1.125	1.610
0.98	23.536	15.409	54.018	1.372	1.188	1.733
0.99	31.630	19.324	84.558	1.500	1.286	1.927

a. Logarithm base = 10.

- Replikasi 3

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	0.01	.102	.004	.390	-.991	-2.442	-.408
	0.02	.151	.007	.515	-.821	-2.144	-.288
	0.03	.194	.011	.614	-.713	-1.954	-.212
	0.04	.234	.015	.701	-.631	-1.812	-.154
	0.05	.272	.020	.780	-.565	-1.696	-.108
	0.06	.310	.025	.856	-.509	-1.597	-.068
	0.07	.347	.031	.927	-.460	-1.511	-.033
	0.08	.384	.037	.997	-.415	-1.434	-.001
	0.09	.421	.043	1.065	-.375	-1.364	.027

0.1	.459	.050	1.131	-.338	-1.299	.054
0.15	.653	.093	1.455	-.185	-1.032	.163
0.2	.864	.151	1.780	-.063	-.820	.250
0.25	1.099	.230	2.118	.041	-.639	.326
0.3	1.364	.334	2.479	.135	-.477	.394
0.35	1.666	.471	2.873	.222	-.327	.458
0.4	2.015	.652	3.310	.304	-.186	.520
0.45	2.421	.891	3.804	.384	-.050	.580
0.5	2.901	1.208	4.376	.462	.082	.641
0.55	3.475	1.631	5.057	.541	.212	.704
0.6	4.176	2.198	5.896	.621	.342	.771
0.65	5.050	2.959	6.983	.703	.471	.844
0.7	6.168	3.979	8.496	.790	.600	.929
0.75	7.655	5.319	10.806	.884	.726	1.034
0.8	9.736	7.045	14.738	.988	.848	1.168
0.85	12.886	9.303	22.231	1.110	.969	1.347
0.9	18.334	12.601	39.061	1.263	1.100	1.592
0.91	19.964	13.498	44.961	1.300	1.130	1.653
0.92	21.900	14.525	52.454	1.340	1.162	1.720
0.93	24.246	15.725	62.225	1.385	1.197	1.794
0.94	27.164	17.159	75.403	1.434	1.234	1.877
0.95	30.922	18.930	94.000	1.490	1.277	1.973
0.96	36.008	21.214	121.968	1.556	1.327	2.086
0.97	43.421	24.362	168.277	1.638	1.387	2.226
0.98	55.690	29.222	258.669	1.746	1.466	2.413
0.99	82.434	38.796	511.042	1.916	1.589	2.708

a. Logarithm base = 10.