



**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
TUMBUHAN JELUTONG PIPIT (*Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don)
TERHADAP *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:

Ita Husnul Chotimah

NIM 152210101045

**BAGIAN KIMIA
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2019



**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
TUMBUHAN JELUTONG PIPIT (*Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don)
TERHADAP *Escherichia coli***

SKRIPSI

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

Oleh:

Ita Husnul Chotimah

NIM 152210101045

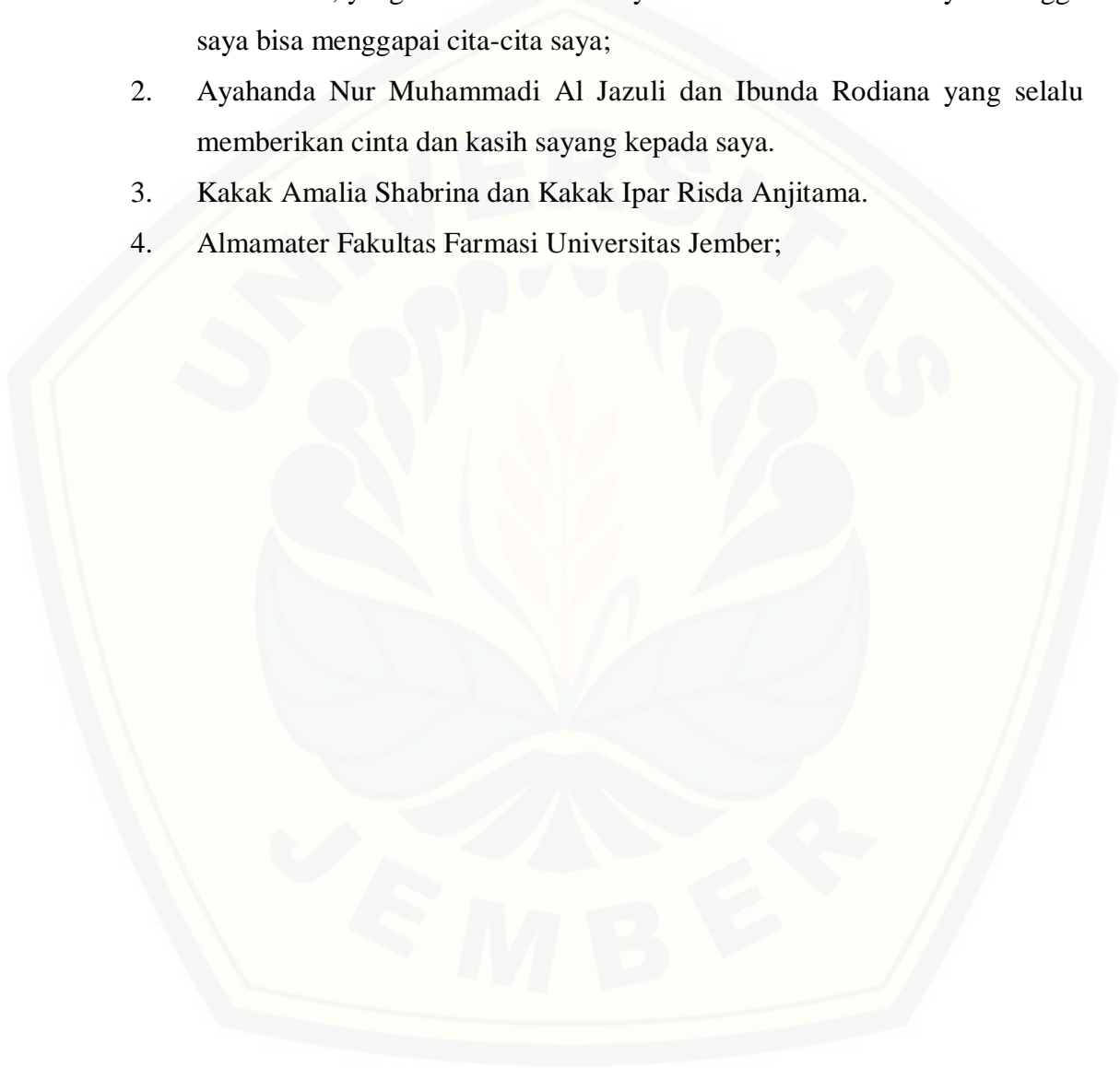
**BAGIAN KIMIA
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2019

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, yang telah memberi banyak nikmat dan karunia-Nya sehingga saya bisa menggapai cita-cita saya;
2. Ayahanda Nur Muhammadi Al Jazuli dan Ibunda Rodiana yang selalu memberikan cinta dan kasih sayang kepada saya.
3. Kakak Amalia Shabrina dan Kakak Ipar Risda Anjitama.
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember;



MOTO

Extraordinary things only happen to extraordinary people.... Maybe it's a sign that you've got an extraordinary destiny — something greater than you could've imagined .^{)}*



* C.S Lewis. 2009. *The Chronicle of Narnia: The Voyage of The Dawn Treader*. United Kingdom: HarperCollins

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Ita Husnul Chotimah

NIM : 152210101045

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Skrining fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Tumbuhan Jelutong Pipit (*Kibatalia arborea* (Bl.) G.Don) terhadap *Escherichia coli*" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenarannya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 10 Juli 2019

Yang menyatakan,

Ita Husnul Chotimah

NIM. 152210101045

SKRIPSI

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS
ANTIBAKTERI TUMBUHAN JELUTONG PIPIT (*Kibatalia arborea*
(Bl.) G. Don) TERHADAP *Escherichia coli***

Oleh:

Ita Husnul Chotimah

NIM 152210101045

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Ari.S.N,S.F.,G.Dip.,Sc-res.,Ph.D., Apt

Dosen Pembimbing Anggota : Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Skrining fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Tumbuhan Jelutong Pipit (*Kibatalia arborea* (Bl.) G.Don) terhadap *Escherichia coli*” karya Ita Husnul Chotimah telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 10 Juli 2019

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Ari.S.N,S.F.,G.Dip.,Sc-res.,Ph.D., Apt
NIP. 197807212003121001

Bawon Triatmoko,S.Farm.,M.Sc., Apt
NIP. 198201292009121003

Tim Penguji

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

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

Indah Yulia N,S.Farm.,M.Farm.,Apt
NIP. 198403082008122002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Skrining fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Tumbuhan Jelutong Pipit (*Kibatalia arborea* (Bl.) G.Don) terhadap *Escherichia coli*; Ita Husnul Chotimah, 152210101045; 2019; 89 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Infeksi menjadi masalah kesehatan yang serius terutama di negara berkembang seperti di Indonesia. Hal ini berkaitan dengan tingkat mortalitas yang tinggi, penyebaran yang cepat dan tidak terduga, dan dapat menimbulkan dampak yang bersifat global. Selain itu, penggunaan antibiotik secara tidak rasional menyebabkan peningkatan jumlah kasus infeksi yang bersifat resisten. Penelitian terhadap agen antibakteri Gram-negatif lebih menjadi sorotan karena sifat dinding selnya yang kurang permeabel sehingga tidak banyak senyawa antibiotik yang mampu menembus lapisan dinding sel bakteri Gram-negatif. Salah satu bakteri Gram-negatif adalah *Escherichia coli* yang mudah menular melalui makanan dan kontak langsung. *Escherichia coli* dapat menyebabkan infeksi enterik dan infeksi ekstraintestinal seperti infeksi saluran kemih dan meningitis.

Sejumlah agen antibakteri baru yang berasal dari metabolit sekunder tumbuhan telah banyak diteliti. *Kibatalia arborea* (Bl.) G.Don yang berasal dari famili Apocynaceae merupakan salah satu tumbuhan yang diduga memiliki aktivitas antibakteri. Hal ini karena Apocynaceae merupakan famili yang sangat dikenal sebagai sumber penghasil banyak senyawa dengan aktivitas farmakologis yang luas salah satunya sebagai antibakteri. Berdasarkan hal tersebut, penelitian terhadap aktivitas antibakteri *Kibatalia arborea* (Bl.) G.Don dilakukan sebagai bentuk eksplorasi agen antibakteri baru.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan residu daun *Kibatalia arborea* (Bl.) G.Don. Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri adalah mikrodikusi berdasarkan protokol standar CLSI M07-A9 dengan hasil uji

berupa nilai *Inhibitory Concentration* 50 (IC₅₀). Kelompok uji terdiri dari kontrol positif (gentamisin), kontrol negatif (DMSO 1%), dan kelompok perlakuan (ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, dan fraksi etil asetat daun *Kibatalia arborea* (Bl.) G.Don). Skrining fitokimia terhadap terpenoid, alkaloid, polifenol dan flavonoid dilakukan untuk memperkirakan golongan senyawa yang berperan terhadap aktivitas antibakteri.

Hasil uji kontrol positif didapatkan nilai MIC sebesar 0,5 ppm dengan persen penghambatan sebesar 83,919 % dan CV 1,333%. Hal ini sesuai dengan syarat yang tercantum dalam protokol CLSI M100 dimana MIC gentamisin terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah 0,25-1 ppm. DMSO 1% dapat dinyatakan tidak memiliki penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri karena hasil uji kontrol negatif sebesar -17,732% dengan CV -15,970% sehingga DMSO 1% dapat digunakan sebagai pelarut untuk ekstrak dan fraksi. Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun *Kibatalia arborea* (Bl.) G.Don menunjukkan bahwa fraksi etil asetat (516,458 µg/ml ± 12,073 µg/ml) memiliki aktivitas yang paling besar, diikuti ekstrak (590,665 µg/ml ± 24,157 µg/ml) dan kelompok yang tidak berbeda signifikan yaitu fraksi heksana (880,667 µg/ml ± 22,587 µg/ml) dan fraksi diklorometana (848,616 µg/ml ± 37,029 µg/ml).

Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol daun *Kibatalia arborea* (Bl.) G.Don menunjukkan bahwa ekstrak mengandung senyawa flavonoid, polifenol, terpenoid dan alkaloid. Skrining juga dilakukan terhadap fraksi untuk mengetahui persebaran golongan senyawa di setiap fraksi. Berdasarkan hasil skrining fitokimia fraksi heksana mengandung alkaloid dan terpenoid; fraksi diklorometana mengandung alkaloid, terpenoid dan polifenol; fraksi etil asetat mengandung terpenoid, polifenol dan flavonoid. Sedangkan residu tidak mengandung golongan senyawa flavonoid, polifenol, terpenoid dan alkaloid.

PRAKATA

Alhamdulillah rabbil'alamin atas segala nikmat, rahmat, dan karunia yang telah diberikan oleh Allah SWT sehingga dengan izin-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Tumbuhan Jelutong Pipit (*Kibatalia arborea* (Bl) G.Don) terhadap *Escherichia coli*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) guna mendapatkan gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini tidak akan terselesaikan dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua, Ayahanda Nur Muhammadi Al Jazuli dan Ibunda Rodiana atas cinta, kasih sayang, semangat, motivasi, dan doa yang selalu dipanjatkan di sepertiga malam.
2. Saudara-saudara Kakak Amalia Shabrina dan Kakak Risda Anjitama yang selalu memberikan semangat dan dukungan.
3. Bapak Ari Satia Nugraha, S.F., G-dip., Sc-res., Ph.D., Apt dan Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt yang memberikan semangat, masukan, bimbingan dan motivasi dalam menempuh tugas akhir.
4. Partner *Worm Project* Resta, Nimas, dan Ifan atas drama hidup, kebersamaan, perjuangan dan kerja samanya.
5. Rekan skripsi di Laboratorium DUDRG (Tinton, Juju, Nita, Lanjar, Gayuh, Fawwas, Retno) yang selalu berbagi cerita dan tawa.
6. Rekan skripsi di Laboratorium Farmasi (Mbak Nuri, Arini, Ulfa, Daniel dan Bayu) yang selalu berbagi informasi dan semangat.
7. Sahabat Together With Us (Dinda, Zidni, dan Livia) atas masa-masa yang penuh dengan keceriaan, kebahagiaan, dan tawa.
8. Sahabat Partner Seumur Hidup (Vinach dan Mei) atas kerja samanya selama praktikum.

9. Saudara-saudara sepupuku (Mbak Ifa, Mbak Eli, dan Fenti) atas semangat dan dukungannya.
10. Teman-teman masa kecil (Ica, Rosa, Yanti dan Bila).
11. Setiap nama yang tidak tertulis satu persatu dan seluruh doa yang terucap tanpa sepengetahuan penulis.

Semoga segala kebaikan yang telah diberikan mendapat balasan dari Allah SWT. Penulis mengharap kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan dalam penulisan skripsi sehingga dapat memberikan manfaat baik bagi perkembangan ilmu dan penelitian selanjutnya.

Jember, 10 Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN.....	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR RUMUS	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Penyakit Infeksi.....	4
2.2 <i>Kibatalia arborea</i> (Bl.) G. Don	6
2.3 Ekstraksi dan Fraksinasi	8
2.4 Uji Aktivitas Antibakteri	9
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	10
3.1 Jenis Penelitian.....	10
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	10
3.3 Variabel Penelitian	10
3.4 Definisi Operasional.....	11
3.5 Rancangan Penelitian	11
3.6 Alat dan Bahan.....	13
3.7 Prosedur Penelitian.....	13

3.8	Analisis Data.....	20
3.9	Skema Penelitian.....	21
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....		22
4.1	Ekstraksi dan Fraksinasi	22
4.2	Skrining Fitokimia	23
4.3	Uji Aktivitas Antibakteri	29
BAB 5. PENUTUP		33
5.1	Kesimpulan	33
5.2	Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA.....		34
LAMPIRAN		39

DAFTAR TABEL

2.1. Penelitian tentang aktivitas antimikrobal famili Apocynaceae	7
4.1. Berat dan persen rendemen masing-masing fraksi	23
4.2. Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol daun <i>Kibatalia arborea</i> (Bl.) G.Don.....	24
4.3. Hasil skrining fitokimia fraksi <i>Kibatalia arborea</i> (Bl.)G.Don	24
4.4. Persen penghambatan gentamisin terhadap <i>Escherichia coli</i>	29
4.5. Persen penghambatan DMSO terhadap <i>Escherichia coli</i>	30
4.6. Nilai IC ₅₀ ekstrak dan fraksi <i>Kibatalia arborea</i> (Bl.) G.Don terhadap <i>Escherichia coli</i>	30

DAFTAR GAMBAR

2.1. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	5
3.1. Skema rancangan penelitian uji antibakteri metode mikrodilusi	12
3.2. Skema fraksinasi ekstrak <i>Kibatalia arborea</i> (Bl.) G. Don	14
3.3. Pemetaan mikrodilusi pada <i>microplate 96-well</i>	19
3.4. Skema penelitian secara keseluruhan	21
4.1. Filtrat dari proses ekstraksi daun <i>Kibatalia arborea</i> (Bl.) G.Don.....	22
4.2. Proses fraksinasi	23
4.3. Skrining fitokimia terpenoid	25
4.4. Skrining fitokimia alkaloid	26
4.5. Skrining fitokimia polifenol.....	27
4.6. Skrining fitokimia flavonoid	28

DAFTAR RUMUS

3.1. Persen penghambatan..... 20



DAFTAR LAMPIRAN

4.1. Data Rendemen Ekstrak dan Fraksi <i>Kibatalia arborea</i> (Bl) G.Don	39
4.2. Perhitungan Pembuatan Media CAMHB.....	42
4.3. Perhitungan Konsentrasi Ekstra dan Fraksi <i>Kibatalia arborea</i> (Bl) G.Don	43
4.4. Perhitungan Konsentrasi Gentamisin.....	44
4.5. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak dan Fraksi <i>Kibatalia arborea</i> (Bl) G.Don...	45
4.6. Persentase Penghambatan DMSO 1%	48
4.7. Persentase Penghambatan Gentamisin.....	48
4.8. Perhitungan Uji Antibakteri	51
4.9. Hasil Analisis Probit (IC_{50}) Antibakteri <i>Kibatalia arborea</i> (Bl) G.Don	59
4.10. Hasil Analisis Statistika	71

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi menjadi masalah kesehatan yang serius terutama di negara berkembang. Permasalahan infeksi berkaitan dengan tingkat mortalitas yang tinggi, penyebaran yang cepat dan tidak terduga, dan dapat menimbulkan dampak yang bersifat global (WHO EMRO, 2019). WHO (2018) melaporkan tiga dari sepuluh penyebab kematian tertinggi di dunia tersebut disebabkan oleh infeksi pada tahun 2016. Infeksi saluran pernapasan bawah mencapai 3 juta kematian, diare mencapai 1,4 juta kematian, dan TBC mencapai 1,3 juta kematian.

Antibiotik hingga saat ini menjadi andalan dalam terapi penyakit infeksi. Akan tetapi, terapi antibiotik yang tidak tepat dan penggunaan yang berlebihan menjadi penyebab terjadinya resistensi (Hashemi dkk., 2013). Di Indonesia, sekitar 92% masyarakat menggunakan antibiotik secara tidak rasional (Utami, 2010). Berdasarkan laporan dari *The Centers for Disease Control and Prevention* (2018), beberapa bakteri yang menjadi ancaman serius akibat resistensi adalah *Multidrug-resistant Acinetobacter*, *Drug-resistant Campylobacter*, *Vancomycin-resistant Enterococcus* (VRE), *Multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa* (MRSA), *Drug-resistant non-typhoidal Salmonella*, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* dan *Drug-resistant Streptococcus Pneumoniae*. Hal tersebut menjadi alasan penting untuk penelitian dan pengembangan agen antibakteri baru.

Sejak 50 tahun terakhir, penelitian terhadap senyawa metabolit sekunder telah menghasilkan berbagai senyawa yang memiliki aktivitas obat. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan oleh tanaman yang berperan penting dalam mekanisme adaptasi sebagai antibiotik, antifungal dan antiviral untuk melindungi tanaman tersebut dari berbagai jenis patogen (*phytoalexin*) dan juga sebagai anti-germinatif untuk melindungi tanaman dari toksin tanaman lain (*allelopathy*) (Bourgaud dkk., 2017). Penelitian aktivitas antimikroba pada tanaman dilakukan terutama pada herbal dan rempah-rempah yang sejak dulu

telah digunakan sebagai pengawet makanan alami. Beberapa senyawa metabolit sekunder yang diketahui memiliki efek antimikroba diantaranya flavonoid (Cushnie dan Lamb, 2005), alkaloid (Cushnie dkk., 2014), dan terpen (Zengin dan Baysal, 2014).

Salah satu bahan alam yang diduga memiliki aktivitas antimikroba adalah *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don. Tumbuhan ini termasuk dalam keluarga Apocynaceae yang sangat dikenal sebagai sumber penghasil senyawa yang banyak digunakan pada terapi obat manusia (Dey dkk., 2017). Kandungan metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada famili ini adalah triterpenoid, iridoid, alkaloid dan kardenolid (Wei dkk., 2016). Akan tetapi hingga saat ini, penelitian yang menunjukkan aktivitas antibakteri dari *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don belum pernah dilakukan.

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli*. *E.coli* yang bersifat patogen umumnya menyebabkan infeksi enterik. Tetapi *E.coli* juga dapat menyebabkan infeksi ekstraintestinal seperti infeksi saluran kemih, meningitis dan sepsis. Infeksi yang disebabkan *E.coli* biasanya terjadi akibat mengonsumsi makanan dan minuman yang terkontaminasi atau melalui kontak langsung antar individu akibat higienitas yang buruk (Clements dkk., 2012). Kematian akibat diare yang disebabkan *E.coli* diperkirakan mencapai 51185 jiwa pada tahun 2016 (Khalil dkk., 2018). Hasil penelitian Gaschignard dkk (2011) juga menunjukkan bahwa *E.coli* bertanggung jawab terhadap 59% kasus meningitis pada neonatal.

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, penelitian ini ditujukan untuk mengetahui potensi *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* sebagai dasar penemuan obat berbasis bahan alam. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode mikrodilusi dimana hasil uji ditunjukkan melalui nilai IC₅₀. Skrining fitokimia juga dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang dimiliki oleh *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian tersebut maka permasalahan yang akan diungkap dalam penelitian ini adalah:

1. Apa saja golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan residu daun *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don?
2. Berapa IC_{50} ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat dan residu daun *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don terhadap *Escherichia coli*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini antara lain:

1. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan residu daun *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don.
2. Mengetahui nilai IC_{50} ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat dan residu daun *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don terhadap *Escherichia coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

Beberapa manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Eksplorasi tanaman di Indonesia yang memiliki aktivitas antibakteri.
2. Memberikan data ilmiah mengenai aktivitas antibakteri *Kibatalia arborea* (Bl.) G terhadap bakteri Gram-negatif
3. Dapat digunakan sebagai referensi untuk isolasi senyawa baru dalam penelitian dan pengembangan agen antibakteri yang baru.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Infeksi

2.1.1. Definisi Penyakit Infeksi

Penyakit infeksi didefinisikan sebagai penyakit yang disebabkan oleh patogen atau produk toksiknya yang ditransmisikan melalui manusia, hewan atau objek yang terkontaminasi. Patogen dapat berupa parasit (cacing dan protozoa), fungi, bakteri, virus atau prion (Seventer dan Health, 2017). Menurut data WHO (2016), penyakit infeksi menyumbang 10,1 % dari total kematian di seluruh dunia. Beberapa infeksi akibat bakteri Gram positif disebabkan oleh MRSA (*Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus*), VRE (*Vancomycin-Resistant Enterococci*) dan *Penicillin-Resistant Streptococcus pneumoniae* (Menichetti, 2005). Sedangkan infeksi yang disebabkan bakteri Gram-negatif contohnya *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria gonorrhoeae*, dan *Shigella dysenteriae* (Irving dkk., 2005). Bakteri Gram-negatif menjadi sorotan karena lebih berpotensi menyebabkan sepsis pada penderitanya dibandingkan bakteri Gram-positif (Alexandraki dan Palacio, 2010). Sensitivitas bakteri Gram-negatif terhadap disinfektan juga lebih rendah dibandingkan dengan bakteri Gram-positif (Greenwood dkk., 2012). Bakteri Gram-negatif juga memiliki membran yang kurang permeabel terhadap banyak senyawa. Hal ini karena komponen utama yang menyusun dinding sel dari bakteri Gram-negatif adalah lipopolisakarida dan fosfolipid. Lipopolisakarida pada membran bilayer akan memperlambat difusi pasif dari senyawa obat ke dalam bakteri (Zgurskaya dkk., 2016).

2.1.2. *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan salah satu Gram-negatif yang memiliki bentuk seperti batang. *E.coli* termasuk bakteri dari keluarga Enterobacteriaceae. Bakteri yang digolongkan ke dalam keluarga ini umumnya hidup dalam saluran

pencernaan. *E.coli* dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen sehingga *E.coli* digolongkan ke dalam bakteri fakultatif anaerob (Manning dan Babcock, 2010).

E.coli merupakan flora normal di dalam usus manusia. Tetapi beberapa strain *E.coli* mampu menyebabkan penyakit baik pada saluran pencernaan maupun di luar saluran pencernaan (Khalil dkk., 2018). Pada penelitian ini digunakan *Escherichia coli* ATCC 25922. Berikut adalah taksonomi dari *E.coli* menurut ITIS Global (2019) :

Kingdom : Bacteria
Filum : Proteobacteria
Kelas : Gammaproteobacteria
Orde : Enterobacteriales
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*



Gambar 2.1 Bakteri *Escherichia coli* (Manning dan Babcock, 2010)

2.2 *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don

2.2.1. Klasifikasi *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don

Klasifikasi *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don menurut *The Plant List* dan *Artos Database 2017* adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Gentianales
Famili	: Apocynaceae
Genus	: <i>Kibatalia</i>
Spesies	: <i>Kibatalia arborea</i> (Bl.) G. Don

2.2.2. Deskripsi

Kibatalia arborea (Bl.) G. Don atau Jelutong Pipit merupakan pohon yang dapat tumbuh hingga ketinggian 36 meter. Habitat tanaman ini di hutan hujan di wilayah Malaysia, Sumatra dan Jawa. Tumbuhan ini memiliki batang lurus dengan kulit kayu yang halus dan berwarna hitam keabu-abuan, sedangkan bagian dalam kulitnya berwarna putih atau jingga dengan struktur bergranular. Terdapat getah berwarna susu yang biasa digunakan untuk membuat karet. Batangnya tebal, pecah-pecah dan memiliki lentisel yang berdiameter 8 mm. Daunnya simpel, daccusate, dan tidak memiliki stipula. Tangkai daun memiliki panjang sekitar 1 cm. Bentuk daun ovate dan berukuran 20 x 10 cm. Buahnya berukuran sangat besar, berkayu, dengan panjang 80 cm. Sepasang folikel mengandung beberapa biji berbulu dengan panjang 15 cm (Wiar, 2006). Perbungaan memiliki panjang 8-10 cm, ganggang bunga (*peduncles*) memiliki panjang 2-5 mm dalam satu ganggang terdapat 1-2 bunga dan sepal berukuran 4- 7 x 2-3 cm (Soepadmo dkk., 2007). Bunga majemuk, berkelamin dua, posisi diketiak daun. Bunga memiliki kelopak bercangap, benang sari panjang $\pm 0,5$ cm, kepala sari dan putik bulat, mahkota lonjong permukaan rata berwarna putih kehijauan (Syamsuhidayat, 2000).

2.2.3. Kandungan senyawa *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don

Menurut hasil penelitian Zuhrotun (2017), *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don memiliki kandungan senyawa flavonoid, kuinon, terpenoid, polifenol, saponin, alkaloid dan terpenoid. *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don masuk dalam famili Apocynaceae. Anggota dari famili Apocynaceae dikenal karena sebagian besar memproduksi lateks. Metabolit sekunder yang paling dominan di dalam famili ini adalah triterpenoid, iridoid, alkaloid, dan kardenolid. Golongan senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas biologis dan farmakologis yang luas (Wei dkk., 2016). Beberapa penelitian tentang aktivitas antimikrobia keluarga Apocynaceae ditunjukkan oleh Tabel 2.1

Tabel 2.1 Penelitian tentang aktivitas antimikrobia famili Apocynaceae

Tanaman	Metabolit Sekunder	Keterangan	Sumber
<i>Secondatia floribunda</i> A. DC	<i>Galic acid</i> , <i>caffeic acid</i> , <i>cianidin</i> , <i>chlorogenic acid</i> , <i>cichonain</i> , <i>apigenin</i> , <i>cathecin</i> , <i>quercetin</i>	Ekstrak kulit batang bagian dalam menunjukkan MIC 512 µg/ml pada bakteri <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 4083) dan <i>Proteus vulgaris</i> (ATCC 13315); 128 µg/ml pada <i>S.aureus</i> (ATCC 12692) dan 64 µg/ml pada <i>E.coli</i> (ATCC 25922)	(Ribeiro dkk., 2017)
<i>Kopsia fruticosa</i>	<i>Kopsiafrutine A</i> , <i>Kopsiafrutine B</i> , <i>Kopsiafrutine C</i> , <i>Kopsiafrutine D</i> , <i>Kopsiafrutine E</i>	<i>Kopsiafrutine D</i> memiliki nilai MIC sebesar 1,23 mM terhadap <i>S.aureus</i> , <i>kopsiafrutin C</i> memiliki nilai MIC 0,97 mM terhadap <i>S.epidermidis</i> , <i>kopsifrutin D</i> memiliki nilai MIC sebesar 1,37 terhadap <i>K.pneumonia</i> dan nilai MIC 1,18 terhadap <i>P.aeruginosa</i>	(Long dkk., 2018)
<i>Alstonia macrophyll</i>	<i>Tricin-4'-O-β-L-arabinoside</i> , <i>vitexin</i> , <i>myricetin-3'-rhamnoside-3-O-galactoside</i>	<i>Tricin-4'-O-β-L-arabinoside</i> teruji aktif terhadap <i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i> , dan <i>S. aureus</i>	(Parveen dkk., 2010)

2.3 Ekstraksi dan Fraksinasi

2.3.1. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses yang dilakukan untuk menarik senyawa kimia dari material tanaman. Pemilihan metode ekstraksi harus memastikan bahwa senyawa aktif tidak hilang, berubah atau rusak (Tradit dkk., 2011). Terdapat beberapa faktor yang perlu dipertimbangkan untuk memilih metode ekstraksi yang sesuai yaitu skala, karakteristik senyawa yang akan di ekstrak (polaritas, pengaruh pH dan termostabilitas), solven yang akan digunakan, ukuran partikel dan kondisi simplisia (Houghton dan Raman, 2012; Belwal dkk., 2018). Hal-hal tersebut perlu diperhatikan untuk mendapatkan ekstrak yang berkualitas.

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling umum untuk material tanaman dalam jumlah kecil. Proses maserasi dilakukan dengan cara menambahkan solven ke dalam material tanaman dan didiamkan selama semalam (Sarker dkk., 2006). Ekstraksi dengan metode ini dilakukan pada suhu kamar selama 3-4 hari. Pelarut yang umum digunakan adalah metanol, etanol atau campuran alkohol dengan air dan volume yang dibutuhkan tergantung pada jumlah sampel (Tradit dkk., 2011). Metanol lebih toksik dibandingkan etanol tetapi mampu menarik senyawa lebih banyak seperti antosianin, terpenoid, saponin, tanin, flavon, dan polifenol.

2.3.2. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu proses pemisahan senyawa dalam ekstrak menjadi beberapa bagian yang disebut fraksi. Fraksi biasanya memiliki kesamaan sifat baik polaritas maupun ukuran molekul. Fraksinasi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair, ekstraksi fase padat, kromatografi dan lain-lain. Fraksinasi dilakukan untuk memudahkan isolasi senyawa murni yang sulit dilakukan jika hanya dengan teknik separasi tunggal (Sarker dkk., 2006).

Prinsip ekstraksi cair-cair adalah saat cairan ditambahkan ke dalam ekstrak kemudian ditambahkan cairan lain yang tidak bercampur dengan cairan pertama sehingga membentuk dua lapis cairan yang terpisah, maka campuran dari senyawa

kimia yang ada di dalam ekstrak itu akan larut di dalam masing-masing lapisan sampai terjadi kesetimbangan konsentrasi diantar kedua lapisan tersebut. Kelarutan dari senyawa kimia terhadap tiap lapisan cairan tergantung pada kesamaan polaritas atau yang lebih dikenal dengan prinsip *'like dissolves like'* (Houghton dan Raman, 2012).

2.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Beberapa metode yang dapat digunakan untuk mengevaluasi dan melakukan skrining potensi aktivitas antibakteri adalah metode difusi dan metode dilusi (Balouiri dkk., 2015). Uji aktivitas antibakteri dilusi digunakan untuk menentukan konsentrasi minimal (biasanya dalam mikrogram per mililiter) dari agen antibakteri yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme. Berdasarkan *Clinical Laboratory Standart Institute*, metode dilusi dibagi menjadi metode dilusi agar, metode makrodilusi cair dan metode mikrodilusi cair. Metode mikrodilusi cair merupakan metode yang paling praktis dan sangat cocok digunakan untuk menguji isolat dalam jumlah kecil. Metode ini menggunakan mikroplate yang diisi dengan agen antimikroba untuk diinokulasikan dengan suspensi bakteri. Agen antimikroba biasanya diuji dengan membuat seri pengenceran *two-fold* hingga didapatkan konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Schwalbe dkk., 2007).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian aktivitas antibakteri dan skrining fitokimia ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan residu daun *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don terhadap bakteri Gram-negatif *Escherichia coli* merupakan penelitian *true experimental laboratories*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biosains Fakultas Kedokteran Gigi dan Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi dimulai sejak bulan Februari-Mei 2019.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang ditetapkan pada penelitian ini yakni sebagai berikut:

a. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan residu daun *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don. Konsentrasi larutan uji ekstrak dan fraksi adalah 2048 µg/mL; 1024 µg/mL; 512 µg/mL; 256 µg/mL; dan 128 µg/mL.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai konsentrasi hambat 50% atau *Inhibitory Concentration 50%* (IC₅₀) dari ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan residu daun *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don.

c. Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah pembuatan ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan residu daun *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don, pembuatan media MHA dan CAMHB, kultur bakteri *Escherichia coli*, suhu dan lama inkubasi bakteri, dan prosedur uji.

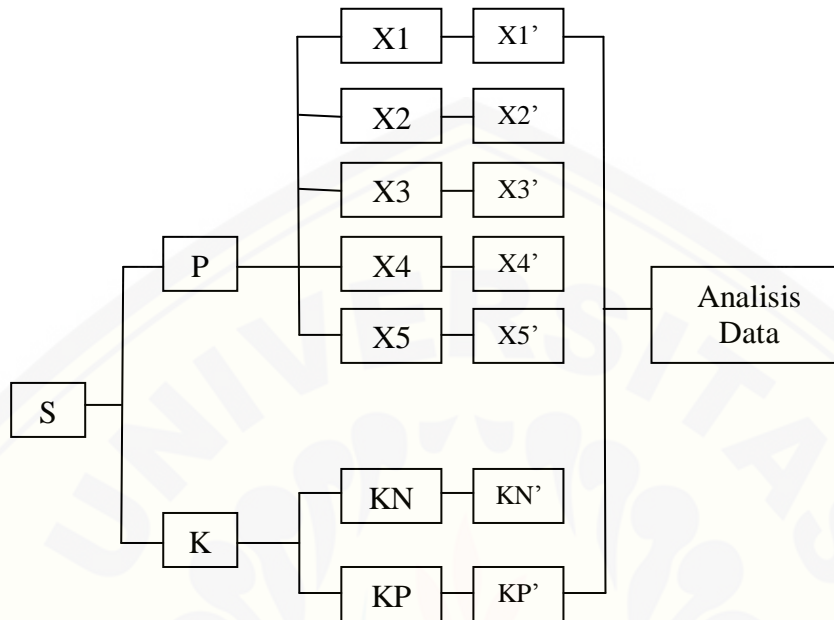
3.4 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don diperoleh dari Materia Medika Batu bagian tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian daun.
- b. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan metanol sebagai pelarut. Metode fraksinasi yang digunakan adalah partisi cair-cair menggunakan corong pisah dengan pelarut heksana, diklorometana dan etil asetat.
- c. Golongan senyawa yang akan dilakukan skrining fitokimia pada ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat dan residu *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don adalah alkaloid, flavonoid, polifenol, triterpenoid serta terpenoid.

3.5 Rancangan Penelitian

Penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat dan residu ini menggunakan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Uji aktivitas dilakukan dengan cara membagi kelompok uji menjadi dua yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kedua kelompok ini diukur absorbansinya dan kemudian dilakukan penentuan nilai IC₅₀. Skema rancangan penelitian ditunjukkan oleh Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian uji antibakteri metode mikrodilusi

Keterangan:

S = sampel

K = kontrol

X₁₋₅ = kelompok perlakuan

KN = kontrol negatif

KP = kontrol positif

X_{1'-5'} = data kelompok perlakuan

KN' = data kontrol negatif

KP' = data kontrol positif

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1. Alat

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini antara lain seperangkat alat gelas, blender, cawan porselen, spatula logam, corong pisah (Pyrex), vortex (Heidolph), *TLC chamber* (Duran), *yellow tip*, *blue tip*, mikropipet (Socorex), *petri disk disposable*, jarum ose, pembakar spirtus, spreader, *orbital incubator* (Stuart SI600), *microplateflat 96 well* (iwaki), *Laminar Air Flow* (LabGard AIR), Autoklaf (TOMY ES-315), *microplate reader*(Corona SH-1000), neraca analitik (ES 225SM-DR), *hot plate* (UC152), *orbital shaker* (Stuart SSL1).

3.6.2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia daun *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don yang didapat dari Materia Medika Batu, *Escherichia coli* ATCC 25922, metanol pa (Merck), heksana pa (Merck), diklorometana pa (Merck), etil asetat pa (Merck), butanol, asam asetat glasial, kloroform, reagen Dragendorff, KOH, anisaldehyd asam sulfat, FeCl_3 , vanilin, H_2SO_4 , silika gel F₂₅₄, DMSO (Merck), akuades demineralisata (Hydrobatt), parafilm (M parafilm), *Mueller Hinton Agar* (Merck), *Mueller Hinton Broth* (Merck), CaCl_2 , MgCl_2 , dan gentamisin sediaan injeksi 40 mg/ml.

3.7 Prosedur Penelitian

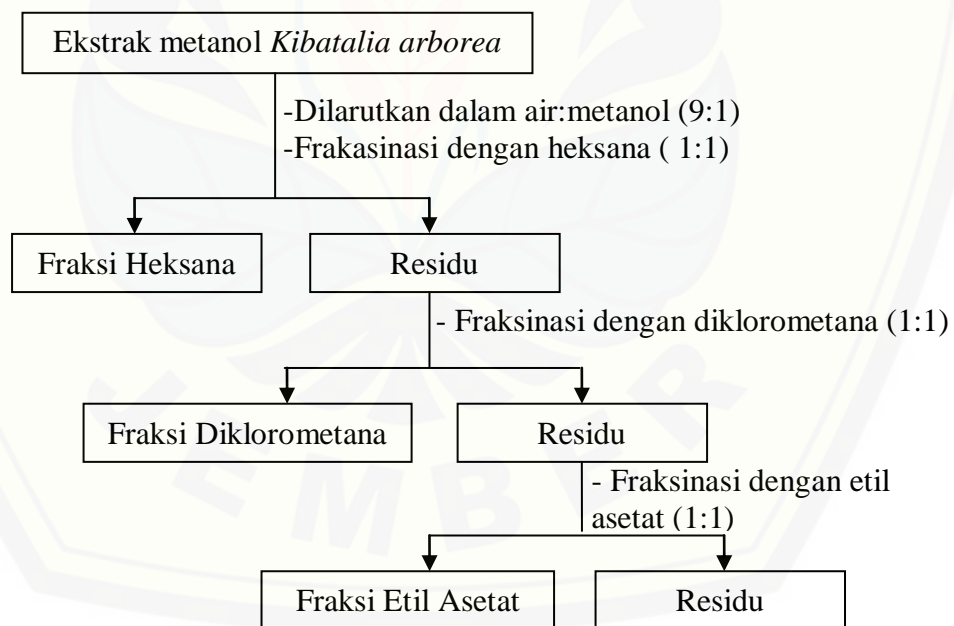
3.7.1. Pembuatan Ekstrak Metanol *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don.

Simplisia yang didapat dari Materia Medika Batu dihaluskan dengan menggunakan blender. Serbuk diayak supaya memiliki ukuran yang seragam. Serbuk kemudian dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer. Pelarut ditambahkan ke dalam serbuk dengan perbandingan 1:5 (b/v). Ekstraksi dibantu dengan *orbital shaker* dan didiamkan selama sehari semalam. Ekstrak disaring dan dikumpulkan filtratnya. Residu dari ekstrak diremaserasi dengan perbandingan pelarut yang sama. Filtrat yang didapat dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Setelah pekat,

ekstrak dipindahkan ke gelas ekstrak dan dimasukkan ke dalam oven suhu 40°C agar menjadi ekstrak kering. Rendemen ekstrak kemudian dihitung.

3.7.2. Pembuatan Fraksi Ekstrak Metanol *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don

Ekstrak yang diperoleh selanjutnya difraksinasi dengan heksana, diklorometana dan etil asetat secara bertingkat. Ekstrak dilarutkan metanol 10 % kemudian dipartisi dengan heksana (1:1). Fraksinasi dalam corong pisah kemudian pisahkan fraksi heksana. Fraksi heksana dipekatkan. Residu hasil fraksinasi dengan heksana dipartisi dengan diklorometana (1:1). Fraksinasi dalam corong pisah dan pisahkan kembali fraksi diklorometana. Fraksi diklorometana dipekatkan dan residu dipartisi lagi dengan etilasetat (1:1). Fraksi etil asetat dipisahkan. Fraksi etil asetat dan residu dipekatkan. Semua fraksi dan residu ditimbang berat akhirnya. Skema fraksinasi ditunjukkan oleh Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Skema fraksinasi ekstrak *Kibatalia arborea* (Bl.) G. Don

3.7.3. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan metode KLT secara kualitatif. Kandungan senyawa yang ingin diketahui adalah alkaloid, flavonoid, polifenol, serta terpenoid.

a. Alkaloid

Ekstrak dan fraksi ditimbang seberat 50 mg kemudian dilarutkan dalam metanol. Sejumlah larutan ditotolkan ke atas lempeng KLT kemudian dielusi dalam fase gerak toluen : etil asetat : metanol (7:2:1). Plat KLT yang telah dielusi kemudian dikeringkan dan disemprot dengan pereksi Dragendroff. Noda berwarna jingga menunjukkan adanya alkaloid di dalam ekstrak.

b. Flavonoid

Ekstrak dan fraksi ditimbang seberat 50 mg kemudian dilarutkan dalam metanol. Larutan kemudian ditotolkan di atas plat KLT dan dielusi pada lapisan atas dari campuran butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5). Setelah dielusi, plat KLT dikeringkan dan diberi penampak noda uap amonia. Keberadaan flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya noda kuning.

c. Polifenol

Ekstrak dan fraksi ditimbang seberat 0,1 kemudian dilarutkan dalam metanol. Larutan ditotolkan di atas plat KLT dan dielusi dengan menggunakan fase gerak kloroform : etil asetat : metanol (1:5:4). Setelah plat KLT dielusi dan dikeringkan, penampak noda berupa FeCl_3 disemprotkan kemudian dipanaskan selama 1-2 menit. Polifenol diindikasikan dengan timbulnya warna hitam.

d. Terpenoid

Ekstrak dan fraksi ditimbang seberat 0,1 kemudian dilarutkan dalam metanol. Sampel ditotolkan di atas lempeng KLT dan dielusi dengan fase gerak heksana : etil asetat (4:1). Plat KLT yang telah dielusi, kemudian dikeringkan lalu disemprot dengan reagen anisaldehyd asam sulfat. Plat KLT dipanaskan, jika timbul warna merah-ungu atau ungu maka sampel mengandung triterpenoid.

3.7.4. Uji Aktivitas Antibakteri

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat gelas yang akan disterilisasi dicuci terlebih dahulu kemudian dibungkus dengan kertas kayu. Alat gelas, media, *yellow tip* dan *blue tip* disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 15 psi. *Spreader* dan jarum ose disterilisasi dengan metode pemijaran.

b. Pembuatan Media

1). Pembuatan Media Kultur MHA

Media MHA dibuat dengan cara menimbang 1,9 gram *Mueller Hinton Agar* dan dilarutkan dalam 50 mL akuades, kemudian dipanaskan hingga larutan media menjadi jernih. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Setelah steril, media dapat dituang ke cawan petri secara aseptik. Dinginkan media hingga menjadi padat.

2). Pembuatan Larutan Induk MgCl₂ dan CaCl₂

Larutan induk MgCl₂ dibuat dengan melarutkan 0,8365 gram MgCl₂ kedalam 10 mL akudest sedangkan larutan induk CaCl₂ dibuat dengan melarutkan 0,3668 gram CaCl₂ ke dalam 10 ml akuades. Larutan MgCl₂ dan CaCl₂ steril ditambahkan ke dalam media secara aseptik hingga konsentrasi Mg²⁺ dalam media 10-12,5 mg/L dan konsentrasi Ca²⁺ dalam media 20-25 mg/L.

3). Pembuatan Media Uji CAMHB

Media CAMHB dibuat dengan campuran *Mueller Hinton Broth* ditambah dengan larutan MgCl₂ dan CaCl₂. Sebanyak 1,78 gram MHB dilarutkan dalam 80 ml akudest. Media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Volume yang ditambahkan ke media yaitu 80 µL untuk larutan MgCl₂ dan 160 µL untuk larutan induk CaCl₂.

c. Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan dengan memindahkan biakan murni *Escherichia coli* dari media lama ke dalam media baru dengan menggunakan jarum ose. Kultur baru diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator.

d. Pembuatan Larutan Standar 0,5 McFarland

Larutan BaCl 1,175% sebanyak 0,05 mL ditambahkan ke dalam larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 mL dengan pengadukan konstan. Untuk memverifikasi kekeruhan dari McFarland dapat dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan panjang gelombang 625 nm. Absorbansi 0,5 McFarland memiliki rentang 0,08-0,13.

e. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif dan Kontrol Positif

1. Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 1% dalam media CAMHB

2. Kontrol Positif

Kontrol positif yang digunakan adalah sediaan injeksi gentamisin 40 mg/L. Larutan gentamisin diencerkan dengan CAMHB hingga mencapai konsentrasi 200 µg/mL (sebagai larutan induk). Kemudian larutan induk diencerkan menjadi konsentrasi 4µg/mL; 2µg/mL; 1µg/mL, dan 0,5 µg/mL.

f. Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan menimbang 200 mg ekstrak dan fraksi dan dilarutkan dalam 1 mL DMSO 100%. Larutan ekstrak diencerkan dengan DMSO sehingga didapatkan 6 konsentrasi larutan induk 204800 µg/mL; 102400 µg/mL; 51200 µg/mL; 25600 µg/mL; dan 12800 µg/ mL. Setiap larutan induk diencerkan 100 kalinya dengan menggunakan media CAMHB sehingga didapatkan konsentrasi larutan uji 2048 µg/mL; 1024 µg/mL; 512 µg/mL; 256 µg/mL; dan 128 µg/ mL dan konsentrasi DMSO menjadi 1%.

g. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Mikrodilusi

Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini adalah mikrodilusi. Pengujian dilakukan dengan mengikuti protokol yang telah ditetapkan oleh *Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI, 2012)*.

1) Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *Escherichia coli* diambil dari kultur peremajaan dengan menggunakan jarum ose sebanyak 2-3 koloni ke dalam media CAMHB secara aseptis. Suspensi bakteri kemudian dinilai kekeruhannya dengan cara membandingkan nilai absorbansi suspensi bakteri dengan absorbansi 0,5 McFarland pada panjang gelombang 625 nm. Absorbansi yang didapat berkisar antara 0,08 sampai 0,13. Di dalam suspensi bakteri tersebut akan terdapat 1×10^8 CFU/mL. Suspensi bakteri diencerkan 100 kali sehingga didapat konsentrasi bakteri 1×10^6 CFU/mL (CLSI, 2012).

2) Uji Aktivitas

Uji aktivitas dilakukan secara aseptis dalam *Laminar Air Flow* (LAF) dengan menggunakan *microplate* sebanyak tiga kali replikasi sesuai dengan pemetaan pada Gambar 3.3. Perlakuan terdiri dari campuran 50 μ L ekstrak dan fraksi tiap konsentrasi 2048 μ g/mL; 1024 μ g/mL; 512 μ g/mL; 256 μ g/mL; dan 128 μ g/ mL bakteri dalam media CAMHB. Kontrol ekstrak terdiri dari campuran 50 μ L ekstrak dan fraksi tiap konsentrasi 2048 μ g/mL; 1024 μ g/mL; 512 μ g/mL; 256 μ g/mL; dan 128 μ g/ mL dengan 50 μ L media CAMHB. Kontrol negatif terdiri dari campuran 50 μ L DMSO 1% dalam media CAMHB dan 50 μ L bakteri dalam media CAMHB. Kontrol DMSO 1% terdiri dari 50 μ L media CAMHB dan 50 μ L DMSO 1% dalam media CAMHB. Kontrol positif terdiri dari 50 μ L gentamisin dengan konsentrasi 4 μ g/mL; 2 μ g/mL; 1 μ g/mL; 0,5 μ g/ mL dan 50 μ L bakteri dalam media CAMHB. Kontrol gentamisin terdiri dari 50 μ L gentamisin dengan konsentrasi 4 μ g/mL; 2 μ g/mL; 1 μ g/mL; 0,5 μ g/ mL dan 50 μ L media CAMHB. Kontrol negatif gentamisin terdiri dari 50 μ L media CAMHB dan 50 μ L bakteri dalam media CAMHB. Kontrol media terdiri dari 100 μ L CAMHB. Sampel dan kontrol diinkubasi selama 20 jam pada suhu 37°C dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 625 nm.

Mikroplate 1










	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		Dark Green	Dark Green	Dark Green	Pink		Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Red		
C		Dark Green	Dark Green	Dark Green	Pink		Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Red		
D		Green	Green	Green	Pink		Light Blue	Light Blue	Light Blue	Red		
E		Light Green	Light Green	Light Green	Yellow		Light Blue	Light Blue	Light Blue	Orange		
F		Light Green	Light Green	Light Green	Yellow		Light Blue	Light Blue	Light Blue	Orange		
G		Light Green	Light Green	Light Green	Yellow		Light Blue	Light Blue	Light Blue	Orange		
H												

Mikroplate 2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B			Purple	Purple	Purple		Dark Grey	Dark Grey	Dark Grey			
C			Purple	Purple	Purple		Dark Grey	Dark Grey	Dark Grey			
D			Purple	Purple	Purple		Dark Grey	Dark Grey	Dark Grey			
E			Light Purple	Light Purple	Light Purple		Light Grey	Light Grey	Light Grey			
F			Yellow	Yellow	Yellow		Orange	Orange	Orange			
G												
H												

Gambar 3.3 Pemetaan mikrodilusi pada *microplate 96 well*

Keterangan:

	Ekstrak/Fraksi dalam DMSO 1% 50 μ L + bakteri dalam CAMHB 50 μ L
	Ekstrak/Fraksi dalam DMSO 1% 50 μ L + media CAMHB 50 μ L
	DMSO 1% 50 μ L + bakteri dalam CAMHB 50 μ L
	DMSO 1% 50 μ L + media CAMHB 50 μ L
	Media CAMHB 50 μ L + bakteri dalam CAMHB 50 μ L
	Media CAMHB 100 μ L
	Gentamisin 50 μ L + bakteri dalam CAMHB 50 μ L
	Gentamisin 50 μ L + media CAMHB 50 μ L
	Air 100 μ L

3.8 Analisis Data

Hasil dari data absorbansi digunakan untuk menghitung persen penghambatan berdasarkan persamaan berikut:

$$\% \text{ Penghambatan} = 1 - \frac{(AbsR - AbsS)}{(AbsP - AbsQ)} \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

(Quave dkk., 2008)

Keterangan:

Abs = absorbansi

P = kontrol negatif (DMSO 1% atau media + suspensi bakteri)

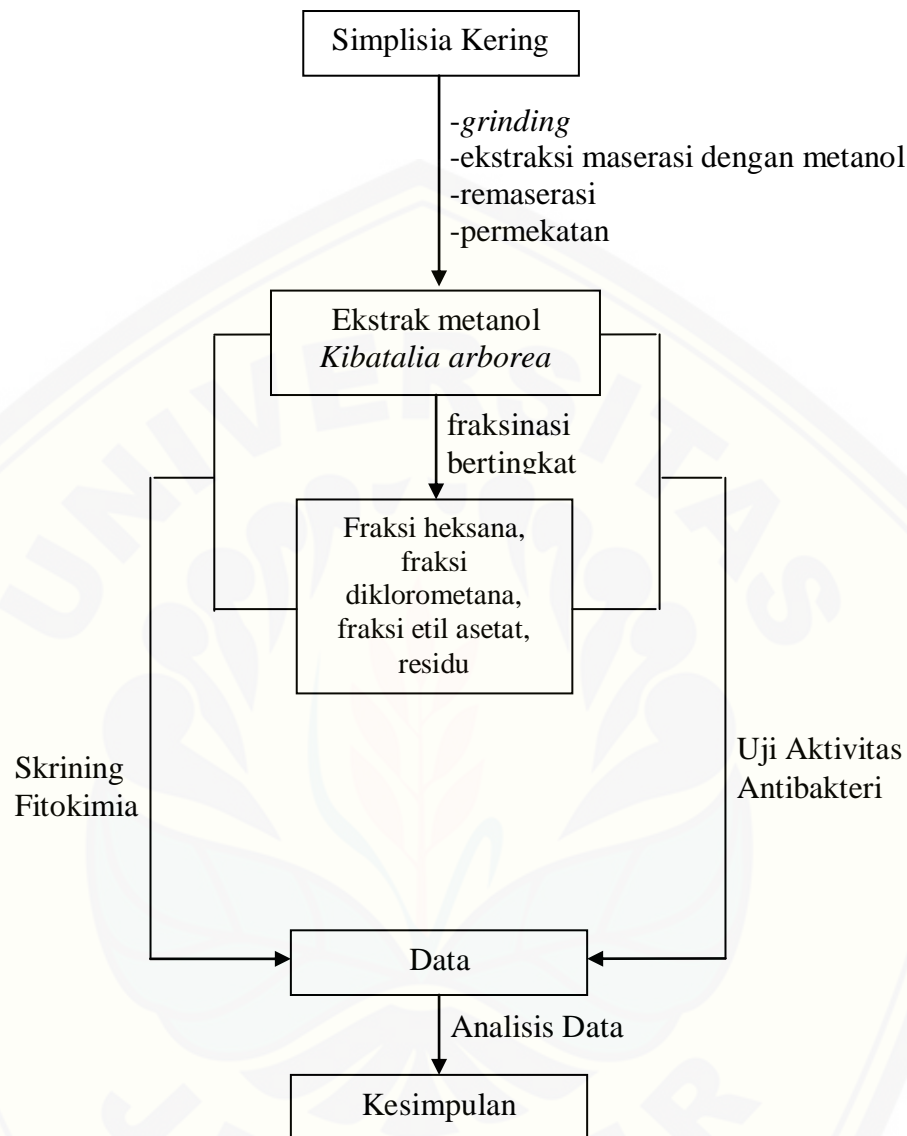
Q = kontrol media (DMSO 1% atau media)

R = uji (ekstrak/fraksi/gentamisin + suspensi bakteri)

S = kontrol uji (ekstrak/fraksi/gentamisin + media)

Nilai IC₅₀ didapatkan melalui analisis probit dengan program SPSS dan dianalisis ada tidaknya perbedaan makna dengan One Way Anova (Land, 1999).

3.9 Skema Penelitian



Gambar 3.4 Skema penelitian secara keseluruhan

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak metanol daun *Kibatali arborea* (Bl.) G.Don mengandung senyawa flavonoid, polifenol, terpenoid dan alkaloid. Fraksi heksana mengandung alkaloid dan terpenoid; fraksi diklorometana mengandung alkaloid, terpenoid dan polifenol; fraksi etil asetat mengandung terpenoid, polifenol dan flavonoid. Sedangkan residu tidak mengandung metabolit sekunder flavonoid, polifenol, terpenoid dan alkaloid.
2. Nilai IC_{50} dari ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat *Kibatali arborea* (Bl.) G.Don terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 secara berturut-turut adalah $590,665 \pm 24,157 \mu\text{g/ml}$; $880,667 \pm 22,587 \mu\text{g/ml}$; $848,616 \pm 37,029 \mu\text{g/ml}$; $516,458 \pm 12,073 \mu\text{g/ml}$. Sedangkan nilai IC_{50} residu tidak dapat ditentukan karena rendemen yang kecil dan pada kadar 2048 ppm persen penghambatan residu dibawah 50%

5.2 Saran

Saran untuk penelitan ini adalah:

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri *Kibatali arborea* (Bl.) G.Don terhadap bakteri lain baik pada bakteri Gram-negatif lain maupun bakteri Gram-positif
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri lanjutan terhadap senyawa yang berperan dalam aktivias antibakteri pada *Kibatali arborea* (Bl.) G.Don
3. Perlu dilakukan uji aktivitas lain seperti antikanker karena beberapa spesies dari famili Apocynaceae sangat dikenal aktivitas antikankernya dan aktivitas anthelmintik karena *Kibatali arborea* (Bl.) G.Don secara etnofarmakologis digunakan sebagai obat cacing.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexandraki, I. dan C. Palacio. 2010. Gram-negative versus gram-positive bacteremia : what is more alarmin (g)? *Critical Care*. 14:161.
- Anonim. 2005. Requirements for the determination of levels of dioxins and dioxin-like pcbs in feedingstuffs rules. *Official Journal of the European Communities*. 15–21.
- Balouiri, M., M. Sadiki, dan S. Ibsouda. 2015. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 136(1):29–31.
- Belwal, T., S. M. Ezzat, L. Rastrelli, I. D. Bhatt, M. Daglia, A. Baldi, H. Prasad, I. Erdogan, dan J. Kumar. 2018. A critical analysis of extraction techniques used for botanicals : trends , priorities , industrial uses and optimization strategies. *Trends in Analytical Chemistry*. 100:82–102.
- Bourgaud, Frederic, Antoine Gravot, U. De Picardie, J. Verne, F Bourgaud, A Gravot, S. Milesi, dan E. Gontier. 2017. Production of plant secondary metabolites : a historical perspective. *Plant Science*. 161:839–851.
- Castellani dan Chalmers. 2019. ITIS Global: The Integrated Taxonomic Information System. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=285#null [Diakses pada February 8, 2019].
- CDC. 2018. Biggest Threats and Data | Antibiotic/Antimicrobial Resistance | CDC. https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest_threats.html [Diakses pada February 5, 2019].
- Chebil, L., C. Humeau, J. Anthony, F. Dehez, J. M. Engasser, dan M. Ghoul. 2007. Solubility of flavonoids in organic solvents. *Journal of Chemical and Engineering Data*. 52(5):1552–1556.
- Clements, A., J. C. Young, N. Constantinou, dan G. Frankel. 2012. Infection strategies of enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Gut Microbe*. 3(2):71–87.
- CLSI. 2012. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*. Edisi 9. USA: CLSI. 2.
- CLSI. 2017. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Edisi 27. USA: CLSI.
- Cushnie, T. P. T., B. Cushnie, dan A. J. Lamb. 2014. Antimicrobial agents alkaloids : an overview of their antibacterial , antibiotic-enhancing and

- antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 44(5):377–386.
- Cushnie, T. P. T. dan A. J. Lamb. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26(5):343–356.
- Dey, A., A. Mukherjee, dan M. Chaudhury. 2017. *Alkaloids From Apocynaceae*. Dalam *Studies in Natural Products Chemistry*
- Gaschignard, J., C. Levy, O. Romain, dan R. Cohen. 2011. Neonatal bacterial meningitis. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 30(3):212–217.
- Gerlacha, A. da C. L., A. Gadeac, P. C. Rosa Mara Borges da Silveirab, dan F. L. Dévéhat. 2018. The use of anisaldehyde sulfuric acid as an alternative spray reagent in tlc analysis reveals three classes of compounds in the genus. (February)
- Grayer, J., G. C. Kite, M. S. J. Simmonds, dan S. Heneidak. 2006. Flavonoid glycosides from egyptian species of the tribe Asclepiadeae (Apocynaceae , subfamily Asclepiadoideae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 34:575–584.
- Greenwood, D., R. C. B. Slack, M. R. Barer, dan W. L. Irving. 2012. *Medical Microbiology*. Elsevier Health Sciences.
- Hashemi, S., A. Nasrollah, dan M. Rajabi. 2013. Irrational antibiotic prescribing: a local issue or global concern? *EXCLI Journal*. 12:384–395.
- Hossain, M. A., M. Sohail Akhtar, S. Said, dan T. H. A. Al-Abri. 2017. Two new flavonoids from *Adenium obesum* grown in oman. *Journal of King Saud University - Science*. 29(1):62–69.
- Houghton, P. dan A. Raman. 2012. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. Springer US.
- Irving, W. L., D. A. A. Ala'Aldeen, dan T. Boswell. 2005. *Medical Microbiology*. BIOS instant notes. Taylor & Francis.
- Kenny, M. A., H. M. Pollock, B. H. Minshew, E. Casillas, F. D. Schoenknecht, dan K. E. T. Al. 1980. Cation components of mueller-hinton agar affecting testing of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility to gentamicin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 17(1):55–62.
- Khalil, I. A., C. Troeger, B. F. Blacker, P. C. Rao, A. Brown, D. E. Atherly, T. G. Brewer, C. M. Engmann, J. A. Platts-mills, F. Qadri, M. S. Riddle, E. T. Ryan, D. A. Shoultz, A. D. Steele, J. L. Walson, J. W. Sanders, A. H. Mokdad, C. J. L. Murray, S. I. Hay, R. C. R. Jr, F. Bill, dan M. G. Foundation. 2018. Morbidity and mortality due to shigella and

- enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhoea : the global burden of disease study 1990 – 2016. *The Lancet Infectious Diseases*. 3099(18):1–12.
- Land, M. L. 1999. *The Probit Procedure*. Dalam Sas User's Guide: Statistics Version 5 Edition. USA: SAS Institute Inc.
- Long, S., C. Li, J. Hu, Q. Zhao, dan D. Chen. 2018. Indole alkaloids from the aerial parts of *Kopsia fruticosa* and their cytotoxic , antimicrobial and antifungal activities. *Fitoterapia*. 129(May):145–149.
- Ludwiczuk, A., K. Skalicka-Woźniak, dan M. I. Georgiev. 2017. Terpenoids. *Pharmacognosy*. 233–266.
- Mandal, S. C., V. Mandal, dan A. K. Das. 2015. *Essentials of Botanical Extraction: Principles and Applications*. UK: Elsevier Science.
- Manning, S. D. dan H. Babcock. 2010. *Escherichia Coli Infections*. Deadly diseases and epidemics. Chelsea House.
- Menichetti, F. 2005. Current and emerging serious gram-positive infections. *Clinical Microbiol Infect*. 11:22–28.
- Parveen, M., Z. Khanam, A. Ali, dan S. M. Ahmad. 2010. A novel antimicrobial flavonoidic glycoside from the leaves of *Alstonia macrophylla* Wall ex a . dc (Apocynaceae). *Chinese Chemical Letters*. 21(5):593–595.
- Promudono, B., S. A. Widioko, dan W. Rustyawan. 2008. Ekstraksi kontinyu dengan simulasi batch tiga tahap aliran lawan arah : pengambilan minyak biji alpukat menggunakan pelarut n-hexane dan iso propil alkohol. *Reaktor*. 12(1):37–41.
- Quave, C. L., L. R. W. Plano, T. Pantuso, dan B. C. Bennett. 2008. Effects of extracts from italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J.Ethnopharmacol*. 118(3):418–428.
- Reyes, M. M. D. L., G. G. Oyong, V. A. S. Ng, C. Shen, C. Y. Ragasa, M. M. D. L. Reyes, G. G. Oyong, dan A. S. Ng. 2017. Cytotoxic compounds from *Kibatalia gitingensis* (elm .) woodson. 9(1):8–13.
- Ribeiro, D. A., S. S. Damasceno, A. A. Boligon, I. Rose, A. De Menezes, M. Maria, D. A. Souza, dan J. Galberto. 2017. Chemical profile and antimicrobial activity of *Secondatia floribunda* a. dc (Apocynaceae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 7(8):739–749.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, Dan Teknik Pemurnian*. Edisi 1. Yogyakarta: Deepublish.

- Sarker, S. D., Z. Latif, dan A. I. Gray. 2006. *Natural Products Isolation*. Humana Press.
- Schwalbe, R., L. Steele-Moore, dan A. C. Goodwin. 2007. *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*. CRC Press.
- Seventer, J. M. Van dan P. Health. 2017. *Principles of Infectious Diseases : Transmission , Diagnosis , Prevention , and Control*. Edisi Second Edi. Elsevier. *International Encyclopedia of Public Health, Second Edition*.
- Shafek, R. E., N. H. Shafik, dan H. N. Michael. 2012. Antibacterial and antioxidant activities of two new kaempferol glycosides isolated from *Solenostemma argel* stem extract. *Asian Journal of Plant Sciences*. 11(3):143–147.
- Siddiqui, B. S., N. Khatoun, S. Begum, A. D. Farooq, K. Qamar, H. A. Bhatti, dan S. K. Ali. 2012. Flavonoid and cardenolide glycosides and a pentacyclic triterpene from the leaves of *Nerium oleander* and evaluation of cytotoxicity. *Phytochemistry*. 77:238–244.
- Siddiqui, M. J., Z. Ismail, A. F. A. Aisha, dan A. M. S. Abdul Maji. 2010. Cytotoxic activity of *Catharanthus roseus* (Apocynaceae) crude extracts and pure compounds against human colorectal carcinoma cell line. *International Journal of Pharmacology*. 6(1):43–47.
- Soepadmo, E., K. M. Wong, S. J. Hutan, I. P. P. Malaysia, dan S. J. Perhutan. 2007. *Tree Flora of Sabah and Sarawak*. Tree Flora of Sabah and Sarawak. Joint publication of Sabah Forestry Department, Malaysia [and] Forest Research Institute Malaysia [and] Sarawak Forestry Department, Malaysia. v. 4.
- Suhendi, A. 2011. Isolasi dan identifikasi flavanoid dari daun dewandur (*Eugenia uniflora*). *Pharmacon*. 12(2):73–81.
- Syamsuhidayat, S. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Tradit, A. J., C. Altern, S. Sasidharan, Y. Chen, D. Saravanan, K. M. Sundram, L. Y. Latha, J. Bedong-semeling, dan B. A. Nasi. 2011. Extraction , isolation and characterization of bioactive compounds from plants ' extracts institute for research in molecular medicine (inform), universiti sains malaysia , minden 11800 ,. 8:1–10.
- Utami, E. R. 2010. Antibiotik, resistensi, dan rasionalitas terapi. 1(4):0–3.
- Wagner, H. 1996. *Plant Drug Analysis*. Edisi 2. New York: Springer.
- Wei, E., C. Chan, dan S. K. Wong. 2016. Review Apocynaceae species with

antiproliferative and /or antiplasmodial properties : a review of ten genera. *Journal of Integrative Medicine*. 4964(July)

WHO. 2016. GHE2015_Deaths_Global_2000_2015. Swintzerland. 2016.

WHO. 2018. The Top 10 Causes of Death. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> [Diakses pada February 5, 2019].

WHO EMRO. 2019. Infectious Diseases | Health Topics. <http://www.emro.who.int/health-topics/infectious-diseases/index.html> [Diakses pada February 5, 2019].

Wiart, C. 2006. *Medicinal Plants of Asia and the Pacific*. CRC Press.

Widyawati, P. S., T. Dwi, W. Budianta, dan F. A. Kusuma. 2014. Difference of solvent polarity to phytochemical content and antioxidant activity of *Pluchea indicia* less leaves extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Reasearch*. 6(4)

Yusnawan, E. 2013. The effectiveness of polar and non polar fractions of *Ageratum conyzoides* l. to control peanut rust disease and phytochemical screenings of secondary metabolites. *J. HTP Tropika*. 13(2):159–166.

Zengin, H. dan A. H. Baysal. 2014. Antibacterial and antioxidant activity of essential oil terpenes against pathogenic and spoilage-forming bacteria and cell structure-activity relationships evaluated by sem microscopy. *Molecule*. 19:17773–17798.

Zgurskaya, H. I., C. A. López, dan S. Gnanakaran. 2016. Permeability barrier of gram-negative cell envelopes and approaches to bypass it. *ACS Infect Dis*. 1(11):512–522.

Zuhrotun, A., A. G. Suganda, K. R. Wirasutisna, dan M. S. Wibowo. 2017. Research journal of pharmaceutical , biological and chemical sciences toxicity of selected Apocynaceae, Magnoliaceae and Simaroubaceae of indonesian plants using brine shrimp lethality bioassay . (10):10–15.

LAMPIRAN

**Lampiran 4.1. Data Rendeman Ekstrak dan Fraksi *Kibatalia arborea* (Bl.)
*G.Don***

1. Rendeman Ekstrak Metanol



Berat wadah + ekstrak metanol	= 12,569 gram
Berat wadah	= 11,277 gram
Berat ekstrak metanol	= 1,292 gram
Rendeman ekstrak metanol	$= \frac{\text{Berat ekstrak kering}}{\text{Berat serbuk awal}} \times 100 \%$
	$= \frac{1,292 \text{ gram}}{20,123 \text{ gram}} \times 100 \%$
	= 6,420 %

2. Rendeman Fraksi Heksana



Berat wadah + fraksi heksana = 13,004 gram

Berat wadah = 12,775 gram

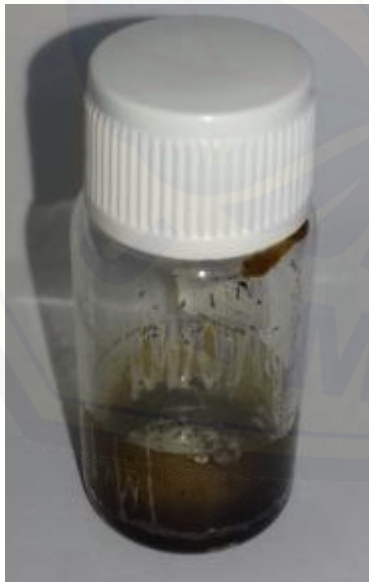
Berat fraksi heksana = 0,229 gram

Rendeman fraksi heksana = $\frac{\text{Berat fraksi heksana}}{\text{Berat ekstrak metanol}} \times 100\%$

$$= \frac{0,229 \text{ gram}}{0,615 \text{ gram}} \times 100\%$$

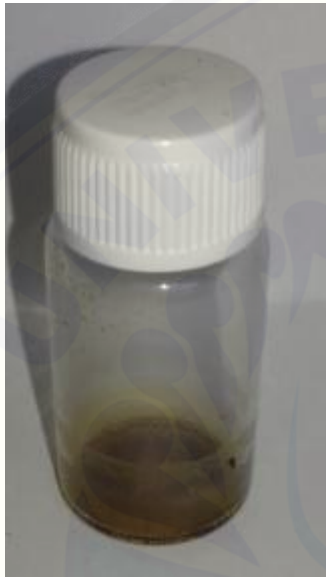
$$= 37,171 \%$$

3. Rendeman Fraksi Diklorometana



$$\begin{aligned}\text{Berat wadah + fraksi DCM} &= 12,882 \text{ gram} \\ \text{Berat wadah} &= 12,729 \\ \text{Berat fraksi DCM} &= 0,153 \\ \text{Rendeman fraksi DCM} &= \frac{\text{Berat fraksi DCM}}{\text{Berat ekstrak metanol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,153 \text{ gram}}{0,615 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 24,829 \%\end{aligned}$$

4. Rendeman Fraksi Etil Asetat



$$\begin{aligned}\text{Berat wadah + fraksi etil asetat} &= 12,714 \text{ gram} \\ \text{Berat wadah} &= 12,641 \\ \text{Berat fraksi etil asetat} &= 0,073 \\ \text{Rendeman fraksi etil asetat} &= \frac{\text{Berat fraksi etil asetat}}{\text{Berat ekstrak metanol}} \times 100\% \\ &= \frac{0,073 \text{ gram}}{0,615 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 11,902 \%\end{aligned}$$

5. Rendeman Residu



Berat wadah + residu	= 12,774
Berat wadah	= 12,756
Berat residu	= 0,018
Rendeman residu	= $\frac{\text{Berat residu}}{\text{Berat ekstrak metanol}} \times 100\%$
	= $\frac{0,018 \text{ gram}}{0,615 \text{ gram}} \times 100\%$
	= 2,911 %

Lampiran 4.2. Perhitungan Pembuatan Media CAMHB

1. Pembuatan media

Dibuat media sebanyak 80 ml

Penimbangan media MHB = 1,78 gram

2. Penambahan MgCl_2 ke dalam media MHB

Larutan induk $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dibutuhkan dengan konsentrasi 10 mg Mg^{2+}/ml

Ar Mg^{2+} = 24,305

Mr $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ = 203,303

Dibuat sebanyak 10 ml maka berat Mg^{2+} yang dibutuhkan adalah 100 mg

Penimbangan $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = \frac{203,303}{24,305} \times 100 \text{ mg} = 836,466 \text{ mg}$

Berdasarkan protokol CLSI konsentrasi Mg^{2+} dalam media adalah 10-12,5 mg Mg^{2+} /L, maka dalam 80 ml media dibutuhkan Mg^{2+} sebanyak:

$$\frac{80 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} \times 10-12,5 \text{ mg } Mg^{2+} = 0,8 - 1 \text{ mg } Mg^{2+}$$

Penambahan Mg^{2+} dilakukan dengan menggunakan larutan induk $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ sehingga larutan induk yang perlu dipipet untuk mendapat konsentrasi 0,8 mg Mg^{2+} dalam 80 ml media adalah:

$$\frac{0,8-1 \text{ mg } Mg^{2+}}{10 \text{ mg } Mg^{2+}} \times 1 \text{ ml} = 0,08-0,1 \text{ ml}$$

3. Penambahan $CaCl_2$ ke dalam media MHB

Larutan induk $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ dibutuhkan dengan konsentrasi 10 mg Mg^{2+} /ml

$$Ar \text{ Ca}^{2+} = 40,078$$

$$Mr \text{ CaCl}_2 \cdot 2H_2O = 147,01$$

Dibuat sebanyak 10 ml maka berat Ca^{2+} yang dibutuhkan adalah 100 mg

$$\text{Penimbangan } CaCl_2 \cdot 2H_2O = \frac{147,01}{40,078} \times 100 \text{ mg} = 366,81 \text{ mg}$$

Berdasarkan protokol CLSI konsentrasi Ca^{2+} dalam media adalah 20-25 mg Ca^{2+} /L, maka dalam 80 ml media dibutuhkan Ca^{2+} sebanyak:

$$\frac{80 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} \times 20-25 \text{ mg } Ca^{2+} = 1,6-2 \text{ mg } Ca^{2+}$$

Penambahan Ca^{2+} dilakukan dengan menggunakan larutan induk $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ sehingga larutan induk yang perlu dipipet untuk mendapat konsentrasi 1,6-2 mg Ca^{2+} dalam 80 ml media adalah:

$$\frac{1,6-2 \text{ mg } Ca^{2+}}{10 \text{ mg } Ca^{2+}} \times 1 \text{ ml} = 0,16-0,2 \text{ ml}$$

Lampiran 4.3. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak dan Fraksi *Kibatalia arborea* (Bl.) G.Don.

Konsentrasi yang akan dibuat untuk uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi *Kibatalia arborea* (Bl.) G.Don adalah 2048 ppm; 1024 ppm; 512 ppm; 256 ppm; dan 128 ppm.

Penimbangan ekstrak atau fraksi *Kibatalia arborea* (Bl.) G.Don = 10,24 mg

$$\text{Konsentrasi ekstrak atau fraksi dalam DMSO} = \frac{10,48 \text{ mg}}{0,05 \text{ ml}} \times 1000 = 204800 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran konsentrasi menggunakan pengenceran bertingkat dengan DMSO:

Konsentrasi Awal ($\mu\text{g/ml}$)	Volume larutan induk yang diambil (μl)	Volume DMSO yang ditambahkan (μl)	Konsentrasi Akhir ($\mu\text{g/ml}$)
204800	25	25	102400
10240	25	25	51200
51200	25	25	25600
25600	25	25	12800

Penambahan CAMHB:

Konsentrasi Awal ($\mu\text{g/ml}$)	Volume larutan induk yang diambil (μl)	Volume CAMHB yang ditambahkan (μl)	Konsentrasi Akhir ($\mu\text{g/ml}$)
204800	15	1485	2048
102400	15	1485	1024
51200	15	1485	512
25600	15	1485	256
12800	15	1485	128

Lampiran 4.4. Perhitungan Konsentrasi Gentamisin

Konsentrasi yang akan dibuat adalah 4 ppm; 2 ppm; 1 ppm; dan 0,5 ppm; dan 128 ppm.

Konsentrasi gentamisin dalam larutan injeksi gentamisin sulfat = 40 mg/ml = 40.000 $\mu\text{g/ml}$

Dibutuhkan larutan induk dengan konsentrasi 160 $\mu\text{g/ml}$:

$$\frac{40.000 \text{ } \mu\text{g/ml}}{2000 \text{ } \mu\text{l}} \times 8 \text{ } \mu\text{l} = 160 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

Pengenceran konsentrasi menggunakan pengenceran bertingkat dengan media CAMHB:

Konsentrasi Awal ($\mu\text{g/ml}$)	Volume larutan induk yang diambil (μl)	Volume CAMHB yang ditambahkan (μl)	Konsentrasi Akhir ($\mu\text{g/ml}$)
160	100	1900	8
8	1000	1000	4
4	1000	1000	2
2	1000	1000	1
1	1000	1000	0,1

Lampiran 4.5. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak dan Fraksi *Kibatalia arborea* (Bl.)**G.Don**

Absorbansi kelompok ekstrak

Konsentrasi Ekstrak (µg/ml)	Pengujian kelompok ekstrak			Kontrol ekstrak		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
128	0,938	0,937	0,924	0,136	0,134	0,120
256	0,863	0,845	0,859	0,158	0,161	0,159
512	0,733	0,737	0,745	0,165	0,181	0,185
1024	0,666	0,658	0,663	0,216	0,187	0,209
2048	0,320	0,348	0,368	0,227	0,283	0,227

Absorbansi kelompok fraksi heksana

Konsentrasi fraksi (ug/ml)	Pengujian kelompok fraksi			Kontrol fraksi		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
128	1,070	1,075	1,081	0,155	0,156	0,158
256	0,946	0,943	0,948	0,133	0,130	0,134
512	0,702	0,700	0,703	0,147	0,149	0,150
1024	0,709	0,711	0,706	0,255	0,260	0,266
2048	0,826	0,816	0,803	0,518	0,507	0,503

Absorbansi kelompok fraksi diklorometana

Konsentrasi fraksi (ug/ml)	Pengujian kelompok fraksi			Kontrol fraksi		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
128,000	1,054	1,058	1,062	0,106	0,107	0,108
256,000	0,925	0,929	0,937	0,127	0,128	0,129
513,000	0,706	0,670	0,700	0,148	0,142	0,143
1024,000	0,667	0,664	0,658	0,186	0,181	0,178
2048,000	0,538	0,511	0,490	0,266	0,261	0,269

Absorbansi kelompok fraksi etil asetat

Konsentrasi fraksi (ug/ml)	Pengujian kelompok fraksi			Kontrol fraksi		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
128	0,966	0,956	0,949	0,122	0,121	0,115
256	0,743	0,741	0,744	0,105	0,096	0,110
513	0,564	0,564	0,562	0,109	0,114	0,107
1024	0,500	0,500	0,498	0,169	0,163	0,159
2048	0,445	0,440	0,446	0,251	0,251	0,255

Absorbansi gentamisin

Konsentrasi gentamisin (ug/ml)	Pengujian gentamisin			Kontrol gentamisin		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
0,5	0,253	0,243	0,236	0,110	0,110	0,110
1	0,195	0,189	0,188	0,113	0,113	0,113
2	0,164	0,160	0,160	0,124	0,124	0,123
4	0,144	0,143	0,133	0,135	0,135	0,134



Absorbansi kelompok kontrol

	Kelompok											
	Kontrol negatif ekstrak dan fraksi			Kontrol DMSO 1%			Kontrol negatif gentamisin			Kontrol media CAMHB		
	Replikasi			Replikasi			Replikasi			Replikasi		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Abs	1,023	1,059	1,149	0,090	0,114	0,110	0,920	1,019	1,013	0,159	0,159	0,161
	1,095	1,013	1,178	0,100	0,108	0,113	0,978	1,019	1,023	0,155	0,155	0,163
	1,005	1,149	1,138	0,086	0,115	0,143	0,938	1,013	1,005	0,152	0,159	0,163
Rerata Abs	1,077	1,095	1,097	0,105	0,107	0,115	0,984	1,007	0,985	0,160	0,158	0,158

Lampiran 4.6. Persentase Penghambatan DMSO 1%

Replikasi	Persen penghambatan(%)	Rerata (%)	SD(n=3)	CV (%)
1	-19,895			
2	-14,527	-17,732	2,832	-15,970
3	-18,732			

Lampiran 4.7. Persentase Penghambatan Gentamisin

$$\text{Persentase penghambatan pertumbuhan bakteri} = \left(1 - \frac{(\text{Abs R}-\text{Abs S})}{(\text{Abs P}-\text{Abs Q})}\right) \times 100 \%$$

Keterangan:

Abs = absorbansi

P = kontrol media (media + bakteri)

Q = kontrol kontrol media (media + media)

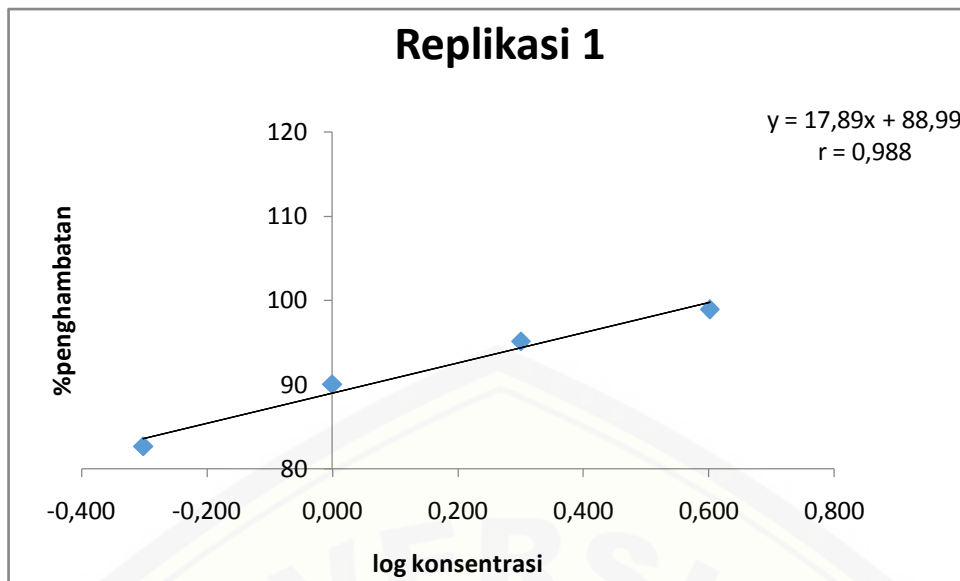
R = kontrol positif (gentamisin + bakteri)

S = kontrol kontrol positif (gentamisin + media)

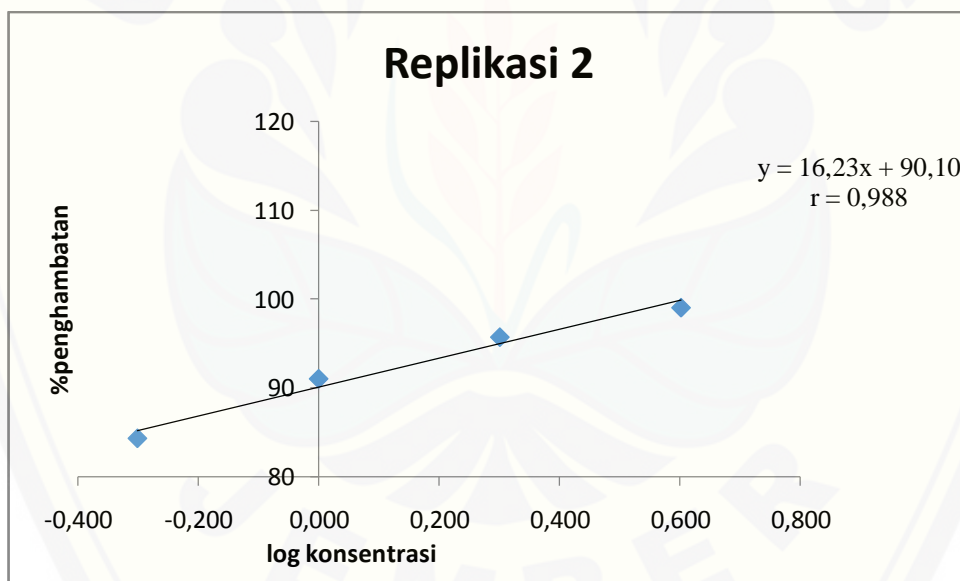
Contoh:

$$\text{Persen penghambatan} = \left(1 - \frac{(0,253-0,110)}{(0,984-0,160)}\right) \times 100\% = 82,653 \%$$

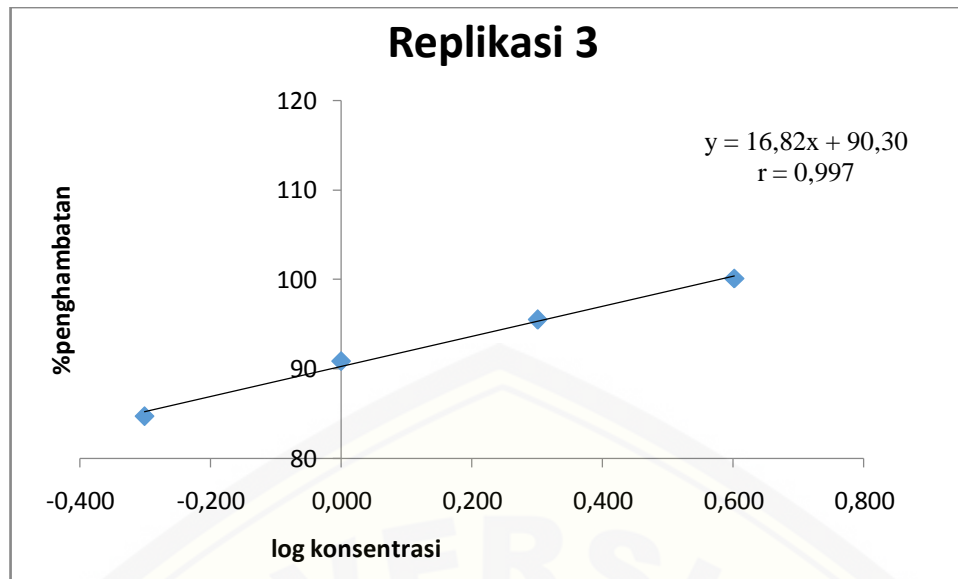
Konsentrasi gentamisin (µg/ml)	% penghambatan bakteri		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
0,5	82,653	84,335	84,770
1	90,053	91,048	90,935
2	95,148	95,760	95,528
4	98,908	99,058	100,121



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n =$, adalah 0,950
2. $r = 0,988 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi gentamisin



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 4$, adalah 0,950
2. $r = 0,988 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi gentamisin



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n=4$, adalah 0,950
2. $r = 0,997 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi gentamisin

Lampiran 4.8. Perhitungan Uji Antibakteri

$$\text{Persentase penghambatan pertumbuhan bakteri} = \left(1 - \frac{(\text{Abs R} - \text{Abs S})}{(\text{Abs P} - \text{Abs Q})}\right) \times 100 \%$$

Keterangan:

Abs = absorbansi

P = kontrol negatif (DMSO 1% + bakteri)

Q = kontrol kontrol negatif (DMSO 1% + media)

R = uji (ekstrak/ fraksi + bakteri)

S = kontrol uji (ekstrak/ fraksi + media)

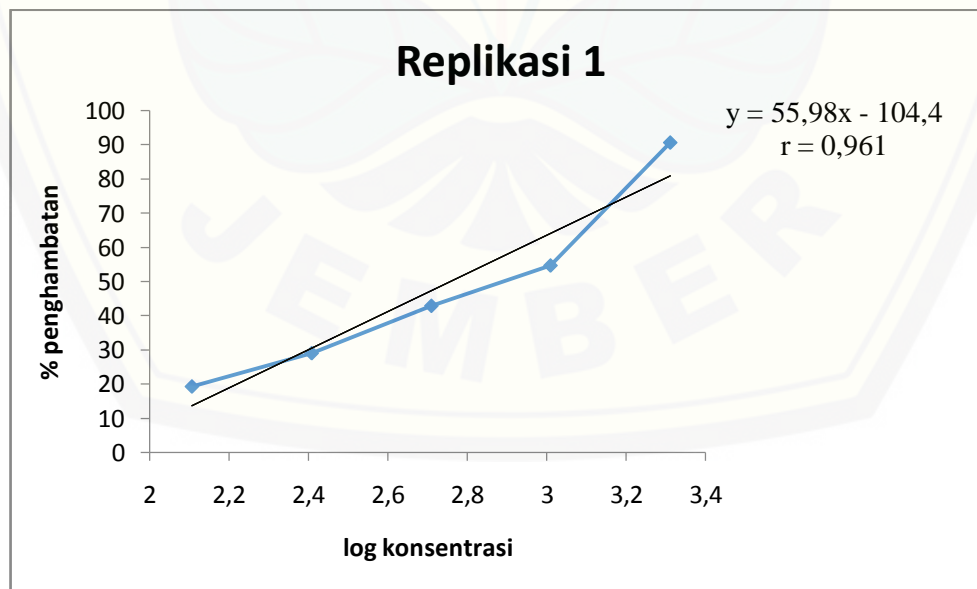
Contoh:

$$\text{Persen penghambatan} = \left(1 - \frac{(0,320 - 0,227)}{(1,097 - 0,105)}\right) \times 100\% = 90,631 \%$$

a. Persen penghambatan ekstrak

Konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g/ml}$)	% penghambatan bakteri		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
128	19,208	17,216	18,015
256	28,979	29,485	28,620
512	42,780	42,680	42,896
1024	54,668	51,443	53,705
2048	90,631	93,299	85,622

Kurva penghambatan bakteri oleh ekstrak

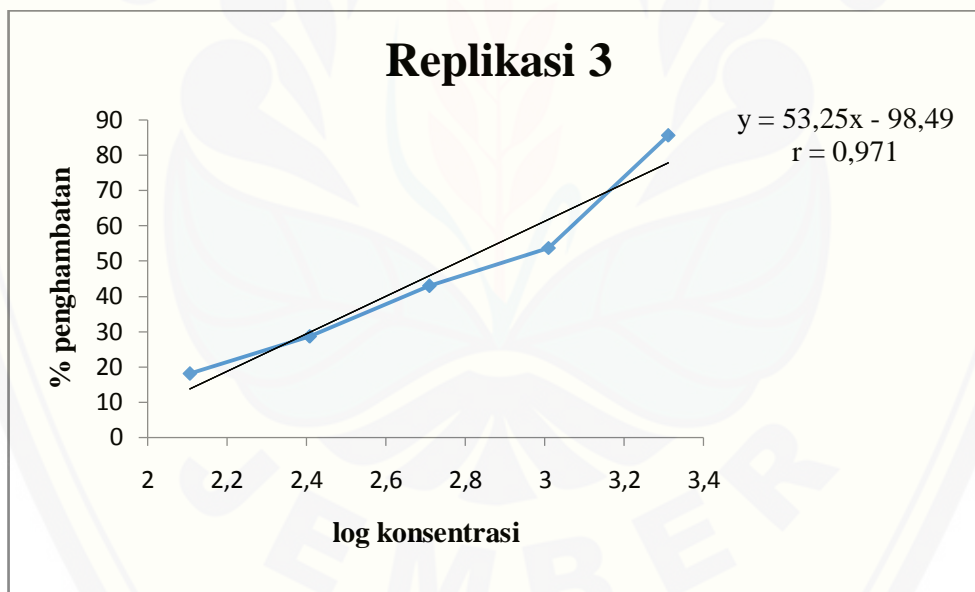


3. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 5$, adalah 0,878

4. $r = 0,961 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi ekstrak



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n=5$, adalah 0,878
2. $r = 0,948 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi ekstrak

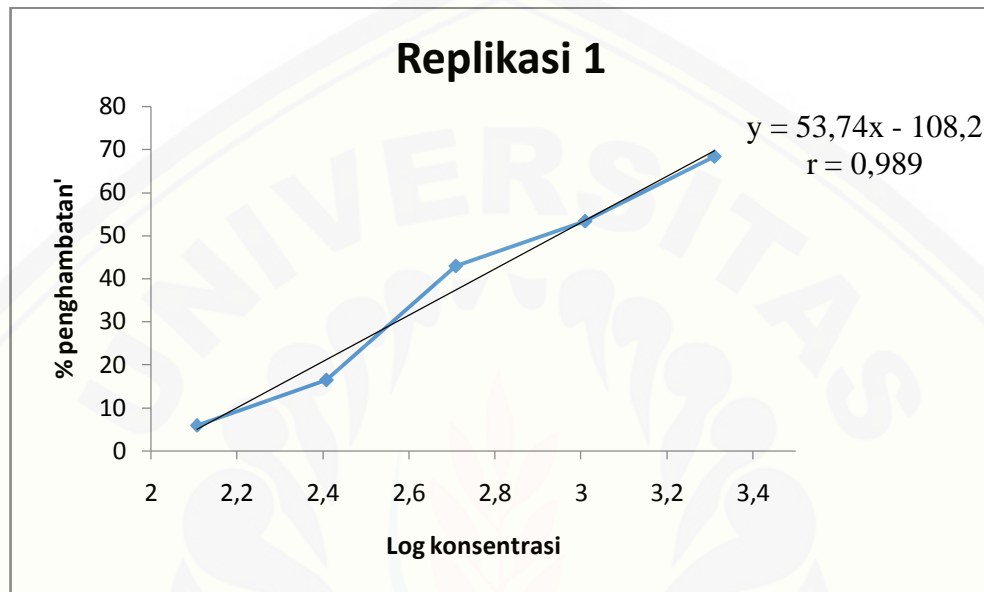


1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n=5$, adalah 0,878
2. $r = 0,971 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi ekstrak

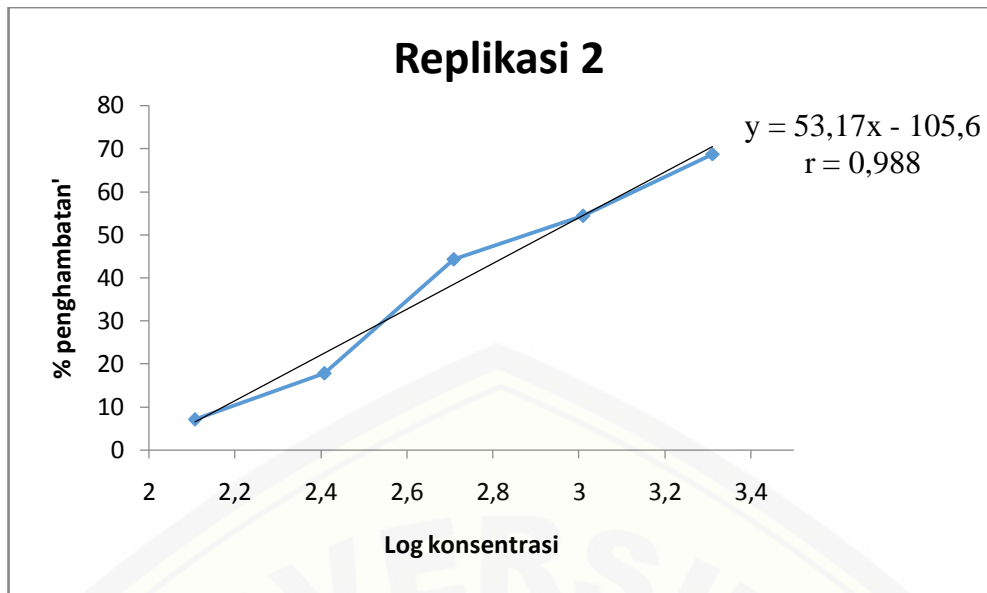
b. Persen penghambatan fraksi heksana

Konsentrasi fraksi ($\mu\text{g/ml}$)	% penghambatan bakteri		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
128	5,8965	7,0152	6,0719
256	16,3867	17,7403	17,1642
512	42,9208	44,2496	43,7246
1024	53,3082	54,3676	55,2239
2048	68,3236	68,7352	69,4708

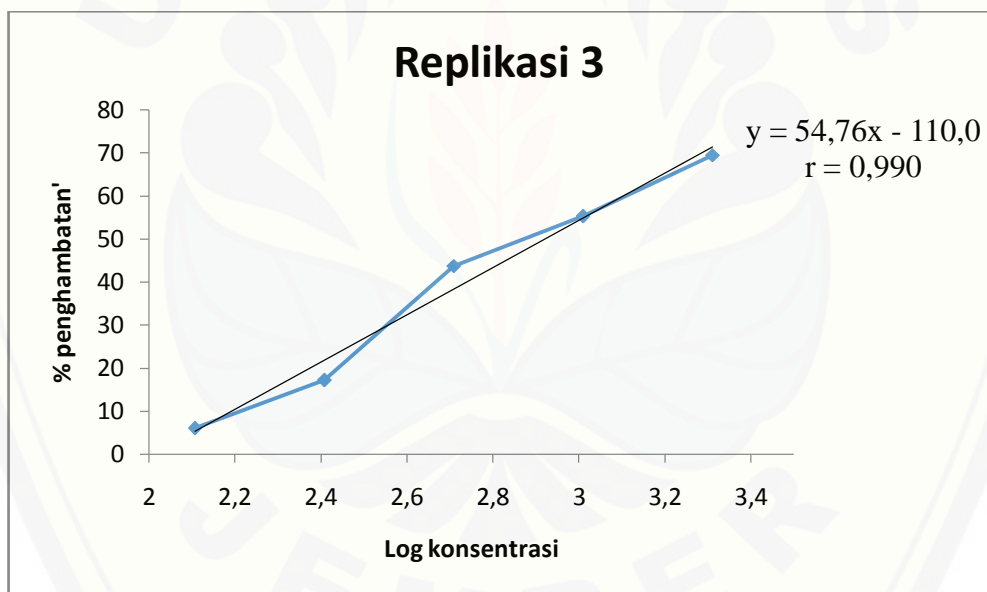
Kurva penghambatan bakteri oleh fraksi heksana



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n=5$, adalah 0,878
2. $r = 0,989 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi heksana



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n=5$, adalah 0,878
2. $r = 0,988 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi heksana

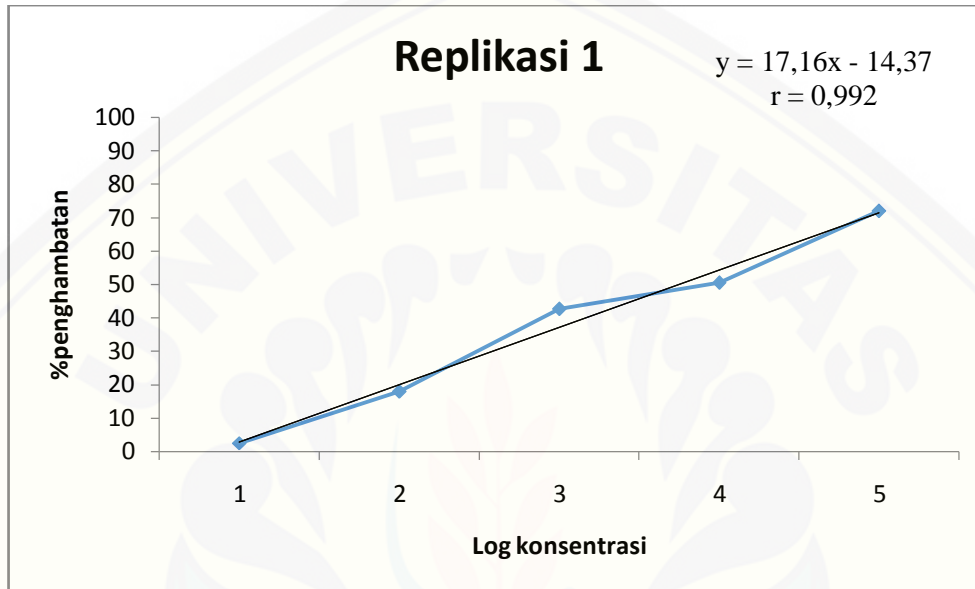


1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n=5$, adalah 0,878
2. $r = 0,990 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi heksana

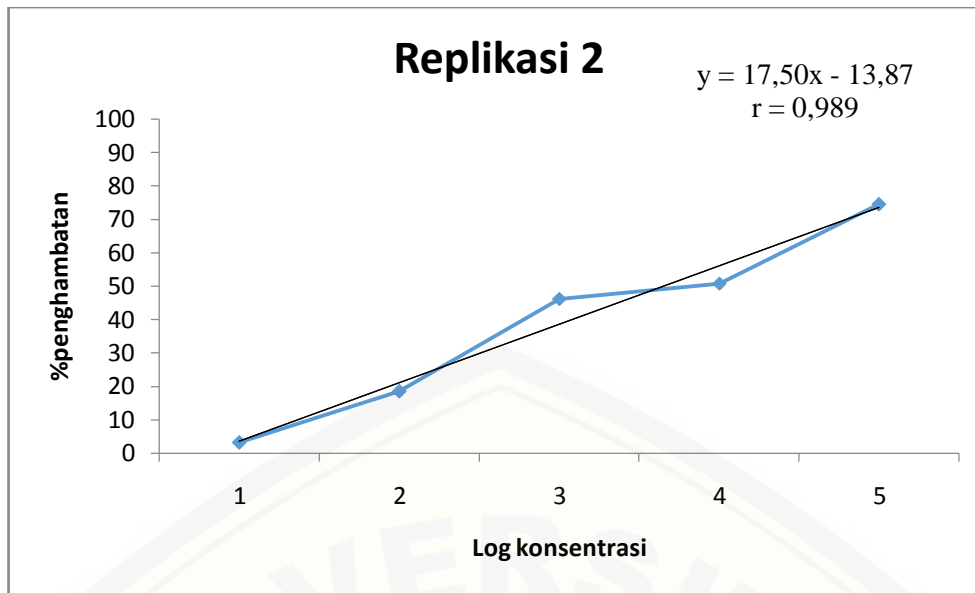
c. Persen penghambatan fraksi diklorometana

Konsentrasi fraksi ($\mu\text{g/ml}$)	% penghambatan bakteri		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
128	2,503	3,190	2,917
256	17,929	18,459	17,775
512	42,612	46,250	43,318
1024	50,531	50,831	51,153
2048	72,026	74,550	77,510

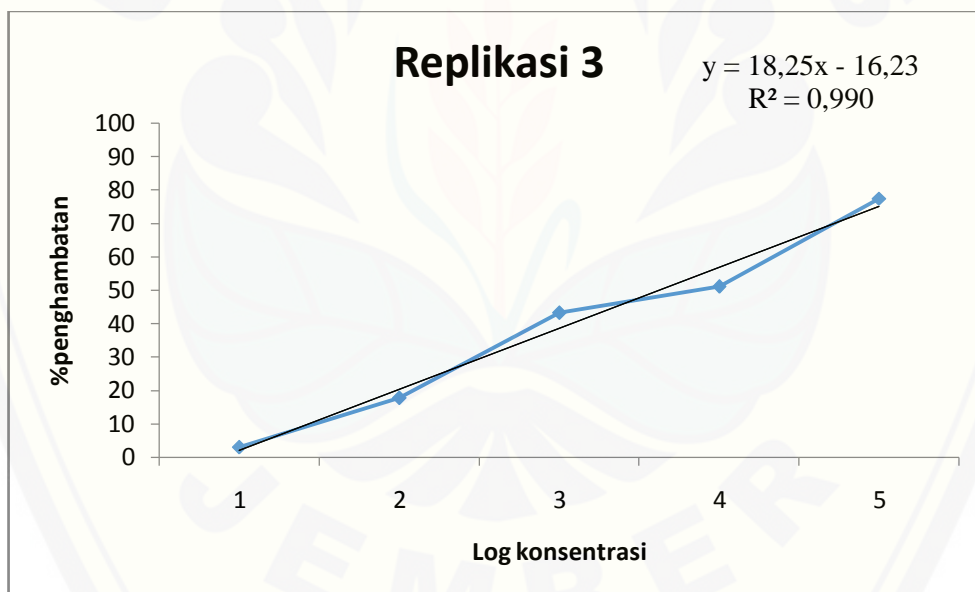
Kurva penghambatan bakteri oleh fraksi diklorometana



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n=5$, adalah 0,878
2. $r = 0,992 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi diklorometana



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n=5$, adalah 0,878
2. $r = 0,989 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi diklorometana

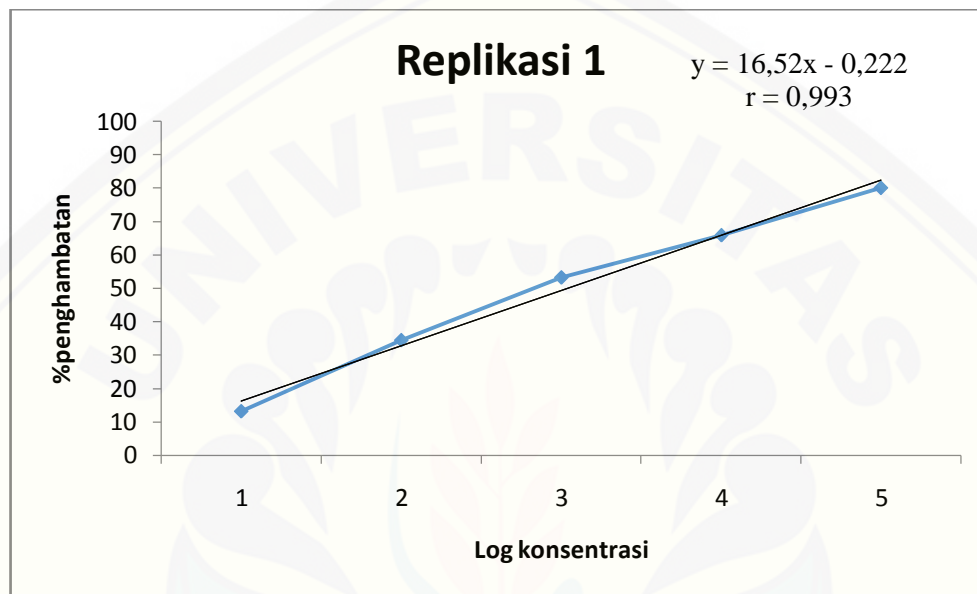


1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n=5$, adalah 0,878
2. $r = 0,948 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi diklorometana

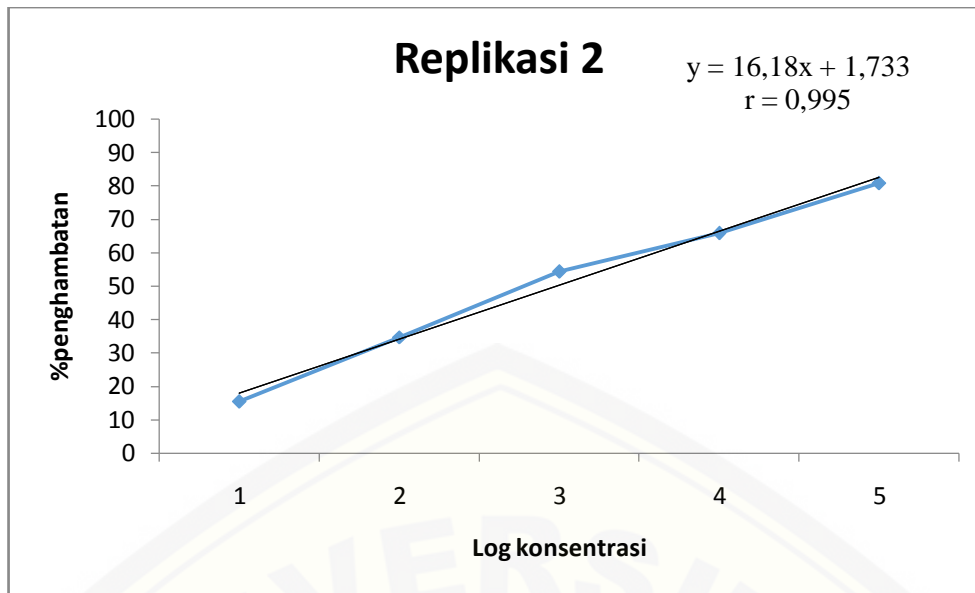
d. Persen penghambatan fraksi etil asetat

Konsentrasi fraksi ($\mu\text{g/ml}$)	% penghambatan bakteri		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
128	13,198	15,514	15,129
256	34,385	34,739	35,482
512	53,205	54,469	53,697
1024	65,958	65,902	65,502
2048	80,048	80,877	80,563

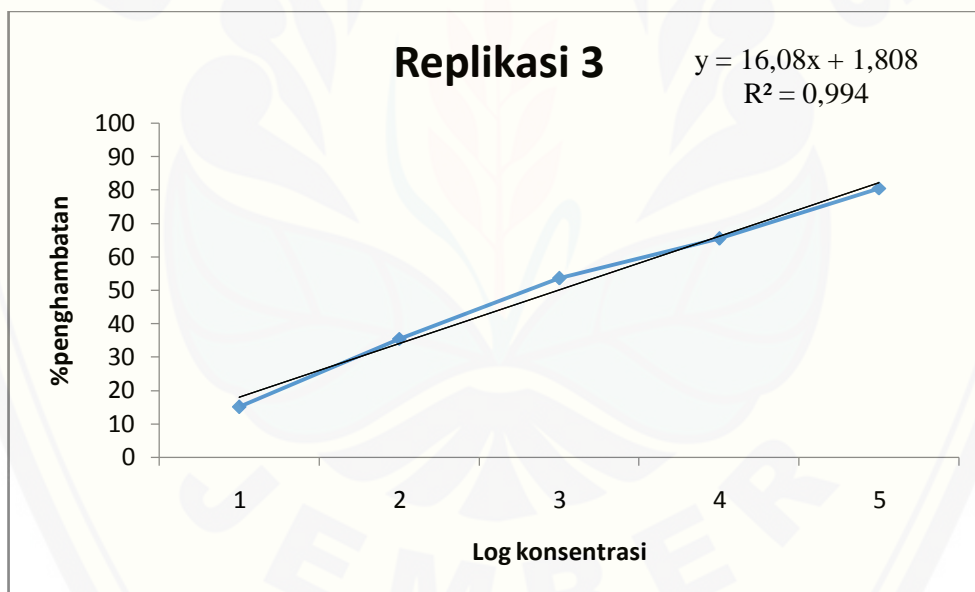
Kurva penghambatan bakteri oleh fraksi etil asetat



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n=5$, adalah 0,878
2. $r = 0,993 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi etil asetat



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n=5$, adalah 0,878
2. $r = 0,995 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi etil asetat



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n=5$, adalah 0,878
2. $r = 0,994 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi etil asetat

Lampiran 4.9. Hasil Analisis Probit (IC50) Antibakteri *Kibatalia arborea* (Bl.) G.Don

a. Ekstrak Metanol

Replikasi 1

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 ,010	19,873	,052	77,208	1,298	-1,284	1,888
,020	29,460	,155	99,195	1,469	-,810	1,996
,030	37,819	,309	116,478	1,578	-,510	2,066
,040	45,636	,519	131,582	1,659	-,285	2,119
,050	53,173	,790	145,426	1,726	-,102	2,163
,060	60,560	1,130	158,467	1,782	,053	2,200
,070	67,877	1,544	170,971	1,832	,189	2,233
,080	75,176	2,042	183,111	1,876	,310	2,263
,090	82,493	2,631	195,009	1,916	,420	2,290
,100	89,857	3,321	206,755	1,954	,521	2,315
,150	128,023	8,648	265,325	2,107	,937	2,424
,200	169,618	18,270	327,559	2,229	1,262	2,515
,250	215,921	34,197	398,337	2,334	1,534	2,600
,300	268,182	58,909	483,995	2,428	1,770	2,685
,350	327,839	95,050	594,733	2,516	1,978	2,774
,400	396,673	144,616	748,372	2,598	2,160	2,874
,450	476,998	207,764	976,479	2,679	2,318	2,990
,500	571,914	282,309	1333,766	2,757	2,451	3,125
,550	685,717	365,205	1913,542	2,836	2,563	3,282
,600	824,572	454,974	2879,299	2,916	2,658	3,459
,650	997,703	552,850	4536,581	2,999	2,743	3,657
,700	1219,639	662,738	7503,169	3,086	2,821	3,875
,750	1514,839	791,522	13149,337	3,180	2,898	4,119
,800	1928,369	951,012	24910,657	3,285	2,978	4,396
,850	2554,907	1163,922	53089,995	3,407	3,066	4,725
,900	3640,085	1483,926	139125,533	3,561	3,171	5,143
,910	3965,003	1571,538	175803,573	3,598	3,196	5,245
,920	4350,934	1671,842	226787,372	3,639	3,223	5,356
,930	4818,781	1788,685	300210,853	3,683	3,253	5,477
,940	5401,005	1927,860	410857,634	3,732	3,285	5,614
,950	6151,375	2098,635	587969,562	3,789	3,322	5,769
,960	7167,201	2317,121	896468,566	3,855	3,365	5,953
,970	8648,727	2614,911	1506957,881	3,937	3,417	6,178
,980	11102,700	3067,197	3009315,266	4,045	3,487	6,478
,990	16458,903	3935,698	8970233,934	4,216	3,595	6,953

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 2

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 ,010	23,509	,001	99,220	1,371	-2,992	1,997
,020	34,225	,005	124,461	1,534	-2,311	2,095
,030	43,435	,013	144,004	1,638	-1,880	2,158
,040	51,962	,028	160,928	1,716	-1,556	2,207
,050	60,119	,051	176,343	1,779	-1,293	2,246
,060	68,063	,085	190,801	1,833	-1,069	2,281
,070	75,888	,134	204,620	1,880	-.874	2,311
,080	83,654	,200	218,009	1,922	-.699	2,338
,090	91,405	,288	231,114	1,961	-.541	2,364
,100	99,174	,403	244,044	1,996	-.395	2,387
,150	139,016	1,600	308,678	2,143	,204	2,490
,200	181,816	4,710	378,358	2,260	,673	2,578
,250	228,895	11,648	459,983	2,360	1,066	2,663
,300	281,477	25,543	563,682	2,449	1,407	2,751
,350	340,927	50,829	707,966	2,533	1,706	2,850
,400	408,911	92,272	930,125	2,612	1,965	2,969
,450	487,563	152,144	1307,915	2,688	2,182	3,117
,500	579,724	227,379	2002,245	2,763	2,357	3,302
,550	689,305	311,504	3343,761	2,838	2,493	3,524
,600	821,889	400,100	6036,054	2,915	2,602	3,781
,650	985,781	493,037	11682,322	2,994	2,693	4,068
,700	1193,988	593,488	24255,522	3,077	2,773	4,385
,750	1468,273	707,239	54696,592	3,167	2,850	4,738
,800	1848,465	843,796	137828,474	3,267	2,926	5,139
,850	2417,566	1020,781	411026,703	3,383	3,009	5,614
,900	3388,805	1278,763	1648656,012	3,530	3,107	6,217
,910	3676,811	1348,091	2309628,661	3,565	3,130	6,364
,920	4017,497	1426,881	3333033,668	3,604	3,154	6,523
,930	4428,647	1517,946	4991737,454	3,646	3,181	6,698
,940	4937,770	1625,497	7842194,509	3,694	3,211	6,894
,950	5590,245	1756,232	13137118,14	3,747	3,245	7,119
,960	6467,798	1921,713	24105081,45	3,811	3,284	7,382
,970	7737,617	2144,429	50890337,48	3,889	3,331	7,707
,980	9819,655	2477,341	137616169,3	3,992	3,394	8,139
,990	14295,776	3101,994	661813762,5	4,155	3,492	8,821

a. A heterogeneity factor is used.

b. 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 ,010	17,394	,481	58,547	1,240	-,318	1,768
,020	26,431	1,116	77,931	1,422	,047	1,892
,030	34,468	1,900	93,554	1,537	,279	1,971
,040	42,087	2,835	107,432	1,624	,452	2,031
,050	49,511	3,921	120,305	1,695	,593	2,080
,060	56,853	5,166	132,547	1,755	,713	2,122
,070	64,181	6,576	144,375	1,807	,818	2,159
,080	71,541	8,157	155,932	1,855	,912	2,193
,090	78,964	9,919	167,317	1,897	,996	2,224
,100	86,476	11,870	178,606	1,937	1,074	2,252
,150	125,981	24,827	235,379	2,100	1,395	2,372
,200	169,893	44,195	295,983	2,230	1,645	2,471
,250	219,580	71,657	364,435	2,342	1,855	2,562
,300	276,471	109,002	445,718	2,442	2,037	2,649
,350	342,268	157,783	547,367	2,534	2,198	2,738
,400	419,127	218,752	681,493	2,622	2,340	2,833
,450	509,879	291,427	867,473	2,707	2,465	2,938
,500	618,356	374,450	1135,347	2,791	2,573	3,055
,550	749,912	466,936	1531,094	2,875	2,669	3,185
,600	912,286	569,813	2127,647	2,960	2,756	3,328
,650	1117,148	686,399	3048,812	3,048	2,837	3,484
,700	1383,018	822,769	4521,381	3,141	2,915	3,655
,750	1741,342	989,004	6997,929	3,241	2,995	3,845
,800	2250,617	1202,709	11487,881	3,352	3,080	4,060
,850	3035,095	1498,708	20636,763	3,482	3,176	4,315
,900	4421,597	1961,522	43460,286	3,646	3,293	4,638
,910	4842,247	2091,364	52072,497	3,685	3,320	4,717
,920	5344,699	2241,479	63392,932	3,728	3,351	4,802
,930	5957,555	2418,196	78726,951	3,775	3,383	4,896
,940	6725,452	2631,121	100313,069	3,828	3,420	5,001
,950	7722,767	2895,748	132298,879	3,888	3,462	5,122
,960	9085,015	3239,283	183224,692	3,958	3,510	5,263
,970	11093,313	3715,709	273599,142	4,045	3,570	5,437
,980	14466,422	4455,441	466616,902	4,160	3,649	5,669
,990	21983,054	5922,480	1084029,017	4,342	3,773	6,035

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

b. Fraksi Heksana

Replikasi 1

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 .010	34,825	4,896	83,636	1,542	,690	1,922
.020	51,022	9,160	110,788	1,708	,962	2,044
.030	65,011	13,612	132,592	1,813	1,134	2,123
.040	78,010	18,321	151,912	1,892	1,263	2,182
.050	90,478	23,313	169,805	1,957	1,368	2,230
.060	102,648	28,603	186,796	2,011	1,456	2,271
.070	114,659	34,203	203,197	2,059	1,534	2,308
.080	126,601	40,120	219,209	2,102	1,603	2,341
.090	138,538	46,364	234,976	2,142	1,666	2,371
.100	150,519	52,944	250,603	2,178	1,724	2,399
.150	212,192	91,147	329,192	2,327	1,960	2,517
.200	278,780	138,874	413,265	2,445	2,143	2,616
.250	352,331	196,852	508,565	2,547	2,294	2,706
.300	434,781	265,333	621,860	2,638	2,424	2,794
.350	528,315	343,917	762,272	2,723	2,536	2,882
.400	635,610	431,751	942,183	2,803	2,635	2,974
.450	760,115	528,212	1178,058	2,881	2,723	3,071
.500	906,436	633,715	1491,973	2,957	2,802	3,174
.550	1080,922	750,161	1915,048	3,034	2,875	3,282
.600	1292,657	881,105	2494,096	3,111	2,945	3,397
.650	1555,182	1032,058	3304,015	3,192	3,014	3,519
.700	1889,744	1211,413	4472,335	3,276	3,083	3,651
.750	2331,972	1432,594	6233,046	3,368	3,156	3,795
.800	2947,222	1719,056	9060,876	3,469	3,235	3,957
.850	3872,079	2117,367	14070,870	3,588	3,326	4,148
.900	5458,633	2740,676	24583,744	3,737	3,438	4,391
.910	5930,696	2915,426	28144,877	3,773	3,465	4,449
.920	6489,906	3117,351	32606,457	3,812	3,494	4,513
.930	7165,837	3354,899	38340,270	3,855	3,526	4,584
.940	8004,295	3640,871	45953,798	3,903	3,561	4,662
.950	9080,951	3995,900	56513,031	3,958	3,602	4,752
.960	10532,319	4456,171	72079,639	4,023	3,649	4,858
.970	12638,241	5093,373	97247,123	4,102	3,707	4,988
.980	16103,472	6080,382	144879,837	4,207	3,784	5,161
.990	23592,805	8030,582	271839,072	4,373	3,905	5,434

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 2

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 ,010	30,402	4,150	74,658	1,483	,618	1,873
,020	45,046	7,868	99,770	1,654	,896	1,999
,030	57,809	11,792	120,068	1,762	1,072	2,079
,040	69,742	15,974	138,130	1,843	1,203	2,140
,050	81,244	20,435	154,910	1,910	1,310	2,190
,060	92,517	25,186	170,887	1,966	1,401	2,233
,070	103,680	30,237	186,339	2,016	1,481	2,270
,080	114,814	35,597	201,452	2,060	1,551	2,304
,090	125,975	41,273	216,356	2,100	1,616	2,335
,100	137,205	47,275	231,146	2,137	1,675	2,364
,150	195,395	82,457	305,719	2,291	1,916	2,485
,200	258,790	127,017	385,670	2,413	2,104	2,586
,250	329,337	181,851	476,311	2,518	2,260	2,678
,300	408,939	247,453	583,985	2,612	2,393	2,766
,350	499,781	323,681	717,401	2,699	2,510	2,856
,400	604,574	409,837	888,641	2,781	2,613	2,949
,450	726,832	505,295	1114,040	2,861	2,704	3,047
,500	871,264	610,369	1415,675	2,940	2,786	3,151
,550	1044,397	726,901	1824,700	3,019	2,861	3,261
,600	1255,595	858,489	2388,035	3,099	2,934	3,378
,650	1518,866	1010,822	3180,968	3,182	3,005	3,503
,700	1856,269	1192,630	4332,235	3,269	3,077	3,637
,750	2304,935	1417,944	6079,219	3,363	3,152	3,784
,800	2933,270	1711,363	8906,235	3,467	3,233	3,950
,850	3884,945	2121,928	13958,263	3,589	3,327	4,145
,900	5532,610	2769,365	24672,502	3,743	3,442	4,392
,910	6025,816	2951,804	28326,245	3,780	3,470	4,452
,920	6611,569	3163,062	32917,322	3,820	3,500	4,517
,930	7321,569	3412,167	38836,565	3,865	3,533	4,589
,940	8205,024	3712,821	46724,416	3,914	3,570	4,670
,950	9343,447	4087,161	57708,371	3,971	3,611	4,761
,960	10884,336	4574,096	73977,225	4,037	3,660	4,869
,970	13131,157	5250,937	100429,607	4,118	3,720	5,002
,980	16851,727	6304,797	150862,834	4,227	3,800	5,179
,990	24969,159	8403,135	286776,589	4,397	3,924	5,458

a. A heterogeneity factor is used.

b. 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 ,010	34,525	5,334	81,305	1,538	,727	1,910
,020	50,351	9,790	107,559	1,702	,991	2,032
,030	63,972	14,373	128,611	1,806	1,158	2,109
,040	76,596	19,171	147,244	1,884	1,283	2,168
,050	88,680	24,217	164,481	1,948	1,384	2,216
,060	100,457	29,528	180,835	2,002	1,470	2,257
,070	112,063	35,119	196,604	2,049	1,546	2,294
,080	123,588	40,998	211,986	2,092	1,613	2,326
,090	135,096	47,174	227,117	2,131	1,674	2,356
,100	146,634	53,656	242,099	2,166	1,730	2,384
,150	205,870	90,921	317,197	2,314	1,959	2,501
,200	269,592	136,925	397,009	2,431	2,136	2,599
,250	339,767	192,392	486,713	2,531	2,284	2,687
,300	418,226	257,670	592,228	2,621	2,411	2,772
,350	507,016	332,581	721,423	2,705	2,522	2,858
,400	608,640	416,538	884,965	2,784	2,620	2,947
,450	726,308	509,074	1097,068	2,861	2,707	3,040
,500	864,301	610,570	1376,742	2,937	2,786	3,139
,550	1028,511	722,749	1750,547	3,012	2,859	3,243
,600	1227,353	848,917	2258,033	3,089	2,929	3,354
,650	1473,357	994,293	2961,927	3,168	2,998	3,472
,700	1786,154	1166,884	3968,226	3,252	3,067	3,599
,750	2198,609	1379,538	5469,946	3,342	3,140	3,738
,800	2770,910	1654,707	7855,446	3,443	3,219	3,895
,850	3628,589	2036,961	12028,194	3,560	3,309	4,080
,900	5094,428	2634,531	20647,091	3,707	3,421	4,315
,910	5529,512	2801,958	23537,571	3,743	3,447	4,372
,920	6044,383	2995,372	27143,064	3,781	3,476	4,434
,930	6666,017	3222,844	31754,465	3,824	3,508	4,502
,940	7436,154	3496,602	37845,040	3,871	3,544	4,578
,950	8423,679	3836,354	46241,246	3,926	3,584	4,665
,960	9752,706	4276,648	58532,571	3,989	3,631	4,767
,970	11677,285	4885,914	78236,891	4,067	3,689	4,893
,980	14836,022	5829,099	115122,699	4,171	3,766	5,061
,990	21636,939	7691,109	211829,224	4,335	3,886	5,326

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

c. Fraksi DCM

Replikasi 1

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 ,010	45,725	4,264	113,154	1,660	,630	2,054
,020	64,757	8,104	144,847	1,811	,909	2,161
,030	80,756	12,162	169,673	1,907	1,085	2,230
,040	95,347	16,489	191,314	1,979	1,217	2,282
,050	109,139	21,104	211,113	2,038	1,324	2,325
,060	122,439	26,017	229,734	2,088	1,415	2,361
,070	135,427	31,238	247,565	2,132	1,495	2,394
,080	148,222	36,775	264,857	2,171	1,566	2,423
,090	160,905	42,634	281,786	2,207	1,630	2,450
,100	173,537	48,823	298,483	2,239	1,689	2,475
,150	237,294	84,963	381,556	2,375	1,929	2,582
,200	304,292	130,351	469,517	2,483	2,115	2,672
,250	376,659	185,555	568,931	2,576	2,268	2,755
,300	456,203	250,603	687,336	2,659	2,399	2,837
,350	544,833	324,798	834,775	2,736	2,512	2,922
,400	644,807	406,892	1024,855	2,809	2,609	3,011
,450	758,960	495,743	1275,765	2,880	2,695	3,106
,500	891,016	591,095	1612,081	2,950	2,772	3,207
,550	1046,049	694,026	2068,646	3,020	2,841	3,316
,600	1231,235	807,028	2698,103	3,090	2,907	3,431
,650	1457,159	934,138	3585,050	3,164	2,970	3,554
,700	1740,255	1081,490	4874,284	3,241	3,034	3,688
,750	2107,766	1258,747	6833,100	3,324	3,100	3,835
,800	2609,036	1482,495	10007,570	3,416	3,171	4,000
,850	3345,677	1785,080	15690,752	3,524	3,252	4,196
,900	4574,857	2243,535	27772,412	3,660	3,351	4,444
,910	4934,008	2369,404	31899,039	3,693	3,375	4,504
,920	5356,202	2513,600	37088,074	3,729	3,400	4,569
,930	5862,243	2681,653	43783,663	3,768	3,428	4,641
,940	6484,131	2881,888	52714,206	3,812	3,460	4,722
,950	7274,316	3127,618	65163,217	3,862	3,495	4,814
,960	8326,561	3441,967	83625,049	3,920	3,537	4,922
,970	9830,990	3870,251	113689,395	3,993	3,588	5,056
,980	12259,808	4520,208	171126,308	4,088	3,655	5,233
,990	17362,511	5766,263	326404,679	4,240	3,761	5,514

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 2

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 ,010	43,418	2,587	114,572	1,638	,413	2,059
,020	61,370	5,169	145,623	1,788	,713	2,163
,030	76,438	8,006	169,828	1,883	,903	2,230
,040	90,165	11,114	190,862	1,955	1,046	2,281
,050	103,131	14,501	210,062	2,013	1,161	2,322
,060	115,625	18,172	228,086	2,063	1,259	2,358
,070	127,819	22,133	245,321	2,107	1,345	2,390
,080	139,824	26,390	262,015	2,146	1,421	2,418
,090	151,720	30,952	278,342	2,181	1,491	2,445
,100	163,562	35,826	294,433	2,214	1,554	2,469
,150	223,264	65,141	374,355	2,349	1,814	2,573
,200	285,906	103,440	458,894	2,456	2,015	2,662
,250	353,480	151,572	554,556	2,548	2,181	2,744
,300	427,673	209,906	668,955	2,631	2,322	2,825
,350	510,257	278,022	812,555	2,708	2,444	2,910
,400	603,320	354,692	1000,091	2,781	2,550	3,000
,450	709,485	438,415	1251,979	2,851	2,642	3,098
,500	832,190	528,320	1596,510	2,920	2,723	3,203
,550	976,116	624,830	2074,401	2,990	2,796	3,317
,600	1147,881	729,859	2747,939	3,060	2,863	3,439
,650	1357,237	846,869	3718,676	3,133	2,928	3,570
,700	1619,321	981,250	5163,397	3,209	2,992	3,713
,750	1959,204	1141,505	7414,719	3,292	3,057	3,870
,800	2422,267	1342,151	11166,915	3,384	3,128	4,048
,850	3101,881	1611,341	18105,499	3,492	3,207	4,258
,900	4234,116	2015,774	33459,184	3,627	3,304	4,525
,910	4564,599	2126,238	38837,621	3,659	3,328	4,589
,920	4952,921	2252,525	45676,642	3,695	3,353	4,660
,930	5418,140	2399,382	54609,832	3,734	3,380	4,737
,940	5989,556	2573,943	66687,913	3,777	3,411	4,824
,950	6715,173	2787,596	83785,726	3,827	3,445	4,923
,960	7680,764	3060,084	109599,842	3,885	3,486	5,040
,970	9060,138	3430,004	152558,534	3,957	3,535	5,183
,980	11284,646	3988,840	236970,362	4,052	3,601	5,375
,990	15950,571	5053,131	475054,844	4,203	3,704	5,677

a. A heterogeneity factor is used.

b. 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 ,010	50,985	7,819	113,973	1,707	,893	2,057
,020	70,627	13,579	144,641	1,849	1,133	2,160
,030	86,848	19,249	168,472	1,939	1,284	2,227
,040	101,463	25,003	189,122	2,006	1,398	2,277
,050	115,147	30,909	207,920	2,061	1,490	2,318
,060	128,239	37,000	225,519	2,108	1,568	2,353
,070	140,937	43,299	242,300	2,149	1,636	2,384
,080	153,370	49,819	258,509	2,186	1,697	2,412
,090	165,628	56,571	274,315	2,219	1,753	2,438
,100	177,774	63,565	289,845	2,250	1,803	2,462
,150	238,302	102,398	366,183	2,377	2,010	2,564
,200	300,793	148,146	445,221	2,478	2,171	2,649
,250	367,313	201,222	532,122	2,565	2,304	2,726
,300	439,500	261,715	632,157	2,643	2,418	2,801
,350	518,997	329,337	751,825	2,715	2,518	2,876
,400	607,688	403,548	899,539	2,784	2,606	2,954
,450	707,899	483,891	1086,242	2,850	2,685	3,036
,500	822,642	570,461	1326,353	2,915	2,756	3,123
,550	955,984	664,257	1639,680	2,980	2,822	3,215
,600	1113,630	767,399	2055,103	3,047	2,885	3,313
,650	1303,939	883,347	2617,464	3,115	2,946	3,418
,700	1539,797	1017,447	3400,989	3,187	3,008	3,532
,750	1842,405	1178,193	4538,018	3,265	3,071	3,657
,800	2249,855	1380,196	6288,747	3,352	3,140	3,799
,850	2839,847	1651,909	9242,549	3,453	3,218	3,966
,900	3806,735	2060,867	15077,776	3,581	3,314	4,178
,910	4085,914	2172,650	16979,933	3,611	3,337	4,230
,920	4412,456	2300,473	19323,441	3,645	3,362	4,286
,930	4801,708	2449,147	22280,456	3,681	3,389	4,348
,940	5277,170	2625,901	26127,719	3,722	3,419	4,417
,950	5877,164	2842,272	31342,017	3,769	3,454	4,496
,960	6669,799	3118,269	38826,166	3,824	3,494	4,589
,970	7792,208	3493,000	50541,458	3,892	3,543	4,704
,980	9581,942	4059,167	71806,556	3,981	3,608	4,856
,990	13273,285	5137,504	125042,316	4,123	3,711	5,097

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

d. Fraksi Etil Asetat

Replikasi 1

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						
,010	16,696	4,249	36,630	1,223	,628	1,564
,020	25,036	7,423	50,498	1,399	,871	1,703
,030	32,376	10,569	61,946	1,510	1,024	1,792
,040	39,283	13,781	72,267	1,594	1,139	1,859
,050	45,975	17,096	81,945	1,663	1,233	1,914
,060	52,562	20,533	91,221	1,721	1,312	1,960
,070	59,109	24,105	100,238	1,772	1,382	2,001
,080	65,661	27,823	109,088	1,817	1,444	2,038
,090	72,248	31,692	117,837	1,859	1,501	2,071
,100	78,894	35,722	126,534	1,897	1,553	2,102
,150	113,572	58,489	170,334	2,055	1,767	2,231
,200	151,715	86,201	216,599	2,181	1,936	2,336
,250	194,499	119,693	267,383	2,289	2,078	2,427
,300	243,110	159,870	324,791	2,386	2,204	2,512
,350	298,939	207,676	391,505	2,476	2,317	2,593
,400	363,727	264,030	471,273	2,561	2,422	2,673
,450	439,744	329,791	569,487	2,643	2,518	2,755
,500	530,050	405,878	693,888	2,724	2,608	2,841
,550	638,903	493,656	855,505	2,805	2,693	2,932
,600	772,430	595,580	1070,297	2,888	2,775	3,030
,650	939,835	715,987	1362,513	2,973	2,855	3,134
,700	1155,663	862,176	1771,748	3,063	2,936	3,248
,750	1444,500	1046,482	2368,289	3,160	3,020	3,374
,800	1851,847	1291,094	3290,345	3,268	3,111	3,517
,850	2473,782	1641,050	4851,448	3,393	3,215	3,686
,900	3561,159	2208,352	7946,238	3,552	3,344	3,900
,910	3888,738	2371,183	8957,091	3,590	3,375	3,952
,920	4278,846	2561,206	10203,503	3,631	3,408	4,009
,930	4753,110	2787,185	11777,575	3,677	3,445	4,071
,940	5345,190	3062,513	13827,457	3,728	3,486	4,141
,950	6110,997	3408,995	16608,567	3,786	3,533	4,220
,960	7152,035	3865,302	20604,943	3,854	3,587	4,314
,970	8677,954	4509,100	26869,112	3,938	3,654	4,429
,980	11221,848	5530,962	38258,710	4,050	3,743	4,583
,990	16828,056	7624,463	66840,488	4,226	3,882	4,825

a. A heterogeneity factor is used.

b. 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 ,010	14,509	5,977	26,570	1,162	,777	1,424
,020	22,003	9,997	37,758	1,342	1,000	1,577
,030	28,656	13,848	47,209	1,457	1,141	1,674
,040	34,957	17,690	55,863	1,544	1,248	1,747
,050	41,091	21,585	64,073	1,614	1,334	1,807
,060	47,153	25,564	72,018	1,674	1,408	1,857
,070	53,199	29,647	79,803	1,726	1,472	1,902
,080	59,269	33,849	87,497	1,773	1,530	1,942
,090	65,387	38,181	95,150	1,815	1,582	1,978
,100	71,577	42,651	102,797	1,855	1,630	2,012
,150	104,085	67,345	141,801	2,017	1,828	2,152
,200	140,163	96,564	183,595	2,147	1,985	2,264
,250	180,931	131,162	229,816	2,258	2,118	2,361
,300	227,555	172,078	282,145	2,357	2,236	2,450
,350	281,421	220,353	342,691	2,449	2,343	2,535
,400	344,280	277,135	414,336	2,537	2,443	2,617
,450	418,429	343,697	501,161	2,622	2,536	2,700
,500	506,978	421,570	608,976	2,705	2,625	2,785
,550	614,266	512,899	746,026	2,788	2,710	2,873
,600	746,563	621,070	924,175	2,873	2,793	2,966
,650	913,317	751,601	1161,262	2,961	2,876	3,065
,700	1129,513	913,533	1485,996	3,053	2,961	3,172
,750	1420,577	1122,143	1948,508	3,152	3,050	3,290
,800	1833,769	1405,209	2645,595	3,263	3,148	3,423
,850	2469,384	1819,929	3792,294	3,393	3,260	3,579
,900	3590,931	2511,067	5986,518	3,555	3,400	3,777
,910	3930,831	2712,993	6687,127	3,594	3,433	3,825
,920	4336,644	2950,389	7542,524	3,637	3,470	3,878
,930	4831,379	3234,982	8611,186	3,684	3,510	3,935
,940	5450,927	3584,814	9986,282	3,736	3,554	3,999
,950	6255,068	4029,470	11826,718	3,796	3,605	4,073
,960	7352,657	4621,857	14429,911	3,866	3,665	4,159
,970	8969,358	5469,311	18433,029	3,953	3,738	4,266
,980	11681,669	6838,579	25533,467	4,068	3,835	4,407
,990	17715,559	9718,825	42701,231	4,248	3,988	4,630

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 ,010	14,289	5,823	26,323	1,155	,765	1,420
,020	21,736	9,783	37,491	1,337	,990	1,574
,030	28,363	13,590	46,940	1,453	1,133	1,672
,040	34,649	17,398	55,604	1,540	1,241	1,745
,050	40,776	21,266	63,830	1,610	1,328	1,805
,060	46,839	25,223	71,798	1,671	1,402	1,856
,070	52,891	29,290	79,610	1,723	1,467	1,901
,080	58,971	33,480	87,336	1,771	1,525	1,941
,090	65,106	37,804	95,025	1,814	1,578	1,978
,100	71,315	42,270	102,712	1,853	1,626	2,012
,150	103,987	67,009	141,973	2,017	1,826	2,152
,200	140,333	96,383	184,124	2,147	1,984	2,265
,250	181,486	131,260	230,818	2,259	2,118	2,363
,300	228,633	172,599	283,774	2,359	2,237	2,453
,350	283,189	221,465	345,152	2,452	2,345	2,538
,400	346,949	279,026	417,926	2,540	2,446	2,621
,450	422,270	346,573	506,312	2,626	2,540	2,704
,500	512,345	425,659	616,320	2,710	2,629	2,790
,550	621,633	518,469	756,485	2,794	2,715	2,879
,600	756,586	628,470	939,090	2,879	2,798	2,973
,650	926,932	761,329	1182,627	2,967	2,882	3,073
,700	1148,118	926,328	1516,914	3,060	2,967	3,181
,750	1446,378	1139,153	1994,119	3,160	3,057	3,300
,800	1870,533	1428,333	2715,172	3,272	3,155	3,434
,850	2524,330	1852,670	3904,774	3,402	3,268	3,592
,900	3680,809	2561,150	6189,357	3,566	3,408	3,792
,910	4031,859	2768,393	6920,524	3,606	3,442	3,840
,920	4451,271	3012,164	7814,135	3,648	3,479	3,893
,930	4962,968	3304,562	8931,776	3,696	3,519	3,951
,940	5604,290	3664,207	10371,666	3,749	3,564	4,016
,950	6437,474	4121,652	12301,507	3,809	3,615	4,090
,960	7575,943	4731,564	15035,577	3,879	3,675	4,177
,970	9255,065	5604,928	19248,181	3,966	3,749	4,284
,980	12076,879	7017,806	26739,100	4,082	3,846	4,427
,990	18370,274	9995,247	44919,664	4,264	4,000	4,652

a. Logarithm base = 10.

Tabel IC₅₀ Ekstrak dan Fraksi

Kelompok	IC ₅₀ (µg/ml)			Rata-rata IC ₅₀ ± SD µg/ml	CV
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
Ekstrak	573,914	579,724	618,356	590,665±24,157	4,090
Fraksi heksana	906,436	871,264	864,301	880,667±22,587	2,565
Fraksi diklorometana	891,016	832,190	822,642	848.616±37,029	4,363
Fraksi etil asetat	530,050	506,978	512,345	516,458±12,073	2,338

Lampiran 4.10. Hasil Analisis Statistika

a. Hasil Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ekstrak	,341	3	..	,846	3	,230
heksana	,328	3	..	,870	3	,296
DCM	,338	3	..	,852	3	,247
EA	,300	3	..	,913	3	,428

a. Lilliefors Significance Correction

b. Hasil Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

penghambatan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,220	3	8	,163

c. Hasil Uji One Way Anova

ANOVA

penghambatan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	300113,840	3	100037,947	153,281	,000
Within Groups	5221,148	8	652,644		
Total	305334,988	11			

d. Hasil Uji LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: penghambatan

LSD

(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak	heksana	-290,002333*	20,858948	,000	-338,10315	-241,90151
	DCM	-257,951333*	20,858948	,000	-306,05215	-209,85051
	EA	74,207000*	20,858948	,007	26,10618	122,30782
heksana	ekstrak	290,002333*	20,858948	,000	241,90151	338,10315
	DCM	32,051000	20,858948	,163	-16,04982	80,15182
	EA	364,209333*	20,858948	,000	316,10851	412,31015
DCM	ekstrak	257,951333*	20,858948	,000	209,85051	306,05215
	heksana	-32,051000	20,858948	,163	-80,15182	16,04982
	EA	332,158333*	20,858948	,000	284,05751	380,25915
EA	ekstrak	-74,207000*	20,858948	,007	-122,30782	-26,10618
	heksana	-364,209333*	20,858948	,000	-412,31015	-316,10851
	DCM	-332,158333*	20,858948	,000	-380,25915	-284,05751

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