



**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS
ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI TANAMAN
SENGGUGU (*Rothea serrata* (L.) Steane & Mabb.) TERHADAP
*Pseudomonas aeruginosa***

SKRIPSI

Oleh

**Ifan Arif Maulana
NIM 152210101122**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS
ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI TANAMAN
SENGGUGU (*Rotheca serrata* (L.) Steane & Mabb.) TERHADAP
*Pseudomonas aeruginosa***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Pendidikan Strata Satu (S1) Fakultas Farmasi
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**Ifan Arif Maulana
NIM 152210101122**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT. yang memberi saya kesempatan, nikmat, petunjuk, dan rahmatNya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Nabi Muhammad SAW. sebagai panutan terbesar dalam hidup saya;
3. Alm. Kakek Salihen, Alm. Kakek Moh. Sadi, Nenek Saadah, Bapak Sayit Abdullah, Ibu Siti Nurhasanah, Adik Zulkifli Dwi Bachtiar, Adik Cinta Tri Aurelia, serta anggota keluarga besar yang telah memberi saya doa dan dukungan tiada henti;
4. Guru dan dosen yang telah memberikan ilmu dan membimbing saya selama ini;
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

من جدّ وجد

“Man jadda wajada”

“Siapa yang bersungguh-sungguh pasti akan berhasil”

“It is foolish to fear what we have yet to see and know”

-Itachi Uchiha



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Ifan Arif Maulana

NIM : 152210101122

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Tanaman Senggugu (*Rothea serrata* (L.) Steane & Mabb.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*" 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 mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jikaternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 9 Juli 2019

Yang menyatakan,

Ifan Arif Maulana
NIM 152210101122

SKRIPSI

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
TANAMAN SENGGUGU (*Rotheca serrata* (L.) Steane & Mabb.)
TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa***

Oleh:

Ifan Arif Maulana

NIM 152210101122

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama: Ari S. Nugraha., S.F.,GdipSc.,M.Sc-Res.,Ph.D.,Apt

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Tanaman Senggugu (*Rothea serrata* (L.) Steane & Mabb.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*” karya Ifan Arif Maulana telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Jumat, 9 Juli 2019

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Ari S. N., S.F.,GdipSc.,M.Sc-Res.,Ph.D.,Apt.

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

NIP 197807212003121001

NIP 198201292009121003

Tim Penguji

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

Indah Purnama S, S.Farm.,M.Sc.,Apt.

Lesty Wulandari, S.Si.,M.Farm.,Apt.

NIP 198304282008122004

NIP 19760414200212201

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lesty Wulandari, S.Si.,M.Farm.,Apt.

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Tanaman Senggugu (*Rothea serrata* (L.) Steane & Mabb.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*; Ifan Arif Maulana, 152210101122; 2019; 101 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyakit infeksi bakteri menjadi salah satu penyumbang tingginya mortalitas dan morbiditas manusia di seluruh dunia, termasuk Indonesia. Penggunaan terapi antibiotik yang tidak rasional dan tidak terkontrol dalam menangani penyakit infeksi bakteri telah dilaporkan memicu masalah baru yaitu munculnya kasus bakteri resisten antibiotik (BRA) dan gen resisten antibiotik (GRA), salah satunya pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (*P. Aeruginosa*). Hingga saat ini, data epidemiologis resistensi bakteri *P. aeruginosa* di Indonesia diperkirakan terus berkembang, sehingga memicu eksplorasi penemuan alternatif antibakteri, salah satunya dengan pemanfaatan aktivitas antibakteri dari kandungan fitokimia tanaman Senggugu (*Rothea serrata* (L.) Steane & Mabb.).

Berdasarkan latar belakang tersebut, pada penelitian ini dilakukan skrining fitokimia dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan uji aktivitas antibakteri dengan metode mikrodilusi berdasarkan protokol standar CLSI M07-A10 pada ekstrak dan fraksi Senggugu terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Skrining fitokimia yang dilakukan pada ekstrak dan fraksi Senggugu meliputi uji alkaloid, terpenoid atau steroid bebas, flavonoid, dan polifenol. Pada uji aktivitas antibakteri, gentamisin digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan DMSO 1% digunakan sebagai kontrol negatif.

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol Senggugu mengandung golongan senyawa terpenoid atau steroid bebas, flavonoid, dan polifenol, serta tidak ditemukan adanya kandungan alkaloid. Pada fraksinasi Senggugu, golongan senyawa terdistribusi berdasarkan kepolarannya mengikuti prinsip *like dissolved like*. Hasil skrining fitokimia fraksi Senggugu yaitu fraksi heksana dan diklorometana mengandung golongan senyawa terpenoid atau steroid bebas, serta fraksi etil asetat dan residu mengandung golongan senyawa flavonoid dan polifenol.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi Senggugu berupa nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan kemampuan antibakteri yang semakin besar. Urutan IC_{50} yang dari terkecil yaitu fraksi n-heksana ($176,919 \pm 6,303 \mu\text{g/mL}$), lalu fraksi diklorometana ($343,767 \pm 12,399 \mu\text{g/mL}$) dan ekstrak ($380,462 \pm 17,014 \mu\text{g/mL}$) yang tidak berbeda signifikan, kemudian fraksi fraksi etil asetat ($547,255 \pm 12,006 \mu\text{g/mL}$), dan residu ($924,943 \pm 27,393 \mu\text{g/mL}$). Keterulangan hasil uji dapat diterima karena sesuai dengan persyaratan pengujian berbasis sel yaitu nilai $CV < 30\%$. Nilai MIC gentamisin (0,5 ppm) sebagai kontrol positif yaitu 80,510 ppm dengan CV 0,206%. Hal tersebut sesuai dengan persyaratan MIC gentamisin pada protokol standar CLSI M07-A10, yakni pada kisaran 0,5-2 $\mu\text{g/mL}$, sehingga metode yang digunakan sudah benar. DMSO 1% sebagai pelarut tidak memberikan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah Subhanallahu Wa Ta'ala atas segala ridho dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Tanaman Senggugu (*Rothea serrata* (L.) Steane & Mabb.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan Pendidikan Strata Satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, maka dari itu penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Siti Nurhasanah, Bapak Sayit Abdullah, Adek Zul Kifli Dwi Bachtiar dan Cinta Tri Aurelia, serta seluruh keluarga besar Fadli yang telah memberi dukungan moral dan materi.
2. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember, Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. atas kesempatan yang diberikan untuk menyelesaikan skripsi.
3. Bapak Ari Satia Nugraha, S.F., GdipSc., Msc-Res., Ph.D., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama dan Bapak Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu untuk membimbing dan memberi fasilitas bagi penulis dalam menyusun skripsi.
4. Ibu Indah Purnama Sary, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dosen Penguji I dan Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dosen Penguji II atas segala kritik dan saran yang diberikan selama penyusunan skripsi.
5. Bapak Antonius Nugraha Widhi Pratama, M.PH., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang senantiasa memberikan bimbingan akademik selama penulis kuliah di Fakultas Farmasi Univeritas Jember.
6. Ibu Wayan, Mbak Hani, Mbak Dini, Mbak Indri, Bu Itus, Mbak Parkha, Ibu Widi, Mas Erwan, Mbak Azizah, Ibu Ning yang telah membantu penulis saat melakukan penelitian di laboratorium.

7. Mbak Yuvita Dian Damayanti dan Yuvita Dian Damayanti sebagai kakak yang senantiasa membantu dan mendukung penulis.
8. Rekan kerja *Worm Project* dan Antibakteri MMB (Ita, Nimas, Resta, dan Ridho) yang telah berjuang bersama dalam menyelesaikan skripsi.
9. Segenap anggota grup riset *Drug Utilisation and Discovery Research Group* (DUDRG).
10. Sahabat-sahabat seperjuangan di Lab Tuman (Lanjar, Nita, Asrin, Tinton, Jumahwi, Fawas, dan Retno) yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi.
11. Sahabat-sahabat seperjuangan di Lab Farmasetika (Firda, Fara, dan Taffana) yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi.
12. Segenap keluarga kelas C Fakultas Farmasi Universitas Jember angkatan 2015.
13. Seluruh teman-teman Fakultas Farmasi Universitas Jember angkatan 2015 “Libitum”.
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan penulis satu per satu.

Hanya doa yang dapat penulis panjatkan semoga segala kebaikan dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis mendapatkan balasan dari Allah Subhanallahu Wa Ta’ala.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi banyak orang.

Jember, 28 Juni 2019

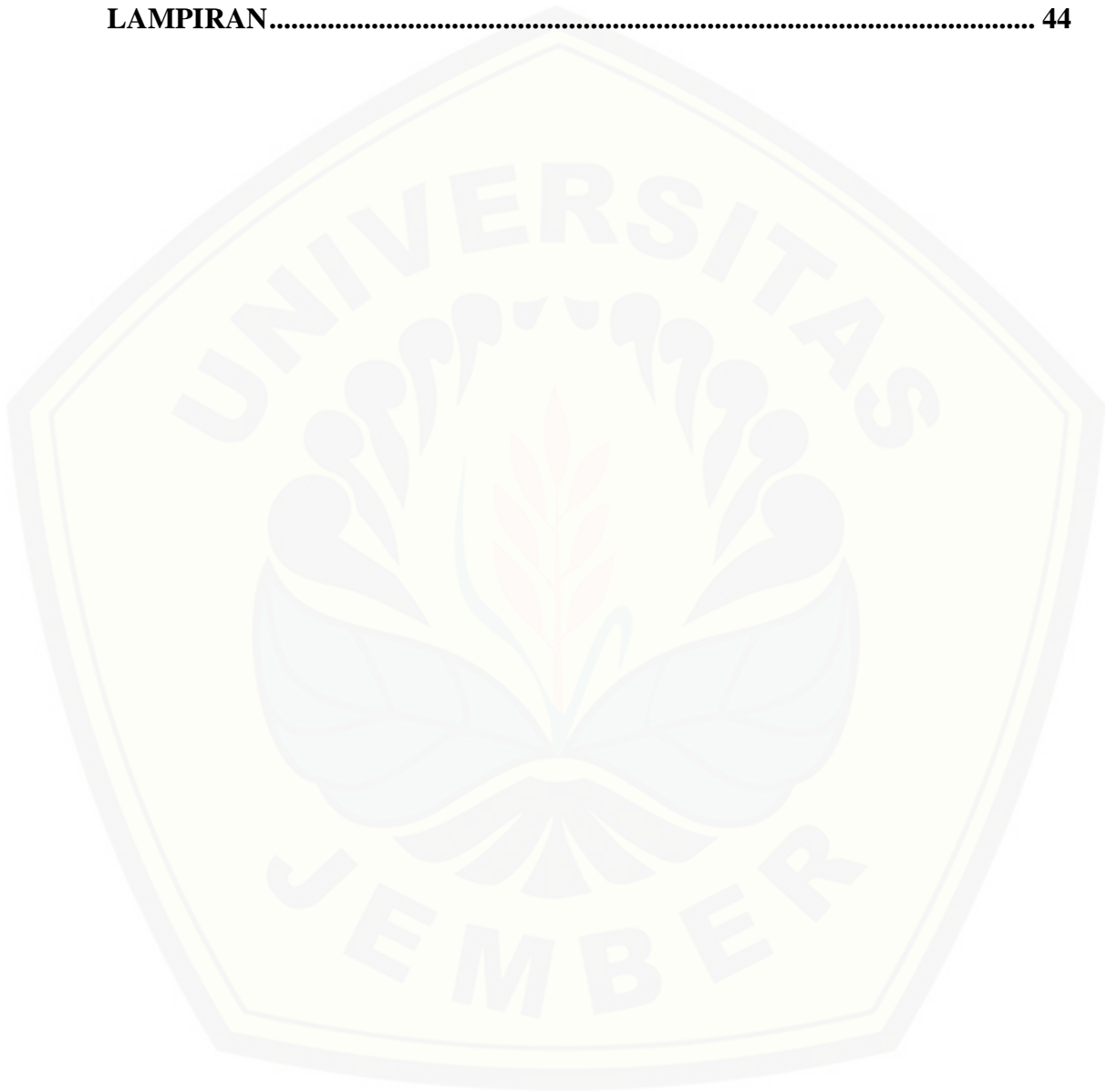
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR RUMUS	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Penyakit Infeksi.....	5
2.1.1 Infeksi Bakteri	5
2.1.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
2.2 Antibakteri	8
2.3 Senggugu (<i>Rothea serrata</i> (L.) Steane & Mabb).....	8
2.3.1 Nama Daerah	9
2.3.2 Taksonomi	9
2.3.3 Morfologi.....	10

2.3.4 Habitat	10
2.3.5 Kandungan Kimia.....	10
2.3.6 Khasiat.....	10
2.4 Ekstraksi.....	11
2.5 Fraksinasi	12
2.6 Skrining Fitokimia	13
2.7 Metode Uji Antibakteri Mikrodilusi	13
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	14
3.1 Jenis Penelitian.....	14
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	14
3.3 Variabel Penelitian	14
3.3.1 Variabel Bebas	14
3.3.2 Variabel Terikat.....	14
3.3.3 Variabel Terkendali	14
3.4 Definisi Operasional	15
3.5 Skema Penelitian.....	15
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	16
3.6.1 Alat	16
3.6.2 Bahan.....	16
3.7 Prosedur Kerja.....	16
3.7.1 Pembuatan Serbuk Simplisia Senggugu.....	16
3.7.2 Pembuatan Ekstrak Metanol Senggugu.....	16
3.7.3 Pembuatan Fraksi Ekstrak Metanol Senggugu.....	17
3.7.4 Skrining Fitokimia.....	17
3.7.5 Uji Aktivitas Antibakteri Metode Mikrodilusi	18
3.8 Analisis Data.....	22
BAB 4. PEMBAHASAN	23
4.1 Simplisia Senggugu	23
4.2 Ekstraksi dan Fraksinasi Senggugu.....	23
4.3 Skrining Fitokimia	25
4.4 Uji Aktivitas Antibakteri.....	27

BAB 5. PENUTUP	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	44



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 <i>P. aeruginosa</i> (Dao, 2016)	6
Gambar 2.2 Sensitivitas <i>P. aeruginosa</i> klinis terhadap beberapa antibiotik (Rukmono dan Zuraida, 2013)	7
Gambar 2.3 Senggugu A) tanaman, B) daun, C) bunga, D) buah (Facciola, 1998) 9	
Gambar 3.1 Skema penelitian	15
Gambar 3.2 Skema alur fraksinasi bertingkat Senggugu	17
Gambar 3.3 Pemetaan mikrodilusi <i>microplate-96-well</i>	21
Gambar 4.1 Simplisia daun Senggugu (<i>Rothea serrata</i> (L.) Steanne & Mabb.) 23	
Gambar 4.2 Struktur kimia terpenoid Senggugu.....	32
Gambar 4.3 Struktur kimia steroid Senggugu.....	33
Gambar 4.4 Struktur kimia flavonoid Senggugu	34
Gambar 4.5 Struktur kimia polifenol Senggugu	34

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Reagen penampak noda berbagai golongan senyawa (Harbone, 2006)	13
Tabel 4.1 Persentase rendemen hasil ekstraksi dan fraksinasi Senggugu	24
Tabel 4.2 Hasil skrining fitokimia secara KLT ekstrak metanol daun Senggugu	26
Tabel 4.3 Hasil skrining fitokimia fraksi Senggugu	27
Tabel 4.4 Aktivitas antibakteri gentamisin terhadap bakteri <i>P. aeruginosa</i>	30
Tabel 4.5 Nilai IC ₅₀ dari sampel uji Senggugu terhadap <i>P. aeruginosa</i>	31

DAFTAR RUMUS

	Halaman
Rumus 3. 1 % penghambatan	22



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 4.1 Perhitungan Persentase Rendemen.....	45
Lampiran 4.2 Perhitungan Pembuatan Media CAMHB.....	47
Lampiran 4.3 Perhitungan Konsentrasi Kontrol Positif, Kontrol Negatif, dan Larutan Uji.....	49
Lampiran 4.4 Tabulasi Hasil Uji dan Penghambatan Kontrol Positif Gentamisin terhadap <i>P. aeruginosa</i>	51
Lampiran 4.5 Tabulasi Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Senggugu terhadap <i>P. aeruginosa</i>	54
Lampiran 4.6 Tabulasi Data Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Senggugu	57
Lampiran 4.6 Hasil Analisis Probit Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Senggugu.....	67
Lampiran 4.7 Hasil Analisis Statistika Nilai IC ₅₀ Ekstrak dan Fraksi Senggugu..	85
Lampiran 4.8 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Senggugu.....	87

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi merupakan salah satu penyakit penyumbang tingginya prevalensi kejadian mortalitas dan morbiditas manusia di seluruh dunia (Yanling dkk., 2013). Penularan penyakit infeksi dapat terjadi secara langsung (*direct transmission*) atau tidak langsung (*indirect transmission*)(Siegel dkk., 2007). Penyakit infeksi disebabkan oleh beberapa mikroorganisme patogen, salah satunya bakteri (WHO, 2016).

Menurut *World Health Organization* (WHO), beberapa penyakit infeksi bakteri yang menduduki peringkat sepuluh besar penyebab kematian di seluruh dunia pada tahun 2018 yaitu infeksi saluran pernafasan dengan 3 juta kematian, diare dengan 1,4 juta kematian, dan tuberkulosis dengan 1,3 juta kematian (WHO, 2018). Secara umum, WHO pada Cassini (2019), menyatakan bahwa penyakit infeksi bakteri rata-rata dapat membunuh hampir 9 juta orang di seluruh dunia tiap tahunnya.

Penelusuran senyawa antibakteri untuk menangani infeksi bakteri pertama kali ditemukan pada 1910 oleh Paul Ehrlich dalam rancangan “*magic bullet*” (Qiao dkk., 2018). Pada tahun 1942, penemuan antibiotik penisilin sebagai agen antibakteri memicu banyaknya penemuan dan pengembangan beberapa kelas antibiotik lain. Antibiotik sebagai antibakteri merupakan zat yang diproduksi suatu mikroorganisme tertentu untuk mematikan bakteri (Irving dkk., 2005). Selama 5 dekade terakhir, penemuan dan pemakaian antibiotik sebagai antibakteri mengalami peningkatan signifikan sehingga antibiotik memainkan peran penting dalam peningkatan harapan hidup pasien penyakit infeksi pada paruh kedua abad ke-20 (Sarmah dkk., 2006).

Penggunaan antibiotik telah dilaporkan memicu masalah baru yaitu munculnya bakteri resisten antibiotik (BRA) dan gen resisten antibiotik (GRA)(Yezli dan Li, 2012), yang disebabkan oleh pemakaian antibiotik yang tidak rasional dan tidak terkontrol (Deshpande dan Joshi, 2011). Resistensi

antibiotik merupakan suatu kondisi penurunan aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada dosis normal atau kadar hambat minimalnya (Utami, 2012). Saat ini, beberapa BRA dan GRA sudah mengalami *multiple drugs resistance* (MDR) yang didefinisikan sebagai kondisi bakteri yang resisten terhadap dua atau lebih antibiotik maupun klasifikasi antibiotik (Yezli dan Li, 2012). Bakteri yang mengalami resistensi mampu bertahan hidup dan berkembang biak, kemudian menimbulkan penyakit infeksi berkelanjutan yang sulit untuk disembuhkan (Wright, 2010). Prevalensi resistensi antibiotik umumnya tinggi di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia (Radji, 2009).

Resistensi antibiotik di Indonesia lebih banyak terjadi pada bakteri patogen gram negatif (Severin dkk., 2010), karena susunan membran sel bakteri gram negatif memiliki permeabilitas rendah terhadap antibiotik (Zgurskaya dkk., 2015). *Pseudomonas aeruginosa* (*P. Aeruginosa*) merupakan salah satu bakteri patogen gram negatif penyumbang tingginya kasus MDR di Indonesia pada kasus bakteremia, pneumonia, insufisiensi paru-paru, infeksi saluran kemih, dan lainnya (Lyczak dkk., 2000). Isolat klinis *P. Aeruginosa* telah dilaporkan resisten terhadap ampisilin, trimetoprim, sefurosim, gentamicin, seftriason, eritromisin, kotrimoksazol, tetrasiklin, sefadroksil, amoksisilin, piperasilin, nalidixid, tobramisin, sulfonamida (Rukmono dan Zuraida, 2013). Hingga saat ini, data epidemiologis resistensi bakteri *P. aeruginosa* di Indonesia diperkirakan terus berkembang namun sangat sedikit data yang tercatat secara klinis (Parathon dkk., 2017). Resistensi antibiotik terhadap *P. aeruginosa* memicu eksplorasi penemuan alternatif antibakteri, salah satunya dengan pemanfaatan aktivitas antibakteri dari tanaman Senggugu (*Rothea serrata* (L.) Steane & Mabb.).

Senggugu merupakan tanaman perdu asli India Timur yang menyebar ke Asia Tenggara termasuk Indonesia dan Malaysia (Patel dkk., 2014). Di Indonesia, Senggugu tumbuh di semak belukar, pinggir jalan, pinggir kampung, hutan jati, padang alang-alang, dan di dekat air pada ketinggian 1-1700 m dpl. Senggugu umumnya tumbuh di tempat teduh dan lembab (Kasahara dan Hemmi, 1986). Senggugu memiliki kandungan senyawa kimia meliputi flavonoid, terpenoid, polifenol, dan steroid (Jayashree dan Swaroopa, 2018). Senggugu memiliki

beberapa aktivitas farmakologi meliputi hepatoprotektif (Vidya dkk., 2007), antioksidan (Bhujbal dkk., 2009), antikanker (Zalke dkk., 2010), antiinflamasi dan antirheumatik (Shareef, 2013), antiangiogenik dan vasorelaksan (Mohamed dkk., 2012), analgesik (Poornima dkk., 2015), antihistamin dan antiasma (Bhujbal dkk., 2010), serta antibakteri (Romulo dkk., 2018). Pada penelitian aktivitas antibakteri sebelumnya, ekstrak aseton daun Senggugu memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa* dengan MIC 3 mg/mL, sedangkan terhadap *E. coli*, *B. subtilis*, dan *S. aureus* dengan MIC 2 mg/mL. Pada skrining fitokimia yang telah dilakukan, aktivitas antibakteri Senggugu diduga karena adanya kandungan terpenoid dan steroid (Indriani, 2007).

Berdasarkan ulasan di atas, skrining fitokimia beserta uji aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol dan fraksi Senggugu hingga saat ini belum pernah dilakukan terhadap *P. aeruginosa*. Pemanfaatan ekstrak metanol dan fraksi Senggugu pada penelitian ini dapat berpotensi dalam menunjang publikasi pengembangan agen antibakteri terhadap *P. aeruginosa* berbasis tanaman obat. Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan fraksi Senggugu pada penelitian ini akan dilakukan dengan metode mikrodilusi. Hasil uji penelitian ini berupa nilai konsentrasi yang dibutuhkan untuk menyebabkan kematian 50% organisme uji atau *half maximal inhibitory concentration* (IC₅₀) (Kolarević dkk., 2016).

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini antara lain:

1. Apa saja kandungan fitokimia ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan residu Senggugu?
2. Berapa nilai IC₅₀ ekstrak metanol dan fraksi n-heksana, diklorometana, etil asetat Senggugu terhadap *P. aeruginosa*?

1.3 Tujuan

Adapun tujuan pada penelitian ini antara lain:

1. Untuk mengetahui adanya kandungan fitokimia ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan residu Senggugu.
2. Untuk mengetahui nilai IC_{50} ekstrak metanol dan fraksi n-heksana, diklorometana, etil asetat Senggugu terhadap *P. aeruginosa*.

1.4 Manfaat

Adapun manfaat dari penelitian ini antara lain:

1. Memberikan informasi mengenai sumber antibakteri baru berbasis tanaman obat Senggugu.
2. Penelitian ini menjadi landasan dasar penggunaan Senggugu, sehingga kedepannya diharapkan Senggugu menjadi referensi untuk isolasi senyawa baru dalam penelitian dan pengembangan obat antibakteri.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Infeksi

2.1.1 Infeksi Bakteri

Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme yang dapat menyebabkan penyakit infeksi (WHO, 2016). Bakteri patogen dapat menginfeksi manusia dengan cara menembus pertahanan primer yang berupa selaput mukosa kulit pada saluran pernafasan, pencernaan, dan kemih (Farida dkk., 2014). Penyakit infeksi karena bakteri merupakan salah satu jenis penyakit infeksi yang menyumbang tingginya prevalensi morbiditas dan mortalitas manusia di seluruh dunia (Yanling dkk., 2013)

Menurut *World Health Organization* (WHO), beberapa penyakit infeksi bakteri tercatat menduduki peringkat sepuluh besar penyebab kematian di seluruh dunia (WHO, 2018). Infeksi bakteri pada saluran pernafasan menduduki peringkat keempat dengan 3 juta kematian, diare menduduki peringkat kesembilan dengan 1,4 juta kematian, dan tuberkulosis menduduki peringkat kesepuluh dengan 1,3 juta kematian. Secara umum, WHO pada Cassini (2019), menyatakan bahwa penyakit infeksi bakteri rata-rata membunuh hampir 9 juta orang tiap tahunnya.

Bakteri gram positif meliputi *Staphylococcus*, *Streptococcus* dan *Enterococcus* merupakan penyebab infeksi klinis paling umum yang ditemukan pada infeksi kulit, jaringan lunak hingga sepsis, dan meningitis sistemik (Menichetti, 2005). Selain bakteri patogen gram positif, bakteri gram negatif meliputi *Escherichia coli*, *Vibrio cholera*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Pseudomonas aeruginosa* juga ditemukan pada penyakit infeksi kulit dan jaringan lunak, infeksi paru-paru, infeksi saluran kemih, infeksi ulseratif, diare, pneumonia, serta penyakit menular seksual (Silver, 2011).

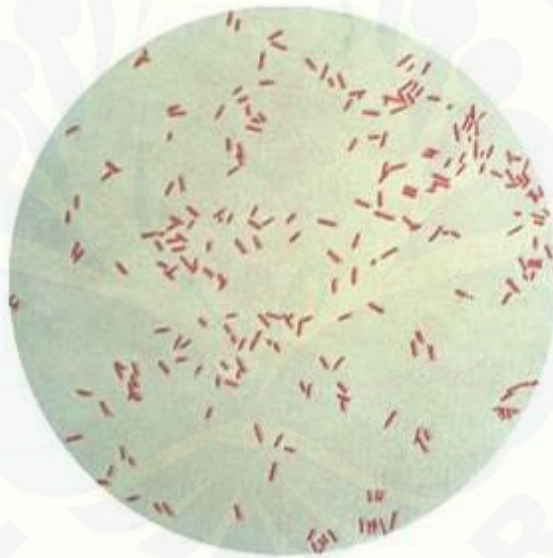
Perkembangan penyakit infeksi akibat bakteri gram negatif lebih diperhatikan dibandingkan bakteri gram positif (Wilcox, 2017), karena susunan membran sel bakteri gram negatif memiliki permeabilitas rendah terhadap agen antibakteri (Zgurskaya dkk., 2015).

2.1.2 *Pseudomonas aeruginosa*

a) Klasifikasi

Menurut Dao (2016), klasifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut:

Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Famili	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Species	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>



Gambar 2.1 *P. aeruginosa* (Dao, 2016)

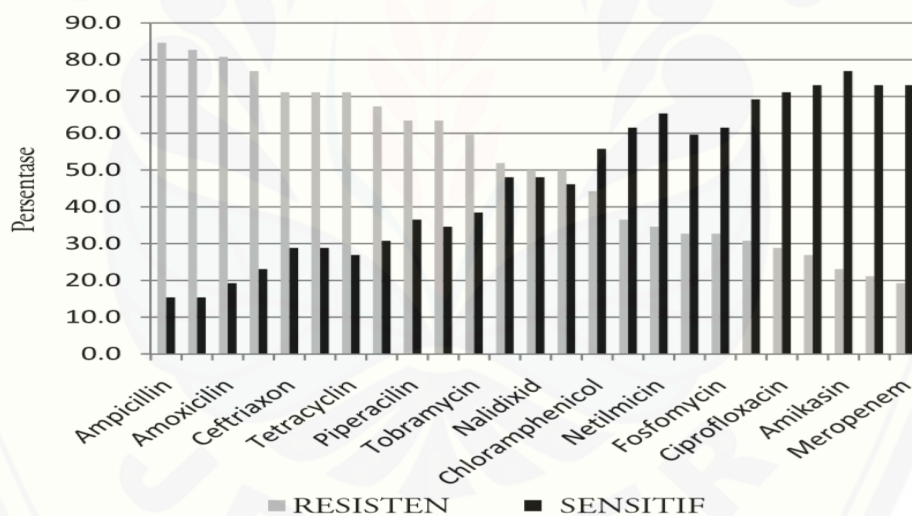
b) Deskripsi

P. aeruginosa merupakan patogen nosokomial utama (kejadian infeksi yang berasal dari rumah sakit) dengan kondisi klinis pasien yang mengalami penurunan sistem imun (Diastuti dkk., 2014). Bakteri *P. aeruginosa* menyebabkan beberapa penyakit seperti bakteremia pada pasien luka bakar, pneumonia, insufisiensi paru-paru, infeksi saluran kemih, dan lainnya (Lyczak dkk., 2000).

P. aeruginosa merupakan bakteri gram negatif aerobik yang memiliki flagel untuk fungsi motilitas (Garcia dkk., 2018). Pada pengamatan mikroskop dengan pewarnaan gram, *P. aeruginosa* secara morfologis berbentuk batang tunggal, ganda, atau kadang-kadang membentuk koloni berwarna kehijauan terlihat seperti rantai pendek dan datar (Karen C. Carroll dkk., 2015). *P. aeruginosa* memiliki ukuran sekitar 0,6 x 2 μm dan mampu tumbuh dengan optimal pada kisaran suhu 37-42°C (Ding dkk., 2016).

c) MDR *Pseudomonas aeruginosa*

P. Aeruginosa telah dilaporkan resisten terhadap ampisilin, trimetroprim, sefurosim, gentamicin, seftriason, eritromisin, kotrimoksazol, tetrasiklin, sefadroksil, amoksisilin, piperasilin, nalidixid, tobramisin, sulfonamida (Rukmono dan Zuraida, 2013).



Gambar 2.2 Sensitivitas *P. aeruginosa* klinis terhadap beberapa antibiotik (Rukmono dan Zuraida, 2013)

Hingga saat ini, data epidemiologis resistensi bakteri *P. aeruginosa* di Indonesia diperkirakan terus berkembang namun sangat sedikit data yang tercatat secara klinis (Parathon dkk., 2017).

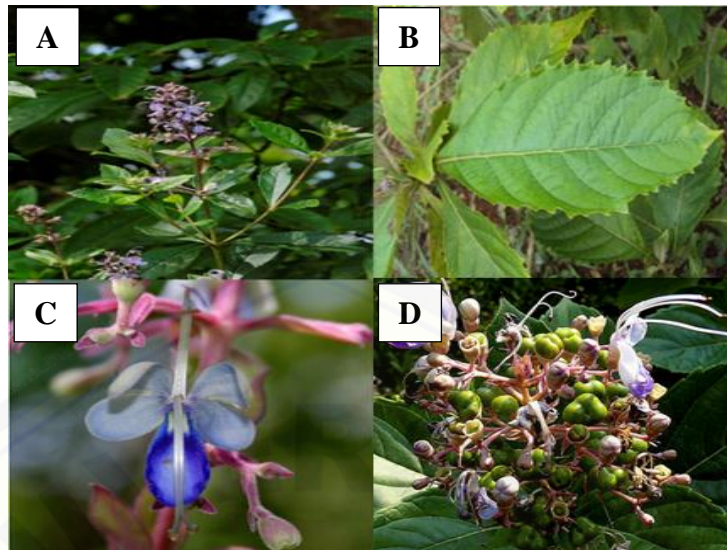
2.2 Antibakteri

Antibakteri adalah bagian dari agen antimikroba yang digunakan untuk mengatasi atau mencegah infeksi bakteri (Irving dkk., 2005). Agen antibakteri pertama kali ditemukan pada 1910 oleh Paul Ehrlich dalam rancangan “*magic bullet*” (Qiao dkk., 2018). Pada awal 1890-an, Paul Ehrlich melakukan investigasi bahwa antibodi dalam darah dapat menyerang mikroba patogen tanpa efek berbahaya pada tubuh, namun antibodi terkadang gagal dalam membunuh mikroba. Pada tahun 1906, konsep “*side-chain theory*” atau “*receptor theory*” diusulkan oleh Paul Ehrlich setelah fokus pada pengujian zat warna arsenik sebagai antimikroba. Pada tahun yang sama, Paul Ehrlich menguji berbagai macam senyawa antimikroba dari turunan arsenik. Salvarsan merupakan turunan dari senyawa arsenik yang berhasil dikembangkan sebagai “*magic bullet*” yang pertama pada pengobatan infeksi sifilis dan malaria. Neosalvarsan merupakan turunan arsenik dengan toksisitas yang lebih rendah dibandingkan Salvarsan yang selanjutnya menjadi lini utama terapi sifilis sebelum penemuan penisilin dan antibiotik lainnya pada pertengahan abad ke 20 (Tans dan Grimes, 2010). Antibiotik sebagai agen antibakteri merupakan zat yang diproduksi suatu mikroorganisme tertentu untuk mematikan bakteri (Irving dkk., 2005).

Antibakteri diharapkan memiliki mekanisme kerja selektif hanya pada sel bakteri tanpa menimbulkan bahaya terhadap inang (Eyal dkk., 2016). Berdasarkan cara kerjanya, antibakteri dapat bersifat bakteristatik yang menghambat pertumbuhan bakteri atau bakterisidal yang membunuh bakteri (Silver, 2011). Penggunaan bakterisidal biasanya hanya digunakan ketika infeksi berat yang melibatkan kondisi immunosupresi pada pasien (Irving dkk., 2005).

2.3 Senggugu (*Rothea serrata* (L.) Steane & Mabb)

Senggugu merupakan tanaman perdu yang berasal dari India Timur dan kemudian tumbuh menyebar ke Asia Tenggara termasuk Indonesia dan Malaysia (Patel dkk., 2014).



Gambar 2.3 Senggugu A) tanaman, B) daun, C) bunga, D) buah (Facciola, 1998)

2.3.1 Nama Daerah

Ditinjau dari Kasahara dan Hemmi (1986), Senggugu memiliki nama lain di beberapa daerah Indonesia meliputi simar baunkudu (Batak Toba), tinjau handak (Lampung), singgugu (Sunda), sangunggu (Jawa), srigunggu (Jawa Tengah), kertase, pinggir tosek (Madura).

2.3.2 Taksonomi

Menurut Catalogue of Life (2018), taksonomi Senggugu adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Lamiales
Famili	: Lamiaceae
Genus	: <i>Rothea</i>
Spesies	: <i>Rothea serrata</i> (L.) Steane & Mabb.

2.3.3 Morfologi

Senggugu dapat tumbuh mencapai 90–250 cm dengan batang berbentuk persegi empat. Akar memiliki diameter 1-1,5 cm, panjang 2-3 cm dengan akar yang masih muda halus, namun saat tua agak keras, bergerigi. Bagian luar akar berwarna coklat pucat dan bagian dalamnya berwarna coklat kekuningan. Kulit batang tipis, mudah retak dan patah, serta mudah dipisahkan dari batang. Irisan melintang batang menunjukkan pertumbuhan batang yang melingkar memusat di tengah (konsentris). Daun berjumlah tiga pada tiap simpul, berlawanan, tepi bergerigi, permukaan halus, dan bertangkai. Senggugu berbunga pada bulan Agustus-September. Mahkota bunga memiliki dua bagian yaitu bagian atas memiliki empat mahkota berwarna biru pucat dan bagian bawah satu mahkota berwarna ungu kebiruan. Buah berwarna hijau dengan permukaan berbulu halus (Poornima dkk., 2015).

2.3.4 Habitat

Senggugu dapat dijumpai di semak belukar, pinggir jalan, hutan jati, padang alang-alang, dan di dekat air pada ketinggian 1-1700 m dpl. Senggugu umumnya tumbuh di tempat teduh dan lembab (Kasahara dan Hemmi, 1986).

2.3.5 Kandungan Kimia

Senggugu memiliki kandungan kimia meliputi alkaloid (Indriani, 2007), glikosida flavonoid, tanin terhidrolisis (*hydrolysable tannin*), terpenoid, polifenol, dan steroid (Patel dkk., 2014).

2.3.6 Khasiat

Senggugu memiliki beberapa aktivitas farmakologi sebagai berikut:

a) Hepatoprotektif

Ekstrak etanol 70% akar dengan konsentrasi 20 mg/mL diberikan bersamaan dengan CCl₄ menunjukkan penurunan total bilirubin, serum

glutamat oksaloasetat transaminase (SGOT), dan serum glutamat piruvat transaminase (SGPT) yang signifikan ($P \leq 0,01$) dibandingkan dengan kontrol dan CCl_4 (Vidya dkk., 2007).

b) Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar dengan menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) menghasilkan IC_{50} sebesar 175 $\mu\text{g/mL}$ (Bhujbal dkk., 2009).

c) Antikanker

Ekstrak metanol akar menunjukkan aktivitas antikanker *in vivo* dengan dosis efektif 100 mg/kgBB (Zalke dkk., 2010).

d) Antialergi, Antihistamin, dan Antiasma

Kandungan *icosahydopicenic acid* (100 $\mu\text{g/mL}$) menunjukkan proteksi sel mast yang signifikan (59,62%) dibandingkan dengan kontrol positif N-kromogilat (64,48%)(Bhujbal dkk., 2010).

e) Antiinflamasi dan Antireumatik

Ekstrak metanol akar (100 mg/kgBB) *in vivo* memiliki aktivitas antiinflamasi yang potensial sebagai agen antireumatik (Shareef, 2013).

f) Antiangiogenik dan Vasorelaksan

Ekstrak metanol daun (0,5 mg/mL) efektif menghambat pertumbuhan sel epitel pada pembuluh darah aorta dan mampu menurunkan kadar norepinefrin (Mohamed dkk., 2012).

g) Antibakteri

Ekstrak aseton daun memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa* dengan MIC 3 mg/mL, serta terhadap *S. aureus*, *B. subtilis*, dan *E. coli* dengan MIC 2 mg/mL (Indriani, 2007).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan komponen senyawa kimia tertentu dari suatu serbuk simplisia yang berasal dari hewan atau tumbuhan dengan pelarut yang sesuai (Mandal dkk., 2015). Ekstrak adalah sediaan dengan konsistensi

kering, kental atau cair kental yang diperoleh setelah pelarut ekstraksi diuapkan (Syamsuhidayat, 2000). Metode ekstraksi bahan alam diantaranya maserasi, refluks, perkolasi, digesti, infudasi, soxhletasi, dan dekok (Azmir dkk., 2013).

Pada proses ekstraksi, pelarut berdifusi masuk melalui celah sel serbuk atau simplisia sehingga perbedaan gradien konsentrasi menyebabkan metabolit keluar sel sampai pelarut menjadi jenuh atau terjadi kesetimbangan metabolit intrasel dan ekstrasel (Azmir dkk., 2013). Metanol merupakan pelarut universal yang umum digunakan karena dapat mengekstraksi semua kandungan metabolit tanaman. Penggunaan metanol lebih efisien dalam proses penguapannya dibandingkan etanol 96% karena pada etanol 96% terdapat kandungan air sebanyak 4% (Hui dkk., 2004).

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana dan ekonomis sehingga cenderung digunakan pada berbagai penelitian. Maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C) sehingga metode ekstraksi ini sangat cocok untuk metabolit yang tidak tahan panas (Syamsuhidayat, 2000). Proses ekstraksi yang disertai pengadukan dapat membantu meningkatkan difusi pelarut sehingga rendemen ekstrak yang dihasilkan lebih banyak (Azmir dkk., 2013).

2.5 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan partisi cair-cair menggunakan corong pisah untuk lanjutan tahap pemisahan ekstraksi. Fraksinasi berdasarkan pada prinsip kelarutan *like dissolved like* suatu senyawa atau komponen senyawa terhadap dua jenis pelarut yang tidak bercampur yaitu pelarut organik dan pelarut air (Houghton dan Raman, 2012). Pada prinsip *like dissolved like*, komponen senyawa polar larut dalam pelarut polar, komponen senyawa semipolar larut dalam pelarut semipolar, dan komponen senyawa nonpolar larut dalam pelarut nonpolar. Pelarut fraksinasi umumnya dilakukan secara bertingkat berdasarkan kenaikan polaritas dari pelarut, misalnya dari petroleum eter, n-heksana, kloroform, dietil eter, etilasetat, hingga air (Anggraeni dkk., 2014).

2.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode yang mudah, cepat, dan sederhana dalam menentukan golongan senyawa kimia suatu sampel (Somarathna dkk., 2018), dengan sistem deteksi sesuai tabel 2.1.

Tabel 2.1 Reagen penampak noda berbagai golongan senyawa (Harbone, 2006)

Golongan Senyawa	Reagen	Warna Noda
Alkaloid	Dragendorff	Jingga
Antrakininon	KOH 10% dalam metanol	Kuning, kuning coklat, merah ungu, atau hijau ungu
Fenolat	FeCl ₃	Hitam
Flavonoid	Uap amonia	Kuning
Sapogenin steroid dan triterpenoid	Anisaldehyd asam sulfat	Merah ungu atau ungu
Steroid dan terpenoid bebas	Anisaldehyd asam sulfat	Merah ungu atau ungu

2.7 Metode Uji Antibakteri Mikrodilusi

Metode mikrodilusi atau pengenceran pada media cair secara langsung dapat mengkuantifikasi nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dari suatu senyawa uji untuk menghambat pertumbuhan mikronorganisme uji (Balouiri dkk., 2016). Menurut *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*, mikrodilusi adalah metode yang paling tepat untuk memperkirakan KHM dengan keuntungan penggunaan sampel yang tidak terlalu banyak (CLSI, 2015).

Proses pengenceran pada metode mikrodilusi dilakukan dalam dua kali lipat (*two-fold dilution*) dari konsentrasi zat antibakteri, misalnya 64, 128, 256, dan 512 µg/mL yang selanjutnya dimasukkan dalam pelat 96 sumuran. Suspensi bakteri uji distandarisasi hingga 0,5 McFarland dan diinokulasikan ke dalam sumuran yang berisi zat antibakteri. Setelah itu, pelat 96 sumuran diinkubasi sesuai kondisi uji yang diinginkan (Balouiri dkk., 2016).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian skrining fitokimia dan uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan fraksi Senggugu terhadap bakteri *P. aeruginosa* merupakan *true experimental laboratories*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium *Drug Utilisation and Discovery Research Group* (DUDRG) dan Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember, serta Laboratorium *Bioscience* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember mulai bulan Februari 2019 hingga selesai.

3.3 Variabel Penelitian

Adapun variabel pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak metanol dan fraksi Senggugu.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai *half maximal inhibitory concentration* (IC₅₀) ekstrak metanol dan fraksi Senggugu.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode maserasi dengan pengadukan, *Mueller Hinton Agar* (MHA), media *Mueller Hinton Broth* (MHB) untuk peremajaan bakteri, media *Cation Adjusted Mueller Hinton Broth*

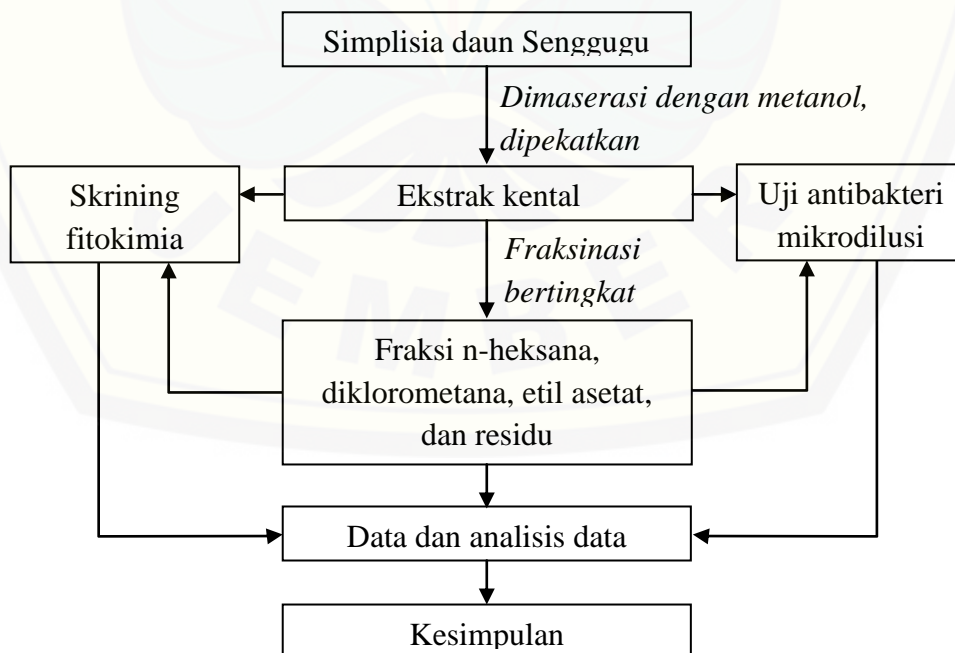
(CAMHB) untuk uji mikrodilusi, biakan bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853, waktu inkubasi, dan prosedur pengujian.

3.4 Definisi Operasional

Definisi Operasional dalam penelitian ini adalah:

1. Tanaman Senggugu diperoleh dari Materia Medika Kota Batu, Jawa Timur, Indonesia.
2. Pengecilan ukuran partikel simplisia Senggugu yang telah kering dilakukan dengan menggunakan blender.
3. Ekstraksi dilakukan dengan maserasi disertai pengadukan, kemudian difraksinasi secara bertingkat mulai dari n-heksana, diklorometana, etil asetat, hingga air (residu).
4. Bakteri yang digunakan pada penelitian ini yaitu *P. aeruginosa* ATCC 27853.

3.5 Skema Penelitian



Gambar 3.1 Skema penelitian

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat

Erlenmeyer, vial, spatula logam, tabung reaksi (Iwaki), beaker glass, jarum ose, pipet tetes, tip kuning dan biru, mikropipet 20 μL dan 100 μL (Eppendorf dan Socorex), spreader, autoklaf (TOMY ES-315), *flat bottom 96 well microplate* (Iwaki), cawan petri (Duran), *Laminar Air Flow* (LabGard AIR), *shaker incubator* (Stuart S1600), vortex (GENIE-2), *hot plate* (UC-152), dan *microplate reader* (CORONA SH-1000).

3.6.2 Bahan

Simplisia Senggugu, aquadest, aqua demineralata, metanol (CH_3OH) pa, n-heksana (C_6H_{14}) pa, diklorometana (CH_2Cl_2) pa, etil asetat ($\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$) pa, plat silica gel F₂₅₄, butanol ($\text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$), asam asetat (CH_3COOH) glasial, kloroform (CHCl_3), kalium hidroksida (KOH), besi (III) klorida (FeCl_3), dragendorf, asam sulfat (H_2SO_4) pa, anisaldehyd-asam sulfat, vanilin, amonium hidroksida (NH_4OH), kertas saring Whattman, *Mueller Hinton Broth* (Merck), *Mueller Hinton Agar* (Merck), kalsium klorida (CaCl_2), magnesium klorida (MgCl_2), *P. aeruginosa* ATCC 27853, dimetilsulfoksida (DMSO), dan gentamisin.

3.7 Prosedur Kerja

3.7.1 Pembuatan Serbuk Simplisia Senggugu

Simplisia kering Senggugu yang diperoleh dari Materia Medika Kota Batu Jawa Timur – Indonesia dibersihkan dan dikecilkan ukuran partikelnya menggunakan *blender* hingga menjadi serbuk simplisia.

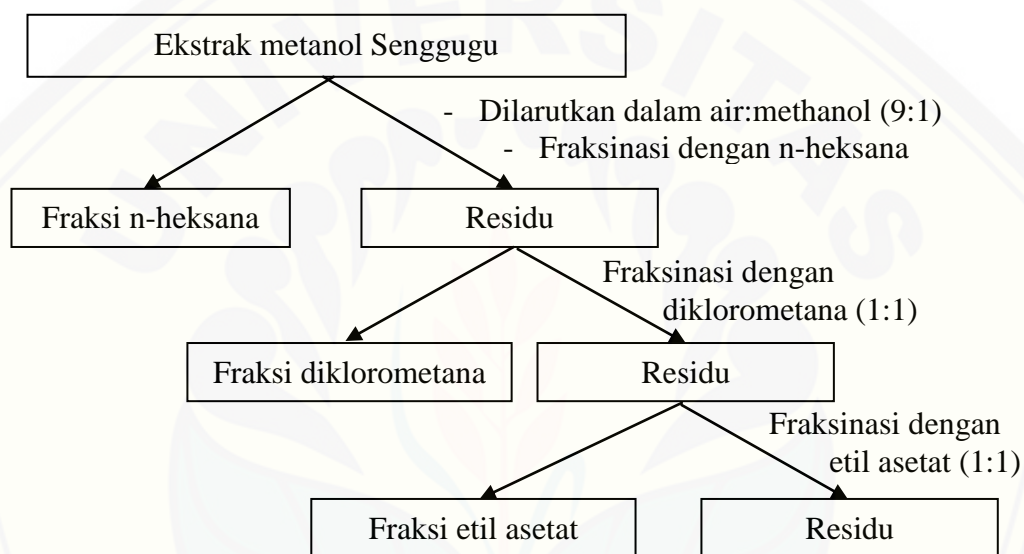
3.7.2 Pembuatan Ekstrak Metanol Senggugu

Ekstraksi dilakukan dengan metode perendaman atau maserasi serbuk simplisia dengan perbandingan 1:5 dalam metanol pa dan disertai dengan pengadukan selama 24 jam pada suhu ruangan menggunakan alat *orbital shaker*.

Filtrat disaring dengan kertas saring dan residu simplisia diremaserasi sebanyak tiga kali. Semua filtrat dicampur selanjutnya dipekatkan dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C.

3.7.3 Pembuatan Fraksi Ekstrak Metanol Senggugu

Fraksinasi pada penelitian ini dilakukan dengan metode partisi cair-cair secara bertingkat berdasarkan skema pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Skema alur fraksinasi bertingkat Senggugu

3.7.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia pada sampel ekstrak metanol maupun fraksi Senggugu dilakukan dengan metode KLT. Identifikasi golongan senyawa setelah eluasi KLT dilakukan sesuai reagen penampak noda pada tabel 2.1.

a. Identifikasi Senyawa Golongan Alkaloid

Ekstrak atau fraksi Senggugu (0,1 gram) ditambahkan 1,7 mL HCl 2N dan dipanaskan selama 3 menit dengan pengadukan. Sebanyak 0,1 gram NaCl ditambahkan, campuran disaring, kemudian filtratnya ditambah 1,7 mL HCl 2N dan ditotolkan pada lempeng KLT. Eluasi dilakukan dengan menggunakan fase gerak dari campuran etil asetat– metanol–air (9:2:2).

b. Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid

Ekstrak atau fraksi Senggugu (50 mg) dilarutkan dengan metanol, kemudian ditotolkan pada lempeng KLT. Eluasi dilakukan dengan lapisan bagian atas dari fase gerak berupa campuran butanol–asam asetat glasial–air (4:1:5).

c. Identifikasi Senyawa Golongan Polifenol

Ekstrak atau fraksi Senggugu (50 mg) dilarutkan dengan metanol dan ditotolkan pada lempeng KLT. Eluasi dilakukan dengan menggunakan fase gerak dari campuran kloroform–etil asetat (1:9).

d. Identifikasi Terpenoid atau Steroid Bebas

Ekstrak atau fraksi Senggugu (50 mg) dilarutkan dalam metanol dan ditotolkan pada lempeng KLT. Eluasi dilakukan dengan menggunakan fase gerak dari campuran n-heksana–etil asetat (4:1).

3.7.5 Uji Aktivitas Antibakteri Metode Mikrodilusi

Seluruh prosedur pada uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini mengacu pada protokol standar yaitu CLSI M07-A9 dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

a) Sterilisasi Alat dan Bahan

Seperangkat alat gelas, tip biru dan kuning, serta media uji yang telah dicuci dan kering dibungkus dengan kertas kayu untuk disterilisasi menggunakan autoklaf. Sterilisasi dijalankan dengan tekanan 15 psi pada suhu 121°C selama 15 menit. Jarum ose untuk inokulasi disterilisasi terlebih dahulu dengan pemijaran.

b) Pembuatan Media MHA

Media dibuat dengan menimbang sebanyak 1,6 gram MHA dilarutkan dalam 80 mL akuades demineralisasi. Media (80 mL) yang telah disterilisasi dibagi ke dalam 4 cawan petri steril dengan sejumlah volume yang sama. Setelah agar memadat, cawan petri disegel menggunakan parafilm hingga kembali digunakan.

c) Pembuatan Media CAMHB

Sebanyak 150 mL media MHB (mengandung 9,45 gram MHB) yang telah disterilisasi ditambahkan 0,169 mL larutan induk MgCl_2 (dibuat dengan melarutkan 835,39 mg $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dalam 10 mL akuades demineralisasi) dan 0,338 mL larutan induk CaCl_2 (dibuat dengan melarutkan 366,81 mg $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dalam 10 mL akuades demineralisasi), sehingga didapatkan media CAMHB dengan konsentrasi Mg^{2+} sebesar 11,25 mg/L dan konsentrasi Ca^{2+} sebesar 22,5 mg/L.

d) Peremajaan Biakan Murni

Biakan murni *P. aeruginosa* diremajakan dengan cara diinokulasikan menggunakan jarum ose secara aseptis pada media padat MHA di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Cawan petri selanjutnya disegel menggunakan parafilm dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

e) Pembuatan Suspensi Bakteri

Sebanyak 2-3 koloni *P. aeruginosa* hasil peremajaan disuspensikan secara aseptis dan homogen ke dalam media CAMHB. Biakan dalam CAMHB tersebut diukur kekeruhannya menggunakan bantuan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm hingga didapatkan standar Mc Farland 0,5 dengan target absorbansi 0,08-0,13. Setelah itu, biakan aktif dalam CAMHB diperoleh dengan pengenceran hingga 100 kali dari konsentrasi awal sehingga didapatkan suspensi 1×10^6 CFU/mL.

f) Pembuatan Kontrol Negatif

Kontrol negatif dibuat dengan memipet sejumlah volume tertentu DMSO 100% kemudian diencerkan dalam media CAMHB hingga didapatkan konsentrasi DMSO 1%.

g) Pembuatan Kontrol Positif

Kontrol positif dibuat dengan mengencerkan sediaan gentamisin injeksi 40 mg/mL menjadi 200 $\mu\text{g/mL}$ menggunakan media CAMHB dan kemudian diencerkan kembali menjadi 0,5, 1, 2, dan 4 $\mu\text{g/mL}$.

h) Pembuatan Larutan Uji

Sejumlah tertentu sampel ekstrak metanol, fraksi heksana, dan fraksi diklorometana dilarutkan dengan DMSO 1% dalam media CAMHB, kemudian sampel induk diencerkan menjadi 6 konsentrasi yaitu 1024, 512, 256, 128, 64 dan 32 $\mu\text{g/mL}$.

i) Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Mikrodilusi

Sebanyak 50 μL media CAMHB (mengandung biakan aktif bakteri), 50 μL DMSO 1%, 50 μL gentamisin, dan 50 μL larutan uji dimasukkan ke dalam *microplate-96-well* dengan tiga kali replikasi sesuai pemetaan pada Gambar 3.2. *Microplate-96-well* diinkubasi selama 20 jam pada suhu 37°C kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 625 nm.

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

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

Gambar 3.3 Pemetaan mikrodilusi *microplate-96-well*

Keterangan:

- = sampel + bakteri dalam media CAMHB
- = sampel + media CAMHB
- = gentamisin + bakteri dalam media CAMHB
- = gentamisin + media CAMHB
- = DMSO 1% + bakteri dalam media CAMHB
- = DMSO 1% + media CAMHB
- = media CAMHB + bakteri dalam media CAMHB
- = media CAMHB

3.8 Analisis Data

Data nilai absorbansi hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode mikrodilusi selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai % penghambatan bakteri sesuai Rumus 3.1. Data nilai % penghambatan kemudian digunakan untuk analisis probit agar didapatkan nilai IC₅₀.

$$\% \text{ penghambatan} = \left(1 - \frac{(Abs.R - Abs.S)}{(Abs.P - Abs.Q)} \right) \times 100\% \dots\dots\dots(3.1)$$

(Ardani dkk., 2010)

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)

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Hasil skrining fitokimia daun Senggugu menunjukkan adanya kandungan golongan senyawa terpenoid/steroid bebas, fenolat dan flavonoid pada ekstrak metanol, adanya kandungan golongan senyawa terpenoid/steroid bebas pada fraksi n-heksana dan fraksi diklorometana, serta adanya kandungan golongan senyawa flavonoid dan polifenol pada fraksi etil asetat dan residu.
2. Hasil uji aktivitas antibakteri daun Senggugu terhadap *P. aeruginosa* menunjukkan nilai rerata IC_{50} ($n = 3$) ekstrak metanol sebesar $380,462 \pm 17,014 \mu\text{g/mL}$, fraksi n-heksana sebesar $176,919 \pm 6,303 \mu\text{g/mL}$, fraksi diklorometana sebesar $343,767 \pm 12,399 \mu\text{g/mL}$, fraksi etil asetat sebesar $547,255 \pm 12,006 \mu\text{g/mL}$, dan residu sebesar $924,943 \pm 27,393 \mu\text{g/mL}$.

5.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun Senggugu terhadap bakteri lain.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk isolat senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri.
3. Perlu dilakukan penelitian aktivitas biologis lain dari Senggugu

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraeni, O. N., A. G. Fasya, M. Abidin, dan A. Hanapi. 2014. Uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat, kloroform, petroleum eter, dan n-heksana hasil hidrolisis ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.* *ALCHEMY Journal of Chemistry*. 3(2):173–188.
- Ardani, M., S. U. T. Pratiwi, dan T. Hertiani. 2010. Efek campuran minyak atsiri daun cengkeh dan kulit batang kayu manis sebagai antiplak gigi. *Majalah Farmasi Indonesia*. 21(3):191–201.
- Ayu, T. dan Suyatno. 2014. Antioxidant and anticancer activities of methanol extract of the *Adiantum philippensis* Fern. *Journal of Chemistry*. 3(1):89–95.
- Azmir, J., I. S. M. Zaidul, M. M. Rahman, K. M. Sharif, A. Mohamed, F. Sahena, M. H. A. Jahurul, K. Ghafoor, N. A. N. Norulaini, dan A. K. M. Omar. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*. 117(4):426–436.
- Balouiri, M., M. Sadiki, dan S. K. Ibsouda. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2):71–79.
- Bhujbal, S. S., S. M. K. Kewatkar, L. S. More, dan M. J. Patil. 2009. Antioxidant effects of roots of *Clerodendrum serratum* Linn. *Pharmacognosy Research*. 1(5):294.
- Bhujbal, S. S., R. Nanda, G. P. Ganu, S. W. Jadhav, P. R. Dongre, B. Choudhary, D. Pokale, dan M. J. Patil. 2010. Protective effects of icosahydric acid isolated from the roots of *Clerodendrum serratum* (L.) Moon on experimental allergic asthma. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*. 7(1).
- Bladt, S. 2009. *Plant Drug Analysis: A thin layer chromatography atlas*. Springer Science & Business Media.
- Cassini, A., L. D. Högberg, D. Plachouras, A. Quattrocchi, M. Colomb-Cotinat, M. E. Kretzschmar, B. Devleeschauwer, M. Cecchini, D. A. Ouakrim, T. C. Oliveira, M. J. Struelens, C. Suetens, D. L. Monnet, K. Mertens, T. Struyf, B. Catry, K. Latour, I. N. Ivanov, E. G. Dobрева, A. T. Andrašević, S. Soplek, A. Budimir, N. Paphitou, H. Žemlicková, S. S. Olsen, U. W. Sönksen, P. Märtin, M. Ivanova, O. Lyytikäinen, J. Jalava, B. Coignard, T. Eckmanns, M. A. Sin, S. Haller, G. L. Daikos, A. Gikas, S. Tsiodras, F. Kontopidou, Á. Tóth, Á. Hajdu, Ó. Guólaugsson, K. G. Kristinsson, S. Murchan, K. Burns, P. Pezzotti, C. Gagliotti, U. Dumpis, A. Liuimiene, M. Perrin, M. A. Borg, S.

C. de Greeff, J. C. Monen, M. B. Koek, P. Elstrøm, D. Zabicka, A. Deptula, W. Hryniewicz, M. Caniça, P. J. Nogueira, P. A. Fernandes, V. Manageiro, G. A. Popescu, R. I. Serban, E. Schréterová, S. Litvová, M. Štefkovicová, J. Kolman, I. Klavs, A. Korošec, B. Aracil, A. Asensio, M. Pérez-Vázquez, H. Billström, S. Larsson, J. S. Reilly, A. Johnson, dan S. Hopkins. 2019. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the european economic area in 2015: A population-level modelling analysis. *The Lancet Infectious Diseases*. 19(1):56–66.

Catalogue of Life. 2018. *Rothea Serrata (L.) Steane & Mabb*.

CLSI. 2015. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition (M07-A10)*. Edisi 10. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Compean, K. L. dan R. A. Ynalvez. 2014. Antimicrobial activity of plant secondary metabolites: A review. *Research Journal of Medicinal Plant*. 8(5):204–213.

Cos, P., A. J. Vlietinck, D. Vanden Berghe, dan L. Maes. 2006. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro “proof of concept”. *Journal of Ethnopharmacology*. 106(3):290–302.

Dao. 2016. *Pseudomonas aeruginosa*. https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Pseudomonas_aeruginosa [Diakses pada February 7, 2019].

Deshpande, J. D. dan M. Joshi. 2011. Antimicrobial resistance: The global public health challenge. *International Journal of Students' Research*. 1(2).

Diastuti, H., Y. Maolana Syah, L. Dewi Juliawaty, dan M. Singgih. 2014. Antibacterial activity of germacrane type sesquiterpenes from *Curcuma heyneana* rhizomes. *Indonesian Journal of Chemistry*. 14(1):32–36.

Ding, C., Z. Yang, J. Wang, X. Liu, Y. Cao, Y. Pan, L. Han, dan S. Zhan. 2016. Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* and antimicrobial-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients with pneumonia in mainland china: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases*. 49:119–128.

Eyal, Z., D. Matzov, M. Krupkin, S. Paukner, dan R. Riedl. 2016. A novel pleuromutilin antibacterial compound, its binding mode and selectivity mechanism. *Scientific Reports*. 6(39004):1–8.

Facciola, S. 1998. *Cornucopia II: A Source Book of Edible Plants, Rothea*

Serrata (L.) Steane & Mabb. Kampong Publications.

- Farida, H., J. A. Severin, M. H. Gasem, M. Keuter, H. Wahyono, P. van den Broek, P. W. M. Hermans, dan H. A. Verbrugh. 2014. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumonia* in pneumonia-prone age groups in Semarang, Java island, Indonesia. *PLoS ONE*. 9(1):e87431.
- Felhi, S., A. Daoud, H. Hajlaoui, K. Mnafigui, N. Gharsallah, dan A. Kadri. 2017. Solvent extraction effects on phytochemical constituents profiles, antioxidant and antimicrobial activities and functional group analysis of *Ecballium elaterium* seeds and peels fruits. *Food Science and Technology*. 37(3):483–492.
- Fontanay, S., M. Grare, J. Mayer, C. Finance, dan R. E. Duval. 2008. Ursolic, oleanolic and betulinic acids: Antibacterial spectra and selectivity indexes. *Journal of Ethnopharmacology*. 120(2):272–276.
- Garcia, M., E. Morello, J. Garnier, C. Barrault, M. Garnier, C. Burucoa, J.-C. Lecron, M. Si-Tahar, F.-X. Bernard, dan C. Bodet. 2018. *Pseudomonas aeruginosa* flagellum is critical for invasion, cutaneous persistence and induction of inflammatory response of skin epidermis. *Virulence*. 9(1):1163–1175.
- Harbone, J. B. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi 2. Bandung: Penerbit ITB.
- Houghton, P. dan A. Raman. 2012. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. Springer US.
- Huang, R., K. McPhedran, N. Sun, P. C.-A.- Chemosphere, dan U. 2016. 2016. Investigation of the impact of organic solvent type and solution ph on the extraction efficiency of naphthenic acids from oil sands process-affected water. *Chemosphere*. 146:472–477.
- Huaqiang, T., T. Manman, Z. Li, Z. Yanxia, dan L. Huanxiu. 2013. The effects of three different grinding methods in dna extraction of Cowpea (*Vigna unguiculata (L.) Walp*). *African Journal of Biotechnology*. 12(16):1946–1951.
- Hui, Y. H., L. Meunier-Goddik, J. Josephsen, W. K. Nip, dan P. S. Stanfield. 2004. *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*. Food science and technology. CRC Press.
- Iloki-Assanga, S. B., L. M. Lewis-Luján, C. L. Lara-Espinoza, A. A. Gil-Salido, D. Fernandez-Angulo, J. L. Rubio-Pino, dan D. D. Haines. 2015. Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using

four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceras* L. and *Phoradendron californicum* complementary and alternative medicine. *Biomed Central Research Notes*. 8(1):1–14.

Indriani, N. 2007. Aktivitas Antibakteri Daun Senggugu (*Clerodendron serratum* (L.) Spr.). Bogor Agricultural University.

Irving, W. L., D. A. A. Ala'Aldeen, dan T. Boswell. 2005. *Medical Microbiology*. Taylor & Francis.

Jayashree, G. dan P. Swaroopa. 2018. *Rotheca serrata*: An overview. *International Journal of Life Science*. 6(48951):185–190.

Karen C. Carroll, Janet S. Butel, dan Stephen A. Morse. 2015. *Adelbergs Medical Microbiology*. Edisi 24. New York: McGraw Hill Professional.

Karou, D., M. H. Dicko, J. Simporé, dan A. S. Traore. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of *Burkina faso*. *African Journal of Biotechnology*. 4(8):823–828.

Kasahara, S. dan S. Hemmi. 1986. *Medicinal Herb Index in Indonesia*. Bogor: PT. Eisa Indonesia.

Kolarević, S., D. Milovanović, M. Avdović, M. Oalđe, J. Kostić, K. Sunjog, dan B. & Vuković-Gačić. 2016. Optimisation of the microdilution method for detection of minimum inhibitory concentration values in selected bacteria. *Botanica Serbica*. 40(1):29–36.

Kumar, P. 2013. Phytochemical and pharmacological profiles of *Clerodendrum serratum* Linn. (bharangi): a review. *International Journal Research of Ayurveda*. 4(2):276–278.

Linn, K. Z. dan P. P. Myint. 2018. Estimation of nutritive value, total phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Manihot esculenta* Crantz. (cassava) leaf. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 6(6):73–78.

Lyczak, J. B., C. L. Cannon, dan G. B. Pier. 2000. Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist. *Microbes and Infection*. 2(9):1051–1060.

Mandal, S. C., V. Mandal, dan A. K. Das. 2015. *Essentials of Botanical Extraction: Principles and Applications*. Elsevier Science.

Menichetti, F. 2005. Current and emerging serious gram-positive infections. *Clinical Microbiology and Infection*. 11(3):22–28.

- Mohamed, A. J., E. A. H. Mohamed, A. F. Aisha, O. Z. Ameer, Z. Ismail, N. Ismail, A. M. S. A. Majid, M. Z. Asmawi, dan M. F. Yam. 2012. Antioxidant, antiangiogenic, and vasorelaxant activities of methanolic extract of *Clerodendrum serratum* Spreng. leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6(3):348–360.
- Mujeeb, F., P. Bajpai, dan N. Pathak. 2014. Phytochemical evaluation, antimicrobial activity, and determination of bioactive components from leaves of *Aegle marmelos*. *Biomed Research International*. 1–11.
- Nasrudin, Wahyono, Mustofa, dan R. Asmah. 2017. Hepatoprotective activity of ethyl acetate fraction of senggugu's root bark (*Clerodendrum serratum* L. Moon) on rats induced by carbon tetrachloride. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 28(1):10–18.
- Parathon, H., K. Kuntaman, T. H. Widiastoety, B. T. Muliawan, A. Karuniawati, M. Qibtiyah, Z. Djanun, J. F. Tawilah, T. Aditama, V. Thamlikitkul, dan S. Vong. 2017. Progress towards antimicrobial resistance containment and control in Indonesia. *British Medical Journal*. 358:3808.
- Patel, J. J., S. R. Acharya, dan N. S. Acharya. 2014. *Clerodendrum serratum* (L.) Moon.: A review on traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*. 154(2):268–285.
- Poornima, B., P. L. Hegde, Pradeep, dan H. A. 2015. Pharmacological review on *Clerodendrum serratum* (L.) Moon. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 126(35):126–130.
- Qiao, M., G. G. Ying, A. C. Singer, dan Y. G. Zhu. 2018. Review of antibiotic resistance in China and its environment. *Environment International*. 110(October):160–172.
- Radji, M. 2009. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Reller, L. B., F. D. Schoenknecht, M. A. Kenny, dan J. C. Sherris. 1974. Antibiotic susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa*: selection of a control strain and criteria for magnesium and calcium content in media. *Journal of Infectious Diseases*. 130(5):454–463.
- Romulo, A., E. A. M. Zuhud, J. Rondevaldova, dan L. Kokoska. 2018. Screening of *in vitro* antimicrobial activity of plants used in traditional Indonesian medicine. *Pharmaceutical Biology*. 56(1):287–293.
- Rukmono, P. dan R. Zuraida. 2013. Uji kepekaan antibiotik terhadap *Pseudomonas aeruginosa* penyebab sepsis neonatorum. *Sari Pediatri*.

14(5):332–336.

- Sarmah, A. K., M. T. Meyer, dan A. B. A. Boxall. 2006. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate, and effects of veterinary antibiotics (vas) in the environment. *Chemosphere*. 65(5):725–759.
- Severin, J. A., N. M. Mertaniasih, K. Kuntaman, E. S. Lestari, M. Purwanta, N. Lemmens-Den Toom, D. O. Duerink, U. Hadi, A. van Belkum, H. A. Verbrugh, W. H. Goessens. 2010. Molecular characterization of extended-spectrum β -lactamases in clinical *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Surabaya, Indonesia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 65(3):465–469.
- Shareef, M. I. 2013. *Evaluation of Bio Active Principles against Rheumatism from a Few Medicinal Plants*. Acharya Institute of Technology.
- Siegel, J., E. Rhinehart, M. Jackson, dan L. A. Chiarello. 2007. *Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Health Care Settings*. Center of Disease Control and Prevention.
- Silva, F., S. Ferreira, J. A. Queiroz, dan F. C. Domingues. 2011. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: its antibacterial activity and mode of action evaluated by flowcytometry. *Journal of Medical Microbiology*. 60(10):1479–1486.
- Silver, L. L. 2011. Challenges of antibacterial discovery. *Clinical Microbiology Reviews*. 24(1):71–109.
- Somarathna, T., W. M. A. D. B. Fernando, K. K. D. S. Ranaweera, G. A. S. Premakumara, T. Abeysinghe, dan N. S. Weerakkody. 2018. Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Alpinia malaccensis* (ran-kiriya) against food-borne bacteria. *Journal of Applied Microbiology*. 125(5):1276–1285.
- Sultana, N. dan A. J. Afolayan. 2007. A novel daucosterol derivative and antibacterial activity of compounds from *Arctotis arctotoides*. *Natural Product Research*. 21(10):889–896.
- Syamsuhidayat, S. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Tamanna, T., C. B. Landersdorfer, H. J. Ng, J. B. Bulitta, P. Wood, dan A. Yu. 2018. Prolonged and continuous antibacterial and anti-biofilm activities of thin films embedded with gentamicin-loaded mesoporous silica nanoparticles. *Applied Nanoscience*. 8(6):1471–1482.

- Tans, M. . dan M. S. Grimes. 2010. Man with the magic bullet. *Singapore Medical Journal*. 51(1 1):1854–1915.
- Thavamoney, N., L. Sivanadian, L. H. Tee, H. E. Khoo, K. N. Prasad, dan K. W. Kong. 2018. Extraction and recovery of phytochemical components and antioxidative properties in fruit parts of *Dacryodes rostrata* influenced by different solvents. *Journal of Food Science and Technology*. 55(7):2523–2532.
- The Commision of The European Communities. 2005. *Requirements for the Determination of Levels of Dioxins and Dioxin-Like PCBs in Feedingstuffs Rules*. Commision Regulation: Subsidiary Legislation 473.54.
- Utami, E. R. 2012. Antibiotika, resistensi, dan rasionalitas terapi. *Saintis*. 1(1):124–138.
- Vidya, S. M., V. Krishna, B. K. Manjunatha, K. L. Mankani, M. Ahmed, dan S. D. J. Singh. 2007. Evaluation of hepatoprotective activity of *Clerodendrum serratum* L. *Indian Journal of Experimental Biology*. 45(6):538–542.
- Wagner, H., & Bladt, S. 1996. *Plant drug analysis: A thin layer chromatography atlas*. Springer Science & Business Media.
- Warsi dan A. R. Sholichah. 2017. Phytochemical screening and antioxidant activity of ethanolic extract and ethyl acetate fraction from basil leaf (*Ocimum basilicum* L.) by dpph radical scavenging method. *Materials Science and Engineering*. 259(1).
- Wei, X., Q. Zhu, J. Chen, dan D. Cheng. 2000. Two new iridoid glucosides from *Clerodenrum serratum*. *Chemical Journal of Chinese Universities*. 21(11):1675–1678.
- WHO. 2016. WHO | Infectious Diseases. https://www.who.int/topics/infectious_diseases/en/ [Diakses pada 4 Februari 2019].
- WHO. 2018. The Top 10 Causes of Death. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> [Diakses pada 4 Februari 2019].
- 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* L. leaves extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 6(4):850–855.
- Wiegand, I., K. Hilpert, dan R. E. W. Hancock. 2008. Agar and broth dilution

methods to determine the minimal inhibitory concentration of antimicrobial substances. *Nature Protocols*. 3(2):75–163.

Wilcox, M. H. 2017. The start of another infection prevention learning curve: Reducing healthcare associated gram-negative blood stream infections. *Journal of Hospital Infection*. 97(3):205-206.

Wolska, K. I., A. M. Grudniak, B. Fiecek, A. Kraczkiewicz-Dowjat, dan A. Kurek. 2010. Antibacterial activity of oleanolic and ursolic acids and their derivatives. *Central European Journal of Biology*. 5(5):543–553.

Wright, G. D. 2010. Antibiotic resistance in the environment: A link to the clinic? *Current Opinion in Microbiology*. 13(5):589–594.

Yanling, J., L. Xin, dan L. Zhiyu. 2013. *The Antibacterial Drug Discovery*. London: InTech.

Yezli, S. dan H. Li. 2012. Antibiotic resistance amongst healthcare-associated pathogens in China. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 40(5):389–397.

Zalke, A. S., A. V. Kulkarni, D. S. Shirode, dan B. Duraiswamy. 2010. In vivo anticancer activity of *Clerodendrum serratum* (L.) Moon. *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*. 1(3):83–98.

Zgurskaya, H. I., C. A. López, dan S. Gnanakaran. 2015. Permeability barrier of gram-negative cell envelopes and approaches to bypass it. *ACS Infectious Diseases*. 1(11):512–522.

Zubair, M. S., S. Lallo, R. Rusmiyanti, A. W. Nugrahani, dan I. Jantan. 2018. Screening of antibacterial and anticancer activity of soft corals from Togean islands, Indonesia. *Indonesian Journal of Pharmacy*. 29(4):173.

LAMPIRAN**Lampiran 4.1 Perhitungan Persentase Rendemen****1. Persentase Rendemen Ekstrak Metanol**

Berat serbuk kering	= 15,7399	gram
Berat wadah + ekstrak kering	= 15,7121	gram
Berat wadah kosong	= 11,2948	gram
Rendemen	= 4,4173	gram
% Rendemen	= (Rendemen/Berat serbuk kering) x 100%	
	= (4,4173/15,7399) x 100%	
	= 28,064%	

2. Persentase Rendemen Fraksi n-Heksana

Berat ekstrak metanol	= 1,044	gram
Berat wadah + ekstrak kering	= 100,2750	gram
Berat wadah kosong	= 100,1829	gram
Rendemen	= 0,0921	gram
% Rendemen	= (Rendemen/Berat ekstrak metanol) x 100%	
	= (0,0921 gram/1,044 gram) x 100%	
	= 8,82%	

3. Persentase Rendemen Fraksi Diklorometana

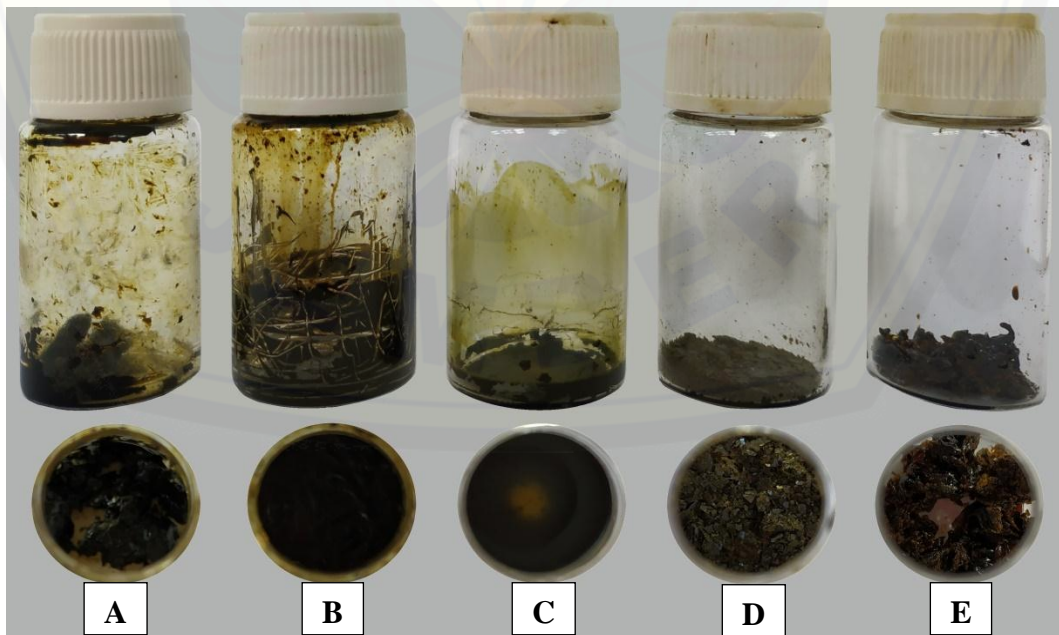
Berat ekstrak metanol	= 1,044	gram
Berat wadah + ekstrak kering	= 96,3590	gram
Berat wadah kosong	= 96,2927	gram
Rendemen	= 0,0663	gram
% Rendemen	= (Rendemen/Berat ekstrak metanol) x 100%	
	= (0,0663 gram/1,044 gram) x 100%	
	= 6,35%	

4. Persentase Rendemen Fraksi Etil Asetat

Berat ekstrak metanol	= 1,044	gram
Berat wadah + ekstrak kering	= 100,0926	gram
Berat wadah kosong	= 99,7553	gram
Rendemen	= 0,3373	gram
% Rendemen	= (Rendemen/Berat ekstrak metanol) x 100%	
	= (0,3373 gram/1,044 gram) x 100%	
	= 32,31%	

5. Persentase Rendemen Residu

Berat ekstrak metanol	= 1,044	gram
Berat wadah + ekstrak kering	= 103,6135	gram
Berat wadah kosong	= 103,0663	gram
Rendemen	= 0,5472	gram
% Rendemen	= (Rendemen/Berat ekstrak metanol) x 100%	
	= (0,5472 gram/1,044 gram) x 100%	
	= 52,41%	



Gambar 4.1.1 Sampel uji Senggugu A) ekstrak metanol, B) fraksi n-heksana, C) fraksi diklorometana, D) fraksi etil asetat, E) residu Senggugu

Lampiran 4.2 Perhitungan Pembuatan Media CAMHB

1. Pembuatan dan Penambahan Larutan Induk MgCl_2

Diketahui:	BM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	= 203,3027	g/mol (a)
	BM MgCl_2	= 95,211	g/mol (b)
	BM Mg^{2+}	= 24,305	g/mol (c)

Dibutuhkan larutan induk MgCl_2 dengan konsentrasi 10 mg Mg^{2+}/mL .

$$\begin{aligned} \text{MgCl}_2 \text{ yang dibutuhkan} &= (b/c) \times 10 \text{ mg/mL} \\ &= (95,211/24,305) \times 10 \text{ mg/mL} \\ &= 39,123 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} \text{ yang dibutuhkan} &= (a/b) \times 39,123 \text{ mg/mL} \\ &= (203,3027/95,211) \times 39,123 \text{ mg/mL} \\ &= 83,539 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

Larutan induk MgCl_2 dibuat dengan melarutkan 835,39 mg $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dalam 10 mL akuades. Konsentrasi ion Mg^{2+} yang dibutuhkan pada media MHB yaitu 11,25 mg Mg^{2+}/L . Penambahan sejumlah larutan induk MgCl_2 konsentrasi 10 mg Mg^{2+}/mL (B) pada 150 mL media MHB agar didapatkan konsentrasi Mg^{2+} yang diinginkan (A) adalah:

$$\begin{aligned} \text{A} &= (150 \text{ mL}/1000 \text{ mL}) \times 11,25 \text{ mg } \text{Mg}^{2+} \\ &= 1,69 \text{ Mg}^{2+} \end{aligned}$$

$$\text{B} = (1,69 \text{ mg } \text{Mg}^{2+}/10 \text{ mg } \text{Mg}^{2+}) \times 1 \text{ mL} = 0,169 \text{ mL}$$

Larutan induk MgCl_2 konsentrasi 10 mg Mg^{2+}/mL ditambahkan sebanyak 0,169 mL ke dalam media MHB 150 mL.

2. Pembuatan dan Penambahan Larutan Induk CaCl_2

Diketahui:	BM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	= 147,01	g/mol (a)
	BM CaCl_2	= 110,98	g/mol (b)
	BM Ca^{2+}	= 40,078	g/mol (c)

Dibutuhkan larutan induk CaCl_2 dengan konsentrasi 10 mg Mg^{2+}/mL .

$$\begin{aligned} \text{CaCl}_2 \text{ yang dibutuhkan} &= (b/c) \times 10 \text{ mg/mL} \\ &= (110,98/40,078) \times 10 \text{ mg/mL} \\ &= 27,691 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \text{ yang dibutuhkan} &= (a/b) \times 27,691 \text{ mg/mL} \\ &= (147,01/110,98) \times 27,691 \text{ mg/mL} \\ &= 36,681 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

Larutan induk CaCl_2 dibuat dengan melarutkan 366,81 mg $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dalam 10 mL akuades. Konsentrasi ion Ca^{2+} yang dibutuhkan pada media MHB yaitu 22,5 mg Ca^{2+}/L . Penambahan sejumlah larutan induk CaCl_2 konsentrasi 10 mg Ca^{2+}/mL (B) pada 150 mL media MHB agar didapatkan konsentrasi Ca^{2+} yang diinginkan (A) adalah:

$$\begin{aligned}\text{A} &= (150 \text{ mL}/1000 \text{ mL}) \times 22,5 \text{ mg Mg}^{2+} \\ &= 3,38 \text{ Mg}^{2+}\end{aligned}$$

$$\text{B} = (3,38 \text{ mg Ca}^{2+}/10 \text{ mg Ca}^{2+}) \times 1 \text{ mL} = 0,338 \text{ mL}$$

Larutan induk CaCl_2 konsentrasi 10 mg Ca^{2+}/mL ditambahkan sebanyak 0,338 mL ke dalam media MHB 150 mL.

Lampiran 4.3 Perhitungan Konsentrasi Kontrol Positif, Kontrol Negatif, dan Larutan Uji

1. Perhitungan Pembuatan Induk Gentamisin

Bahan = Larutan injeksi gentamisin sulfat

Kesetaraan gentamisin = 40 mg/mL

= 40.000 µg/mL

Dibutuhkan larutan induk gentamisin 160 µg/mL:

40.000 µg/mL x volume yang dibutuhkan = 160 µg/mL x 2000 µL

Volume yang dibutuhkan = 8 µL ad 1000 µL (dengan media CAMHB)

2. Perhitungan Pengenceran Induk Gentamisin

Seri konsentrasi gentamisin yang dibutuhkan untuk uji aktivitas antibakteri adalah 4µg/mL, 2 µg/mL, 1 µg/mL, dan 0,5 µg/mL.

Konsentrasi Awal (µg/mL)	Volume larutan induk yang diambil (µl)	Volume CAMHB yang ditambahkan (µl)	Konsentrasi Akhir (µg/mL)
160	100	1900	8
8	1000	1000	4
4	1000	1000	2
2	1000	1000	1
1	1000	1000	0,5

3. Perhitungan Pembuatan Induk Larutan Uji (Ekstrak Metanol, Fraksi Heksana, Fraksi Diklorometana, Fraksi Etil Asetat, dan Residu Senggugu)

Jumlah penimbangan sampel uji = 20,48 mg

DMSO 100% untuk melarutkan sampel uji = 100 µL

Akuades deionisasi yang ditambahkan = ad 1000 µL

Konsentrasi induk larutan uji = 20,48 mg/1000 µL

= 20480 µg/mL

4. Perhitungan Pengenceran Induk Larutan Uji (Ekstrak Metanol, Fraksi Heksana, Fraksi Diklorometana, Fraksi Etil Asetat, dan Residu Senggugu)

Seri konsentrasi yang dibuat adalah 2048 µg/mL, 1024 µg/mL, 512 µg/mL, dan 256 µg/mL, 128 µg/mL, dan 64 µg/mL. Seri konsentrasi uji dibuat dengan langkah (a) dan (b) sebagai berikut:

(a) Larutan induk 20480 µg/mL diencerkan secara bertingkat (*two-fold serial dilution*)

Konsentrasi larutan yang diambil (µg/mL)	Volume yang diambil (µL)	+	DMSO 10% (µL)	Konsentrasi yang dihasilkan (µg/mL)
20480	200		200	10240
10240	200		200	5120
5120	200		200	2560
2560	200		200	1280
1280	200		200	640
640	200		200	320

(b) Konsentrasi yang dihasilkan pada (a) diencerkan kembali dengan media CAMHB

Konsentrasi larutan yang diambil (µg/mL)	Volume yang diambil (µL)	+	CAMHB (µL)	Konsentrasi yang dihasilkan (µg/mL)
20480	100		900	2048
10240	100		900	1024
5120	100		900	512
2560	100		900	256
1280	100		900	128
640	100		900	64

5. Perhitungan Konsentrasi DMSO

DMSO 100% untuk melarutkan sampel uji = 100 µL

Jumlah pelarut larutan induk uji = ad 1000 µL

Konsentrasi DMSO dalam larutan induk uji = $(100 \mu\text{L}/1000 \mu\text{L}) \times 100\%$
= 10% v/v

Konsentrasi DMSO setelah pengenceran = $(100 \mu\text{L}/1000 \mu\text{L}) \times 10\%$
= 1% v/v

Lampiran 4.4 Tabulasi Hasil Uji dan Penghambatan Kontrol Positif Gentamisin terhadap *P. aeruginosa*

Absorbansi Kelompok Kontrol DMSO 1% dan Gentamisin

Replikasi	Kontrol Negatif (P) (CAMHB + Bakteri)			Kontrol Media (Q) (Media CAMHB)			Rerata		
	P	Q	P - Q	P	Q	P - Q	P	Q	P - Q
1	1,097	1,095	1,102	0,159	0,155	0,152	1,098	0,155	0,943
2	1,114	1,112	1,119	0,159	0,155	0,159	1,115	0,158	0,957
3	1,134	1,135	1,137	0,161	0,163	0,163	1,135	0,162	0,973

Absorbansi Kelompok Uji dan Kontrol Uji Gentamisin

Konsentrasi	Uji (R) (Gentamisin + Bakteri)			Kontrol Uji (S) (Gentamisin + Media)			R - S		
	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0,5	0,292	0,297	0,301	0,110	0,110	0,110	0,182	0,187	0,191
1	0,242	0,245	0,248	0,113	0,113	0,113	0,129	0,132	0,135
2	0,189	0,191	0,187	0,124	0,124	0,123	0,065	0,067	0,064
4	0,170	0,173	0,171	0,135	0,135	0,134	0,035	0,038	0,037

Absorbansi Kelompok Uji dan Kontrol Uji DMSO 1%

Replikasi	Uji (R) (DMSO 1% + Bakteri)			Rerata R	Kontrol Uji (S) (DMSO 1% + Media)			Rerata S	R-S
1	1,088	1,086	1,092	1,089	0,090	0,114	0,110	0,105	0,984
2	1,108	1,104	1,098	1,103	0,100	0,108	0,113	0,107	0,996
3	1,124	1,128	1,126	1,126	0,086	0,115	0,143	0,115	1,011

Perhitungan persentase aktivitas antibakteri (%penghambatan) dari DMSO 1% dan gentamisin dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Penghambatan Kontrol Positif Gentamisin

Konsentrasi	% Penghambatan			Rerata	SD	CV
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3			
0,5	80,693	80,467	80,370	80,510	0,166	0,206
1	86,315	86,212	86,125	86,218	0,095	0,110
2	93,105	93,001	93,422	93,176	0,219	0,235
4	96,287	96,031	96,197	96,172	0,130	0,135

Penghambatan DMSO 1%

Replikasi	%Penghambatan	Rerata	SD
1	-4,385		
2	-4,074	-4,133	0,228
3	-3,940		

Lampiran 4.5 Tabulasi Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Senggugu terhadap *P. aeruginosa***Absorbansi Kelompok Ekstrak Metanol Senggugu**

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Uji (R) (Ekstrak + Bakteri)			Kontrol Uji (S) (Ekstrak + Media)			R - S		
	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2048	0,272	0,268	0,277	0,226	0,227	0,225	0,046	0,041	0,052
1024	0,438	0,441	0,446	0,177	0,179	0,180	0,261	0,262	0,266
512	0,549	0,546	0,552	0,165	0,164	0,163	0,384	0,382	0,389
256	0,671	0,674	0,668	0,156	0,155	0,155	0,515	0,519	0,513
128	0,739	0,737	0,743	0,137	0,136	0,137	0,602	0,601	0,606
64	0,797	0,789	0,793	0,126	0,125	0,125	0,671	0,664	0,668

Absorbansi Kelompok Fraksi n-Heksana Senggugu

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Uji (R) (Fraksi n-heksana + Bakteri)			Kontrol Uji (S) (Fraksi n-heksana + Media)			R - S		
	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2048	0,236	0,242	0,240	0,227	0,228	0,228	0,009	0,014	0,012
1024	0,269	0,276	0,273	0,200	0,199	0,198	0,069	0,077	0,075
512	0,325	0,329	0,331	0,174	0,175	0,175	0,151	0,154	0,156
256	0,549	0,558	0,554	0,167	0,166	0,166	0,382	0,392	0,388
128	0,657	0,664	0,660	0,155	0,154	0,153	0,502	0,510	0,507
64	0,725	0,728	0,732	0,127	0,128	0,128	0,598	0,600	0,604

Absorbansi Kelompok Fraksi Diklorometana Senggugu

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Uji (R) (Fraksi diklorometana + Bakteri)			Kontrol Uji (S) (Fraksi Diklorometana + Media)			R - S		
	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2048	0,497	0,505	0,500	0,434	0,436	0,435	0,063	0,069	0,065
1024	0,568	0,564	0,559	0,339	0,340	0,337	0,229	0,224	0,222
512	0,618	0,621	0,625	0,258	0,257	0,256	0,360	0,364	0,369
256	0,688	0,684	0,688	0,199	0,200	0,198	0,479	0,474	0,471
128	0,763	0,769	0,772	0,149	0,152	0,150	0,574	0,577	0,577
64	0,791	0,795	0,799	0,113	0,115	0,114	0,655	0,656	0,660

Absorbansi Kelompok Fraksi Etil Asetat Senggugu

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Uji (R) (Fraksi Etil Asetat + Bakteri)			Kontrol Uji (S) (Fraksi Etil Asetat + Media)			R - S		
	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2048	0,351	0,355	0,362	0,254	0,252	0,253	0,115	0,125	0,120
1024	0,490	0,499	0,494	0,188	0,190	0,190	0,272	0,279	0,274
512	0,611	0,619	0,613	0,162	0,163	0,162	0,406	0,415	0,411
256	0,715	0,719	0,721	0,140	0,140	0,142	0,515	0,511	0,516
128	0,786	0,784	0,789	0,123	0,125	0,123	0,613	0,619	0,616
64	0,853	0,857	0,861	0,117	0,118	0,116	0,663	0,656	0,661

Absorbansi Kelompok Residu Senggugu

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Uji (R) (Residu + Bakteri)			Kontrol Uji (S) (Residu + Media)			R - S		
	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2048	0,397	0,401	0,404	0,136	0,138	0,139	0,261	0,263	0,265
1024	0,459	0,451	0,456	0,117	0,118	0,119	0,342	0,333	0,337
512	0,522	0,518	0,528	0,098	0,096	0,099	0,424	0,422	0,429
256	0,654	0,650	0,657	0,088	0,089	0,087	0,566	0,561	0,570
128	0,734	0,729	0,739	0,078	0,077	0,079	0,656	0,652	0,660
64	0,758	0,756	0,761	0,067	0,069	0,068	0,691	0,687	0,693

Absorbansi Kelompok Kontrol Senggugu

Replikasi	Kontrol Negatif (P) (DMSO 1% + Bakteri)			Kontrol Media (Q) (DMSO 1% + Media)			Rerata		
	P	Q	P - Q	P	Q	P - Q	P	Q	P - Q
1	1,038	1,056	1,112	0,090	0,114	0,110	1,069	0,105	0,964
2	1,108	1,154	1,098	0,100	0,108	0,113	1,120	0,107	1,013
3	1,134	1,138	1,124	0,086	0,115	0,143	1,132	0,115	1,017

Lampiran 4.6 Tabulasi Data Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Senggugu

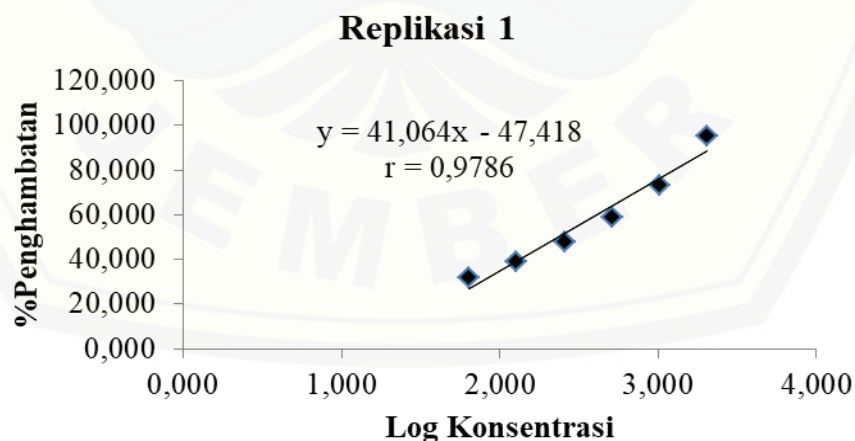
Pada Lampiran 4.5, didapatkan data nilai R – S dan P – Q untuk ekstrak dan fraksi Senggugu. Perhitungan persentase aktivitas antibakteri (% penghambatan) dari ekstrak metanol dan fraksi Senggugu selanjutnya dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

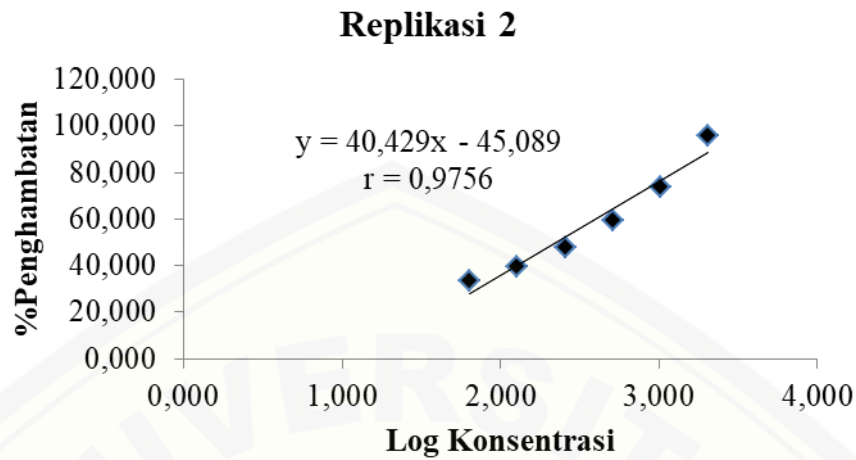
1. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Senggugu

Konsentrasi	Log Kons.	% Penghambatan		
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
2048	3,311	95,325	95,851	94,858
1024	3,010	73,442	73,670	73,698
512	2,709	58,909	59,652	60,086
256	2,408	47,629	47,876	49,275
128	2,107	38,787	39,712	40,112
64	1,806	31,843	33,389	33,916

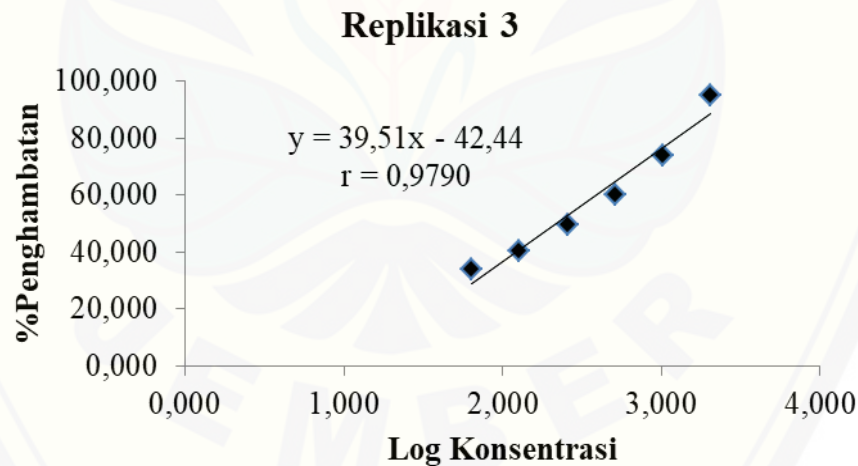
Kurva Penghambatan Bakteri oleh Ekstrak Metanol Senggugu



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 6$, adalah 0,811.
2. $r = 0,9786 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi ekstrak metanol Senggugu.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 6$, adalah 0,811.
2. $r = 0,9756 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi ekstrak metanol Senggugu.

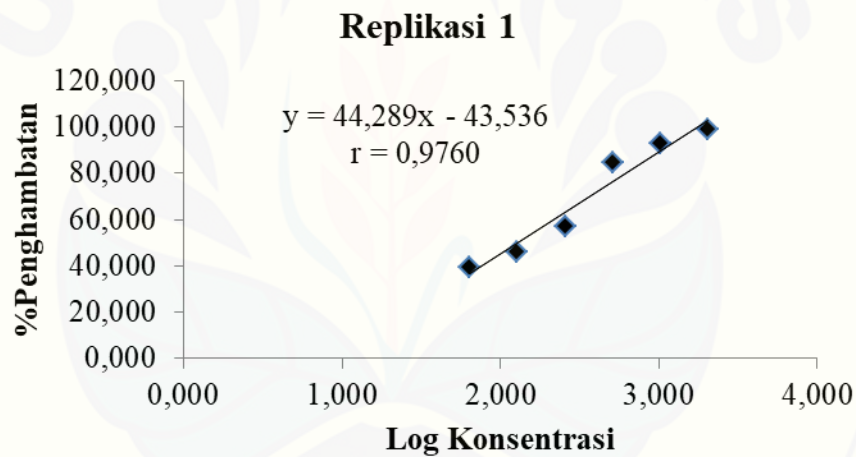


1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 6$, adalah 0,811.
2. $r = 0,9790 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi ekstrak metanol Senggugu.

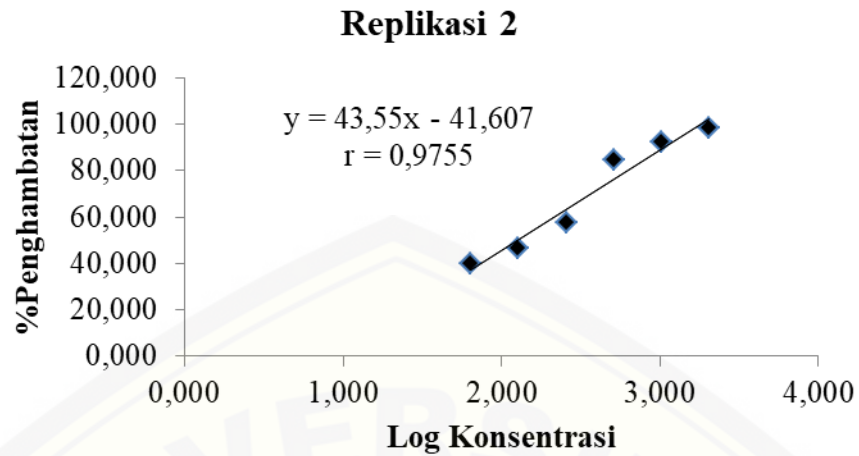
2. Aktivitas Antibakteri Fraksi n-heksana Senggugu

Konsentrasi	Log Kons.	% Penghambatan		
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
2048	3,311	98,814	98,628	98,813
1024	3,010	92,954	92,238	92,584
512	2,709	84,688	84,543	84,608
256	2,408	57,148	57,344	57,482
128	2,107	45,901	46,437	46,968
64	1,806	39,228	39,779	40,277

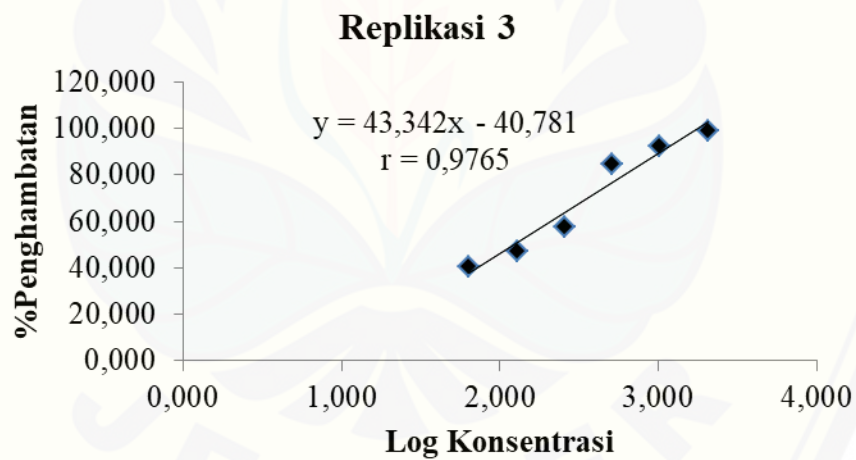
Kurva Penghambatan Bakteri oleh Fraksi n-Heksana Senggugu



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 6$, adalah 0,811.
2. $r = 0,9760 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi n-heksana Senggugu.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 6$, adalah 0,811.
2. $r = 0,9755 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi n-heksana Senggugu.

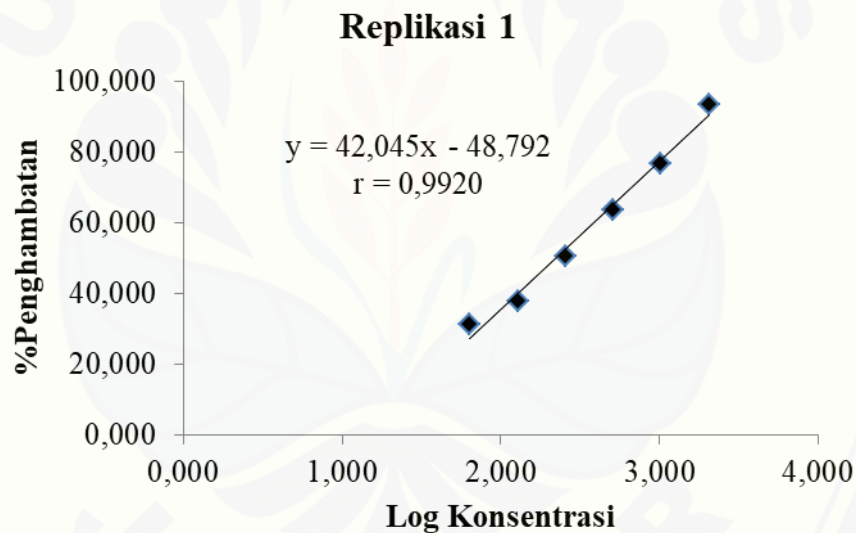


1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 6$, adalah 0,811.
2. $r = 0,9765 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi n-heksana Senggugu.

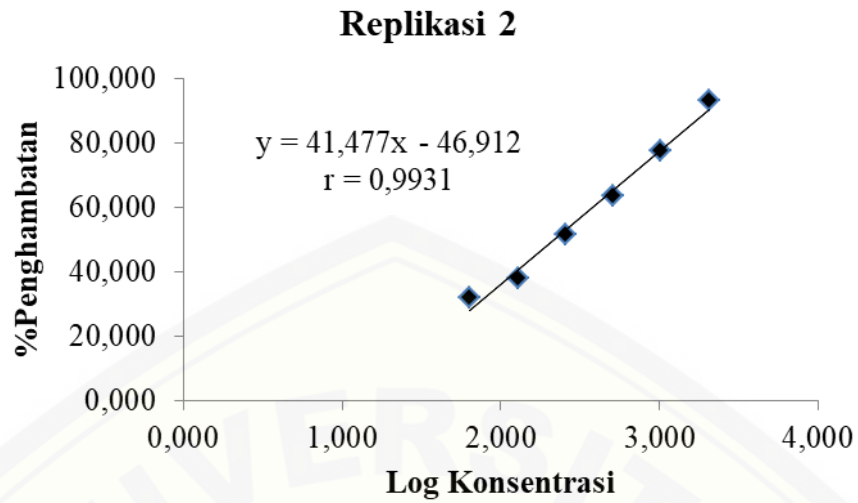
3. Aktivitas Antibakteri Fraksi Diklorometana Senggugu

Konsentrasi	Log Kons.	% Penghambatan		
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
2048	3,311	93,598	93,075	93,573
1024	3,010	76,728	77,518	78,049
512	2,709	63,415	63,466	63,514
256	2,408	50,305	51,422	51,549
128	2,107	37,602	38,073	38,497
64	1,806	31,098	31,750	32,268

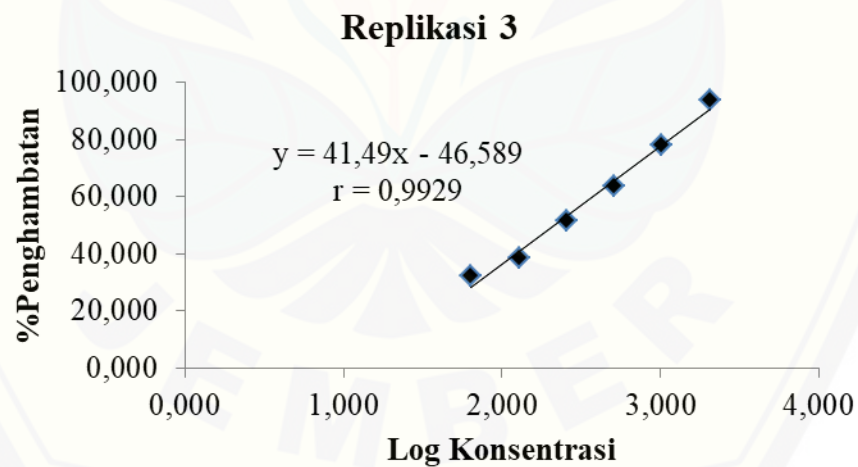
Kurva Penghambatan Bakteri oleh Fraksi Diklorometana Senggugu



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 6$, adalah 0,811.
2. $r = 0,9920 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi diklorometana Senggugu.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 6$, adalah 0,811.
2. $r = 0,9931 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi diklorometana Senggugu.

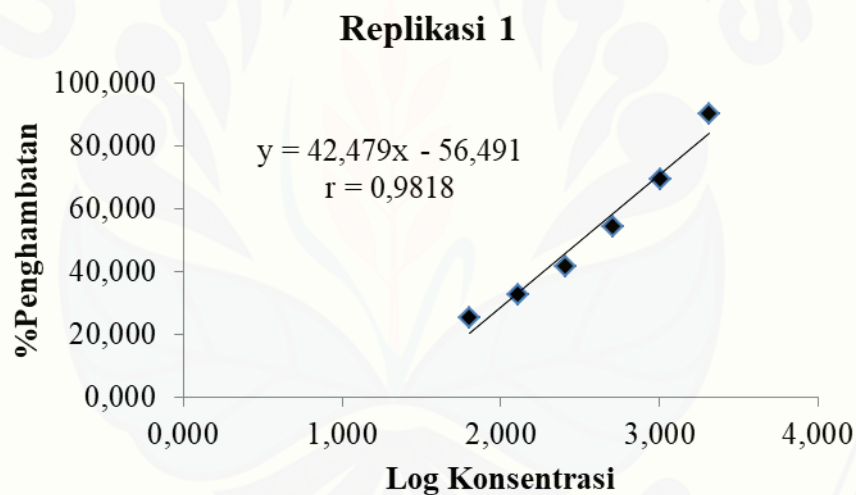


1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 6$, adalah 0,811.
2. $r = 0,9929 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi diklorometana Senggugu.

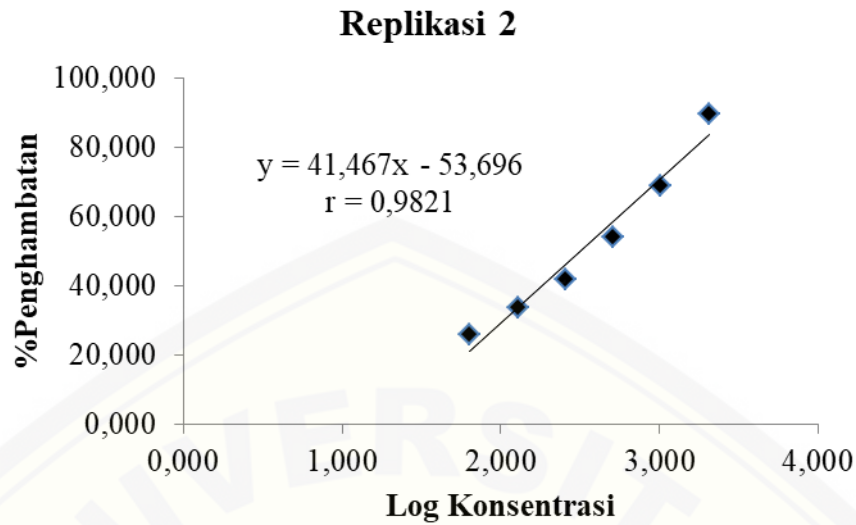
4. Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Senggugu

Konsentrasi	Log Kons.	% Penghambatan		
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
2048	3,311	90,142	89,662	89,222
1024	3,010	69,309	68,986	69,941
512	2,709	54,370	54,232	55,405
256	2,408	41,565	41,887	42,749
128	2,107	32,622	33,857	34,146
64	1,806	25,203	25,828	26,335

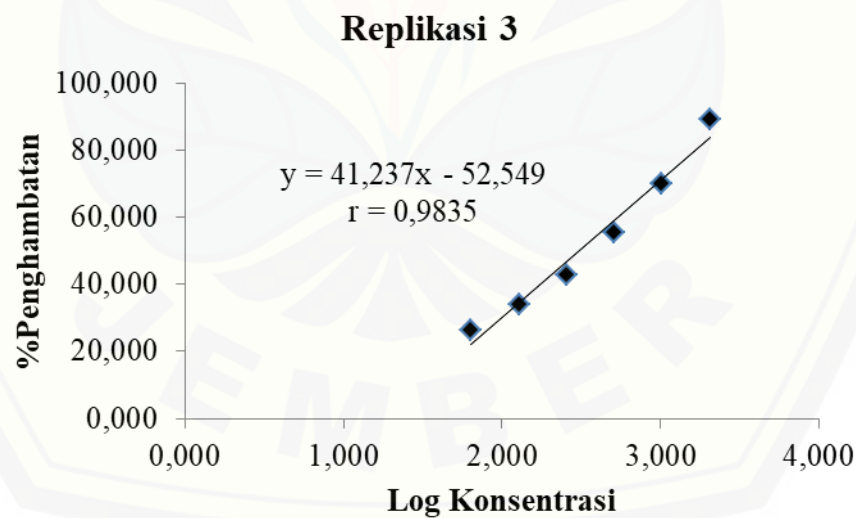
Kurva Penghambatan Bakteri oleh Fraksi Etil Asetat Senggugu



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 6$, adalah 0,811.
2. $r = 0,9818 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi etil asetat Senggugu.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 6$, adalah 0,811.
2. $r = 0,9821 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi etil asetat Senggugu.

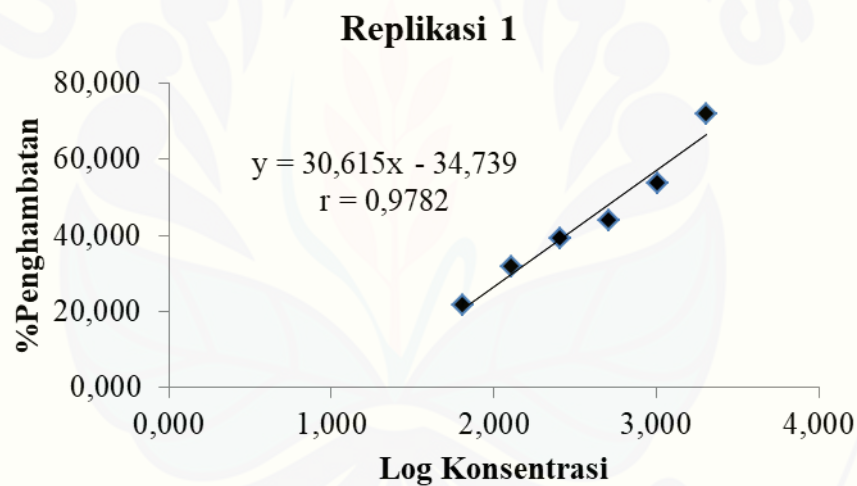


1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 6$, adalah 0,811.
2. $r = 0,9835 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi etil asetat Senggugu.

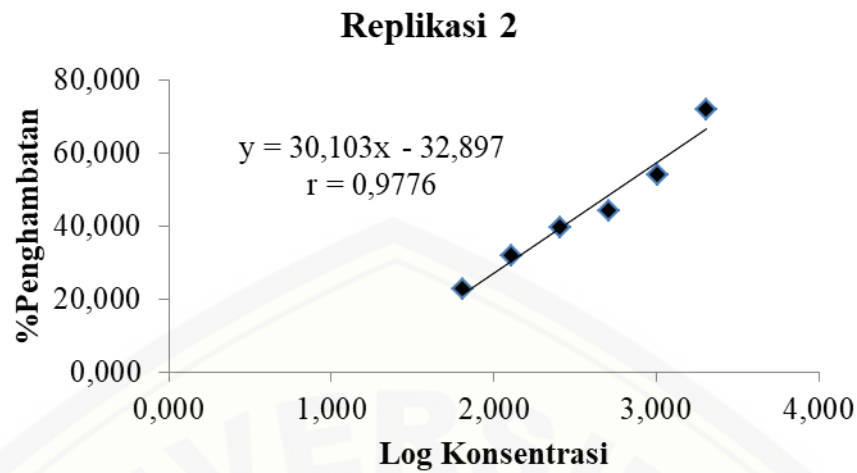
5. Aktivitas Antibakteri Residu Senggugu

Konsentrasi	Log Kons.	% Penghambatan		
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
2048	3,311	71,951	72,098	72,413
1024	3,010	53,557	54,031	54,713
512	2,709	43,801	44,095	44,924
256	2,408	39,126	39,779	40,574
128	2,107	31,606	32,051	33,158
64	1,806	21,545	22,717	23,764

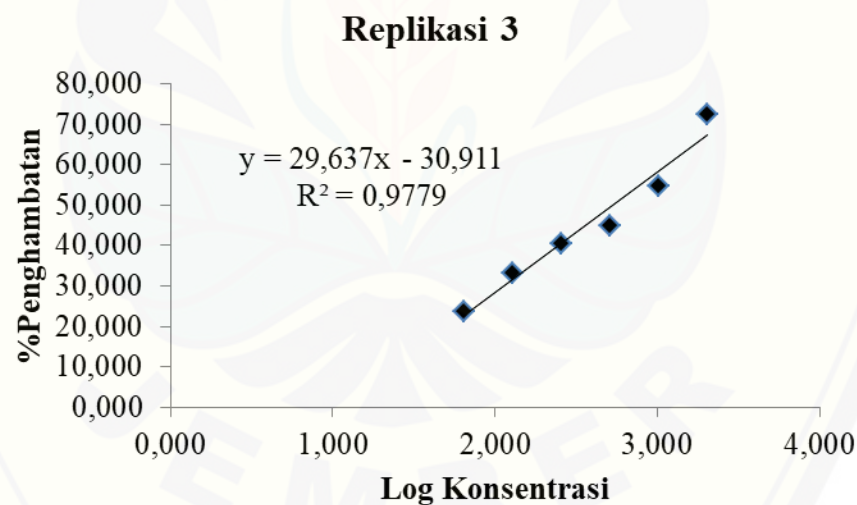
Kurva Penghambatan Bakteri oleh Residu Senggugu



3. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 6$, adalah 0,811.
4. $r = 0,9782 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi residu Senggugu.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 6$, adalah 0,811.
2. $r = 0,9776 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi residu Senggugu.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 6$, adalah 0,811.
2. $r = 0,9779 > r$ tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi residu Senggugu.

Lampiran 4.7 Hasil Analisis Probit Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Senggugu

1. Ekstrak Metanol Senggugu

a. Replikasi 1

		Confidence Limits		
		95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	,010	-1843,732	-4868,847	-624,004
	,020	-1581,890	-4409,434	-438,509
	,030	-1415,760	-4118,167	-320,603
	,040	-1290,787	-3899,185	-231,779
	,050	-1189,131	-3721,150	-159,439
	,060	-1102,605	-3569,683	-97,796
	,070	-1026,740	-3436,934	-43,690
	,080	-958,811	-3318,121	4,803
	,090	-897,032	-3210,107	48,948
	,100	-840,165	-3110,718	89,621
	,150	-604,720	-2699,653	258,451
	,200	-417,595	-2373,535	393,215
	,250	-257,059	-2094,262	509,338
	,300	-112,892	-1843,947	614,101
	,350	20,699	-1612,475	711,661
	,400	147,465	-1393,340	804,745
	,450	270,112	-1181,882	895,363
	,500	390,814	-974,412	985,180
	,550	511,517	-767,694	1075,749
	,600	634,164	-558,572	1168,703
	,650	760,929	-343,623	1265,973
	,700	894,521	-118,727	1370,109
	,750	1038,688	121,594	1484,866
	,800	1199,224	385,399	1616,457
	,850	1386,348	685,964	1776,774
	,900	1621,794	1048,667	1993,965
	,910	1678,661	1132,821	2049,873
	,920	1740,440	1222,400	2112,453
	,930	1808,368	1318,473	2183,686
	,940	1884,234	1422,507	2266,508

,950	1970,759	1536,632	2365,492
,960	2072,416	1664,222	2488,277
,970	2197,389	1811,346	2648,959
,980	2363,519	1991,261	2878,218
,990	2625,361	2245,189	3269,198

Nilai IC₅₀ ekstrak metanol Senggugu replikasi 1 adalah 390,814 µg/mL

b. Replikasi 2

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ,010	-1854,398	-5391,771	-555,395
,020	-1593,733	-4902,399	-375,453
,030	-1428,349	-4592,105	-261,088
,040	-1303,937	-4358,801	-174,939
,050	-1202,737	-4169,108	-104,781
,060	-1116,601	-4007,713	-45,002
,070	-1041,076	-3866,253	7,465
,080	-973,452	-3739,637	54,487
,090	-911,951	-3624,523	97,290
,100	-855,340	-3518,595	136,724
,150	-620,952	-3080,419	300,389
,200	-434,668	-2732,704	430,997
,250	-274,853	-2434,857	543,509
,300	-131,334	-2167,817	644,985
,350	1,658	-1920,804	739,456
,400	127,854	-1686,875	829,562
,450	249,950	-1461,052	917,247
,500	370,110	-1239,386	1004,118
,550	490,270	-1018,402	1091,671
,600	612,366	-794,699	1181,476
,650	738,562	-564,571	1275,383
,700	871,554	-323,535	1375,831
,750	1015,073	-65,597	1486,408
,800	1174,888	218,115	1613,055
,850	1361,172	542,309	1767,185
,900	1595,560	935,219	1976,115
,910	1652,171	1026,652	2030,045
,920	1713,672	1124,064	2090,550

,930	1781,296	1228,592	2159,659
,940	1856,821	1341,761	2240,417
,950	1942,958	1465,716	2337,636
,960	2044,157	1603,739	2459,464
,970	2168,569	1761,566	2621,092
,980	2333,953	1951,630	2855,686
,990	2594,618	2213,200	3263,430

Nilai IC₅₀ ekstrak metanol Senggugu replikasi 2 adalah 370,110 µg/mL

c. Replikasi 3

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ,010	-1982,052	-5423,367	-654,924
,020	-1707,956	-4926,675	-463,112
,030	-1534,051	-4611,762	-341,191
,040	-1403,228	-4374,996	-249,344
,050	-1296,814	-4182,498	-174,540
,060	-1206,240	-4018,723	-110,800
,070	-1126,823	-3875,183	-54,853
,080	-1055,715	-3746,710	-4,710
,090	-991,045	-3629,912	40,936
,100	-931,517	-3522,437	82,993
,150	-685,052	-3077,908	257,559
,200	-489,170	-2725,207	396,896
,250	-321,120	-2423,138	516,951
,300	-170,206	-2152,359	625,254
,350	-30,362	-1901,933	726,102
,400	102,336	-1664,818	822,314
,450	230,723	-1435,972	915,964
,500	357,075	-1211,395	1008,770
,550	483,426	-987,576	1102,334
,600	611,813	-761,082	1198,337
,650	744,512	-528,182	1298,763
,700	884,356	-284,373	1406,229
,750	1035,270	-23,644	1524,581
,800	1203,319	262,885	1660,177
,850	1399,201	589,915	1825,184
,900	1645,666	985,733	2048,463

,910	1705,195	1077,798	2105,928
,920	1769,865	1175,896	2170,275
,930	1840,972	1281,211	2243,576
,940	1920,389	1395,351	2328,922
,950	2010,964	1520,623	2431,167
,960	2117,378	1660,615	2558,476
,970	2248,200	1821,672	2726,032
,980	2422,105	2017,512	2967,026
,990	2696,202	2290,761	3382,281

Nilai IC₅₀ ekstrak metanol Senggugu replikasi 3 adalah 357,075 µg/mL

Tabulasi Nilai IC₅₀ Ekstrak Metanol Senggugu

Uji Aktivitas Antibakteri	IC ₅₀	Rerata ± SD	CV
Replikasi 1	390,814		
Replikasi 2	370,110	380,462 ± 17,014	4,472
Replikasi 3	357,075		

2. Fraksi n-Heksana

a. Replikasi 1

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a ,010	-1335,413	.	.
,020	-1157,461	.	.
,030	-1044,556	.	.
,040	-959,621	.	.
,050	-890,534	.	.
,060	-831,730	.	.
,070	-780,170	.	.
,080	-734,004	.	.
,090	-692,019	.	.
,100	-653,371	.	.
,150	-493,358	.	.
,200	-366,184	.	.
,250	-257,081	.	.
,300	-159,103	.	.
,350	-68,311	.	.
,400	17,841	.	.

,450	101,194	.	.
,500	183,226	.	.
,550	265,257	.	.
,600	348,611	.	.
,650	434,763	.	.
,700	525,554	.	.
,750	623,532	.	.
,800	732,636	.	.
,850	859,809	.	.
,900	1019,822	.	.
,910	1058,470	.	.
,920	1100,456	.	.
,930	1146,622	.	.
,940	1198,181	.	.
,950	1256,986	.	.
,960	1326,073	.	.
,970	1411,007	.	.
,980	1523,912	.	.
,990	1701,865	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

Nilai IC₅₀ fraksi n-heksana Senggugu replikasi 1 adalah 183,226 µg/mL

b. Replikasi 2

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a ,010	-1415,996	.	.
,020	-1229,341	.	.
,030	-1110,915	.	.
,040	-1021,827	.	.
,050	-949,361	.	.
,060	-887,681	.	.
,070	-833,599	.	.
,080	-785,176	.	.
,090	-741,137	.	.
,100	-700,599	.	.
,150	-532,761	.	.
,200	-399,368	.	.
,250	-284,929	.	.

,300	-182,159	.	.
,350	-86,928	.	.
,400	3,437	.	.
,450	90,867	.	.
,500	176,910	.	.
,550	262,954	.	.
,600	350,383	.	.
,650	440,749	.	.
,700	535,980	.	.
,750	638,750	.	.
,800	753,189	.	.
,850	886,581	.	.
,900	1054,420	.	.
,910	1094,958	.	.
,920	1138,997	.	.
,930	1187,420	.	.
,940	1241,502	.	.
,950	1303,181	.	.
,960	1375,648	.	.
,970	1464,735	.	.
,980	1583,162	.	.
,990	1769,817	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

Nilai IC₅₀ fraksi n-heksana Senggugu replikasi 2 adalah 176,910 µg/mL

c. Replikasi 3

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a ,010	-1387,460	.	.
,020	-1204,886	.	.
,030	-1089,048	.	.
,040	-1001,908	.	.
,050	-931,027	.	.
,060	-870,695	.	.
,070	-817,796	.	.
,080	-770,432	.	.
,090	-727,356	.	.
,100	-687,704	.	.

,150	-523,535	.	.
,200	-393,059	.	.
,250	-281,122	.	.
,300	-180,599	.	.
,350	-87,450	.	.
,400	,940	.	.
,450	86,458	.	.
,500	170,620	.	.
,550	254,782	.	.
,600	340,300	.	.
,650	428,690	.	.
,700	521,839	.	.
,750	622,362	.	.
,800	734,299	.	.
,850	864,775	.	.
,900	1028,944	.	.
,910	1068,596	.	.
,920	1111,672	.	.
,930	1159,036	.	.
,940	1211,935	.	.
,950	1272,267	.	.
,960	1343,148	.	.
,970	1430,288	.	.
,980	1546,126	.	.
,990	1728,700	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

Nilai IC₅₀ fraksi n-heksana Senggugu replikasi 3 adalah 170,620 µg/mL

Tabulasi Nilai IC₅₀ Fraksi n-Heksana Senggugu

Uji Aktivitas Antibakteri	IC ₅₀	Rerata ± SD	CV
Replikasi 1	183,226		
Replikasi 2	176,910	176,919 ± 6,303	3,563
Replikasi 3	170,620		

3. Fraksi Diklorometana

a. Replikasi 1

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a ,010	-1942,932	-18367,743	-90,808
,020	-1673,420	-16965,918	68,018
,030	-1502,423	-16077,292	169,576
,040	-1373,788	-15409,284	246,444
,050	-1269,154	-14866,245	309,306
,060	-1180,094	-14404,294	363,070
,070	-1102,005	-13999,467	410,425
,080	-1032,087	-13637,176	453,008
,090	-968,498	-13307,846	491,896
,100	-909,965	-13004,841	527,836
,150	-667,622	-11751,982	678,299
,200	-475,016	-10758,528	800,161
,250	-309,776	-9908,247	906,721
,300	-161,386	-9146,608	1004,356
,350	-23,881	-8442,821	1096,814
,400	106,598	-7777,128	1186,679
,450	232,838	-7135,446	1276,009
,500	357,077	-6506,711	1366,696
,550	481,316	-5881,335	1460,742
,600	607,556	-5250,136	1560,555
,650	738,035	-4603,397	1669,374
,700	875,540	-3929,817	1792,039
,750	1023,930	-3215,092	1936,587
,800	1189,169	-2439,730	2118,067
,850	1381,776	-1575,805	2369,458
,900	1624,119	-584,177	2781,152
,910	1682,652	-366,666	2902,586
,920	1746,240	-142,137	3046,275
,930	1816,159	89,509	3219,504
,940	1894,248	328,314	3432,880
,950	1983,308	574,464	3702,446
,960	2087,942	828,906	4053,904
,970	2216,576	1095,053	4532,633

,980	2387,574	1383,811	5234,058
,990	2657,086	1734,983	6443,539

a. A heterogeneity factor is used.

Nilai IC₅₀ fraksi diklorometana Senggugu replikasi 1 adalah 357,077 µg/mL

b. Replikasi 2

		Confidence Limits		
		95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	,010	-2014,877	-22930,958	-70,577
	,020	-1738,738	-21210,230	90,182
	,030	-1563,537	-20119,343	193,039
	,040	-1431,740	-19299,226	270,928
	,050	-1324,533	-18632,490	334,651
	,060	-1233,284	-18065,277	389,173
	,070	-1153,276	-17568,176	437,213
	,080	-1081,638	-17123,281	480,426
	,090	-1016,486	-16718,842	519,902
	,100	-956,514	-16346,713	556,397
	,150	-708,213	-14807,821	709,319
	,200	-510,871	-13587,261	833,359
	,250	-341,569	-12542,342	941,987
	,300	-189,531	-11606,111	1041,677
	,350	-48,645	-10740,746	1136,246
	,400	85,042	-9921,957	1228,342
	,450	214,386	-9132,414	1320,091
	,500	341,679	-8358,476	1413,472
	,550	468,972	-7588,293	1510,607
	,600	598,315	-6810,472	1614,078
	,650	732,003	-6012,916	1727,406
	,700	872,889	-5181,497	1855,922
	,750	1024,927	-4298,252	2008,598
	,800	1194,228	-3338,648	2202,541
	,850	1391,570	-2267,661	2476,154
	,900	1639,871	-1038,201	2938,508
	,910	1699,843	-769,386	3078,318
	,920	1764,995	-492,777	3245,624
	,930	1836,633	-208,819	3449,773
	,940	1916,641	81,701	3704,394

,950	2007,891	377,832	4029,998
,960	2115,097	679,170	4459,119
,970	2246,894	987,836	5048,460
,980	2422,096	1314,035	5916,004
,990	2698,234	1698,453	7413,073

a. A heterogeneity factor is used.

Nilai IC₅₀ fraksi diklorometana Senggugu replikasi 2 adalah 341,679 µg/mL

c. Replikasi 3

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a ,010	-1984,626	-18471,920	-109,472
,020	-1713,103	-17070,489	50,671
,030	-1540,830	-16182,114	153,065
,040	-1411,235	-15514,296	230,564
,050	-1305,820	-14971,411	293,937
,060	-1216,096	-14509,591	348,138
,070	-1137,425	-14104,878	395,874
,080	-1066,984	-13742,689	438,799
,090	-1002,921	-13413,452	477,997
,100	-943,952	-13110,531	514,222
,150	-699,800	-11858,016	665,859
,200	-505,757	-10864,824	788,641
,250	-339,284	-10014,750	895,976
,300	-189,787	-9253,280	994,287
,350	-51,256	-8549,627	1087,350
,400	80,197	-7884,032	1177,760
,450	207,379	-7242,407	1267,579
,500	332,545	-6613,679	1358,698
,550	457,710	-5988,242	1453,108
,600	584,892	-5356,881	1553,191
,650	716,345	-4709,825	1662,140
,700	854,877	-4035,673	1784,704
,750	1004,374	-3319,914	1928,726
,800	1170,846	-2542,607	2108,827
,850	1364,890	-1674,680	2356,875
,900	1609,041	-673,596	2759,943
,910	1668,011	-452,829	2878,322

,920	1732,074	-224,313	3018,241
,930	1802,514	12,214	3186,828
,940	1881,185	256,963	3394,529
,950	1970,910	510,259	3657,253
,960	2076,325	773,120	4000,650
,970	2205,919	1048,905	4470,182
,980	2378,192	1348,397	5161,459
,990	2649,716	1711,586	6359,845

a. A heterogeneity factor is used.

Nilai IC₅₀ fraksi diklorometana Sengguu replikasi 3 adalah 332,545 µg/mL

Tabulasi Nilai IC₅₀ Fraksi Dikrolometana Sengguu

Uji Aktivitas Antibakteri	IC ₅₀	Rerata ± SD	CV
Replikasi 1	357,077		
Replikasi 2	341,679	343,767 ± 12,399	3,607
Replikasi 3	332,545		

4. Fraksi Etil Asetat

a. Replikasi 1

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a ,010	-1884,632	-12022,039	-143,771
,020	-1598,536	-11011,721	30,368
,030	-1417,017	-10371,349	141,496
,040	-1280,468	-9890,007	225,478
,050	-1169,395	-9498,748	294,066
,060	-1074,855	-9165,940	352,660
,070	-991,962	-8874,309	404,213
,080	-917,741	-8613,340	450,524
,090	-850,240	-8376,133	492,776
,100	-788,105	-8157,904	531,789
,150	-530,851	-7255,774	694,710
,200	-326,393	-6540,723	826,128
,250	-150,986	-5928,999	940,599
,300	6,534	-5381,333	1045,078
,350	152,501	-4875,576	1143,631

,400	291,008	-4397,545	1239,031
,450	425,016	-3937,174	1333,462
,500	556,899	-3486,606	1428,898
,550	688,782	-3039,104	1527,401
,600	822,790	-2588,317	1631,415
,650	961,298	-2127,673	1744,203
,700	1107,264	-1649,768	1870,608
,750	1264,785	-1145,637	2018,622
,800	1440,191	-603,899	2203,079
,850	1644,649	-10,110	2455,759
,900	1901,904	651,969	2858,732
,910	1964,038	793,878	2974,065
,920	2031,539	939,256	3108,145
,930	2105,760	1088,390	3266,291
,940	2188,653	1241,865	3456,000
,950	2283,194	1400,899	3688,368
,960	2394,266	1568,042	3981,072
,970	2530,816	1748,798	4365,641
,980	2712,334	1956,303	4909,635
,990	2998,430	2232,043	5818,352

a. A heterogeneity factor is used.

Nilai IC₅₀ fraksi etil asetat Senggugu replikasi 1 adalah 556,899 µg/mL

b. Replikasi 2

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a ,010	-1965,087	-12686,183	-159,305
,020	-1670,247	-11629,656	19,262
,030	-1483,182	-10959,940	133,173
,040	-1342,459	-10456,508	219,233
,050	-1227,992	-10047,268	289,501
,060	-1130,563	-9699,147	349,515
,070	-1045,137	-9394,083	402,305
,080	-968,648	-9121,079	449,718
,090	-899,084	-8872,921	492,966
,100	-835,050	-8644,606	532,890
,150	-569,934	-7700,657	699,525
,200	-359,228	-6952,283	833,808

,250	-178,461	-6311,892	950,658
,300	-16,127	-5738,404	1057,195
,350	134,300	-5208,637	1157,573
,400	277,041	-4707,734	1254,616
,450	415,144	-4225,130	1350,533
,500	551,057	-3752,562	1447,312
,550	686,971	-3282,911	1547,009
,600	825,074	-2809,431	1652,049
,650	967,814	-2325,087	1765,651
,700	1118,241	-1821,870	1892,579
,750	1280,575	-1289,957	2040,692
,800	1461,342	-716,644	2224,619
,850	1672,048	-85,381	2476,013
,900	1937,164	622,837	2878,378
,910	2001,198	775,122	2994,333
,920	2070,762	931,168	3129,693
,930	2147,251	1091,154	3290,124
,940	2232,677	1255,509	3483,624
,950	2330,107	1425,263	3722,004
,960	2444,573	1602,782	4023,993
,970	2585,296	1793,456	4422,811
,980	2772,362	2010,548	4989,346
,990	3067,201	2296,441	5938,547

a. A heterogeneity factor is used.

Nilai IC₅₀ fraksi etil asetat Senggugu replikasi 2 adalah 551,057 µg/mL

c. Replikasi 3

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a ,010	-2022,846	-15902,566	-115,242
,020	-1723,260	-14612,850	62,711
,030	-1533,183	-13795,284	176,333
,040	-1390,195	-13180,691	262,238
,050	-1273,885	-12681,076	332,422
,060	-1174,887	-12256,065	392,401
,070	-1088,085	-11883,611	445,188
,080	-1010,365	-11550,293	492,623
,090	-939,681	-11247,304	535,912

,100	-874,616	-10968,535	575,895
,150	-605,232	-9815,926	742,997
,200	-391,133	-8902,035	877,972
,250	-207,456	-8119,933	995,704
,300	-42,508	-7419,471	1103,319
,350	110,341	-6772,343	1204,996
,400	255,379	-6160,406	1303,602
,450	395,706	-5570,757	1401,411
,500	533,808	-4993,296	1500,509
,550	671,909	-4419,327	1603,098
,600	812,236	-3840,604	1711,833
,650	957,274	-3248,535	1830,307
,700	1110,123	-2633,365	1963,942
,750	1275,071	-1983,201	2121,855
,800	1458,749	-1282,891	2321,378
,850	1672,847	-513,572	2600,925
,900	1942,232	342,520	3064,545
,910	2007,296	524,513	3201,303
,920	2077,980	709,759	3362,336
,930	2155,701	898,071	3554,777
,940	2242,502	1089,471	3788,618
,950	2341,500	1284,590	4078,488
,960	2457,810	1485,476	4447,402
,970	2600,798	1697,386	4935,989
,980	2790,876	1933,757	5630,807
,990	3090,462	2237,791	6794,442

a. A heterogeneity factor is used.

Nilai IC_{50} fraksi etil asetat Senggugu replikasi 3 adalah 533,808 $\mu\text{g/mL}$

Tabulasi Nilai IC_{50} Fraksi Etil Asetat Senggugu

Uji Aktivitas Antibakteri	IC_{50}	Rerata \pm SD	CV
Replikasi 1	556,899		
Replikasi 2	551,057	547,225 \pm 12,006	2,194
Replikasi 3	533,808		

5. Residu

a. Replikasi 1

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a ,010	-2998,731	.	.
,020	-2536,027	.	.
,030	-2242,456	.	.
,040	-2021,614	.	.
,050	-1841,976	.	.
,060	-1689,076	.	.
,070	-1555,012	.	.
,080	-1434,975	.	.
,090	-1325,805	.	.
,100	-1225,314	.	.
,150	-809,255	.	.
,200	-478,585	.	.
,250	-194,899	.	.
,300	59,859	.	.
,350	295,931	.	.
,400	519,940	.	.
,450	736,671	.	.
,500	949,967	.	.
,550	1163,262	.	.
,600	1379,993	.	.
,650	1604,002	.	.
,700	1840,074	.	.
,750	2094,832	.	.
,800	2378,518	.	.
,850	2709,188	.	.
,900	3125,247	.	.
,910	3225,738	.	.
,920	3334,908	.	.
,930	3454,945	.	.
,940	3589,009	.	.
,950	3741,909	.	.
,960	3921,547	.	.

,970	4142,389	.	.
,980	4435,960	.	.
,990	4898,664	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

Nilai IC₅₀ residu Senggugu replikasi 1 adalah 949,967 µg/mL

b. Replikasi 2

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a ,010	-3079,931	.	.
,020	-2610,147	.	.
,030	-2312,084	.	.
,040	-2087,863	.	.
,050	-1905,476	.	.
,060	-1750,237	.	.
,070	-1614,122	.	.
,080	-1492,247	.	.
,090	-1381,407	.	.
,100	-1279,379	.	.
,150	-856,954	.	.
,200	-521,224	.	.
,250	-233,197	.	.
,300	25,459	.	.
,350	265,143	.	.
,400	492,580	.	.
,450	712,627	.	.
,500	929,186	.	.
,550	1145,745	.	.
,600	1365,793	.	.
,650	1593,229	.	.
,700	1832,913	.	.
,750	2091,570	.	.
,800	2379,596	.	.
,850	2715,326	.	.
,900	3137,751	.	.
,910	3239,780	.	.
,920	3350,620	.	.
,930	3472,494	.	.

,940	3608,609	.	.
,950	3763,849	.	.
,960	3946,236	.	.
,970	4170,457	.	.
,980	4468,520	.	.
,990	4938,304	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

Nilai IC₅₀ residu Senggugu replikasi 2 adalah 929,186 µg/mL

c. Replikasi 3

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a ,010	-3181,911	.	.
,020	-2704,104	.	.
,030	-2400,950	.	.
,040	-2172,900	.	.
,050	-1987,398	.	.
,060	-1829,507	.	.
,070	-1691,068	.	.
,080	-1567,112	.	.
,090	-1454,379	.	.
,100	-1350,608	.	.
,150	-920,969	.	.
,200	-579,505	.	.
,250	-286,559	.	.
,300	-23,485	.	.
,350	220,292	.	.
,400	451,613	.	.
,450	675,419	.	.
,500	895,676	.	.
,550	1115,933	.	.
,600	1339,739	.	.
,650	1571,060	.	.
,700	1814,837	.	.
,750	2077,911	.	.
,800	2370,857	.	.
,850	2712,321	.	.
,900	3141,960	.	.

,910	3245,731	.	.
,920	3358,464	.	.
,930	3482,420	.	.
,940	3620,860	.	.
,950	3778,750	.	.
,960	3964,252	.	.
,970	4192,302	.	.
,980	4495,456	.	.
,990	4973,263	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

Nilai IC_{50} residu Senggugu replikasi 3 adalah 895,676 $\mu\text{g/mL}$

Tabulasi Nilai IC_{50} Residu Senggugu

Uji Aktivitas Antibakteri	IC_{50}	Rerata \pm SD	CV
Replikasi 1	949,967		
Replikasi 2	929,186	924,943 \pm 27,393	2,962
Replikasi 3	895,676		

Lampiran 4.8 Hasil Analisis Statistika Nilai IC₅₀ Ekstrak dan Fraksi Senggugu

1. Hasil Uji Normalitas

Tests of Normality

Kelompok Uji	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC ₅₀ Ekstrak metanol	,226	3	.	,983	3	,751
Fraksi n-heksana	,175	3	.	1,000	3	,998
Fraksi diklorometana	,234	3	.	,979	3	,720
Fraksi etil asetat	,291	3	.	,925	3	,469
residu	,228	3	.	,982	3	,743

a. Lilliefors Significance Correction

2. Hasil Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

IC₅₀

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,494	4	10	,276

3. Hasil Uji *One Way* ANOVA

ANOVA

IC₅₀

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	972595,018	4	243148,754	882,601	,000
Within Groups	2754,912	10	275,491		
Total	975349,930	14			

4. Hasil Uji LSD

Multiple Comparisons

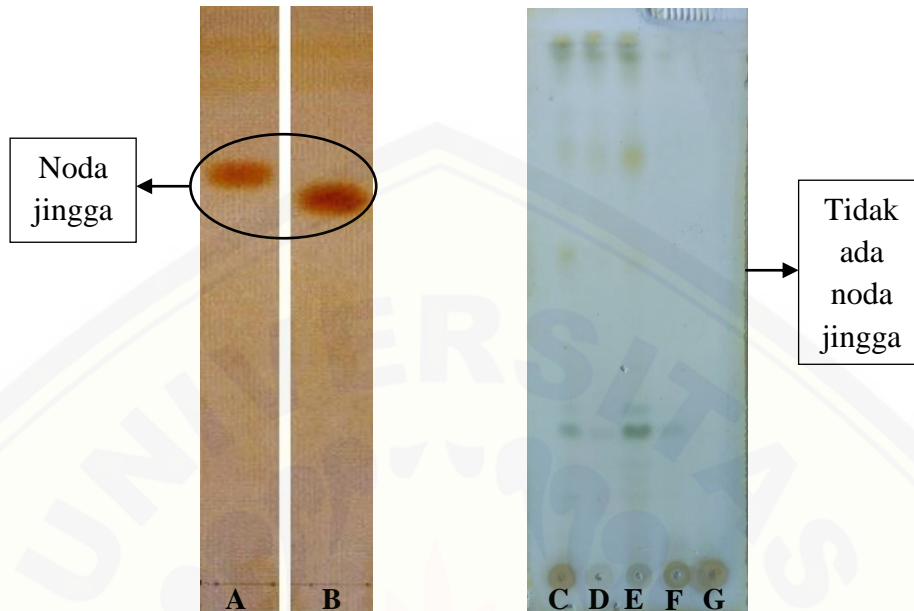
Dependent Variable: IC₅₀

(I) Kelompok Uji	(J) Kelompok Uji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak metanol	Fraksi n-heksana	195,747667*	13,552151	,000	165,55159	225,94374
	Fraksi diklorometana	28,899333	13,552151	,059	-1,29674	59,09541
	Fraksi etil asetat	-174,588333*	13,552151	,000	-204,78441	-144,39226
	Residu	-552,276667*	13,552151	,000	-582,47274	-522,08059
Fraksi n-heksana	Ekstrak metanol	-195,747667*	13,552151	,000	-225,94374	-165,55159
	Fraksi diklorometana	-166,848333*	13,552151	,000	-197,04441	-136,65226
	Fraksi etil asetat	-370,336000*	13,552151	,000	-400,53207	-340,13993
	Residu	-748,024333*	13,552151	,000	-778,22041	-717,82826
Fraksi diklorometana	Ekstrak metanol	-28,899333	13,552151	,059	-59,09541	1,29674
	Fraksi n-heksana	166,848333*	13,552151	,000	136,65226	197,04441
	Fraksi etil asetat	-203,487667*	13,552151	,000	-233,68374	-173,29159
	Residu	-581,176000*	13,552151	,000	-611,37207	-550,97993
Fraksi etil asetat	Ekstrak metanol	174,588333*	13,552151	,000	144,39226	204,78441
	Fraksi n-heksana	370,336000*	13,552151	,000	340,13993	400,53207
	Fraksi diklorometana	203,487667*	13,552151	,000	173,29159	233,68374
	Residu	-377,688333*	13,552151	,000	-407,88441	-347,49226
Residu	Ekstrak metanol	552,276667*	13,552151	,000	522,08059	582,47274
	Fraksi n-heksana	748,024333*	13,552151	,000	717,82826	778,22041
	Fraksi diklorometana	581,176000*	13,552151	,000	550,97993	611,37207
	Fraksi etil asetat	377,688333*	13,552151	,000	347,49226	407,88441

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

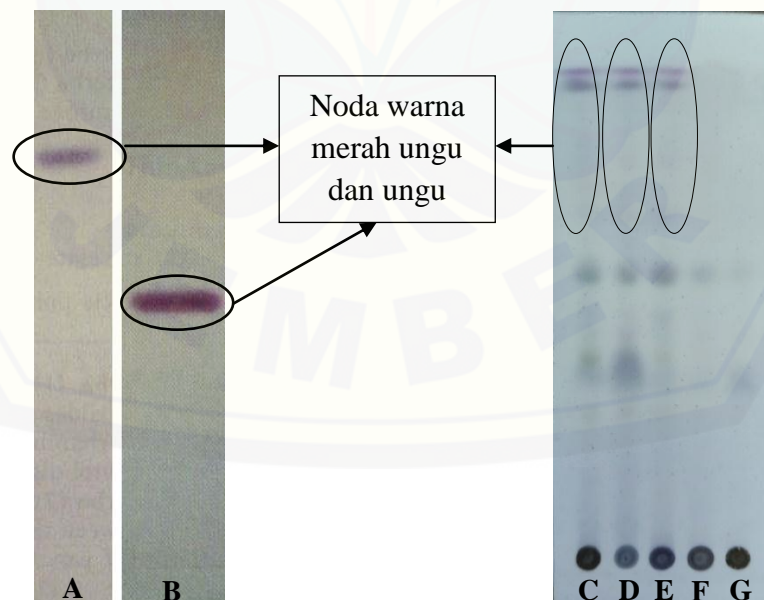
Lampiran 4.9 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Senggugu

1. Uji Alkaloid



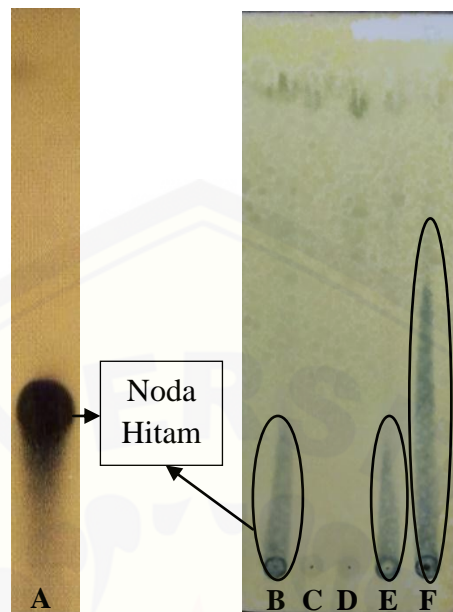
Gambar 4.8.1 Skrining fitokimia alkaloid secara KLT pada senyawa referensi A) lobelin dan B) efedrin (Bladt, 2009), serta C) ekstrak metanol, D) fraksi n-heksana, E) fraksi diklorometana, F) fraksi etil asetat, G) residu daun Senggugu.

2. Uji Terpenoid/Steroid Bebas



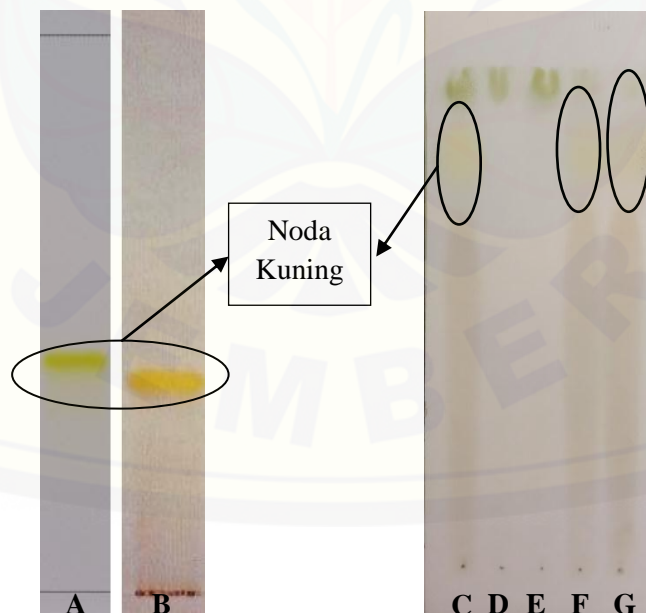
Gambar 4.8.2 Skrining fitokimia terpenoid/steroid bebas secara KLT pada senyawa referensi A) asam oleanolat dan B) β -sitosterin (Bladt, 2009), serta C) ekstrak metanol, D) fraksi n-heksana, E) fraksi diklorometana, F) fraksi etil asetat, G) residu daun Senggugu.

3. Uji Polifenol



Gambar 4.8.3 Skrining fitokimia polifenol secara KLT pada senyawa referensi A) timol (Wagner, 1996), ekstrak metanol, B) fraksi n-heksana, C) fraksi diklorometana, D) fraksi etil asetat, dan E) residu daun Senggugu.

4. Uji Flavonoid



Gambar 4.8.4 Skrining fitokimia flavonoid secara KLT pada senyawa referensi A) aloin dan B) emodin (Wagner, 1996), serta C) ekstrak metanol, B) fraksi n-heksana, C) fraksi diklorometana, D) fraksi etil asetat, E) residu daun Senggugu.