



**PENENTUAN ALKALOID DAN FLAVONOID TOTAL, SERTA
UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SOSOR
BEBEK (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken)
PADA *Bacillus cereus***

SKRIPSI

Oleh :

Siti Marfu'ah

132210101052

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017



**PENENTUAN ALKALOID DAN FLAVONOID TOTAL, SERTA
UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SOSOR
BEBEK (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken)
PADA *Bacillus cereus***

SKRIPSI

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

Oleh :

Siti Marfu'ah

132210101052

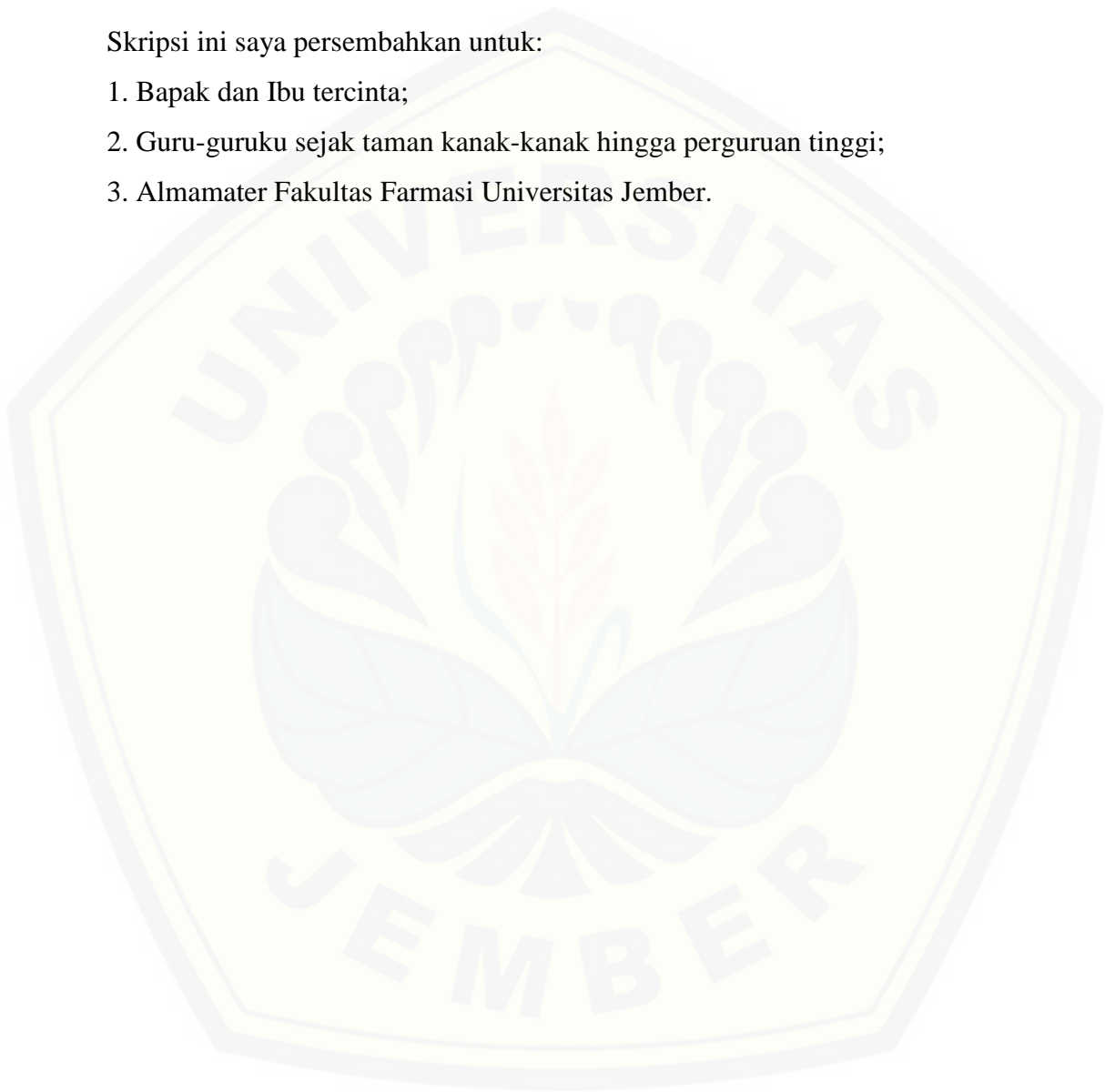
**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Bapak dan Ibu tercinta;
2. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
3. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.



MOTO

Boleh jadi kamu tidak menyenangi sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal itu tidak baik bagimu. Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.

(terjemahan Surat *Al-Baqarah* ayat 216)



PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

nama : Siti Marfu'ah

NIM : 132210101052

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Penentuan Alkaloid dan Flavonoid Total, Serta Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sosor Bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) pada *Bacillus cereus*” 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 kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 17 Juli 2017

Yang Menyatakan,

Siti Marfu'ah
NIM 132210101052

SKRIPSI

**PENENTUAN ALKALOID DAN FLAVONOID TOTAL, SERTA UJI
ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SOSOR BEBEK
(*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken)
PADA *Bacillus cereus***

Oleh

Siti Marfu'ah

NIM 132210101052

Pembimbing

Dosen pembimbing utama : Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt

Dosen pembimbing anggota : Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Penentuan Alkaloid dan Flavonoid Total, Serta Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sosor Bebek (*Bryophyllum Pinnatum* (Lam.) Oken) pada *Bacillus Cereus*" telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Jum'at, 21 Juli 2017

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing:

Pembimbing Utama,



Dwi Koko Pratoko, S.Farm.,M.Sc., Apt
NIP 198504282009121004

Pembimbing Anggota,



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

Tim Penguji:

Penguji I,



Indah Yulia Ningsih, S.Farm.,M.Farm.,Apt
NIP 198407122008122002

Penguji II,



Nia Kristiningrum, S.Farm.,M.Farm.,Apt
NIP 198204062006042002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



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

RINGKASAN

Penentuan Alkaloid dan Flavonoid Total, Serta Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sosor Bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) pada *Bacillus cereus*; Siti Marfu'ah, 132210101052; 2017: 74 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyakit diare merupakan penyakit endemis di Indonesia dan juga merupakan penyakit potensial KLB (Kejadian Luar Biasa) yang sering disertai dengan kematian. Diare sering disebabkan oleh infeksi beberapa agen bakteri yang aktif pada saluran pencernaan. Terapi infeksi diare yang disebabkan oleh bakteri selama ini menggunakan antibiotik. Dalam praktiknya, penggunaan antibiotik yang tidak rasional menyebabkan banyak kasus bakteri yang resisten terhadap antibiotik, serta timbulnya efek samping seperti hipersensitifitas, penekanan kekebalan, dan reaksi alergi. Adanya resistensi antibiotik tersebut menunjukkan bahwa perlu dikembangkannya antibakteri baru sebagai alternatif pengobatan antibakteri yang bersumber dari bahan alam. Salah satu bahan alam yang memiliki potensi digunakan sebagai agen antibakteri adalah sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri, kadar alkaloid dan flavonoid total pada ekstrak etanol daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken). Metode yang digunakan untuk uji antibakteri adalah difusi sumuran, dan untuk penetapan kadar alkaloid serta flavonoid totalnya adalah spektrofotometri.

Penelitian diawali dengan determinasi tanaman, ekstraksi, hingga dilakukan pengujian antibakteri dan penetapan kadar alkaloid dan flavonoid totalnya. Adapun rendemen hasil ekstraksi sampel sebesar 6,34%. Kemudian pada uji aktivitas antibakteri didapatkan nilai diameter hambat ekstrak etanol daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) terhadap *Bacillus cereus* pada konsentrasi 10%, 30%, 50%, dan 70%, berturut-turut adalah 13,5 mm; 17,2 mm; 18,3 mm; dan 18,2 mm. Sedangkan kadar alkaloid total dan flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) masing-masing adalah 2,780 mgBE/gram ekstrak \pm 0,041 dan 11,000 mgQE/gram ekstrak \pm 0,014.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penentuan Alkaloid dan Flavonoid Total, Serta Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sosor Bebek (*Bryophyllum Pinnatum* (Lam.) Oken) pada *Bacillus Cereus*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. Lestyo Wulandari, S.Si.,Apt.,M.Farm, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Dwi Koko Pratoko, S.Farm.,M.Sc.,Apt dan Bawon Triatmoko, S.Farm.,M.Sc.,Apt selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
3. Ika Puspita Dewi, S.Farm.,M.Biomed.,Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama menjadi mahasiswa;
4. Bapak dan Ibu sekeluarga yang telah memberikan dorongan dan doanya demi terselesaikannya skripsi ini;
5. Semua teman dan sahabat yang senantiasa memberikan semangat dan dukungan;
6. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

Jember, Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
RINGKASAN/SUMMARY	vi
PRAKATA	vii
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Sosor Bebek	5
2.1.1 Taksonomi.....	5
2.1.2 Penggunaan secara Tradisional.....	5
2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia.....	6
2.1.4 Aktivitas Farmakologis.....	8
2.2 Diare	9
2.2.1 Definisi	9
2.2.2 Epidemiologi	9
2.2.3 Mekanisme Infeksi Diare.....	10

2.3 <i>Bacillus cereus</i>	10
2.4 Penentuan Alkaloid Total	12
2.5 Penentuan Flavonoid Total	14
2.6 Metode Pengujian Antibakteri	14
2.6.1 Metode Difusi.....	14
2.6.2 Metode Dilusi.....	16
2.6.3 Metode Bioautografi.....	16
2.7 Metode Ekstraksi	17
BAB 3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Jenis Penelitian	19
3.2 Rancangan Penelitian	19
3.3 Jumlah Replikasi Penelitian	20
3.4 Variabel Penelitian	20
3.4.1 Variabel Bebas.....	20
3.4.2 Variabel Terikat.....	20
3.4.3 Variabel Terkendali.....	20
3.5 Definisi Operasional	21
3.6 Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.7 Alat	22
3.8 Bahan	22
3.9 Prosedur Penelitian	22
3.9.1 Determinasi Daun Sosor Bebek.....	22
3.9.2 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun Sosor Bebek (<i>Bryophyllum pinnatum</i> (Lam.) Oken).....	22
3.9.3 Proses Ekstraksi Maserasi Daun Sosor Bebek (Remaserasi).....	23
3.9.4 Uji Aktivitas Antibakteri Daun Sosor Bebek.....	23
3.9.5 Uji Antibakteri.....	25
3.9.6 Penetapan Kadar Alkaloid Total.....	25
3.9.7 Penentuan Flavonoid Total.....	28
3.10 Analisis Data	29
3.11 Skema Penelitian	30

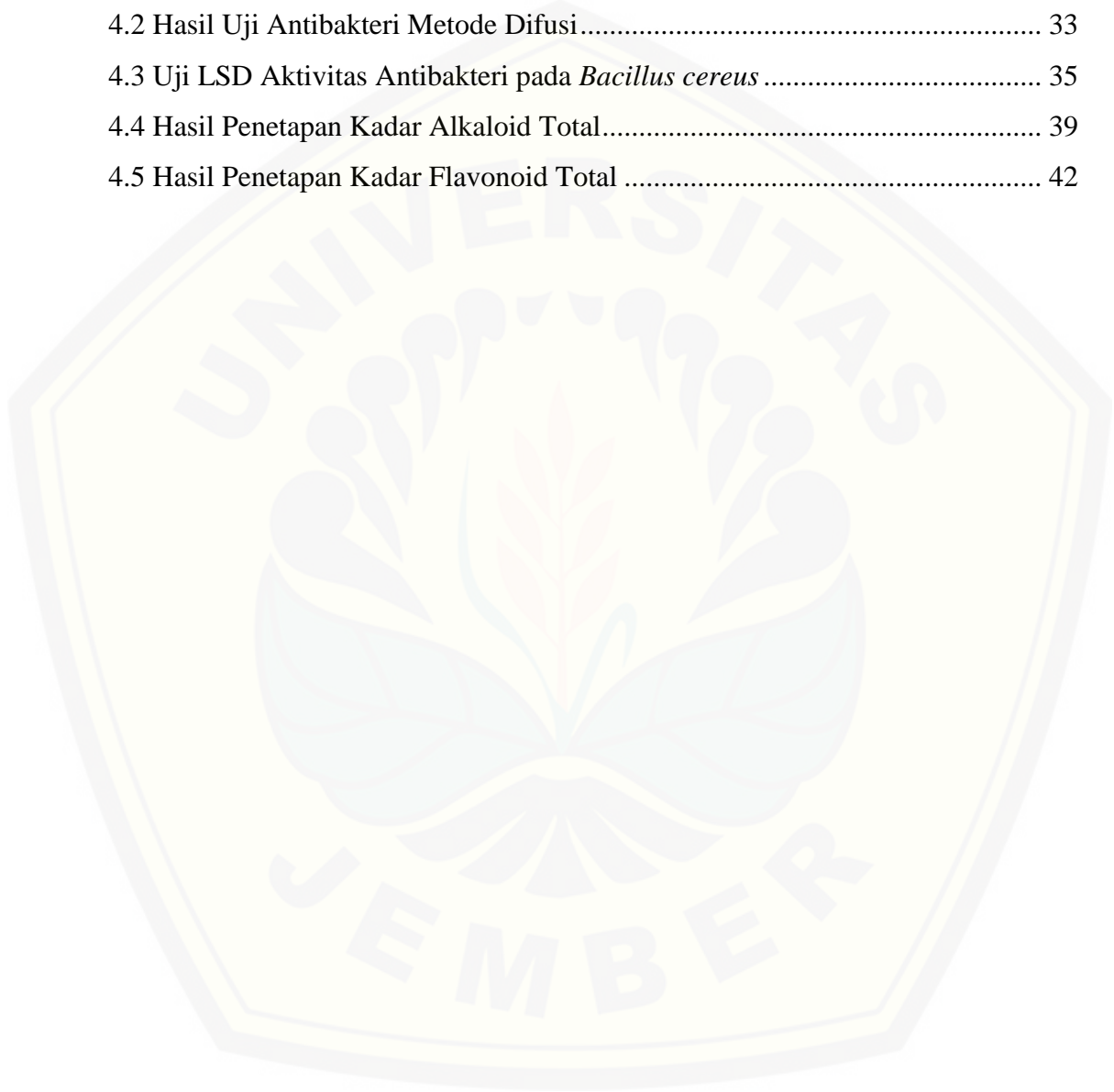
BAB 4. PEMBAHASAN	31
4.1 Determinasi Tanaman	31
4.2 Ekstraksi	31
4.3 Pengujian Aktivitas Antibakteri	31
4.4 Penetapan Kadar Alkaloid Total	35
4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	35
4.4.2 Penentuan Waktu Inkubasi Standar dan Sampel	36
4.4.3 Optimasi pH Dapar Fosfat.....	37
4.4.4 Pengukuran dan Penentuan Kadar Alkaloid Total	38
4.5 Penetapan Kadar Flavonoid Total	38
4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	38
4.5.2 Penentuan Waktu Inkubasi Standar dan Sampel	39
4.5.3 Pengukuran dan Penentuan Kadar Flavonoid Total	40
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1 Kesimpulan	42
5.1 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1.Daun Sosor Bebek.....	5
2.2 Struktur 5-metil-4,5,7-trihidroksi flavon.....	7
2.3 Struktur dan 4,3,5,7-tetrahidroksi-5-metil-5 propenamin antosianidin	7
2.4 Struktur Alkaloid Fenantren.....	8
2.7 Morfologi <i>Bacillus cereus</i>	16
2.6 Desain Metode Uji Difusi	15
2.7 Desain Uji Mikrodilusi.....	16
2.8 Desain Uji Bioautografi	17
3.9 Skema Rancangan Penelitian	19
4.10 Hasil Uji Antibakteri Metode Difusi.....	32
4.11 Hasil Optimasi Panjang Gelombang Maksimum Standar Berberin	35
4.12 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Standar Berberin Klorida.....	36
4.13 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Sampel untuk Penetapan Kadar Alkaloid..	36
4.14 Hasil Optimasi pH Dapar Fosfat.....	37
4.15 Hasil Optimasi Panjang Gelombang Maksimum Standar Kuerseti.....	39
4.16 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Standar Kuersetin	40
4.17 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Sampel untuk Penetapan Kadar Flavonoid	40

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Hasil Ekstraksi Sampel	31
4.2 Hasil Uji Antibakteri Metode Difusi.....	33
4.3 Uji LSD Aktivitas Antibakteri pada <i>Bacillus cereus</i>	35
4.4 Hasil Penetapan Kadar Alkaloid Total.....	39
4.5 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total	42



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Perhitungan Bahan pada Penetapan Kadar Alkaloid Total	49
3.2 Perhitungan Bahan pada Penetapan Kadar Flavonoid Total.....	49
4.3 Hasil Determinasi Tanaman	50
4.4 Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sosor Bebek.....	51
4.5 Hasil Pengukuran Diameter Hambat pada Uji Antibakteri Terhadap <i>Bacillus cereus</i> dan Perhitungan pada Difusi Sumuran.....	51
4.6 Uji One Way Annova.....	52
4.7 Hasil Optimasi <i>Scanning</i> Panjang Gelombang Standar Berberin	54
4.8 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Standar Berberin dan Sampel	57
4.9 Hasil Optimasi pH Darap Fosfat	58
4.10 Perhitungan Standar Berberin	64
4.11 Kurva Kalibrasi Standar Berberin.....	65
4.12 Perhitungan Penetapan Kadar Alkaloid Total.....	65
4.13 Hasil Optimasi <i>Scanning</i> Panjang Gelombang Standar Kuersetin	67
4.14 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Standar Kuersetin dan Sampel.....	69
4.15 Perhitungan Standar Kuersetin.....	70
4.16 Kurva Kalibrasi Standar Kuersetin	71
4.17 Perhitungan Penetapan Kadar Flavonoid Total.....	71
4.18 Dokumentasi	73

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit diare merupakan penyakit endemis di Indonesia dan juga merupakan penyakit potensial KLB (Kejadian Luar Biasa) yang sering disertai dengan kematian. KLB diare pada tahun 2015 terjadi sebanyak 18 kali yang tersebar di 11 provinsi, 18 kabupaten/kota, dengan jumlah penderita 1.213 orang dan kematian 30 orang (*Case Fatality Rate* sebesar 2,47%). Angka kesakitan nasional hasil survei morbiditas diare tahun 2012 adalah sebesar 214/1.000 penduduk (Kementerian Kesehatan RI, 2016). Studi data mortalitas nasional juga melaporkan bahwa lebih dari 28.000 kematian disebabkan karena diare dan 51% kematian terjadi pada lanjut usia (Lukman, 2015). Data penelitian lain pada laporan Surveilans Terpadu Penyakit bersumber data KLB (STP KLB) tahun 2010, diare menduduki urutan ke 6 frekuensi KLB terbanyak setelah Demam Berdarah, Chikungunya, Keracunan Makanan, Difteri, dan Campak (Agniti dan Soenarto, 2011).

Penyebab diare adalah infeksi yang disebabkan oleh beberapa agen bakteri yang aktif pada saluran pencernaan, diantaranya adalah *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Salmonella*, *Shigella*, *Helicobacter*, dan *Campylobacter* (Koda kimbel, dkk., 2009), serta *Bacillus cereus* (Arnesen, dkk., 2008). Terapi infeksi diare yang disebabkan oleh bakteri selama ini menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional menyebabkan banyak kasus bakteri yang resisten terhadap antibiotik (Kuswandi, 2011), serta timbulnya efek samping seperti hipersensitifitas, penekanan kekebalan, dan reaksi alergi (Bibi, dkk., 2011). Studi penelitian oleh Bernhard dkk (1978) melaporkan bahwa semua strain *B. cereus* sangat resisten terhadap ampisilin, colistin, dan polimiksin dalam kadar 1 mg/mL, serta beberapa strain *B. cereus* juga resisten terhadap kanamisin, tetrasiklin, bacitracin dan cephaloridin. Penelitian lain oleh Singh dkk (2010) melaporkan bahwa isolat *Bacillus cereus* resisten terhadap antibiotik seperti penisilin, linkomisisn, kloksasilin, dan perfloksasin (Singh, dkk., 2010).

Adanya resistensi antibiotik tersebut menunjukkan bahwa perlu dikembangkannya antibakteri baru sebagai alternatif pengobatan antibakteri yang bersumber dari bahan alam. Salah satu bahan alam yang memiliki potensi digunakan sebagai agen antibakteri adalah sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken), yaitu tanaman yang mudah tumbuh pada kondisi tanah apapun (Rajsekhar, 2016). Okwu dan Nnamdi (2011) melaporkan bahwa secara empiris di masyarakat Nigeria, tanaman sosor bebek digunakan untuk pengobatan sakit telinga, luka bakar, abses, ulkus, gigitan serangga, dan diare. Penelitian lain oleh Akinpelu (2000) juga melaporkan bahwa tanaman sosor bebek dapat digunakan untuk infeksi telinga, disentri, dan batuk. Tanaman sosor bebek di beberapa negara seperti Madagaskar, Nigeria, Trinidad dan Tobago, India, Indonesia, Filipina, Indo-China, dan Brasil digunakan sebagai agen antidiare (Furir dkk., 2016).

Sejumlah golongan senyawa yang terkandung pada tanaman sosor bebek adalah alkaloid, triterpen, lipid, flavonoid, glikosida, bufadienolida, fenol dan asam organik. Golongan senyawa flavonoid daun sosor bebek (5-metil-4,5,7-trihidroksi flavon dan 4,3,5,7-antosianidin tetrahidroksi 5-metil 5-propenamini) terbukti memiliki aktivitas antimikroba yang diuji pada beberapa bakteri dan jamur, yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* (Al- Snafi, 2013). Penelitian lain oleh Okwu dan Nnamdi (2011) juga melaporkan bahwa golongan senyawa alkaloid fenantren (*1-ethanamino 7 hex-1-yne-5-one phenanthrene*) terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang diuji pada *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* (Okwu dan Nnamdi, 2011). Tanaman sosor bebek lebih tepatnya bagian daun banyak digunakan untuk pengobatan, karena daun mudah tumbuh secara spontan pada daerah tropis dan rasa pahit pada daun menimbulkan efek astringen (Furir dkk., 2016).

Sejauh ini daun sosor bebek belum dilakukan penelitian terhadap *Bacillus cereus*, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian uji antibakteri dan penetapan golongan senyawa alkaloid dan flavonoid totalnya. Sampel diambil secara

purposive di Kabupaten Jember dan diekstraksi dengan etanol. Ketika remaserasi digunakan pelarut etanol karena aman dan efektif (Morgan, 2009). Metode penelitian adalah spektrofotometri dan uji antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dengan metode difusi.

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Apakah ekstrak etanol daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan metode difusi ?
2. Berapa nilai diameter hambat ekstrak etanol daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) terhadap *Bacillus cereus* ?
3. Berapa kandungan alkaloid total dan flavonoid total pada ekstrak etanol daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah :

1. Mengetahui apakah ekstrak etanol daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan metode difusi.
2. Mengetahui berapa nilai diameter hambat ekstrak etanol daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) terhadap *Bacillus cereus*.
3. Mengetahui berapa kadar alkaloid total dan flavonoid total pada ekstrak etanol daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken).

1.4 Manfaat Penelitian

Beberapa manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang potensi daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) sebagai agen antibakteri terhadap *Bacillus cereus*.

2. Mengasah kemampuan mahasiswa dalam melakukan penelitian kontrol kuantifikasi senyawa golongan alkaloid dan flavonoid, serta uji antibakteri.
3. Memberikan informasi data ilmiah tentang kadar alkaloid total dan flavonoid total, serta nilai diameter hambat ekstrak etanol daun sosor bebek terhadap *Bacillus cereus*.



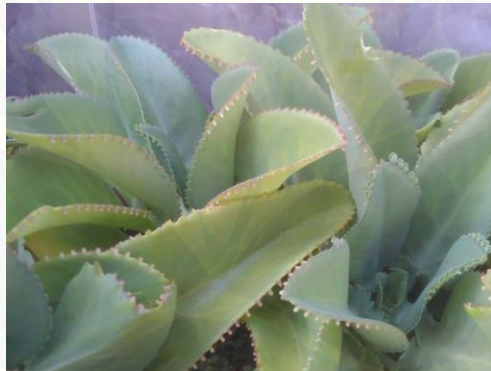
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Sosor Bebek

2.1.1 Taksonomi

Taksonomi dari tanaman sosor bebek adalah sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae
Division : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Subclass : Rosidae
Ordo : Rosales
Familia : Crassulaceae
Genus : Bryophyllum
Spesies : *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken (Nagaratna dan Hegde, 2015).



Gambar 2.1 Daun Sosor Bebek (Sumber: dokumentasi pribadi)

2.1.2 Penggunaan Secara Tradisional

Daun sosor bebek secara empirik dimanfaatkan sebagai penyejuk, antiseptik, astringen, anti radang, menghentikan pendarahan, mengurangi pembengkakan, dan mempercepat penyembuhan luka. Selain itu, tanaman sosor bebek digunakan untuk menyembuhkan sakit kepala, batuk, sakit dada, borok,

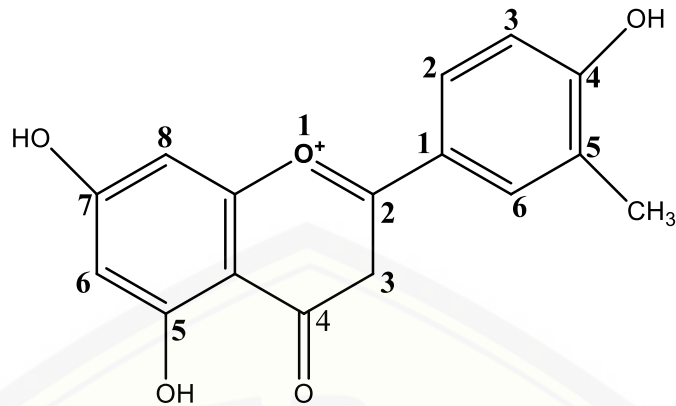
demam, memperlancar haid yang tidak teratur, mengatasi trauma akibat kecelakaan, memar ataupun pendarahan, anti alergi, dan bermacam- macam luka bakar seperti luka pasca operasi, luka sayat, dan luka iris (Putri, dkk., 2014).

Pengobatan tradisional di Nigeria, tanaman sosor bebek digunakan untuk pengobatan sakit telinga, luka bakar, abses, ulkus, gigitan serangga, whitlow, dan diare (Okwu dan Nnamdi, 2011a). Tanaman sosor bebek dapat mengurangi efek *sedative* (Gwehenberger dkk.,2004). Studi penelitian lain oleh Afzal (2012) melaporkan bahwa tanaman sosor bebek dapat mengobati plasenta dan pusar bayi yang baru lahir, yang tidak hanya menyembuhkan cepat tetapi juga mencegah pembentukan infeksi. Selain itu, konstituen aktif bufadienolida dari *B. pinnatum* menunjukkan aktivitas insektisida yang kuat terhadap ketiga larva ulat sutra (Afzal dkk., 2012).

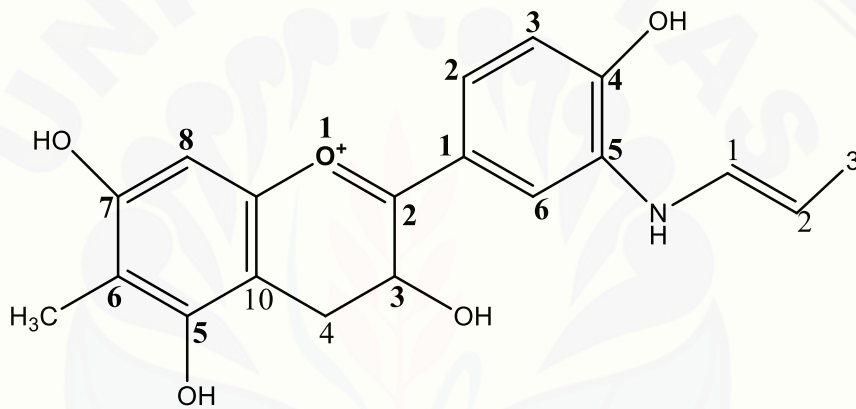
2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia

Sejumlah golongan senyawa yang terkandung pada tanaman sosor bebek adalah alkaloid, triterpen, lipid, flavonoid, glikosida, bufadienolida, fenol dan asam organik. Penelitian oleh (Gwehenberger dkk.,2004) melaporkan bahwa tanaman sosor bebek diidentifikasi mengandung bahan aktif termasuk bufadienolida, flavonoid, glikosida, steroid dan asam organik. Studi fitokimia oleh Akinpelu (2000) juga melaporkan bahwa daun kering sosor bebek telah diuji memberikan hasil yang positif untuk golongan senyawa alkaloid dan flavonoid. Penelitian lain oleh Ganju (2016) juga melaporkan bahwa tanaman sosor bebek positif mengandung alkaloid, flavonoid, kardenolida, tanin, dan senyawa fenolik (Ganju dan Ganju, 2016).

Golongan senyawa flavonoid pada daun sosor bebek yaitu 5-metil-4,5,7-trihidroksi flavon dan 4,3,5,7-tetrahidroksi-5-metil-5 propenam in antosianidin menunjukkan aktivitas antimikroba yang potensial terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* (Al- Snafi, 2013). Adapun gambar kedua struktur flavonoid tersebut adalah sebagai berikut:

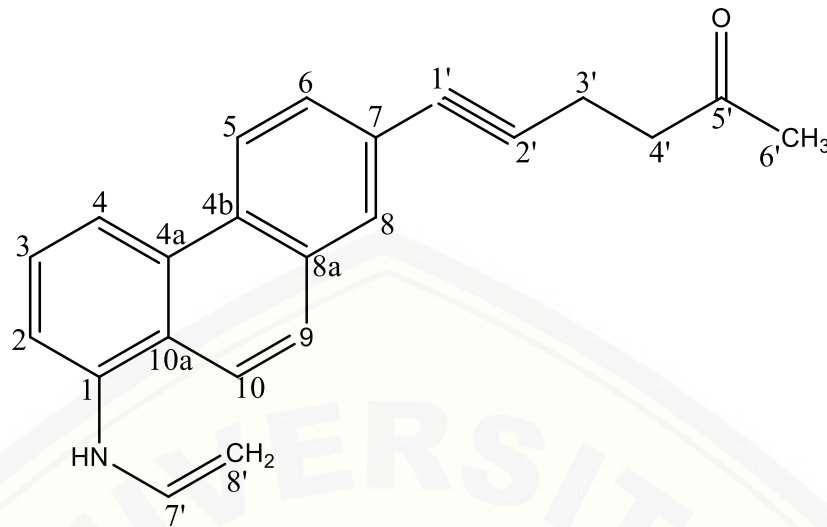


Gambar 2.2 Struktur 5-metil-4,5,7-trihidroksi flavon (Sumber : Okwu dan Nnamdi, 2011)



Gambar 2.3 Struktur dan 4,3,5,7-tetrahidroksi-5-metil-5 propenamin antosianidin (Sumber : Okwu dan Nnamdi, 2011)

Studi fitokimia lain oleh Joel dkk (2012) melaporkan bahwa tanaman sosor bebek mengandung terpenoid, bufadionelida, dan flavonoid. Penelitian lain oleh Okwu dan Nnamdi (2011) juga melaporkan bahwa golongan senyawa alkaloid fenantren (*1-ethanamino 7 hex-1-yne-5-one phenanthrene*) daun sosor bebek terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang diuji pada *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*. Adapun gambar struktur hasil isolasi dari alkaloid fenantren adalah sebagai berikut:



Gambar 2.4 Struktur alkaloid fenantren (Sumber: Okwu dan Nnamdi, 2011).

2.1.4 Aktivitas Farmakologis

Ekstrak metanol daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) sebesar 60% digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan pada konsentrasi 25 mg/mL menunjukkan efek antibakteri yang baik. Tanaman ini efektif dalam pengobatan demam tifoid dan infeksi bakteri yang lain, terutama yang disebabkan oleh *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *K. aerogenes*, *K. Pneumoniae* dan *S. typhi* karena adanya senyawa fenolik (Afzal dkk., 2012). Penelitian lain oleh Sharma dkk (2014) melaporkan bahwa ekstrak metanol batang, ekstrak air daun dan ekstrak metanol daun tanaman sosor bebek menunjukkan aktivitas antibakteri yang berbeda-beda terhadap bakteri uji. Ekstrak metanol batang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap semua bakteri uji, diantaranya *Alcaligenes faecalis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Serratia marcescens*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Micrococcus luteus*, dan *Bacillus subtilis*. Sementara ekstrak air daun sosor bebek hanya aktif terhadap *Bacillus subtilis* dan *Alcaligenes faecalis*, dan ekstrak metanol daun sosor bebek ditemukan tidak aktif terhadap semua organisme uji tersebut. Rentang konsentrasi yang digunakan adalah MIC 100 sampai 140 mg/mL.

2.2 Diare

2.2.1 Definisi

Diare didefinisikan sebagai buang air besar dengan feses yang tidak berbentuk (*unformed stools*) atau cair dengan frekuensi lebih dari 3 kali dalam 24 jam. Bila diare berlangsung kurang dari 2 minggu disebut sebagai diare akut. Apabila diare berlangsung 2 minggu atau lebih, digolongkan pada diare kronik. Feses dapat dengan atau tanpa lendir, darah, atau pus. Gejala-gejala yang timbul dapat berupa mual, muntah, nyeri abdominal, mulas, tenesmus, demam, dan tanda-tanda dehidrasi (Umar, dkk., 2004).

Adapun penyebab dari diare adalah infeksi non invasif dan invasif, dimana agen bakterinya adalah sebagai berikut:

a. Infeksi non-invasif

Staphylococcus aureus, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Vibrio cholerae*, dan *Escherichia coli*.

b. Infeksi invasif

Shigella, *Salmonella nontyphoid*, *Salmonella typhi*, *Campylobacter*, *Vibrio non-cholera*, *Yersinia*, *Enterohemorrhagic E. coli (subtipe 0157)*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* (Lukman, 2015).

2.2.2 Epidemiologi

Penyakit diare merupakan penyakit endemis di Indonesia dan juga merupakan penyakit potensial KLB (Kejadian Luar Biasa) yang sering disertai dengan kematian. KLB diare pada tahun 2015 terjadi sebanyak 18 kali yang tersebar di 11 provinsi, 18 kabupaten/kota, dengan jumlah penderita 1.213 orang dan kematian 30 orang (*Case Fatality Rate* sebesar 2,47%). Angka kesakitan nasional hasil survei morbiditas diare tahun 2012 adalah sebesar 214/1.000 penduduk (Kementerian Kesehatan RI, 2016). Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) ada 2 milyar kasus diare pada orang dewasa di seluruh dunia setiap tahun. Di Amerika Serikat, kasus diare mencapai 200 juta hingga 300 juta per tahun, dan sekitar 900.000 kasus diare perlu perawatan di rumah sakit. Di seluruh dunia, sekitar 2,5 juta kasus kematian karena diare per tahun. Di Amerika Serikat, diare terkait mortalitas tinggi pada lanjut usia. Satu studi data mortalitas

nasional melaporkan lebih dari 28.000 kematian akibat diare dalam waktu 9 tahun, 51% kematian terjadi pada lanjut usia. Selain itu, diare masih merupakan penyebab kematian anak di seluruh dunia, meskipun tatalaksana sudah maju (Lukman, 2015).

2.2.3 Mekanisme Infeksi Diare

Diare infeksi akut diklasifikasikan secara klinis dan patofisiologis menjadi diare non-inflamasi dan diare inflamasi. Diare inflamasi disebabkan invasi bakteri dan sitotoksin di kolon dengan manifestasi sindrom disentri dengan diare disertai lendir dan darah. Gejala klinis berupa mulas sampai nyeri seperti kolik, mual, muntah, demam, tenesmus, serta gejala dan tanda dehidrasi. Pada pemeriksaan tinja rutin makroskopis ditemukan lendir dan/ atau darah, mikroskopis didapati sel leukosit polimorfonuklear (Lukman, 2015).

Diare dapat terjadi akibat lebih dari satu mekanisme. Pada infeksi bakteri setidaknya ada dua mekanisme, yaitu peningkatan sekresi usus dan penurunan absorpsi di usus. Infeksi bakteri menyebabkan inflamasi dan mengeluarkan toksin yang menyebabkan terjadinya diare. Infeksi bakteri yang invasif mengakibatkan perdarahan atau adanya leukosit dalam feses (Lukman, 2015).

Pada dasarnya, mekanisme diare akibat kuman enteropatogen meliputi penempelan bakteri pada sel epitel dengan atau tanpa kerusakan mukosa, invasi mukosa, dan produksi enterotoksin atau sitotoksin. Satu jenis bakteri dapat menggunakan satu atau lebih mekanisme tersebut untuk dapat mengatasi pertahanan mukosa usus. Khususnya pada bakteri *Bacillus cereus*, enterotoksin yang dihasilkan menyebabkan muntah dan diare (Lukman, 2015).

2.3 *Bacillus cereus*

Taksonomi dari *Bacillus cereus* :

Domain	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Family	: Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Species : *Bacillus cereus* (Maughan dan Auwera, 2011).



Gambar 2.5 Morfologi *Bacillus cereus* (Sumber: Harianja, 2009)

Bacillus cereus adalah bakteri gram positif, fakultatif anaerob, katalase positif, endosporeformer. Selnya berbentuk batang dan lurus, rantai berbentuk bulat atau squared. Bakteri ini tumbuh baik pada agar nutrisi, membutuhkan asam amino tetapi tidak untuk vitamin. *Bacillus cereus* memiliki kemampuan untuk mensintesis berbagai enzim ekstraseluler, racun dan antibiotik, contohnya protease, amilase, fosfolipases, dan hemolysins. Bakteri ini tergolong patogen oportunistik yang dapat menyebabkan berbagai infeksi pada manusia dan hewan. Sporulasi tidak ditekan oleh paparan kondisi aerobik (misalnya, udara) (Granum dan Lund, 1997).

Bacillus cereus menyebabkan dua tipe penyakit yaitu tipe diare dan tipe emetik (mendorong muntah pada pasien). Pada kasus diare dapat disebabkan karena keracunan makanan, enterotoksin kompleks dan juga perkembangan *Bacillus cereus* secara vegetatif pada usus halus. Sedangkan toksin yang menyebabkan muntah, diproduksi oleh sel yang hidup dalam makanan yang masuk ke saluran cerna manusia (Granum dan Lund, 1997).

Bacillus cereus ini bukan merupakan mikroorganisme non kompetitif, akan tetapi tumbuh baik pada kondisi suhu kurang dari 48°C. Kemudian pada kondisi

panas spora akan mengembang, namun tidak ada kompetisi flora, sehingga pada kondisi yang seperti ini *Bacillus cereus* dapat tumbuh dengan baik, bakteri ini merupakan saprofit tanah dan memiliki kemampuan untuk mudah menyebar pada berbagai jenis makanan termasuk daging, telur dan produk susu. Pada sebagian besar kasus diare disebabkan karena adanya keracunan makanan yang disebabkan oleh cemaran *Bacillus cereus*. Kemudian terdeteksinya membutuhkan waktu yang sangat singkat, yaitu kurang dari 24 jam (Granum dan Lund, 1997).

Patogenisitas *Bacillus cereus* diketahui pada kondisi usus ataukah non intestinal, erat kaitannya dengan kerusakan jaringan atau produksi eksoenzim. Diantaranya terdapat beberapa racun yang dikeluarkan yaitu empat hemolisin, tiga fosfolipase yang berbeda, sebuah racun yang menginduksi emesis, dan tiga pori pembentuk enterotoksin yaitu hemolisin BL (HBL), nonhemolitik enterotoksin (NHE), dan sitotosin K. Secara vegetatif pada saluran pencernaan, sel memproduksi dan mensekresikan protein enterotoksin, sehingga sindrom diare mudah terinduksi (Bottone, 2010).

Untuk uji antibakteri dalam penelitian ini, gentamisin digunakan sebagai kontrol positif dari *Bacillus cereus*. Gentamisin untuk terapi yang biasa digunakan pada rentang konsentrasi 0,3-32 µg/mL (Gigantelli dkk., 1991). *Bacillus cereus* memiliki struktur lapisan S, yang benar-benar menutupi lapisan permukaan dari bakteri dan berperan membentuk protein sebesar 5-10% dari protein total sel bakteri. Lapisan S ini berfungsi sebagai pertahanan integritas sel, memelihara bentuk sel, mengatur pertukaran makromolekul dengan lingkungan, dan dalam beberapa strain lapisan S digunakan sebagai pintu awal melawan adanya serangan bahan kimia atau yang lainnya (Mignot dkk., 2001).

2.4 Penentuan Alkaloid Total

Alkaloid adalah basa alkali yang mengandung senyawa organik dan biasa ditemukan pada banyak tanaman. Alkaloid bisa terdeteksi positif apabila menggunakan reagen mayer, wagner, dan dragendorf. Diketahui banyak alkaloid yang beracun dan ada juga yang dimanfaatkan untuk kebutuhan klinik, masing-masing adalah kokain dan morfin. Menurut penelitian Derosne (2003) secara

kuantitas sudah lebih dari 10.000 alkaloid yang diketahui, dan yang pertama kali ditemukan adalah narkotin yang diisolasi dari opium. Di dalam getah sel, alkaloid berada sebagai garam, bisa diekstraksi dari sel dengan air asam atau alkohol, dan alternatif larutnya yaitu dalam pelarut organik seperti kloroform (Woolley, 2001).

Golongan senyawa alkaloid banyak digunakan dalam penelitian karena mekanisme kerja antibakterinya, baik dari kalangan akademisi, industri ataupun bisnis. Dalam suatu penelitian disebutkan bahwa golongan steroidal tomatidine, termasuk pseudoalkaloid yaitu alkaloid fenantren dengan kontrol positif gentamisin, telah diteliti mampu menghambat ekspresi gen virulen dan aktivitas hemolitik pada bakteri *Staphylococcus aureus* (Cushnie dkk., 2014).

Penentuan alkaloid total dapat menggunakan beberapa teknik, diantaranya HPLC, voltametri, polarografi, gas kromatografi, dan spektrofotometri. Salah satu metode yang sering digunakan adalah spektrofotometri, karena sederhana dan sangat sensitif (Singh dkk., 2004). Prinsip dari metode ini adalah terbentuknya warna kuning kompleks yang merupakan reaksi antara BCG (*Bromocresol green*) dan alkaloid, yang diekstraksi dengan kloroform pada pH 4,7 dibawah panjang gelombang maksimum 417 nm (Patel dkk., 2015).

Spektrofotometri memanfaatkan kemampuan suatu zat dalam menyerap cahaya dan menggunakan prinsip hukum Lambert-Beer (Das, 2014). Spektrofotometri UV Vis berada pada rentang 200-400 nm untuk *ultraviolet*, dan 400-600 nm untuk *visible*. Reagen- reagen yang biasa digunakan adalah BCG (*Bromocresol green*), kloroform (CHCl_3), NaOH, HCl, Na_2HPO_4 , asam sitrat, akuades, etanol, dan larutan standar berberin. Dari metode tersebut akan diperoleh hasil berupa absorbansi, dimana absorbansi tersebut diplotkan terhadap kurva standar dan hasilnya setara dengan miligram berberin ekuivalen per gram ekstrak (mgBE/gram ekstrak) (John dkk., 2014).

2.5 Penentuan Flavonoid Total

Flavonoid merupakan metabolit sekunder tanaman yang dihasilkan dari biosintesis gabungan dari jalur asetat-malonat dan jalur sikimat. Flavonoid memiliki 15 atom C dengan struktur dasar $\text{C}_6\text{-C}_3\text{-C}_6$, yang terdiri dari dua cincin

fenol yang berikatan dengan tiga unit karbon (Grotewold, 2006). Pada penelitian (Nascimento, dkk., 2015), dijelaskan bahwa terdapat kuersitrin yang merupakan bioaktif penting dari flavonoid. Dijelaskan juga bahwa kuersitrin dari flavonoid sosor bebek menunjukkan aktivitas terhadap berbagai tumor, sebagai agen infeksi bakteri, reaksi alergi, memiliki potensi penghambatan terhadap virus influenza, dan menunjukkan aktivitas terhadap *Leishmania sp.* Dari penelitian tersebut dijelaskan bahwa adanya peningkatan bioaktif flavonoid dalam ekstrak sosor bebek (*Kalanchoe pinnata*) yang diinduksi dengan radiasi Ultra Violet B (Nascimento, dkk., 2015).

Metode penentuan flavonoid total yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometri. Prinsip dari metode spektrofotometri pada uji penentuan flavonoid ini adalah adanya pembentukan kompleks antara $AlCl_3$ dan gugus keto pada atom C4 dan gugus hidroksi pada atom C3 atau C5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol (Othman, dkk., 2014). Dari metode tersebut akan diperoleh hasil berupa absorbansi, dimana absorbansi tersebut diplotkan terhadap kurva standar dan hasilnya setara dengan miligram kuersetin ekuivalen per gram ekstrak (mgQE/gram ekstrak). Reagen yang biasa digunakan pada penentuan flavonoid total adalah etanol untuk melarutkan ekstrak, metanol, $AlCl_3$, kalium asetat, akuades, dan standar kuersetin (Choudhary, dkk., 2013).

2.6 Metode Pengujian Antibakteri

Metode uji antibakteri digunakan untuk mengetahui potensi bahan dalam menghambat bakteri. Terdapat beberapa metode uji antibakteri yaitu sebagai berikut:

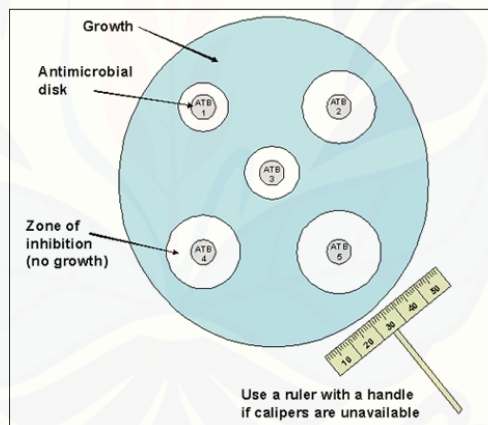
2.6.1 Metode Difusi

Difusi *disk* mengacu pada penyebaran agen antimikroba dari konsentrasi tertentu dari *disk*, tablet atau strip ke dalam media kultur padat yang telah diunggulkan dengan inokulum yang dipilih dan diisolasi secara murni. Difusi *disk* didasarkan pada penentuan zona penghambatan yang sebanding dengan kerentanan bakteri hingga saat antimikroba dalam *disk*. Difusi agen antimikroba dimasukkan ke dalam hasil media kultur unggulan dalam gradien antimikroba.

Ketika konsentrasi antimikroba yang diencerkan tidak lagi bisa menghambat pertumbuhan bakteri uji, zona inhibisi yang harusnya dibatasi (O.I.E., 2012).

Adapun beberapa pertimbangan untuk penggunaan metode difusi cakram *disk* difusi adalah sederhana, murah, memudahkan dalam memodifikasi *disk* uji antimikroba bila diperlukan, dapat digunakan sebagai tes skrining terhadap sejumlah besar isolat, dapat mengidentifikasi subset dari isolat untuk pengujian lebih lanjut dengan metode lain, seperti penentuan MIC. Adapun kerugian dari metode difusi ini adalah pengukuran manual dari zona hambat (O.I.E., 2012).

Secara umum metode difusi ini banyak digunakan karena bahan dan peralatannya mudah didapat. Pada praktiknya, diameter hambatan secara langsung responsif terhadap konsentrasi antibiotik. Dijelaskan juga penelitian lain oleh (David dkk., 1971) melaporkan bahwa keutamaan metode ini adalah sensitifitas dan efisiensinya tinggi (Assay, 1971).



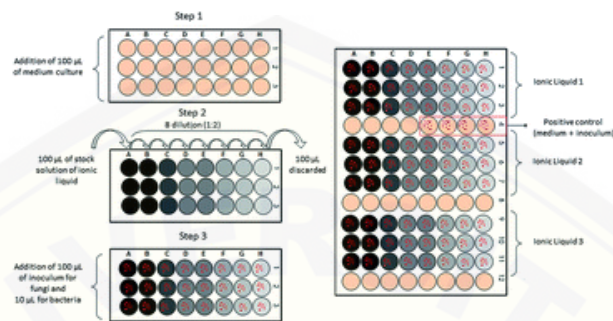
Gambar 2.6 Desain Metode Uji Difusi

(Sumber: Advisory Committee on Immunization Practices, 2000).

2.6.2 Metode Dilusi

Metode dilusi adalah metode yang memerlukan dispersi homogen dalam air. Metode dilusi banyak digunakan untuk menentukan minimum konsentrasi (MIC) suatu ekstrak, minyak esensial atau substansi murni. Metode ini lebih dikenal sebagai penyaringan awal dari aktivitas antimikroba. Pada metode dilusi cair ini, kekeruhan dijadikan sebagai indikasi bakteri, apabila terdapat pertumbuhan maka media tetap terlihat jelas, dan sebaliknya apabila sampel tidak

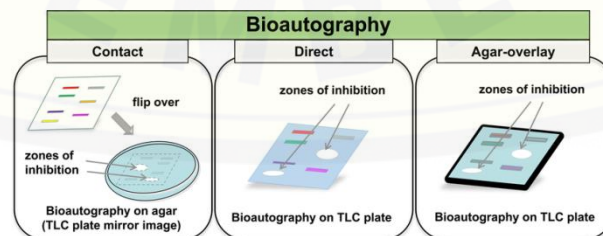
aktif terhadap kuman yang diuji dan ada pertumbuhan, maka tampak keruh. Keuntungan dari metode dilusi ini adalah sederhana, cepat, dan dapat menggunakan pelarut air dan minyak essential apabila tidak larut dalam air (Rios, dkk., 1988).



Gambar 2.7 Desain Uji Mikrodilusi (Sumber: Santos dkk., 2014)

2.6.3 Metode Bioautografi

Bioautografi adalah metode yang memungkinkan untuk melokalisasi aktivitas antimikroba pada kromatogram. Bioautografi langsung adalah jenis metode yang paling sering digunakan tetapi terdapat kesulitan tertentu dan membutuhkan penggunaan peralatan mikrobiologi yang sesuai. Homans dan Fuchs (1970) dan Lund dan Lyon (1975) melaporkan bahwa permasalahan yang sering timbul dari metode ini adalah difusi senyawa yang berbeda dari kromatogram ke agar yang disederhanakan langsung oleh deteksi bioautografi. Pencelupan bioautografi juga didasarkan pada difusi senyawa terpisah dan kelebihanannya adalah minimal tingkat kontaminasi (Rios, dkk., 1988).



Gambar 2.8 Desain Uji Bioautografi (Sumber: Grzelak dkk., 2016)

2.7 Metode Ekstraksi

Menurut Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan (2000), ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Hasil dari proses ekstraksi adalah ekstrak. Tujuan pembuatan ekstrak tumbuhan obat adalah untuk menstandarisasi kandungannya sehingga menjamin keseragaman mutu, keamanan dan khasiat produk akhir. Keuntungan penggunaan ekstrak dibandingkan simplisia adalah lebih sederhana dari segi bobot dan pemakaiannya juga lebih sedikit dibandingkan dengan bobot tumbuhan asalnya (Dirjen POM, 2000).

Beberapa parameter khusus untuk mendapatkan ekstrak yang berkualitas diantaranya adalah bagian tanaman, pelarut, dan prosedur yang digunakan untuk ekstraksi. Disisi lain, terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi variasi dalam metode ekstraksi yang berbeda sehingga kuantitas dan komposisi metabolit sekunder ekstrak tergantung pada beberapa hal, diantaranya adalah jenis dan waktu ekstraksi, suhu, sifat dan konsentrasi pelarut, serta polaritas (Pandey dkk., 2014).

Adapun beberapa metode ekstraksi, diantaranya adalah maserasi, perkolasi, soxhletasi, refluks, dan digesti. Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Prosedurnya dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup. Pengadukan dilakukan agar meningkatkan kecepatan ekstraksi. Selain itu pengadukan dilakukan untuk melunakkan dan memecahkan dinding sel tanaman agar mudah menarik kandungan fitokimia di dalamnya (Azwanida, 2015). Kelebihan dari maserasi adalah lebih berlaku, nyaman dan murah untuk usaha kecil dan menengah dibandingkan dengan metode ekstraksi modern lainnya (Azwanida, 2015). Kelemahan dari maserasi adalah prosesnya membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut yang dapat berpotensi hilangnya

metabolit. Beberapa senyawa juga tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut pada suhu kamar (27°C). Ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C), sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas (Ditjen POM, 2000). Ketika maserasi digunakan pelarut etanol karena ekstrak etanol sering digunakan dalam pengobatan herbal karena aman dan efektif (Morgan, 2009).



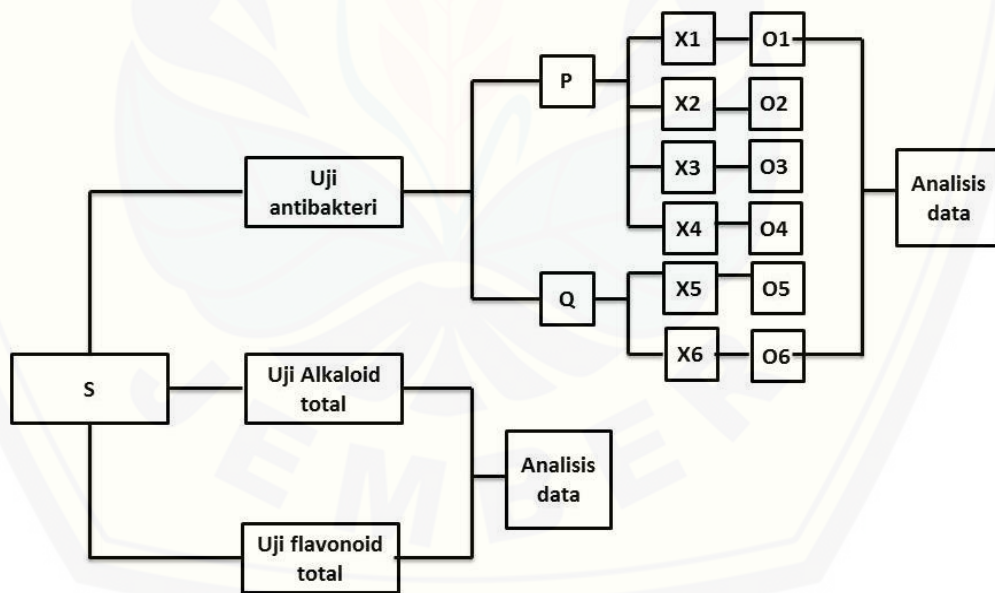
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Uji penetapan alkaloid total dan flavonoid total, serta uji antibakteri ekstrak etanol daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) terhadap *Bacillus cereus* ini merupakan *true experimental laboratories*.

3.2 Rancangan penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah *the post test only control group design*. Rancangan penelitian ini terbagi atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, serta penetapan alkaloid dan flavonoid total. Kelompok kontrol dan kelompok perlakuan diukur diameter hambatnya, sedangkan penetapan alkaloid dan flavonoid total diukur persen b/b atau mgBE/gram ekstrak dan mgQE/gram ekstrak. Rancangan penelitian ditunjukkan pada gambar 3.9.



Gambar 3.9 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

S = sampel

P = kelompok perlakuan

Q = kelompok kontrol

X1 = konsentrasi ekstrak etanol daun sosor bebek sebesar 70 %

X2 = konsentrasi ekstrak etanol daun sosor bebek sebesar 50 %

X3 = konsentrasi ekstrak etanol daun sosor bebek sebesar 30 %

X4 = konsentrasi ekstrak etanol daun sosor bebek sebesar 10 %

X5 = DMSO 10% (kontrol negatif)

X6 = suspensi antibiotik gentamisin (kontrol positif)

O1 = data hasil konsentrasi ekstrak etanol daun sosor bebek sebesar 70 %

O2 = data hasil konsentrasi ekstrak etanol daun sosor bebek sebesar 50 %

O3 = data hasil konsentrasi ekstrak etanol daun sosor bebek sebesar 30 %

O4 = data hasil konsentrasi ekstrak etanol daun sosor bebek sebesar 10 %

O5 = data hasil kontrol negatif

O6 = data hasil kontrol positif

3.3 Jumlah Replikasi Pengujian

Dalam penelitian ini, saya melakukan replikasi sebanyak tiga kali.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun sosor bebek yaitu 70%, 50%, 30%, dan 10%.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah persen b/b ekuivalen terhadap standard, serta nilai diameter hambat pada uji antibakteri ekstrak etanol daun sosor bebek pada bakteri *Bacillus cereus*.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah :

1. Pembuatan ekstrak daun sosor bebek.

2. Pembuatan biakan bakteri *Bacillus Cereus*.
3. Suhu inkubasi bakteri 37°C selama 24 jam.
4. Metode pengamatan diameter zona hambat.
5. Metode penetapan kadar alkaloid total dan flavonoid total.
6. Prosedur penelitian.

3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah:

- a. Tanaman sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) pada penelitian adalah bagian daun yang dikeringkan sehingga menjadi simplisia. Daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) yang digunakan berasal dari Kabupaten Jember.
- b. Golongan senyawa yang diuji penetapan kadar total adalah alkaloid dan flavonoid.
- c. Bakteri yang digunakan adalah *Bacillus cereus*. Bakteri ini dikembangbiakkan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- d. Remaserasi adalah pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan filtrasi maserat yang pertama.
- e. Diameter hambat pada uji antibakteri adalah zona bening yang diukur dengan jangka sorong.
- f. Kadar alkaloid total dan flavonoid total adalah mgBE/gram ekstrak dan mgQE/gram ekstrak.

3.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember. Adapun waktu penelitian dari bulan April sampai Mei 2017.

3.7 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah seperangkat alat gelas, corong pisah, jarum ose, inkubator (CLIFTON), pipet tetes, autoklaf (ALP), pipet mikro (SOCOREX ASBA S.A), pinset, *hot plate-stirer*, tabung mikro, *yellow tip*, *blue tip*, *white tip*, *swab*, perforator berdiameter 1 cm, spatula logam, penggaris, maserator, timbangan analitik, *rotavapour*, *laminar air flow* (Airtech), oven, dan spektrofotometer UV Vis.

3.8 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun Sosor Bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken). Bahan kimia yang digunakan untuk penetapan kadar alkaloid total adalah HCl 2N, kloroform, standar berberin, dapar fosfat, BCG (*Bromocresolgreen*), NaOH 2N, metanol, dan akuades. Sedangkan bahan kimia yang digunakan untuk penetapan kadar flavonoid total adalah etanol untuk melarutkan ekstrak, metanol, AlCl₃, kalium asetat, akuades, dan standar kuersetin.

Bahan kimia yang digunakan untuk uji antibakteri diantaranya akuades steril, NaCl fisiologis dan Mc Farland 0,5. Bakteri uji yang digunakan adalah *Bacillus cereus* ATCC 11778. Media bakteri yang digunakan adalah *Trypticase Soy Broth* (TSB) (Merck), *Nutrient Agar* (NA) dan *Mueller Hinton Agar* (MHA). Zat pembanding antibakteri adalah gentamisin *inject* (Merck).

3.9 Prosedur Penelitian

3.9.1 Determinasi Daun Sosor Bebek

Tanaman sosor bebek diidentifikasi di LIPI (Lembaga Ilmu Penelitian Indonesia) Kebun Raya Purwodadi Pasuruan agar memastikan tanaman yang digunakan berasal dari spesies *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken.

3.9.2 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun Sosor Bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken)

Daun Sosor Bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) diambil secara *purposive* dari Kabupaten Jember dan disortasi basah. Setelah disortasi basah, daun dicuci hingga bersih dengan air, dipotong kecil-kecil, dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung kemudian disortasi kering. Simplisia yang terbentuk diserbuk dengan alat penyerbuk. Bobot kering simplisia dan serbuk hendaknya ditimbang.

3.9.3 Proses Ekstraksi Maserasi Daun Sosor Bebek (Remaserasi)

Proses ekstraksi remaserasi membutuhkan alat dan bahan diantaranya pelarut etanol, maserator, batang pengaduk, *rotavapour*, corong *buchner*, kertas saring, vial, oven, dan desikator. Serbuk daun sosor bebek yang sudah diperoleh, dilakukan ekstraksi dengan perbandingan antara serbuk ekstrak dan pelarutnya adalah 1: 4. Sebelumnya ekstrak direndam selama 4-6 hari agar semakin banyak senyawa yang terekstrak. Setelah direndam, bisa dilakukan penyaringan, dan filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotavapour* pada suhu 50°C dengan kecepatan 60 rpm. Ekstrak kental dapat dimasukkan pada gelas ekstrak atau vial dan dikeringkan pada oven untuk memudahkan penguapan. Suhu oven tidak lebih dari 40°C. Tujuan pengeringan di oven agar terhindar dari bahaya tumbuhnya mikroorganisme, sehingga bisa digunakan dalam jangka waktu yang panjang. Ekstrak kental yang sudah diperoleh dapat disimpan di desikator. Selanjutnya adalah perhitungan rendemen ekstrak daun sosor bebek dapat dilakukan.

3.9.4 Uji Aktivitas Antibakteri Daun Sosor Bebek

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat (seperangkat peralatan gelas dan tip) dan bahan (seperti media, NACL fisiologis serta akuades) dibungkus dengan kertas cokelat untuk disterilisasi pada autoklaf 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Alat yang tidak tahan panas dapat dilakukan sterilisasi dengan alkohol, dan alat yang lain seperti ose dapat dipanaskan dengan pemijaran.

b. Penyiapan Media

1) Media NA untuk Penanaman dan Peremajaan Bakteri

Pembuatan media (agar miring) untuk penanaman dan peremajaan bakteri dilakukan dengan cara melarutkan 1 gram NA dalam 50 mL akuades. Suspensi yang dihasilkan dipanaskan sampai mendidih di dalam erlenmeyer 100 mL tersebut kemudian disterilkan dalam autoklaf pada 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Media steril selanjutnya dituang ke dalam 10 tabung reaksi yang sudah steril masing-masing 5 mL dan tabung dimiringkan hingga terbentuk agar miring.

2) Media MHA untuk Uji Difusi

Pembuatan media untuk uji difusi dilakukan dengan cara melarutkan 4,56 gram MHA dalam 120 mL akuades. Suspensi yang dihasilkan dipanaskan sampai mendidih di dalam erlenmeyer 250 mL tersebut kemudian disterilkan dalam autoklaf pada 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit media steril selanjutnya dituang ke dalam 6 cawan petri yang sudah steril masing-masing 20 mL.

c. Penanaman Bakteri

Bakteri ditanam pada media NAS yang sudah dibuat sebelumnya. Bakteri murni diambil dari kemasannya, dimana bagian ujung pada bakteri murni ini berbentuk loop, sehingga bisa langsung digoreskan pada media NAS. Cara menggoreskannya bisa dengan empat sisi dimana modelnya zig-zag. Untuk melihat bakteri tumbuh atau tidak bisa didiamkan dan disimpan di inkubator suhu 37°C selama 18- 24 jam.

d. Peremajaan Biakan Murni

Meremajakan biakan murni yaitu dengan cara menggoreskan jarum ose yang mengandung bakteri *Bacillus cereus* secara aseptis dan mendekatkan mulut tabung reaksi pada nyala api saat menggoreskan jarum ose tersebut. Setelah itu media agar miring dalam tabung reaksi ditutup rapat menggunakan plastik kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C.

e. Pembuatan Stok Kerja Biakan Bakteri

Sebanyak 10 mL NaCl disiapkan, dimasukkan bakteri ke dalam larutan NaCl, lalu dibandingkan tingkat kekeruhannya dengan Mc.Farland 0,5%. Adapun cara pembuatan Mc. Farland 0,5 % yaitu dengan mengambil H₂SO₄ 1% sebanyak 0,1 mL dan ditambahkan sehingga volume menjadi 10 mL. Kemudian untuk BaCl₂ 1% ditimbang sebanyak 0,01 g dan ditambahkan 1 mL. Dari vial H₂SO₄ diambil 50 µl dibuang dan ditambahkan BaCl₂ 50 µl.

f. Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Untuk uji difusi, kontrol positif yang digunakan adalah gentamisin injeksi dengan kadar 40 mg/mL kemudian diencerkan dengan akuades steril hingga menjadi 0,2 mg/mL sebagai larutan induk yang selanjutnya diencerkan menjadi 0,05 mg/mL. Untuk kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10%.

3.9.5 Uji Antibakteri

Uji antibakteri dengan metode difusi dilakukan pada 6 kelompok. Dimana 4 kelompok merupakan kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sosor bebek dengan seri konsentrasi 70 mg/mL; 50 mg/mL; 30 mg/mL dan 10 mg/mL, kemudian satu kelompok uji berisi kontrol negatif (DMSO 10%) dan satu kelompok uji lagi berisi kontrol positif (gentamisin). Media padat *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah dipanaskan hingga mencair, didinginkan sampai suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$, dan dituang dalam cawan petri steril. Media dibiarkan hingga memadat kemudian media diusap dengan biakan bakteri. Media dibuat sumuran (diameter 10 mm) dan diberi perlakuan serta kontrol. Tiap-tiap konsentrasi dipipet 40 µL dimasukkan dalam masing-masing lubang sumuran yang berisi media MHA. Kontrol negatif menggunakan DMSO 10% sebanyak 40 µL. Kontrol positif menggunakan gentamisin sebanyak 40 µL dengan konsentrasi 0,05 mg/mL. Media bakteri yang sudah diberi bahan antibakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong untuk menentukan efektivitas antibakteri.

3.9.6 Penetapan Kadar Alkaloid Total

Uji penetapan alkaloid total dilakukan dengan beberapa tahapan sebagai berikut:

a. Pembuatan Dapar Fosfat pH 4,7

Dapar fosfat pH 4,7 dibuat dengan menimbang 7,16 gram natrium fosfat (Na_2HPO_4) dan 4,202 gram asam sitrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$). Kemudian keduanya dilarutkan dengan 1000 mL akuades (Patel dkk., 2015). Adapun perhitungan bahan dapat dilihat pada lampiran 3.1.

b. Pembuatan Larutan BCG (*bromocresol green*) 10^{-4}

Larutan BCG (*bromocresol green*) 10^{-4} dibuat dengan menimbang 69,8 mg *bromocresol green*, ditambahkan 3 mL NaOH 2N dan 5 mL akuades, kemudian dipanaskan pada suhu 50-60°C selama 15 menit hingga larut sempurna. Kemudian dilakukan pengenceran dengan 1 liter akuades (Patel dkk., 2015).

c. Pembuatan Blanko

Blanko dibuat dengan 1 mL HCl 2N, 5 mL larutan dapar, 5 mL larutan BCG 10^{-4} , dan 5 mL kloroform. Kemudian dilakukan pengocokan dalam corong pisah, dan diambil fase kloroformnya.

d. Preparasi Larutan Induk Standar Berberin Klorida 0,1 mg/mL

Larutan induk standar berberin klorida 0,1 mg/mL dibuat dengan cara menimbang 1 mg berberin klorida, dilarutkan dengan etanol pada 10 mL labu ukur sampai tepat tanda.

e. Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Standar Berberin

Diambil sejumlah 0,3; 0,6; 0,8; 1,0; dan 1,2 mL larutan induk standar berberin klorida 0,1 mg/mL masing-masing dimasukkan dalam corong pisah. Kemudian ditambahkan 5 mL dapar fosfat pH 4,7 dan 5 mL larutan BCG 10^{-4} , sehingga terbentuk larutan standar berberin konsentrasi 0,003 ; 0,006; 0,008; 0,01; dan 0,12 mg/mL. Kemudian dikocok dan kompleks yang terbentuk diekstraksi dengan 5 mL kloroform. Diambil kloroform bagian bawah, dan ditambahkan kloroform sampai tepat tanda. Pengukuran dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, sehingga diperoleh nilai absorbansi

yang dapat dihitung nilai regresinya. Nilai regresi yang didapatkan dapat dibandingkan terhadap persyaratan nilai regresi pada tabel r.

f. Preparasi Larutan Uji

Penimbangan ekstrak daun sosor bebek masing- masing 250 mg, sebanyak 3 kali replikasi. Kemudian tambahkan 1 mL HCl 2N, dan disaring.

g. Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

Sebelum penetapan kadar alkaloid total, terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum, yaitu pada standar berberin 0,1 mg/mL yang telah dipreparasi dengan larutan BCG (*bromocresol green*) 10^{-4} M. Serapan panjang gelombang diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-800 nm.

h. Penentuan Waktu Inkubasi

Sejumlah tertentu larutan uji dan pembanding (berberin klorida) dipipet, lalu ditambahkan dapar fosfat 5 mL, BCG 5 mL, kloroform 5 mL, dan kloroform sampai tepat tanda. Campuran dikocok sampai homogen, diambil fase kloroformnya, dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya mulai menit ke-0 sampai menit ke-60 dengan selang waktu 5 menit.

i. Penetapan Kadar Alkaloid Total

Ekstrak yang sudah disaring, dapat dilakukan adjust pH hingga mencapai pH netral yaitu 7,0. Kemudian dilakukan pencucian dengan kloroform 5 mL sebanyak 3 kali. Pada pencucian tersebut diambil fase kloroformnya bagian bawah. Setiap pencucian hendaklah dikocok terlebih dahulu selama 1 menit. Setelah pencucian kloroform yang ketiga, ditambahkan 5 mL larutan dapar fosfat dan 5 mL BCG, lalu divortex selama 1 menit. Kemudian ditambahkan 5 mL kloroform, dan kembali divortex selama 5 menit. Setelah ketiganya dicampur, akan terbentuk senyawa kompleks yang ditandai dengan memisahkannya fase kloroform di bagian bawah. Pada akhirnya fase kloroform yang di ambil, dan ditambahkan kloroform sampai volume labu ukur 10 mL.

j. Perhitungan

Nilai absorbansi yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi larutan ekstrak dimasukkan ke dalam persamaan regresi larutan standar berberin sehingga

diperoleh kadar alkaloid total yang ditunjukkan dengan miligram berberin ekuivalen per gram ekstrak (mgBE/g ekstrak).

3.9.7 Penetapan Kadar Flavonoid Total

Uji penetapan flavonoid total dilakukan dengan beberapa tahapan sebagai berikut:

a. Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak etanol daun sosor bebek ditimbang sebanyak 40 mg. Selanjutnya dilarutkan dalam 10 mL etanol sehingga konsentrasi larutan uji ekstrak 4000 $\mu\text{g/mL}$.

b. Pembuatan Baku Standar Kuersetin

Sebanyak 25 mg standar kuersetin ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, lalu dilarutkan dengan metanol sampai tepat tanda sehingga diperoleh konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk kuersetin dengan memipet sejumlah tertentu larutan induk, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan metanol sampai tepat tanda, dan diperoleh konsentrasi pada rentang 10-100 $\mu\text{g/mL}$. Pengukuran dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, sehingga diperoleh nilai absorbansi yang dapat dihitung nilai regresinya. Nilai regresi yang didapatkan dapat dibandingkan terhadap persyaratan nilai regresi pada tabel r.

c. Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Sebelum penetapan kadar flavonoid total, terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dengan reagen. Larutan standar kuersetin ditambah dengan 3 mL metanol, 300 μl kalium asetat, 300 μl AlCl_3 10%, dan akuades sampai tepat tanda. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya dari 400-800 nm.

d. Penentuan Waktu Inkubasi

Sejumlah tertentu larutan uji dan pembanding (kuersetin) dipipet, lalu dilarutkan dengan 3 mL metanol, 300 μl kalium asetat, 300 μl AlCl_3 10%, dan akuades sampai tepat tanda. Campuran dikocok sampai homogen dan diamati

absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya mulai menit ke-0 sampai menit ke-100 dengan selang waktu 5 menit. Adapun perhitungan bahan AlCl_3 10% dan kalium asetat 1M dapat dilihat pada lampiran 3.2.

e. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan cara memipet 1 mL larutan uji ekstrak (1000 ppm), masukkan labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan 3 mL metanol, 300 μl kalium asetat, 300 μl AlCl_3 10%, dan akuades sampai tepat tanda volume 10 mL. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dan waktu optimumnya.

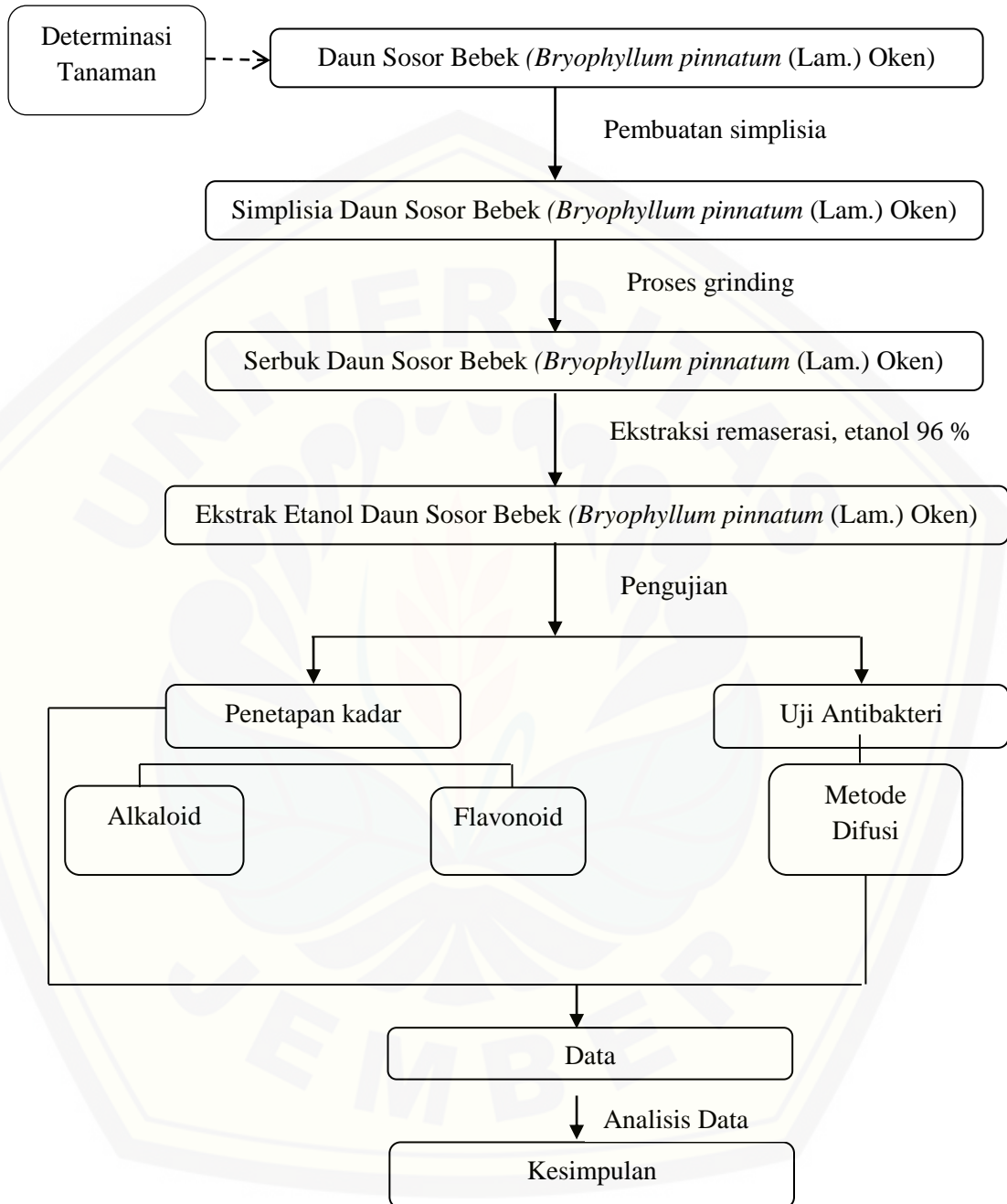
f. Perhitungan

Nilai absorbansi yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi larutan ekstrak dimasukkan ke dalam persamaan regresi larutan standar kuersetin sehingga diperoleh kadar flavonoid total yang ditunjukkan dengan miligram kuersetin ekuivalen per gram ekstrak (mgQE/gram ekstrak) (Choudhary, dkk., 2013).

3.10 Analisis Data

Data yang akan diperoleh berupa data kuantitatif. Data dari uji antibakteri dengan metode difusi pada 4 konsentrasi perlakuan dianalisis dengan uji *One Way* ANOVA untuk melihat adanya perbedaan yang bermakna pada kelompok, kemudian dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan bermakna. Hasil uji *One Way* ANOVA dan LSD dikatakan signifikan jika $p < 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) (Sudjana, 2000).

3.11 Skema Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak etanol daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan metode difusi.
2. Nilai diameter hambat ekstrak etanol daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) terhadap *Bacillus cereus* pada konsentrasi 10%, 30%, 50%, dan 70%, berturut-turut adalah 13,5 mm; 17,2 mm; 18,3 mm; dan 18,2 mm.
3. Kadar alkaloid total dan flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) masing-masing adalah 2,780 mgBE/gram ekstrak dan 11,000 mgQE/gram ekstrak.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait uji dilusi, untuk mendapatkan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan uji in vivo dari ekstrak etanol daun sosor bebek (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) yang berpotensi sebagai bahan obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Advisory Committee on Immunization Practices. 2000. *Preventing Pneumococcal Disease among Infants and Young Children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)*. RR-9. *MMWR. Recommendations and Reports : Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations and Reports / Centers for Disease Control*.
- Afzal, M., I. Kazmi, R. Khan, R. Singh, M. Chauhan, T. Bisht, dan F. Anwar. 2012. Issn 2249 – 9687 review article *Bryophyllum pinnatum* : a review. *International Journal of Research in Biological Sciences*. 2(4):143–149.
- Agniti, M. D. dan S. S. Soenarto. 2011. Situasi Diare di Indonesia. *Buletin diare*. 1.
- Akinpelu, D.A. 2000. Antimicrobial activity of *Bryophyllum pinnatum* leaves. *Fitoterapia*. 71 (2000) 193- 194.
- Alabi K.A, dan Hassan G.F. 2014. Determination of minimum inhibitory concentrations of 2- (2-nitrovinyl) furan. 2(2):28–32.
- Al- snafi, A.E. 2013. The chemical constituent and pharmacological effects of *Bryophyllum calycinum*. *International Journal of Pharma Sciences and Research*. 4(12):171-176.
- Arnesen L.P.S.,A.Fugerlund, dan P.E.Granum. 2008. From Soil to gut *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbio. Rev*.32: 579-606.
- Asiedu-Gyekye, I. J., D. A. Antwi., K. A. Bugyei., dan C. Awortwe. 2012. Comparative study of two kalanchoe species: total flavonoid, phenolic contents and antioxidant properties. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 6(5):65–73.
- Assay, A. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Applied Microbiology*. 22(4):659–665.
- Azwanida, N. N. 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*. 4(3):3–8.
- 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.

Bernhard, K., H. Schrempf, dan W. Goebel. 1978. Bacteriocin and antibiotic resistance plasmids in *Bacillus cereus* and *Bacillus bacteriocin* and antibiotic resistance plasmids in *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*. 133(2):897–903.

Bibi, Y., S. Nisa, F. M. Chaudhary, dan M. Zia. 2011. Antibacterial activity of some selected medicinal plants of pakistan. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 11(1):52.

Bottone, E. J. 2010. *Bacillus cereus* , a volatile human pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*. 23(2):382–398.

Choudhary, S., B. S. Tanwer, T. Singh, dan R. Vijayvergia. 2013. *Academic sciences*. 5(1):1–3.

Cushnie, T. P. T. dan A. J. Lamb. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26:343–356.

Cushnie, T. P. T., B. Cushnie, dan A. J. Lamb. 2014. Alkaloids: an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 44(5):377–386

Das, S. 2014. A simple, low cost optical tilt sensor. *International Journal of Electronics and Electrical Engineering*. 2(3):235–241.

Davis, W. W., dan T. R. Stout. 1971. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *Microbiology*. 22: 659-665.

Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan (Ditjen POM). 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Depkes RI.

Furir, K., A. P. Simoes-Wust, U. Von Mandach, M. Hamburger, dan O. Potterat. 2016. *Bryophyllum pinnatum* and related species used in anthroposophic medicine: constituents, pharmacological activities, and clinical efficacy. *Planta Medica*. 82(11–12):930–941.

Ganju, K. dan E. Ganju. 2016. Phytochemical analysis of methanolic extract of leaves of *Kalanchoe pinnata* (Lam.). *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. 3(5):359–361.

Gigantelli, J. W., J. Torres Gomez, dan M. S. Osato. 1991. In vitro susceptibilities of ocular *Bacillus cereus* isolates to clindamycin, gentamicin, and vancomycin alone or in combinaton. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 35(1):201–202.

- Granum, P. E. dan T. Lund. 1997. *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins minireview. *FEMS Microbiology Letters*. 157:223–228.
- Grotewold, E. 2006. The Science of Flavonoids. *Departement of Cellular and Molecular Biology*.
- Grzelak, E. M., C. Hwang, G. Cai, J. W. Nam, M. P. Choules, W. Gao, D. C. Lankin, J. B. McAlpine, S. G. Mulugeta, J. G. Napolitano, J. W. Suh, S. H. Yang, J. Cheng, H. Lee, J. Y. Kim, S. H. Cho, G. F. Pauli, S. G. Franzblau, dan B. U. Jaki. 2016. Bioautography with tlc-ms/nmr for rapid discovery of anti-tuberculosis lead compounds from natural sources. *ACS Infectious Diseases*. 2(4):294–301.
- Gwehenberger, B., L. Rist, R. Huch, dan U. Von Mandach. 2004. Effect of *Bryophyllum pinnatum* versus fenoterol on uterine contractility. *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology*. 113(2):164–171.
- Harianja, D. S. M. 2009. Kajian Tingkat Keamanan Susu UHT (*Ultra High Temperature*) Impor terhadap Mikroba *Bacillus cereus*. *Tesis*. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Jawets, and Melnick. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. EGC: Jakarta
- John, B., C. T. Sulaiman, S. George, dan V. R. K. Reddy. 2014. Spectrophotometric estimation of total alkaloids in selected justicia species. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(5):647–648.
- Karou, D., A. Savadogo, A. Canini, S. Yameogo, C. Montesano, J. Simpore, V. Colizzi, A. S. Traore, D. Biologia, dan R. Tor. 2005. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology*. 4(12):1452–1457.
- Kementerian Kesehatan RI. 2016. *Profil Kesehatan Indonesia 2015*.
- Koda-Kimble, M. A., L. Y. Young, B. K. Alldredge, R. L. Corelli, B. J. Guglielmo, W. A. Kradjan, dan B. R. Williams. 2009. *Applied Therapeutics: The Clinical Use Of Drugs*. Edisi 9. USA : Lippincott Williams & Wilkins.
- Kuswandi, M. 2011. Strategi Mengatasi Bakteri yang Resisten terhadap Antibiotika. *Pengukuhan Jabatan Guru Besar (10-12)*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.

- Lay, B. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Lima-filho, J. V. dan R. D. A. Cordeiro. 2014. Chapter 17 in vitro and in vivo antibacterial and antifungal screening of natural plant products : prospective standardization of basic methods. 275–291.
- Lukman. 2015. Tata Laksana Diare Akut. *Continuing medical education*. 42(7):504–508.
- Maughan, H. dan G. Van Der Auwera. 2011. Infection , genetics and evolution bacillus taxonomy in the genomic era finds phenotypes to be essential though often misleading. *Journal Homepage Elsevier*. 11:789–797.
- Mignot, T., B. Denis, E. Couture-Tosi, A. B. Kolstø, M. Mock, dan A. Fouet. 2001. Distribution of s-layers on the surface of bacillus cereus strains: phylogenetic origin and ecological pressure. *Environmental Microbiology*. 3(8):493–501.
- Morgan, M. 2009. Ethanol in herbal medicine. *Medi Herb*. (129):1–4.
- Nagaratna, A. dan P. L. Hegde. 2015. A comprehensive review on parnabeeja (*Bryophyllum pinnatum*). *Journal of Medicinal Plant Studies*. 3(5):166–171.
- Nascimento, L. B. D. S., M. V. Leal-Costa, E. A. Menezes, V. R. Lopes, M. F. Muzitano, S. S. Costa, dan E. S. Tavares. 2015. Ultraviolet-b radiation effects on phenolic profile and flavonoid content of *Kalanchoe pinnata*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 148:73–81.
- O.I.E. 2012. Laboratory methodologies for bacterial antimicrobial susceptibility testing. *OIE Terrestrial Manual*. 1–11.
- Okwu, D. E. dan F. U. Nnamdi. 2011. A novel antimicrobial phenanthrene alkaloid from *Bryopyllum pinnatum*. 8(3):1456–1461.
- Okwu, D. E. dan F. U. Nnamdi. 2011. Two novel flavonoids from *Bryophyllum pinnatum* and their antimicrobial activity. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 3(2):1–10.
- Othman, A., N. J. Mukhtar, N. S. Ismail, dan S. K. Chang. 2014. Phenolics, flavonoids content and antioxidant activities of 4 malaysian herbal plants. *International Food Research Journal*. 21(2):759–766.
- Pandey, A., S. Tripathi, dan C. A. Pandey. 2014. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry JPP*. 115(25):115–119.

- Patel, R. K., J. B. Patel, dan P. D. Trivedi. 2015. Spectrophotometric method for the estimation of total alkaloids in the *Tinospora cordifolia* m. and its herbal formulations. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 7(10):249–251.
- Rajsekhar, P. B., R. S. A. Bharani, M. Ramachandran, K. J. Angel, S. Priya, dan V. Rajsekhar. 2016. The “ wonder plant ” *Kalanchoe pinnata* (Linn.) Pers : a review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 6(3):151–158.
- Rios, J. L., M. C. Recio, dan a. Villar. 1988. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of Ethnopharmacology*. 23(2–3):127–149.
- Santos, A. G., B. D. Ribeiro, D. S. Alviano, dan M. A. Z. Coelho. 2014. Toxicity of ionic liquids toward microorganisms interesting to the food industry. *RSC Advances*. 4:37157–37163.
- Sella Ade Putri, Nugraha Sutadipura, dan Tjoekra Roekmantara. 2014. Efek Ekstrak Etanol Daun Sosor Bebek (*Kalanchoe Pinnata* (Lam.) Pers) terhadap Waktu Penyembuhan Luka Sayat pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Prosiding Pendidikan Dokter*. Universitas Islam Bandung.
- Sharma, A., M. Bhot, dan N. Chandra. 2014. In vitro antibacterial and antioxidant activity of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Kurz. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(1):5–7.
- Singh, D. K., B. Srivastava, dan A. Sahu. 2004. Spectrophotometric determination of rauwolfia alkaloids: estimation of reserpine in pharmaceuticals. *Analytical Sciences : The International Journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*. 20(3):571–573.
- Singh, S. K., V. R. Tripathi, R. K. Jain, S. Vikram, dan S. K. Garg. 2010. An antibiotic, heavy metal resistant and halotolerant bacillus cereus siu1 and its thermoalkaline protease. *Microbial Cell Factories*. 9:59-66.
- Sudjana. 2000. *Metode Statistika*. Bandung: Tarsito.
- Umar zhein, Khalid huda sagala, dan Josia Ginting. 2004. Diare Akut Disebabkan Bakteri. *e-USU Repository Universitas Sumatera Utara*. 1-15.
- Woolley. 2001. Plant alkaloids. *Encyclopedia of Live Science*. 1-11.

LAMPIRAN

**Lampiran 3.1 Perhitungan Bahan pada Penetapan Kadar Alkaloid Total
BCG (*Bromocresol green*) 10^{-4}**

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1000}{V \text{ (mL)}}$$

$$M = \frac{m}{698,02} \times \frac{1000}{1000}$$

$$m = 69,8 \text{ gram}$$

NaOH 2N

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1000}{V \text{ (mL)}} \times e$$

$$2N = \frac{m}{40} \times \frac{1000}{25} \times 1$$

$$m = 2 \text{ gram}$$

Asam Sitrat Monohidrat (Na_2HPO_4) 0,2M

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1000}{V \text{ (mL)}}$$

$$0,2 \text{ M} = \frac{m}{210,14 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \times \frac{1000}{1000}$$

$$m = 42,028 \text{ gram}$$

HCl 2N

$$12N \cdot V_1 = 2N \cdot 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = 8,33 \text{ mL}$$

Lampiran 3.2 Perhitungan Bahan pada Penetapan Kadar Flavonoid Total

1. AlCl_3 10% = AlCl_3 10 gram dalam 100 ml

Apabila dalam 10 ml, maka:

$$\text{AlCl}_3 \text{ 10\%} = \frac{10 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{x}{10 \text{ ml}}$$

$$x = 1 \text{ gram}$$

2. Kalium asetat 1M

$$M = \frac{m}{Mr} \times \frac{1000}{V \text{ (mL)}}$$

$$1 \text{ M} = \frac{m}{98,14Mr} \times \frac{1000}{10 \text{ mL}}$$

$$m = 0,98 \text{ gram}$$

Lampiran 4.3 Hasil Determinasi Tanaman Sosor Bebek



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN

No: *07/2017* /IPH.06/HM/V/2017

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

Nama : Siti Marfu'ah
NIM : 132210101052
Instansi : Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember.
Tanggal material diterima : 2 Juni 2017

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

Kingdom : Plantae
Division : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Subclass : Rosidae
Ordo : Rosales
Family : Crassulaceae
Genus : Kalanchoe
Species : *Kalanchoe pinnata* (Lmk) Pers.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1963. Flora of Java Vol. I. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 202
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XV

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 10 Juni 2017

An. Kepala

Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Wulandari, S.Hut., M.Si.

Lampiran 4.4 Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sosor Bebek

Bobot serbuk kering *Bryophyllum pinnatum* = 142,30 gram

Bobot ekstrak kental daun sosor bebek = 9,02 gram

Volume etanol yang digunakan = 600 mL

$$6,34\% = \frac{9,02 \text{ gram}}{142,30 \text{ gram}} \times 100\%$$

Lampiran 4.5 Hasil Pengukuran Diameter Hambat pada Uji Antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dan Perhitungan Konsentrasi Uji

Replikasi ke-	Kontrol positif	Konsentrasi ekstrak			
		10%	30%	50%	70%
1	22,5	13,3	17,2	18,5	18,3
	23,7	13,2	17,6	18,4	18,4
	23,6	14,2	17,4	18,6	17,8
	23,3	13,6	17,4	18,5	18,2
2	23,6	13,8	16,8	18,8	17,8
	23,5	13,4	17,6	17,8	18,4
	23,8	13,3	17,3	18,4	18,2
	23,6	13,5	17,2	18,3	18,1
3	23,2	13,2	16,9	18,3	18,5
	23,4	13,4	16,8	18,2	17,9
	23,5	13,8	17,5	18,1	18,3
	23,4	13,4	17,1	18,2	18,2

Perhitungan Konsentrasi Uji

Larutan induk adalah 70%, yang artinya 70 gram ekstrak dalam 100 mL pelarut.

Apabila dalam 1 ml, maka ekstrak yang dibutuhkan adalah 0,7 gram.

$$\text{konsentrasi 70\%} = \frac{70 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = \frac{x}{1 \text{ ml}}$$

$$x = 0,7 \text{ gram.}$$

Maka, untuk konsentrasi 70%, 0,7 gram ekstrak dilarutkan dalam 100 µl DMSO 10%, dan add kan dengan aquabidest hingga volumenya 1 mL.

konsentrasi 50%

$$700.000 \times Y = 500.000 \times 1 \text{ mL}$$

$$Y = 710 \mu\text{l (larutan uji)} + 290 \mu\text{l (aquabidest)}$$

konsentrasi 30%

$$500.000 \times Y = 300.000 \times 1 \text{ mL}$$

$$Y = 600 \mu\text{l (larutan uji)} + 400 \mu\text{l (aquabidest)}$$

konsentrasi 10%

$$300.000 \times Y = 100.000 \times 1 \text{ mL}$$

$$Y = 330 \mu\text{l (larutan uji)} + 670 \mu\text{l (aquabidest)}$$

Lampiran 4.6 Uji One Way Annova

Tests of Normality

konse ntrasie ks	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diamhambat 10%	.293	9	.025	.838	9	.055
30%	.179	9	.200*	.877	9	.145
50%	.131	9	.200*	.985	9	.985
70%	.228	9	.193	.859	9	.093

Test of Homogeneity of Variances

diamhambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.367	3	32	.777

ANOVA

diamhambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	137.583	3	45.861	475.450	.000
Within Groups	3.087	32	.096		

ANOVA

diamhambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	137.583	3	45.861	475.450	.000
Within Groups	3.087	32	.096		
Total	140.670	35			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

diamhambat

LSD

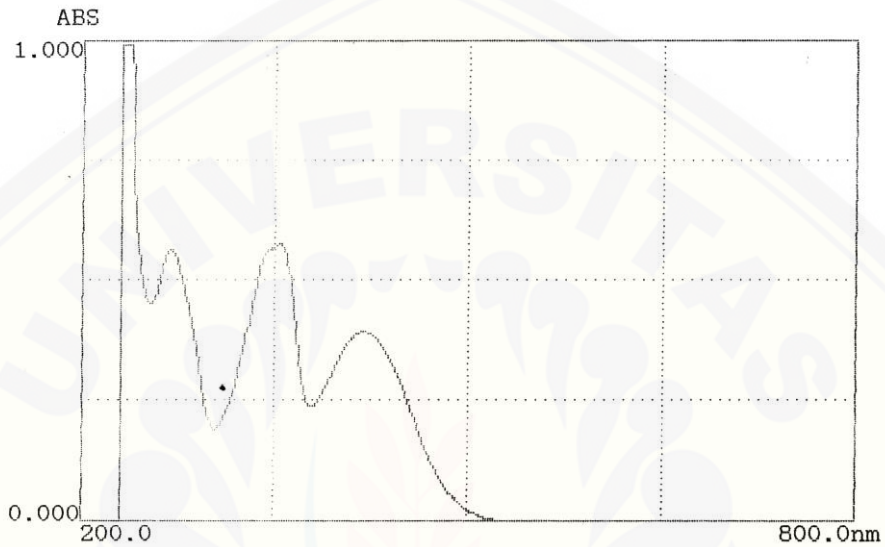
(I) konse ntrasie ks	(J) konse ntrasie ks	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
10%	30%	-3.7222*	.1464	.000	-4.020	-3.424
	50%	-4.8333*	.1464	.000	-5.132	-4.535
	70%	-4.6667*	.1464	.000	-4.965	-4.368
30%	10%	3.7222*	.1464	.000	3.424	4.020
	50%	-1.1111*	.1464	.000	-1.409	-.813
	70%	-.9444*	.1464	.000	-1.243	-.646
50%	10%	4.8333*	.1464	.000	4.535	5.132
	30%	1.1111*	.1464	.000	.813	1.409
	70%	.1667	.1464	.263	-.132	.465
70%	10%	4.6667*	.1464	.000	4.368	4.965
	30%	.9444*	.1464	.000	.646	1.243
	50%	-.1667	.1464	.263	-.465	.132

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

Lampiran 4.7 Hasil Optimasi Scanning Panjang Gelombang Standar Berberin

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:



Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 800.0-200.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 800.0-200.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

Peak		Peak		Peak		Peak	
WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
543.0	-0.004	418.0	0.391	352.0	0.575	267.0	0.563
234.0	3.000						

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 800.0-200.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

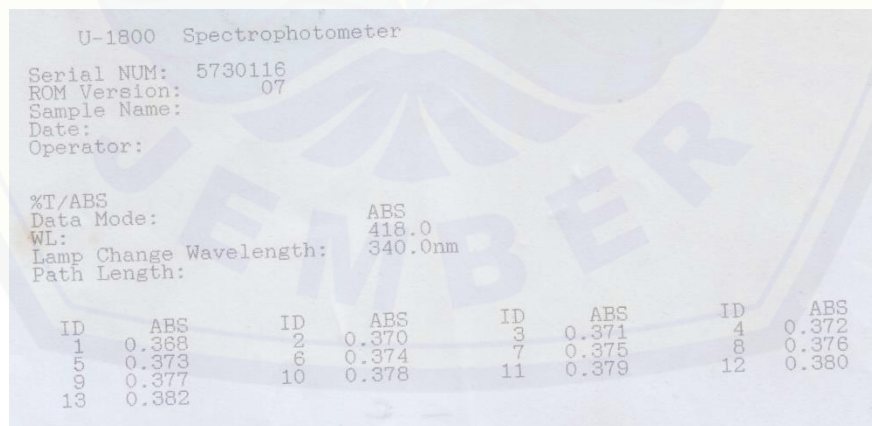
ALL Data							
WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	-0.006	799.0	-0.006	798.0	-0.006	797.0	-0.006
796.0	-0.006	795.0	-0.006	794.0	-0.006	793.0	-0.006
792.0	-0.006	791.0	-0.006	790.0	-0.006	789.0	-0.006
788.0	-0.006	787.0	-0.006	786.0	-0.006	785.0	-0.006
784.0	-0.006	783.0	-0.006	782.0	-0.006	781.0	-0.006
780.0	-0.006	779.0	-0.006	778.0	-0.007	777.0	-0.007
776.0	-0.007	775.0	-0.007	774.0	-0.007	773.0	-0.007
772.0	-0.007	771.0	-0.006	770.0	-0.006	769.0	-0.007
768.0	-0.007	767.0	-0.007	766.0	-0.006	765.0	-0.006
764.0	-0.006	763.0	-0.006	762.0	-0.006	761.0	-0.007
760.0	-0.007	759.0	-0.007	758.0	-0.007	757.0	-0.007
756.0	-0.007	755.0	-0.007	754.0	-0.007	753.0	-0.007
752.0	-0.006	751.0	-0.006	750.0	-0.007	749.0	-0.007
748.0	-0.006	747.0	-0.006	746.0	-0.006	745.0	-0.006
744.0	-0.006	743.0	-0.006	742.0	-0.006	741.0	-0.006
740.0	-0.006	739.0	-0.006	738.0	-0.006	737.0	-0.006
736.0	-0.007	735.0	-0.007	734.0	-0.007	733.0	-0.007
732.0	-0.007	731.0	-0.007	730.0	-0.007	729.0	-0.007
728.0	-0.007	727.0	-0.007	726.0	-0.007	725.0	-0.007
724.0	-0.007	723.0	-0.007	722.0	-0.007	721.0	-0.007
720.0	-0.007	719.0	-0.007	718.0	-0.008	717.0	-0.008
716.0	-0.008	715.0	-0.007	714.0	-0.007	713.0	-0.007
712.0	-0.007	711.0	-0.007	710.0	-0.007	709.0	-0.007
708.0	-0.007	707.0	-0.007	706.0	-0.007	705.0	-0.007
704.0	-0.007	703.0	-0.007	702.0	-0.007	701.0	-0.007
700.0	-0.007	699.0	-0.008	698.0	-0.008	697.0	-0.008
696.0	-0.008	695.0	-0.008	694.0	-0.008	693.0	-0.008
692.0	-0.007	691.0	-0.007	690.0	-0.008	689.0	-0.008
688.0	-0.008	687.0	-0.008	686.0	-0.008	685.0	-0.008
684.0	-0.008	683.0	-0.008	682.0	-0.008	681.0	-0.008
680.0	-0.008	679.0	-0.008	678.0	-0.008	677.0	-0.007
676.0	-0.007	675.0	-0.007	674.0	-0.007	673.0	-0.007
672.0	-0.007	671.0	-0.007	670.0	-0.007	669.0	-0.007
668.0	-0.007	667.0	-0.007	666.0	-0.007	665.0	-0.007
664.0	-0.007	663.0	-0.007	662.0	-0.007	661.0	-0.007
660.0	-0.006	659.0	-0.006	658.0	-0.006	657.0	-0.007
656.0	-0.007	655.0	-0.007	654.0	-0.007	653.0	-0.007
652.0	-0.006	651.0	-0.006	650.0	-0.006	649.0	-0.006
648.0	-0.006	647.0	-0.006	646.0	-0.006	645.0	-0.006
644.0	-0.006	643.0	-0.006	642.0	-0.005	641.0	-0.005
640.0	-0.005	639.0	-0.005	638.0	-0.006	637.0	-0.006
636.0	-0.006	635.0	-0.006	634.0	-0.006	633.0	-0.006
632.0	-0.005	631.0	-0.005	630.0	-0.005	629.0	-0.005
628.0	-0.005	627.0	-0.005	626.0	-0.005	625.0	-0.005
624.0	-0.005	623.0	-0.005	622.0	-0.005	621.0	-0.006
620.0	-0.006	619.0	-0.006	618.0	-0.006	617.0	-0.006
616.0	-0.006	615.0	-0.006	614.0	-0.006	613.0	-0.006
612.0	-0.006	611.0	-0.006	610.0	-0.006	609.0	-0.006
608.0	-0.006	607.0	-0.006	606.0	-0.006	605.0	-0.006
604.0	-0.006	603.0	-0.006	602.0	-0.006	601.0	-0.006
600.0	-0.006	599.0	-0.005	598.0	-0.005	597.0	-0.005
596.0	-0.005	595.0	-0.005	594.0	-0.005	593.0	-0.005
592.0	-0.006	591.0	-0.006	590.0	-0.006	589.0	-0.006
588.0	-0.006	587.0	-0.006	586.0	-0.006	585.0	-0.006
584.0	-0.006	583.0	-0.006	582.0	-0.006	581.0	-0.005
580.0	-0.005	579.0	-0.005	578.0	-0.005	577.0	-0.005
576.0	-0.005	575.0	-0.005	574.0	-0.005	573.0	-0.006

572.0	-0.007	571.0	-0.008	570.0	-0.007	569.0	-0.007
568.0	-0.007	567.0	-0.007	566.0	-0.007	565.0	-0.007
564.0	-0.007	563.0	-0.007	562.0	-0.007	561.0	-0.007
560.0	-0.007	559.0	-0.007	558.0	-0.007	557.0	-0.007
556.0	-0.007	555.0	-0.007	554.0	-0.006	553.0	-0.006
552.0	-0.005	551.0	-0.005	550.0	-0.005	549.0	-0.006
548.0	-0.006	547.0	-0.005	546.0	-0.004	545.0	-0.004
544.0	-0.004	543.0	-0.004	542.0	-0.004	541.0	-0.004
540.0	-0.004	539.0	-0.004	538.0	-0.004	537.0	-0.004
536.0	-0.004	535.0	-0.003	534.0	-0.003	533.0	-0.004
532.0	-0.003	531.0	-0.003	530.0	-0.003	529.0	-0.003
528.0	-0.003	527.0	-0.002	526.0	-0.002	525.0	-0.002
524.0	-0.002	523.0	-0.002	522.0	-0.002	521.0	-0.001
520.0	-0.001	519.0	-0.000	518.0	0.001	517.0	0.001
516.0	0.001	515.0	0.002	514.0	0.003	513.0	0.003
512.0	0.004	511.0	0.005	510.0	0.006	509.0	0.007
508.0	0.008	507.0	0.009	506.0	0.011	505.0	0.012
504.0	0.013	503.0	0.015	502.0	0.015	501.0	0.016
500.0	0.017	499.0	0.019	498.0	0.020	497.0	0.022
496.0	0.023	495.0	0.025	494.0	0.028	493.0	0.030
492.0	0.032	491.0	0.035	490.0	0.037	489.0	0.040
488.0	0.042	487.0	0.045	486.0	0.048	485.0	0.051
484.0	0.054	483.0	0.058	482.0	0.061	481.0	0.065
480.0	0.069	479.0	0.073	478.0	0.078	477.0	0.082
476.0	0.086	475.0	0.090	474.0	0.095	473.0	0.100
472.0	0.105	471.0	0.111	470.0	0.116	469.0	0.122
468.0	0.128	467.0	0.134	466.0	0.140	465.0	0.146
464.0	0.152	463.0	0.158	462.0	0.165	461.0	0.172
460.0	0.180	459.0	0.187	458.0	0.195	457.0	0.202
456.0	0.209	455.0	0.216	454.0	0.223	453.0	0.231
452.0	0.239	451.0	0.246	450.0	0.254	449.0	0.261
448.0	0.268	447.0	0.275	446.0	0.281	445.0	0.288
444.0	0.295	443.0	0.301	442.0	0.307	441.0	0.314
440.0	0.320	439.0	0.325	438.0	0.330	437.0	0.335
436.0	0.340	435.0	0.345	434.0	0.350	433.0	0.355
432.0	0.359	431.0	0.363	430.0	0.367	429.0	0.371
428.0	0.374	427.0	0.377	426.0	0.379	425.0	0.382
424.0	0.384	423.0	0.386	422.0	0.388	421.0	0.389
420.0	0.390	419.0	0.390	418.0	0.391	417.0	0.391
416.0	0.390	415.0	0.390	414.0	0.389	413.0	0.388
412.0	0.387	411.0	0.385	410.0	0.383	409.0	0.381
408.0	0.377	407.0	0.374	406.0	0.370	405.0	0.367
404.0	0.363	403.0	0.360	402.0	0.356	401.0	0.351
400.0	0.346	399.0	0.341	398.0	0.335	397.0	0.330
396.0	0.325	395.0	0.320	394.0	0.314	393.0	0.308
392.0	0.303	391.0	0.297	390.0	0.291	389.0	0.285
388.0	0.279	387.0	0.274	386.0	0.268	385.0	0.263
384.0	0.258	383.0	0.253	382.0	0.248	381.0	0.244
380.0	0.240	379.0	0.238	378.0	0.236	377.0	0.235
376.0	0.235	375.0	0.237	374.0	0.240	373.0	0.245
372.0	0.252	371.0	0.260	370.0	0.270	369.0	0.284
368.0	0.302	367.0	0.322	366.0	0.344	365.0	0.367
364.0	0.391	363.0	0.416	362.0	0.442	361.0	0.467
360.0	0.491	359.0	0.512	358.0	0.531	357.0	0.545
356.0	0.557	355.0	0.565	354.0	0.570	353.0	0.574
352.0	0.575	351.0	0.575	350.0	0.573	349.0	0.570
348.0	0.569	347.0	0.568	346.0	0.567	345.0	0.565
344.0	0.563	343.0	0.561	342.0	0.558	341.0	0.555
340.0	0.551	339.0	0.544	338.0	0.536	337.0	0.527
336.0	0.517	335.0	0.505	334.0	0.493	333.0	0.480
332.0	0.466	331.0	0.453	330.0	0.439	329.0	0.425
328.0	0.412	327.0	0.400	326.0	0.388	325.0	0.376
324.0	0.363	323.0	0.352	322.0	0.340	321.0	0.327
320.0	0.315	319.0	0.303	318.0	0.291	317.0	0.281
316.0	0.271	315.0	0.262	314.0	0.252	313.0	0.244
312.0	0.236	311.0	0.227	310.0	0.220	309.0	0.214
308.0	0.207	307.0	0.201	306.0	0.196	305.0	0.193
304.0	0.190	303.0	0.188	302.0	0.188	301.0	0.188
300.0	0.190	299.0	0.194	298.0	0.199	297.0	0.206
296.0	0.214	295.0	0.224	294.0	0.236	293.0	0.250
292.0	0.266	291.0	0.283	290.0	0.303	289.0	0.323
288.0	0.342	287.0	0.360	286.0	0.376	285.0	0.389
284.0	0.402	283.0	0.414	282.0	0.426	281.0	0.439
280.0	0.453	279.0	0.467	278.0	0.480	277.0	0.492
276.0	0.503	275.0	0.514	274.0	0.524	273.0	0.533
272.0	0.541	271.0	0.549	270.0	0.554	269.0	0.559
268.0	0.562	267.0	0.563	266.0	0.562	265.0	0.558
264.0	0.552	263.0	0.544	262.0	0.534	261.0	0.522
260.0	0.509	259.0	0.497	258.0	0.486	257.0	0.475
256.0	0.465	255.0	0.458	254.0	0.452	253.0	0.449

252.0	0.448	251.0	0.450	250.0	0.455	249.0	0.462
248.0	0.472	247.0	0.483	246.0	0.493	245.0	0.514
244.0	0.531	243.0	0.555	242.0	0.578	241.0	0.599
240.0	0.631	239.0	0.682	238.0	0.784	237.0	0.955
236.0	1.206	235.0	1.717	234.0	3.000	233.0	3.000
232.0	3.000	231.0	3.000	230.0	3.000	229.0	-0.176
228.0	-0.654	227.0	-0.779	226.0	-0.779	225.0	-0.779
224.0	-0.779	223.0	-0.779	222.0	-0.779	221.0	-0.779
220.0	-0.779	219.0	-0.779	218.0	-0.779	217.0	-0.779
216.0	-0.779	215.0	-0.779	214.0	-0.779	213.0	-0.779
212.0	-0.779	211.0	-0.779	210.0	-0.779	209.0	-0.779
208.0	-0.779	207.0	-0.779	206.0	-0.779	205.0	-0.779
204.0	-0.779	203.0	-0.779	202.0	-0.779	201.0	-0.779
200.0	-0.779						

Lampiran 4.8 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Standar Berberin dan Sampel

Waktu (menit)	Absorbansi Standar berberin	Absorbansi Sampel ekstrak
0	0,368	0,349
5	0,370	0,302
10	0,371	0,290
15	0,372	0,284
20	0,373	0,281
25	0,374	0,281
30	0,375	0,281
35	0,376	0,281
40	0,377	0,281
45	0,378	0,281
50	0,379	0,281
55	0,380	0,281
60	0,382	0,281



U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
ROM Version: 07
Sample Name:
Date:
Operator:

%T/ABS
Data Mode: ABS
WL: 418.0
Lamp Change Wavelength: 340.0nm
Path Length:

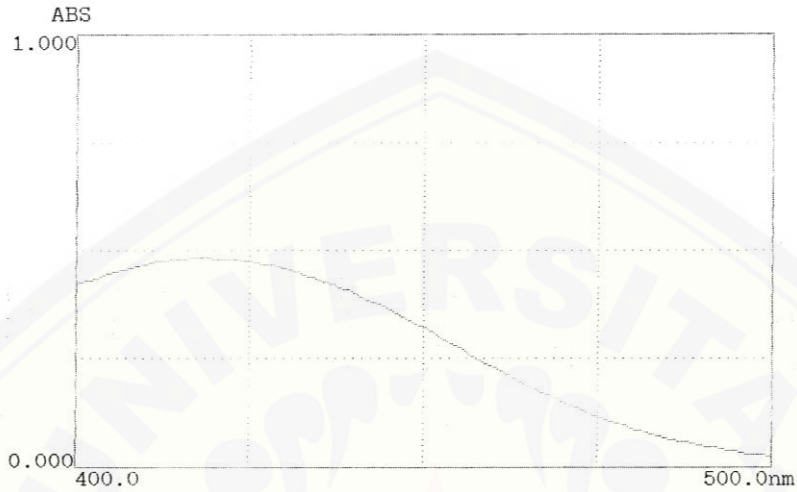
ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	0.349	2	0.302	3	0.290	4	0.284
5	0.281	6	0.281	7	0.281	8	0.281
9	0.281	10	0.281	11	0.281	12	0.281
13	0.281	14	0.281				

Lampiran 4.9 Hasil Optimasi pH Dapar Fosfat

pH dapar fosfat	Nilai absorbansi
4,5	0,482
4,7	0,547
5,0	0,537

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:



Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 500.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 500.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

Peak		WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
418.0	0.482						

U-1800 Spectrophotometer

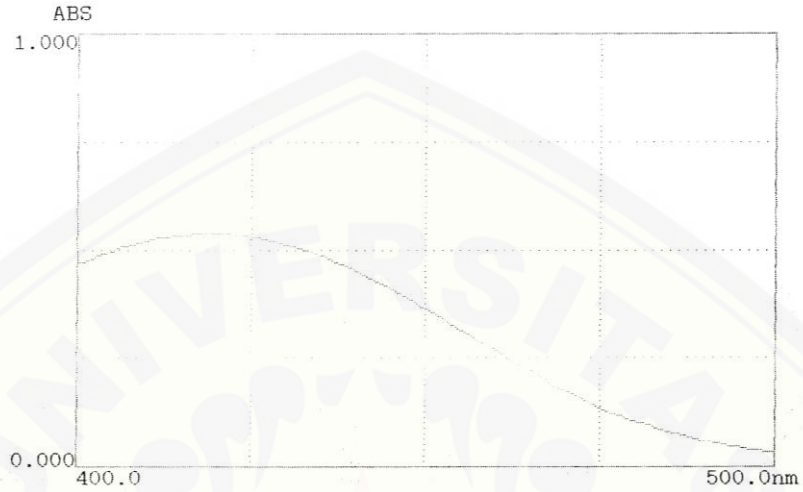
Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 500.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

ALL Data							
WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
500.0	0.025	499.0	0.026	498.0	0.028	497.0	0.029
496.0	0.031	495.0	0.034	494.0	0.036	493.0	0.039
492.0	0.042	491.0	0.046	490.0	0.049	489.0	0.051
488.0	0.054	487.0	0.058	486.0	0.061	485.0	0.065
484.0	0.069	483.0	0.074	482.0	0.078	481.0	0.083
480.0	0.088	479.0	0.092	478.0	0.098	477.0	0.103
476.0	0.109	475.0	0.115	474.0	0.121	473.0	0.128
472.0	0.135	471.0	0.142	470.0	0.149	469.0	0.156
468.0	0.163	467.0	0.171	466.0	0.178	465.0	0.186
464.0	0.194	463.0	0.203	462.0	0.213	461.0	0.222
460.0	0.230	459.0	0.238	458.0	0.246	457.0	0.254
456.0	0.263	455.0	0.273	454.0	0.282	453.0	0.292
452.0	0.301	451.0	0.310	450.0	0.320	449.0	0.328
448.0	0.337	447.0	0.345	446.0	0.353	445.0	0.361
444.0	0.369	443.0	0.377	442.0	0.385	441.0	0.392
440.0	0.399	439.0	0.406	438.0	0.413	437.0	0.419
436.0	0.425	435.0	0.431	434.0	0.437	433.0	0.443
432.0	0.448	431.0	0.453	430.0	0.457	429.0	0.461
428.0	0.465	427.0	0.468	426.0	0.471	425.0	0.473
424.0	0.476	423.0	0.478	422.0	0.480	421.0	0.481
420.0	0.481	419.0	0.482	418.0	0.482	417.0	0.481
416.0	0.480	415.0	0.479	414.0	0.477	413.0	0.476
412.0	0.474	411.0	0.470	410.0	0.466	409.0	0.462
408.0	0.459	407.0	0.455	406.0	0.451	405.0	0.445
404.0	0.440	403.0	0.435	402.0	0.429	401.0	0.423
400.0	0.419						

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:



Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 500.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 500.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

Peak	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
	418.0	0.537						

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

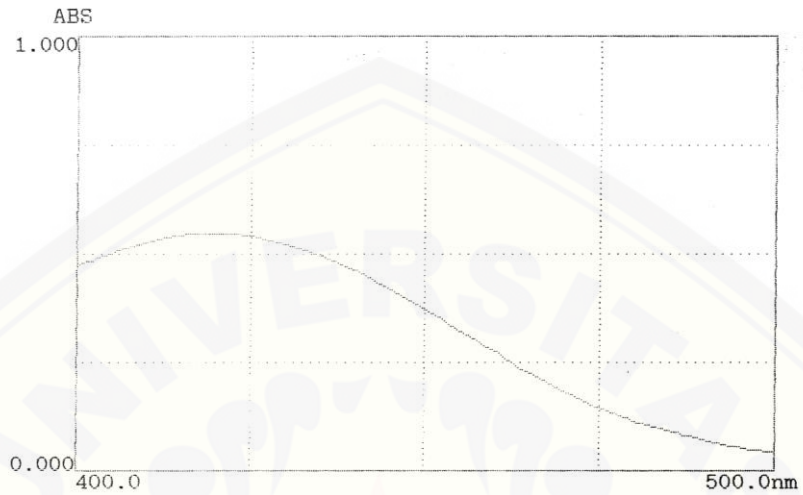
Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 500.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

ALL Data

WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
500.0	0.029	499.0	0.032	498.0	0.035	497.0	0.038
496.0	0.040	495.0	0.043	494.0	0.045	493.0	0.048
492.0	0.051	491.0	0.055	490.0	0.058	489.0	0.062
488.0	0.066	487.0	0.070	486.0	0.074	485.0	0.078
484.0	0.083	483.0	0.087	482.0	0.092	481.0	0.097
480.0	0.102	479.0	0.108	478.0	0.113	477.0	0.119
476.0	0.125	475.0	0.132	474.0	0.140	473.0	0.148
472.0	0.156	471.0	0.165	470.0	0.172	469.0	0.180
468.0	0.188	467.0	0.198	466.0	0.208	465.0	0.218
464.0	0.227	463.0	0.235	462.0	0.245	461.0	0.255
460.0	0.264	459.0	0.273	458.0	0.281	457.0	0.291
456.0	0.301	455.0	0.312	454.0	0.322	453.0	0.333
452.0	0.343	451.0	0.353	450.0	0.362	449.0	0.372
448.0	0.382	447.0	0.391	446.0	0.400	445.0	0.409
444.0	0.417	443.0	0.426	442.0	0.434	441.0	0.442
440.0	0.450	439.0	0.458	438.0	0.465	437.0	0.472
436.0	0.479	435.0	0.486	434.0	0.492	433.0	0.498
432.0	0.504	431.0	0.509	430.0	0.514	429.0	0.518
428.0	0.522	427.0	0.525	426.0	0.528	425.0	0.530
424.0	0.532	423.0	0.534	422.0	0.536	421.0	0.536
420.0	0.537	419.0	0.537	418.0	0.537	417.0	0.537
416.0	0.535	415.0	0.534	414.0	0.532	413.0	0.530
412.0	0.527	411.0	0.524	410.0	0.520	409.0	0.515
408.0	0.511	407.0	0.507	406.0	0.502	405.0	0.497
404.0	0.491	403.0	0.486	402.0	0.479	401.0	0.472
400.0	0.466						

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:



Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 500.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 500.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

Peak		Peak		Peak		Peak	
WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
420.0	0.547						

U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan
 Data Mode: ABS
 Scan Range: 500.0-400.0nm
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

ALL Data							
WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
500.0	0.039	499.0	0.040	498.0	0.043	497.0	0.046
496.0	0.049	495.0	0.052	494.0	0.054	493.0	0.057
492.0	0.060	491.0	0.064	490.0	0.068	489.0	0.072
488.0	0.076	487.0	0.079	486.0	0.084	485.0	0.088
484.0	0.093	483.0	0.097	482.0	0.102	481.0	0.108
480.0	0.113	479.0	0.118	478.0	0.124	477.0	0.130
476.0	0.136	475.0	0.143	474.0	0.150	473.0	0.158
472.0	0.166	471.0	0.174	470.0	0.182	469.0	0.189
468.0	0.197	467.0	0.205	466.0	0.214	465.0	0.223
464.0	0.232	463.0	0.242	462.0	0.252	461.0	0.262
460.0	0.272	459.0	0.282	458.0	0.292	457.0	0.301
456.0	0.311	455.0	0.321	454.0	0.332	453.0	0.342
452.0	0.353	451.0	0.362	450.0	0.372	449.0	0.381
448.0	0.390	447.0	0.398	446.0	0.407	445.0	0.416
444.0	0.425	443.0	0.434	442.0	0.444	441.0	0.453
440.0	0.461	439.0	0.468	438.0	0.475	437.0	0.482
436.0	0.489	435.0	0.495	434.0	0.502	433.0	0.509
432.0	0.514	431.0	0.519	430.0	0.523	429.0	0.527
428.0	0.531	427.0	0.535	426.0	0.538	425.0	0.540
424.0	0.543	423.0	0.545	422.0	0.546	421.0	0.547
420.0	0.547	419.0	0.547	418.0	0.547	417.0	0.546
416.0	0.544	415.0	0.542	414.0	0.540	413.0	0.537
412.0	0.538	411.0	0.529	410.0	0.525	409.0	0.521
408.0	0.517	407.0	0.512	406.0	0.507	405.0	0.502
404.0	0.497	403.0	0.491	402.0	0.484	401.0	0.477
400.0	0.472						

Lampiran 4.10 Perhitungan Standar Berberin Klorida

$$100 \text{ ppm} = \frac{1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000$$

Pengenceran

$$3 \text{ ppm} = \frac{0,3 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm}$$

$$6 \text{ ppm} = \frac{0,6 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm}$$

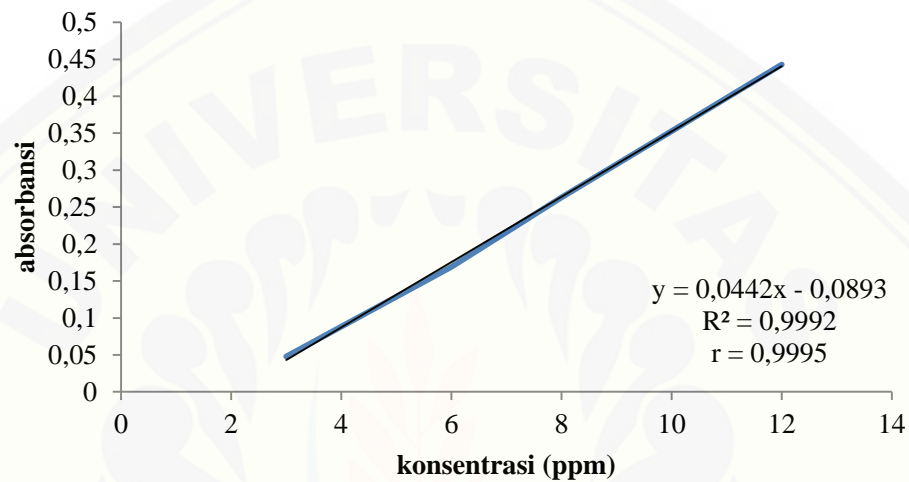
$$8 \text{ ppm} = \frac{0,8 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm}$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm}$$

$$12 \text{ ppm} = \frac{1,2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 100 \text{ ppm}$$

Lampiran 4.11 Kurva Kalibrasi Standar Berberin

No	Konsentrasi standar	Absorbansi
1	3 ppm	0,048
2	6 ppm	0,169
3	8 ppm	0,263
4	10 ppm	0,353
5	12 ppm	0,443

kurva baku standar berberin

```

U-1800 Spectrophotometer
Serial NUM: 5730116
ROM Version: 07
Sample Name:
Date:
Operator:

%T/ABS
Data Mode: ABS
WL: 418.0
Lamp Change Wavelength: 340.0nm
Path Length:

ID   ABS   ID   ABS   ID   ABS   ID   ABS
1   0.116  2   0.048  3   0.219  4   0.163
5   0.169  6   0.251  7   0.263  8   0.353
9   0.443  10  0.470

```

Lampiran 4.12 Perhitungan Penetapan Kadar Alkaloid Total

Replikasi	Penimbangan (gram)	Absorbansi	Konsentrasi (mg/mL)	Kadar (%b/b)	mgBE/gram ekstrak
1	0,2537	0,218	25,37	0,027	2,740
2	0,2539	0,224	25,39	0,028	2,792
3	0,2540	0,226	25,40	0,028	2,808

Replikasi 1

$$y = 0,0442x - 0,0893$$

$$0,224 = 0,0442x - 0,0893$$

$$x = 7,0882 \mu\text{g/ml (dalam 1 ml)} \quad \longrightarrow \quad 70,882 \mu\text{g (dalam 10 ml)}$$

$$\% \frac{b}{b} = \frac{70,882 \mu\text{g}}{253900 \mu\text{g}} \times 100\% = 0,028\%$$

Setara mgBE/gram ekstrak

$$\text{Massa} = \frac{10}{1000} \times 70,882 \mu\text{g} = 0,70882 \text{ mg}$$

$$\text{ekuivalensi} = \frac{0,70882 \text{ mg}}{0,2539 \text{ gram}} = 2,792 \frac{\text{mgBE}}{\text{gram}} \text{ esktrak}$$

Replikasi 2

$$y = 0,0442x - 0,0893$$

$$0,226 = 0,0442x - 0,0893$$

$$x = 7,1335 \mu\text{g/ml (dalam 1 ml)} \quad \longrightarrow \quad 71,335 \mu\text{g (dalam 10 ml)}$$

$$\% \frac{b}{b} = \frac{71,335 \mu\text{g}}{254000 \mu\text{g}} \times 100\% = 0,028\%$$

Setara mgBE/gram ekstrak

$$\text{Massa} = \frac{10}{1000} \times 71,335 \mu\text{g} = 0,71335 \text{ mg}$$

$$\text{ekuivalensi} = \frac{0,71335 \text{ mg}}{0,2540 \text{ gram}} = 2,808 \frac{\text{mgBE}}{\text{gram}} \text{ esktrak}$$

Replikasi 3

$$y = 0,0442x - 0,0893$$

$$0,218 = 0,0442x - 0,0893$$

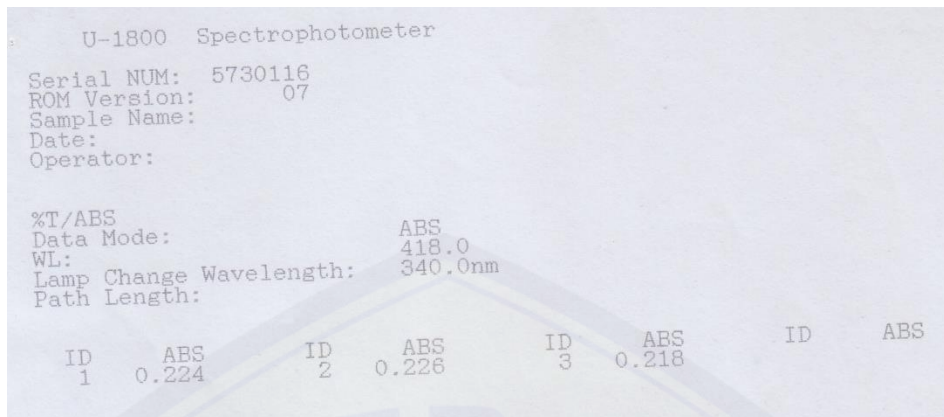
$$x = 6,9525 \mu\text{g/ml (dalam 1 ml)} \quad \longrightarrow \quad 69,525 \mu\text{g (dalam 10 ml)}$$

$$\% \frac{b}{b} = \frac{69,525 \mu\text{g}}{253700 \mu\text{g}} \times 100\% = 0,027\%$$

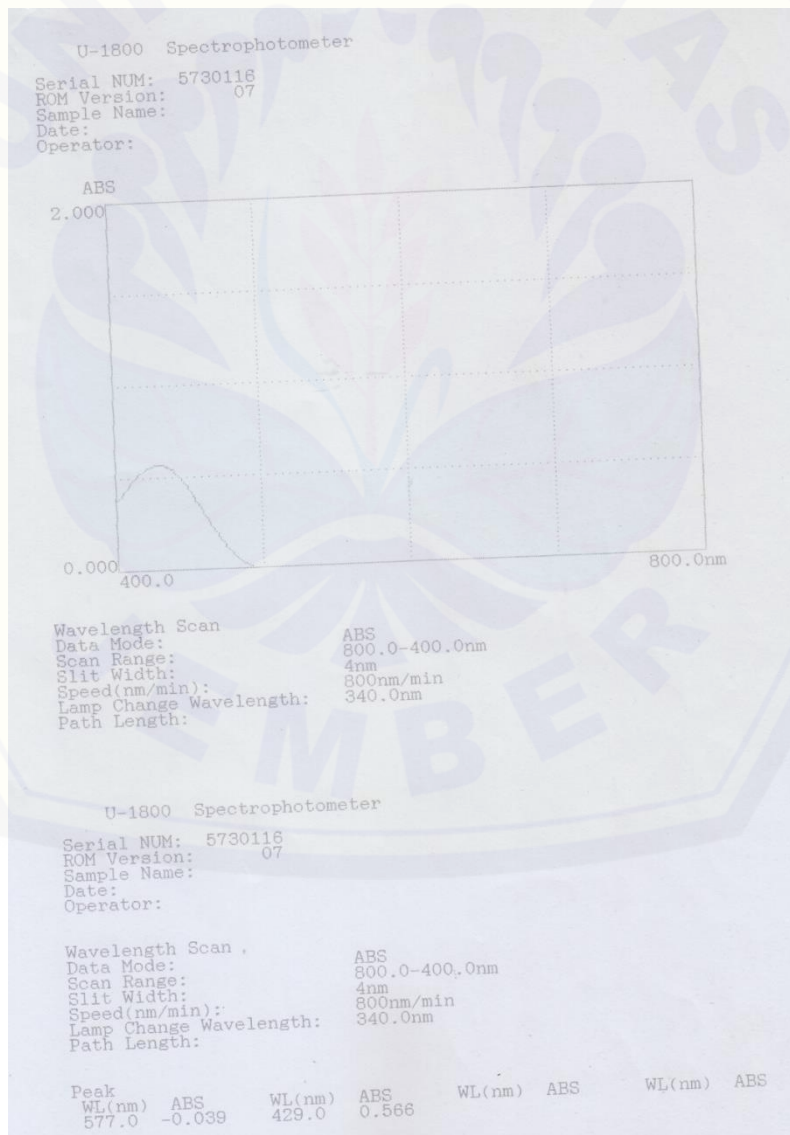
Setara mgBE/gram ekstrak

$$\text{Massa} = \frac{10}{1000} \times 69,525 \mu\text{g} = 0,69525 \text{ mg}$$

$$\text{ekuivalensi} = \frac{0,69525 \text{ mg}}{0,2537 \text{ gram}} = 2,740 \frac{\text{mgBE}}{\text{gram}} \text{ esktrak}$$



Lampiran 4.13 Hasil Optimasi Scanning Panjang Gelombang Standar Kuersetin



U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
 ROM Version: 07
 Sample Name:
 Date:
 Operator:

Wavelength Scan ABS
 Data Mode: 800.0-400.0nm
 Scan Range:
 Slit Width: 4nm
 Speed(nm/min): 800nm/min
 Lamp Change Wavelength: 340.0nm
 Path Length:

ALL Data							
WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	-0.028	799.0	-0.028	798.0	-0.028	797.0	-0.028
796.0	-0.028	795.0	-0.028	794.0	-0.028	793.0	-0.028
792.0	-0.028	791.0	-0.028	790.0	-0.028	789.0	-0.028
788.0	-0.028	787.0	-0.029	786.0	-0.029	785.0	-0.029
784.0	-0.029	783.0	-0.029	782.0	-0.029	781.0	-0.029
780.0	-0.029	779.0	-0.029	778.0	-0.029	777.0	-0.029
776.0	-0.029	775.0	-0.029	774.0	-0.028	773.0	-0.028
772.0	-0.028	771.0	-0.028	770.0	-0.028	769.0	-0.028
768.0	-0.029	767.0	-0.029	766.0	-0.029	765.0	-0.029
764.0	-0.030	763.0	-0.030	762.0	-0.030	761.0	-0.030
760.0	-0.030	759.0	-0.030	758.0	-0.030	757.0	-0.030
756.0	-0.030	755.0	-0.030	754.0	-0.030	753.0	-0.030
752.0	-0.030	751.0	-0.030	750.0	-0.030	749.0	-0.030
748.0	-0.030	747.0	-0.031	746.0	-0.031	745.0	-0.031
744.0	-0.031	743.0	-0.031	742.0	-0.031	741.0	-0.031
740.0	-0.030	739.0	-0.030	738.0	-0.031	737.0	-0.031
736.0	-0.031	735.0	-0.031	734.0	-0.031	733.0	-0.031
732.0	-0.031	731.0	-0.031	730.0	-0.031	729.0	-0.031
728.0	-0.031	727.0	-0.031	726.0	-0.031	725.0	-0.031
724.0	-0.031	723.0	-0.031	722.0	-0.031	721.0	-0.031
720.0	-0.031	719.0	-0.031	718.0	-0.031	717.0	-0.031
716.0	-0.031	715.0	-0.031	714.0	-0.031	713.0	-0.031
712.0	-0.031	711.0	-0.031	710.0	-0.031	709.0	-0.031
708.0	-0.031	707.0	-0.031	706.0	-0.032	705.0	-0.032
704.0	-0.032	703.0	-0.032	702.0	-0.032	701.0	-0.032
700.0	-0.032	699.0	-0.032	698.0	-0.032	697.0	-0.032
696.0	-0.032	695.0	-0.032	694.0	-0.032	693.0	-0.032
692.0	-0.032	691.0	-0.033	690.0	-0.033	689.0	-0.033
688.0	-0.033	687.0	-0.033	686.0	-0.033	685.0	-0.033
684.0	-0.032	683.0	-0.033	682.0	-0.033	681.0	-0.033
680.0	-0.033	679.0	-0.033	678.0	-0.033	677.0	-0.033
676.0	-0.033	675.0	-0.034	674.0	-0.034	673.0	-0.034
672.0	-0.033	671.0	-0.033	670.0	-0.033	669.0	-0.033
668.0	-0.033	667.0	-0.034	666.0	-0.034	665.0	-0.033
664.0	-0.033	663.0	-0.033	662.0	-0.034	661.0	-0.034
660.0	-0.034	659.0	-0.034	658.0	-0.034	657.0	-0.034
656.0	-0.034	655.0	-0.034	654.0	-0.034	653.0	-0.034
652.0	-0.034	651.0	-0.034	650.0	-0.034	649.0	-0.034
648.0	-0.034	647.0	-0.034	646.0	-0.034	645.0	-0.034
644.0	-0.034	643.0	-0.034	642.0	-0.034	641.0	-0.034
640.0	-0.034	639.0	-0.034	638.0	-0.034	637.0	-0.034
636.0	-0.035	635.0	-0.034	634.0	-0.035	633.0	-0.035
632.0	-0.035	631.0	-0.035	630.0	-0.035	629.0	-0.035
628.0	-0.035	627.0	-0.035	626.0	-0.035	625.0	-0.036
624.0	-0.036	623.0	-0.036	622.0	-0.036	621.0	-0.036
620.0	-0.036	619.0	-0.036	618.0	-0.036	617.0	-0.037
616.0	-0.037	615.0	-0.037	614.0	-0.037	613.0	-0.037
612.0	-0.037	611.0	-0.038	610.0	-0.038	609.0	-0.037
608.0	-0.038	607.0	-0.038	606.0	-0.038	605.0	-0.038
604.0	-0.038	603.0	-0.038	602.0	-0.038	601.0	-0.038
600.0	-0.038	599.0	-0.037	598.0	-0.037	597.0	-0.037
596.0	-0.037	595.0	-0.037	594.0	-0.038	593.0	-0.039
592.0	-0.039	591.0	-0.039	590.0	-0.040	589.0	-0.040
588.0	-0.040	587.0	-0.041	586.0	-0.042	585.0	-0.043
584.0	-0.043	583.0	-0.042	582.0	-0.042	581.0	-0.041
580.0	-0.041	579.0	-0.041	578.0	-0.040	577.0	-0.039
576.0	-0.039	575.0	-0.039	574.0	-0.040	573.0	-0.040

Lampiran 4.14 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Standar Kuersetin dan Sampel

Waktu (menit)	Absorbansi Standar kuersetin	Absorbansi Sampel ekstrak
0	0,487	0,415
5	0,472	0,463
10	0,470	0,489
15	0,467	0,507
20	0,467	0,517
25	0,471	0,527
30	0,471	0,533
35	0,473	0,537
40	0,473	0,546
45	0,473	0,549
50	0,473	0,552
55		0,544
60		0,546
65		0,547
70		0,549
75		0,551

80	0,552
85	0,551
90	0,553
95	0,555
100	0,555

```
%T/ABS
Data Mode:          ABS
WL:                 429.0
Lamp Change Wavelength: 340.0nm
Path Length:
```

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	0.415	2	0.463	3	0.489	4	0.507
5	0.517	6	0.527	7	0.533	8	0.537
9	0.546	10	0.549	11	0.552	12	0.544
13	0.546	14	0.547	15	0.549	16	0.551
17	0.552	18	0.551	19	0.553	20	0.555
21	0.555	22	0.555	23	0.555	24	0.555

```
U-1800 Spectrophotometer
Serial NUM: 5730116
ROM Version: 07
Sample Name:
Date:
Operator:
```

```
%T/ABS
Data Mode:          ABS
WL:                 429.0
Lamp Change Wavelength: 340.0nm
Path Length:
```

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	0.487	2	0.472	3	0.470	4	0.467
5	0.467	6	0.471	7	0.471	8	0.473
9	0.473	10	0.473	11	0.473		

Lampiran 4.15 Perhitungan Standar Kuersetin

$$1000 \text{ ppm} = \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} \times 1000$$

Pengenceran

$$2 \text{ ppm} = \frac{0,02 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$4 \text{ ppm} = \frac{0,04 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$6 \text{ ppm} = \frac{0,06 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$8 \text{ ppm} = \frac{0,08 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{0,1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ppm}$$

Lampiran 4.16 Kurva Kalibrasi Standar Kuersetin

No	Konsentrasi standar	Absorbansi
1	2 ppm	0,082
2	4 ppm	0,224
3	6 ppm	0,394
4	8 ppm	0,549
5	10 ppm	0,7



```

U-1800 Spectrophotometer
Serial NUM: 5730116
ROM Version: 07
Sample Name:
Date:
Operator:

%T/ABS
Data Mode: ABS
WL: 429.0
Lamp Change Wavelength: 340.0nm
Path Length:

ID   ABS   ID   ABS   ID   ABS   ID   ABS
1   0.011  2   0.082  3   0.224  4   0.394
5   0.549  6   0.700  7   0.817  8   0.951

```

Lampiran 4.17 Perhitungan Penetapan Kadar Flavonoid Total

Replikasi	Penimbangan (gram)	Absorbansi	Konsentrasi (mg/mL)	Kadar (%b/b)	mgQE/gram ekstrak
1	0,0404	0,460	4,04	1,102	11,014
2	0,0406	0,463	4,06	1,101	11,007
3	0,0407	0,463	4,07	1,098	10,980

Replikasi 1

$$y = 0,1561x - 0,2346$$

$$0,460 = 0,1561x - 0,2346$$

$$x = 4,4497 \mu\text{g/ml (dalam 1 ml)} \longrightarrow 44,497 \mu\text{g (dalam 10 ml, larutan uji induk)}$$

$$(44,497 \mu\text{g} \times 10) \longrightarrow 444,97 \mu\text{g (dalam 10 ml, larutan uji yang diukur)}$$

$$\% \frac{b}{b} = \frac{444,97 \mu\text{g}}{40400 \mu\text{g}} \times 100\% = 1,102\%$$

Setara mgQE/gram ekstrak

$$\text{Massa} = 444,97 \mu\text{g} = 0,44497 \text{ mg}$$

$$\text{ekuivalensi} = \frac{0,44497 \text{ mg}}{0,0404 \text{ gram}} = 11,014 \frac{\text{mgQE}}{\text{gram}} \text{ ekstrak}$$

Replikasi 2

$$y = 0,1561x - 0,2346$$

$$0,463 = 0,1561x - 0,2346$$

$$x = 4,4689 \mu\text{g/ml (dalam 1 ml)} \longrightarrow 44,689 \mu\text{g (dalam 10 ml, larutan uji induk)}$$

$$(44,689 \mu\text{g} \times 10) \longrightarrow 446,89 \mu\text{g (dalam 10 ml, larutan uji yang diukur)}$$

$$\% \frac{b}{b} = \frac{446,89 \mu\text{g}}{40600 \mu\text{g}} \times 100\% = 1,101\%$$

Setara mgQE/gram ekstrak

$$\text{Massa} = 446,89 \mu\text{g} = 0,44689 \text{ mg}$$

$$\text{ekuivalensi} = \frac{0,44689 \text{ mg}}{0,0406 \text{ gram}} = 11,007 \frac{\text{mgBE}}{\text{gram}} \text{ ekstrak}$$

Replikasi 3

$$y = 0,1561x - 0,2346$$

$$0,463 = 0,1561x - 0,2346$$

$$x = 4,4689 \mu\text{g/ml (dalam 1 ml)} \longrightarrow 44,689 \mu\text{g (dalam 10 ml, larutan uji induk)}$$

(44,689 μg x 10)

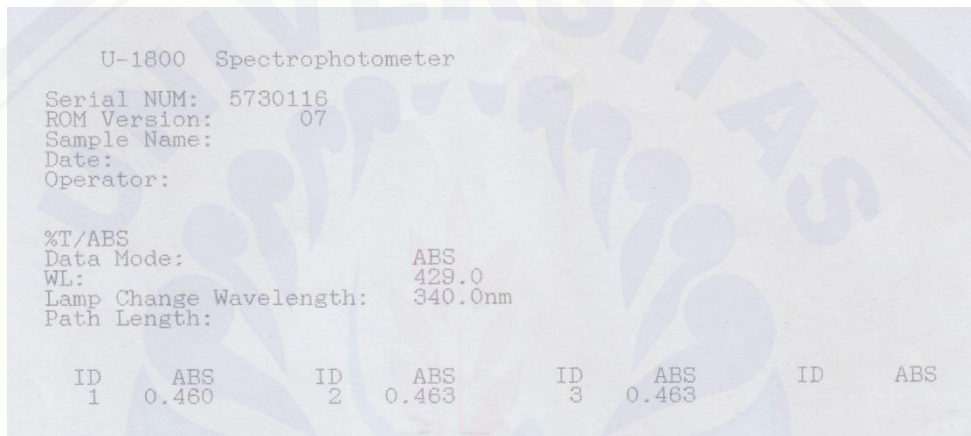
→ 446,89 μg (dalam 10 ml,
larutan uji yang diukur)

$$\% \frac{b}{b} = \frac{446,89 \mu\text{g}}{40700 \mu\text{g}} \times 100\% = 1,098 \%$$

Setara mgQE/gram ekstrak

Massa = 446,89 μg = 0,44689 mg

$$\text{ekuivalensi} = \frac{0,44689 \text{ mg}}{0,0407 \text{ gram}} = 10,980 \frac{\text{mgQE}}{\text{gram}} \text{ ekstrak}$$



U-1800 Spectrophotometer

Serial NUM: 5730116
ROM Version: 07
Sample Name:
Date:
Operator:

%T/ABS
Data Mode: ABS
WL: 429.0
Lamp Change Wavelength: 340.0nm
Path Length:

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	0.460	2	0.463	3	0.463		

Lampiran 4.18 Dokumentasi



Preparasi blangko pada penetapan kadar alkaloid



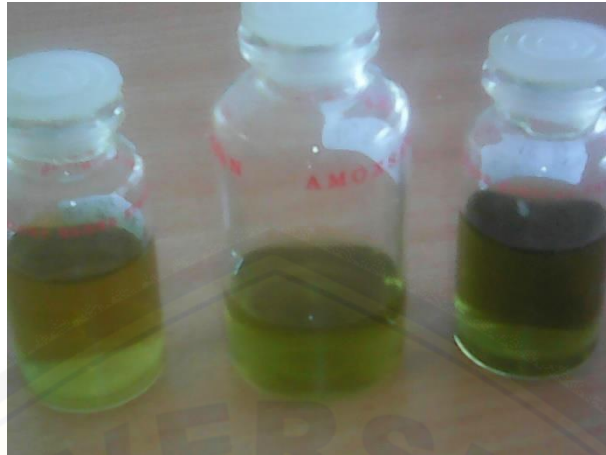
Preparasi standar berberin klorida pada penetapan kadar alkaloid



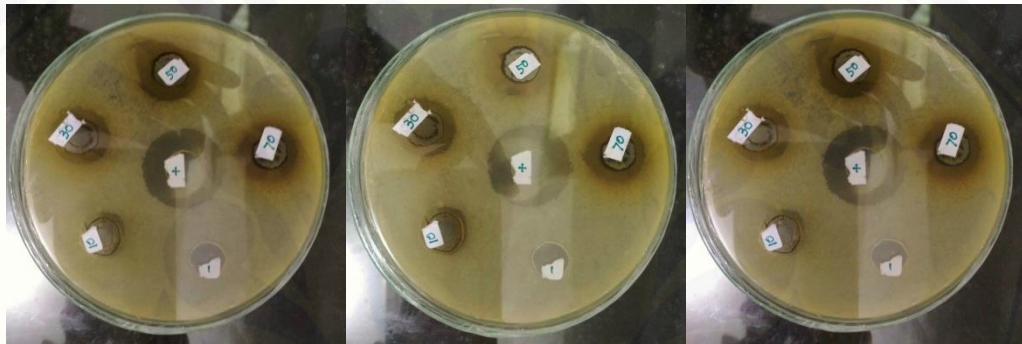
Blangko dan standar berberin klorida pada optimasi waktu inkubasi



Standar kuersetin pada beberapa konsentrasi



Sampel ekstrak untuk penetapan kadar flavonoid total



Hasil pengamatan antibakteri