



**PENETAPAN KADAR ALKALOID TOTAL DAN UJI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Bacillus cereus* DARI
EKSTRAK ETANOL DAUN KEMAITAN (*Lunasia amara* Blanco)**

SKRIPSI

Oleh:

Carina Puspita Kadarwenny

NIM 132210101073

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017



**PENETAPAN KADAR ALKALOID TOTAL DAN UJI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Bacillus cereus* DARI
EKSTRAK ETANOL DAUN KEMAITAN (*Lunasia amara* Blanco)**

SKRIPSI

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

Oleh:

Carina Puspita Kadarwenny

NIM 132210101073

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017

PERSEMBAHAN

Dengan segala kerendahan hati, skripsi ini saya persembahkan sebagai bentuk tanggung jawab, bukti, dan ungkapan terimakasih kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa yang selalu memberikan berkat kepada penulis;
2. Ayahanda Adolf Prijatmo Kadarmono dan Ibunda Yulana Murwiyanti terkasih yang senantiasa memberi kasih sayang, motivasi, nasihat, dan doa yang mengiringi setiap langkah keberhasilan penulis;
3. Seluruh keluarga besar yang telah memberi motivasi dan doa;
4. Guru-guru dari TKK Santa Maria, SDK Santo Yoseph, SMPN 1 Lumajang, dan SMAN 2 Lumajang, serta segenap dosen pengajar Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah membimbing dan memberikan ilmu yang sangat berharga;
5. Teman-teman Farmasi tahun angkatan 2013 “Farmasetamol”, terutama rekan-rekan tim TNMB Wahyu, Niken, Riza, dan Siti;
6. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTO

“Bergembiralah akan hal itu, sekalipun sekarang ini kamu seketika harus berdukacita oleh berbagai-bagai pencobaan.” (TB)

(Alkitab 1 Petrus 1: 6)

Ora et Labora.

“Serahkanlah segala kekuatiranmu kepada-Nya, sebab Ia yang memelihara kamu.”

(TB)

(Alkitab 1 Petrus 5: 7)

“Rumpun bambu terkuat tumbuh di atas tanah yang keras”

(MPA Pring Kuning)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Carina Puspita Kadarwenny

NIM : 132210101073

menyatakan dengan ini sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Penetapan Kadar Alkaloid Total dan Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dari Ekstrak Etanol Daun Kemaitan (*Lunasia amara* Blanco)” adalah hasil karya sendiri, kecuali pengutipan substansi yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 21 Juni 2017

Yang menyatakan,



(Carina Puspita Kadarwenny)

NIM 132210101073

SKRIPSI

**PENETAPAN KADAR ALKALOID TOTAL DAN UJI AKTIVITAS
ANTIBAKTERI TERHADAP *Bacillus cereus* DARI EKSTRAK ETANOL
DAUN KEMAITAN (*Lunasia amara* Blanco)**

Oleh

Carina Puspita Kadarwenny

NIM 132210101073

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt.

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Penetapan Kadar Alkaloid Total dan Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dari Ekstrak Etanol Daun Kemaitan (*Lunasia amara* Blanco)” karya Carina Puspita Kadarwenny telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 21 Juli 2017

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Tim Pembimbing

Pembimbing Utama,



(Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt.)

NIP 198504282009121004

Pembimbing Anggota,



(Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm., Apt.)

NIP 198712082014042002

Tim Penguji

Penguji I,



(Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.)

NIP 198107232006042002

Penguji II,



(Viddy Agustian R, S.Farm., M.Sc., Apt.)

NIP 198608302009121007

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



(Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm)

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Penetapan Kadar Alkaloid Total dan Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dari Ekstrak Etanol Daun Kemaitan (*Lunasia Amara Blanco*); Carina Puspita Kadarwenny, 132210101073; 2017; 78 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember

Penyakit infeksi menjadi masalah kesehatan yang paling serius di dunia. Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi adalah *Bacillus cereus* (*B. cereus*). Insidensi kasus infeksi yang disebabkan oleh patogen ini sangat tinggi. Pilihan utama dalam tata laksana terapi infeksi adalah pemberian antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai indikasi dapat mengakibatkan resistensi antibiotik, sehingga diperlukan alternatif dengan memanfaatkan bahan-bahan aktif antibakteri dari tumbuhan obat. Taman Nasional Meru Betiri memiliki potensi tinggi dalam hal ketersediaan tumbuhan obat dan memiliki daftar rekomendasi tumbuhan prioritas untuk dikembangkan, salah satunya adalah Kemaitan (*Lunasia amara Blanco*). Kemaitan memiliki efek terapi dalam pengobatan sakit perut, diare, penyakit kulit, iritasi mata, dan bengkak. Kandungan senyawa utama dalam kemaitan adalah alkaloid kuinolin yang diduga berperan sebagai antimikroba. Alkaloid merupakan senyawa basa nitrogen yang dihasilkan oleh tumbuhan dan dilaporkan memiliki efek mikrobiosidal dan efek antidiare.

Kemaitan diduga memiliki potensi sebagai antibakteri, maka dilakukan penetapan kadar alkaloid total dan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemaitan terhadap *B. cereus*. Penetapan kadar alkaloid total dilakukan dengan metode spektrofotometri menggunakan *bromocresol green* pada panjang gelombang 418 nm dan pH 4,7. Pengujian antibakteri ekstrak etanol daun kemaitan dilakukan menggunakan metode difusi sumuran dan mikrodilusi dengan gentamisin sebagai

kontrol positif dan DMSO 10% sebagai pelarut sekaligus sebagai kontrol negatif. Metode difusi sumuran bertujuan untuk skrining potensi aktivitas antibakteri, sedangkan metode mikrodilusi bertujuan untuk kuantifikasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemaitan.

Data hasil uji difusi sumuran berupa diameter zona hambat yang diukur dengan jangka sorong, kemudian data dianalisis dengan *one way* ANOVA dan dilanjutkan dengan LSD pada taraf kepercayaan 95%. Uji mikrodilusi dilakukan berdasar kekeruhan larutan dengan membaca absorbansi menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm. Data absorbansi dikonversi menjadi penghambatan pertumbuhan *B. cereus* (%) dan dianalisis dengan program probit untuk memperoleh nilai IC_{50} .

Hasil penelitian menunjukkan rendemen ekstrak kental yang diperoleh adalah 3,125% b/b. Kadar alkaloid total dalam ekstrak etanol daun kemaitan adalah $0,230 \pm 0,001\%$ b/b BE. Hasil pengujian aktivitas antibakteri metode difusi sumuran menunjukkan terbentuknya zona hambat pada konsentrasi 5, 4, 3, dan 2% dengan aktivitas antibakteri yang tergolong baik. Hasil uji *one way* ANOVA dan LSD menunjukkan semua pasangan perlakuan ekstrak uji memiliki perbedaan yang bermakna. Berdasarkan hasil analisis probit didapatkan bahwa IC_{50} ekstrak etanol daun kemaitan dalam menghambat pertumbuhan *B. cereus* adalah $48,3 \pm 4,57$ $\mu\text{g/mL}$.

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemaitan diduga terkait dengan kandungan alkaloid yang merupakan senyawa dominan dalam tumbuhan ini. Mekanisme antibakteri alkaloid adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Terdapat kandungan metabolit sekunder selain alkaloid yang diduga memiliki peran terhadap aktivitas antibakteri pada tumbuhan ini, yakni flavonoid dan terpenoid. Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk kompleks dengan dinding sel dan berikatan dengan adhesin, sedangkan terpenoid memiliki mekanisme antibakteri dengan merusak membran.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yesus atas segala berkat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penetapan Kadar Alkaloid Total dan Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dari Ekstrak Etanol Daun Kemaitan (*Lunasia amara* Blanco)” dengan baik. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Dalam penyusunan skripsi ini banyak tantangan yang telah dilalui oleh penulis, namun tantangan tersebut dapat terlewati dan hal tersebut merupakan pembelajaran yang sangat berharga bagi penulis. Semua ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibu Lesty Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm., Apt. dosen selaku pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, perhatian, dan dengan sabar membimbing penulis untuk menyelesaikan penelitian ini;
3. Ibu Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt. dan Bapak Viddy Agustian R, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku dosen penguji yang banyak memberikan saran bermanfaat dalam penulisan skripsi ini;
4. Ibu Budipratiwi W., S.Farm., M.Sc., Apt. dan Ibu Fransisca Maria C, S.Farm., M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing penulis selama penulis menjadi mahasiswa;
5. Segenap Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu dan berbagai pengalaman; staff dan karyawan atas segala bantuan yang diberikan selama penulis menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi;

6. Ibu Wayan, Mbak Hani, Ibu Widi, Mbak Parka, Mbak Dini, dan Mbak Indri selaku teknisi Laboratorium Farmasi Universitas Jember yang telah membantu penulis selama penelitian;
7. Orang tua tercinta Adolf Prijatmo Kadarmono dan Yulana Murwiyanti yang selalu membimbing, mendoakan, dan memberikan motivasi dalam penyelesaian penelitian ini;
8. Sahabat terbaikku Nadya Anggi Anggraini dan Eunike Apriliano yang senantiasa mendampingi, memberikan saran, dan saling mendoakan;
9. Julius Ruben Triwicaksana yang tidak pernah putus untuk saling mendoakan dan mendukung penulis;
10. Rekan-rekan tim Proyek Fakultas “TNMB” (Wahyu, Riza, Niken, dan Siti) yang selalu saling memotivasi, saling mendoakan, dan saling bekerja sama demi terselesaikannya penelitian ini;
11. Tiara Berlianti dan Nina Amalia yang senantiasa memberikan motivasi;
12. Renova, Edwin, Sugi, Fara, Ayunda, dan teman-teman Farmasetamol Fakultas Farmasi yang senantiasa membantu dan mendukung penulis;
13. Rekan-rekan Pring Kuning, UKMKK Filadelfia, dan KKN 045 ;
14. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Hanya doa yang dapat penulis panjatkan semoga kebaikan dan dukungan yang diberikan kepada penulis mendapat balasan Tuhan Yang Maha Esa. Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 21 Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR PERSAMAAN	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan Infeksi	5
2.2 Tinjauan Tumbuhan Kemaitan	6
2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan Kemaitan.....	6
2.2.2 Morfologi Tumbuhan Kemaitan.....	6
2.2.3 Khasiat dan Kandungan Kimia.....	7

2.3 Tinjauan <i>B. cereus</i>	8
2.3.1 Sistem Klasifikasi <i>B. cereus</i>	8
2.3.2 Karakteristik <i>B. cereus</i>	9
2.3.3 Patogenesis <i>B. cereus</i>	10
2.4 Alkaloid	11
2.5 Penetapan Kadar Alkaloid Total	12
2.6 Uji Aktivitas Antibakteri	13
2.8.1 Metode Difusi (Sumuran).....	13
2.8.2 Metode Mikrodilusi	14
2.7 Tinjauan Antibakteri	15
2.9.1 Definisi dan Mekanisme Kerja Antibakteri.....	15
2.9.2 Gentamisin.....	16
BAB 3. METODE PENELITIAN	18
3.1 Jenis Penelitian	18
3.2 Rancangan Penelitian	18
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	18
3.4 Alat dan Bahan	18
3.5 Variabel Penelitian	20
3.5.1 Variabel Bebas	20
3.5.2 Variabel Terikat.....	21
3.5.3 Variabel Terkendali	21
3.6 Definisi Operasional	21
3.7 Prosedur Penelitian	22
3.7.1 Determinasi Tumbuhan Kemaitan.....	22
3.7.2 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun Kemaitan.....	22
3.7.3 Ekstraksi Maserasi.....	22
3.7.4 Penetapan Kadar Alkaloid Total	23
3.7.5 Uji Aktivitas Antibakteri	24

3.8 Analisis Data.....	29
3.9 Skema Penelitian.....	30
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1. Determinasi Daun Kemaitan	31
4.2. Ekstraksi Daun Kemaitan.....	31
4.3. Penetapan Kadar Alkaloid Total.....	31
4.3.1. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum.....	32
4.3.2. Penentuan Kadar Alkaloid Total	33
4.4. Uji Aktivitas Antibakteri.....	34
4.4.1. Metode Difusi Sumuran	34
4.4.2. Metode Mikrodilusi.....	36
BAB 5. PENUTUP	38
5.1. Kesimpulan.....	38
5.2. Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	45

DAFTAR GAMBAR

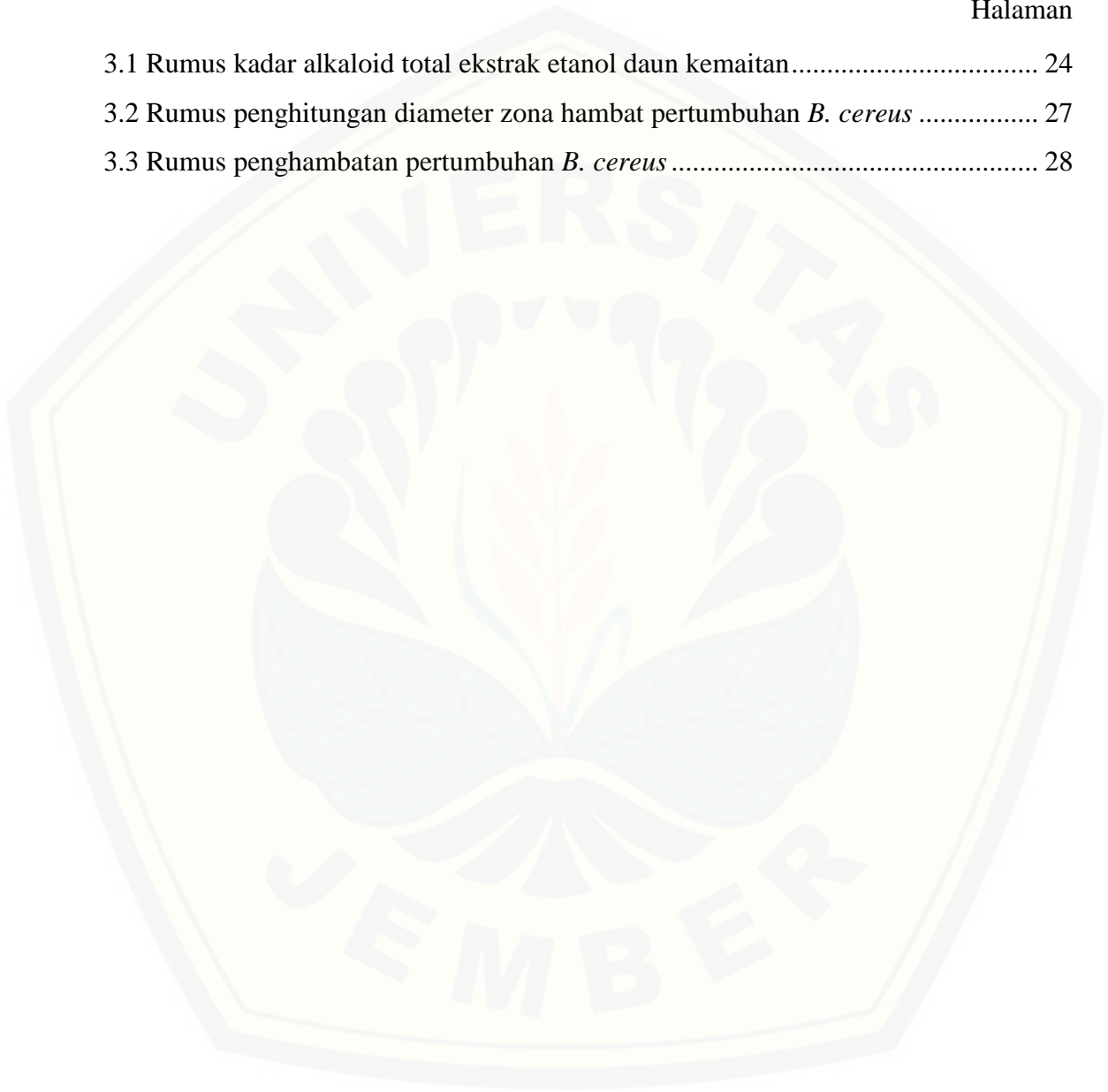
	Halaman
2. 1 Morfologi kemaitan.....	7
2.2 Morfologi <i>B. cereus</i>	9
2.3 Gambaran metode difusi sumuran	14
2. 4 Struktur kimia gentamisin	16
3. 1 Skema rancangan penelitian pengujian aktivitas antibakteri	19
3.2 Diagram pengukuran diameter zona hambat.....	27
3. 3 Desain <i>microplate 96-well</i>	29
3. 4 Skema penelitian	30
4. 1 Spektra standar berberin dan sampel.....	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kondisi pertumbuhan optimum <i>B. cereus</i>	10
2.2 Keracunan akibat <i>B. cereus</i>	11
2.3 Klasifikasi kekuatan antibakteri berdasar diameter zona hambat	14
4.1 Hasil penetapan kadar alkaloid total ekstrak etanol daun kemaitan	33
4.2 Nilai diameter zona hambat	35
4.3 Tabel IC ₅₀ ekstrak etanol daun kemaitan.....	36

DAFTAR PERSAMAAN

	Halaman
3.1 Rumus kadar alkaloid total ekstrak etanol daun kemaitan.....	24
3.2 Rumus penghitungan diameter zona hambat pertumbuhan <i>B. cereus</i>	27
3.3 Rumus penghambatan pertumbuhan <i>B. cereus</i>	28



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Hasil Determinasi Tumbuhan.....	45
B. Gambar Ekstrak Etanol Daun Kemaitan	46
C. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Kemaitan.....	46
D. Perhitungan Bahan Penetapan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Etanol Daun Kemaitan	46
E. Data Optimasi Panjang Gelombang Maksimum	48
F. Spektra Optimasi Panjang Gelombang Maksimum	52
G. Hasil Analisis <i>t-test</i> Panjang Gelombang Ekstrak Etanol Daun Kemaitan	54
H. Perhitungan Larutan Standar Berberin	55
I. Data Absorbansi Penetapan Kadar Alkaloid Total.....	55
J. Perhitungan Kurva Kalibrasi Standar Berberin.....	56
K. Perhitungan Kadar Alkaloid Total	57
L. Perhitungan Pembuatan Konsentrasi Uji Difusi Sumuran	58
M. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Metode Difusi	60
N. Hasil Uji <i>One Way</i> ANOVA dan LSD	61
O. Serial Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kemaitan untuk Uji Mikrodilusi.....	62
P. Serial Konsentrasi Gentamisin untuk Uji Mikrodilusi	63
Q. Data Absorbansi dan Penghambatan Pertumbuhan <i>B. cereus</i>	65
R. Analisis Probit Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemaitan	69
S. Analisis Probit Aktivitas Antibakteri Gentamisin.....	75

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen, seperti bakteri, virus, parasit atau jamur (WHO, 2016a). Kasus infeksi masih menjadi masalah kesehatan yang paling serius di dunia bahkan ketika penyakit degeneratif kronis mulai mendominasi di negara maju (Barreto dkk., 2006). Infeksi masih menempati urutan atas penyebab penyakit dan kematian di negara berkembang termasuk Indonesia. Penyakit infeksi mendominasi sepuluh besar penyakit pasien rawat inap di rumah sakit, dengan diare dan gastroenteritis oleh penyebab infeksi tertentu (kolitis infeksi) menduduki peringkat pertama dengan 96.278 kasus dan angka kematian sebesar 1,92%. Pada tahun 2015, terjadi peningkatan angka kematian akibat diare menjadi 2,47% (Kemenkes RI, 2016).

Berdasarkan WHO (2000), *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacilus cereus* merupakan patogen yang sering dijumpai di negara berkembang. Ketiga bakteri tersebut dapat menyebabkan infeksi keracunan makanan dengan insidensi kasus yang sangat tinggi (WHO, 2000). Sebelumnya telah dilakukan penelitian aktivitas antibakteri tumbuhan kemaitan terhadap *E. coli* dan *S. aureus*, sehingga *B. cereus* dipilih sebagai bakteri uji pada penelitian ini. *B. cereus* merupakan bakteri pembentuk endospora yang tahan terhadap kondisi ekstrim. *B. cereus* terdistribusi luas di lingkungan dan ditemukan di dalam tanah, batuan, debu, air, dan tumbuhan (Granum, 1994). Keracunan makanan karena bakteri *B. cereus* dapat menyebabkan dua jenis penyakit, yakni diare dan emetik (mual muntah). Di samping dapat menyebabkan keracunan makanan, *B. cereus* merupakan patogen yang menyebabkan infeksi okular dan sepsis kateter intravena (Murray dkk., 1998).

Pilihan utama dalam tata laksana terapi infeksi yang disebabkan oleh bakteri adalah pemberian antibiotik (Kurniawati dkk., 2015). Antibiotik ialah semua substansi yang diketahui memiliki kemampuan untuk menghalangi pertumbuhan

mikroorganisme (Pratiwi, 2008). Penggunaan antibiotika yang bijak dan rasional dapat mengurangi beban penyakit, khususnya penyakit infeksi. Sebaliknya, penggunaan antibiotik yang tidak sesuai indikasi secara luas pada manusia dan hewan dapat mengakibatkan meningkatnya resistensi antibiotika secara signifikan (Kemenkes RI, 2015).

Resistensi antibiotik terjadi ketika mikroorganisme mengalami perubahan karena paparan antibiotik. Akibatnya, antibiotik menjadi tidak efektif dan infeksi tetap di dalam tubuh, sehingga meningkatkan risiko penyebaran infeksi, meningkatkan mortalitas, dan meningkatkan biaya pengobatan (WHO, 2016b). Berdasarkan hal tersebut, diperlukan alternatif pengobatan dalam mengobati infeksi bakteri, salah satunya dengan memanfaatkan bahan-bahan aktif antibakteri dari tumbuhan obat (Adila dkk., 2013).

Ketersediaan tumbuhan obat di Jember sangat melimpah. Salah satu lokasi yang memiliki potensi tinggi dalam hal ketersediaan tumbuhan obat adalah Taman Nasional Meru Betiri (TNMB). TNMB memiliki daftar rekomendasi tumbuhan prioritas untuk dikembangkan, salah satunya adalah kemaitan (Departemen Kehutanan dan IPB, 2000). Kemaitan merupakan tumbuhan yang termasuk dalam famili Rutaceae. Kemaitan memiliki efek terapi dalam pengobatan sakit perut dan diare (Macabeo dan Aguinaldo, 2008). Oleh masyarakat sekitar TNMB, kemaitan digunakan untuk obat gosok bagian tubuh yang bengkak dan obat sakit perut (Darmadja dkk., 2012). Di Sulawesi Selatan, kemaitan digunakan sebagai antibakteri dalam pengobatan tungkai bengkak, penyakit kulit, dan iritasi mata (Subehan dkk., 2011).

Kandungan senyawa utama dalam kemaitan adalah alkaloid kuinolin dan seskuiterpen. Alkaloid kuinolin dalam kemaitan berperan dalam aktivitasnya sebagai antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* (Prescott dkk., 2007) dan *Mycobacterium tuberculosis* (Metallidis dkk., 2007). Penentuan kandungan alkaloid total dalam ekstrak kayu kemaitan menunjukkan bahwa dalam ekstrak metanol

mengandung $19,44 \pm 1,72\%$, dalam ekstrak n-heksana mengandung $8,55 \pm 1,08\%$, dan dalam ekstrak etil asetat mengandung $10,46 \pm 12,28\%$ (Zubair dkk., 2016).

Hasil penelusuran beberapa pustaka menunjukkan bahwa kemaitan merupakan salah satu tumbuhan obat Indonesia yang memiliki potensi besar sebagai antibakteri dan antidiare, namun belum dimanfaatkan secara optimal oleh masyarakat. Sebagian besar penelitian terhadap kemaitan masih berfokus pada bagian kayu dan kulit batang, sedangkan penelitian terhadap daun kemaitan masih jarang dilakukan. Selain kemudahan dalam pengambilan sampel dibandingkan bagian lain, daun memiliki ketersediaan yang banyak, cara pengolahannya lebih mudah, regenerasinya cepat, dan tidak serta merta menyebabkan kematian tumbuhan (Setyowati, 2010; Takoy dkk., 2013). Berdasarkan uraian di atas, daun kemaitan memiliki potensi sebagai antibakteri yang berasal dari bahan alam. Kandungan alkaloid dalam tumbuhan ini diduga berperan terhadap aktivitas antibakteri, maka akan dilakukan penetapan kadar alkaloid total ekstrak etanol daun kemaitan serta uji aktivitas antibakteri terhadap *B. cereus*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, permasalahan yang dapat dirumuskan dalam penelitian ini adalah:

1. Berapa kadar alkaloid total dalam ekstrak etanol daun kemaitan?
2. Apakah ekstrak etanol daun kemaitan memiliki aktivitas antimikroba terhadap *B. cereus*?
3. Berapa nilai *Inhibitory Concentration 50* (IC_{50}) ekstrak etanol daun kemaitan terhadap pertumbuhan *B. cereus*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui kadar alkaloid total dalam ekstrak etanol daun kemaitan.
2. Mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun kemaitan terhadap *B. cereus*.
3. Mengetahui nilai IC_{50} ekstrak etanol daun kemaitan terhadap pertumbuhan *B. cereus*.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi sumber antibakteri baru bagi perkembangan penelitian terutama dalam penemuan obat baru.
2. Dapat digunakan sebagai referensi apabila akan dikembangkan suatu sediaan antibakteri dari tumbuhan kemaitan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Infeksi

Infeksi terjadi ketika mikroorganisme menyebabkan gangguan kesehatan. Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen, seperti bakteri, virus, parasit, dan jamur. Infeksi dapat menyebar, baik langsung maupun tidak langsung dari satu orang ke orang lain (WHO, 2016a). Sumber penyebab infeksi diantaranya adalah manusia, cairan tubuh, udara, peralatan medis, makanan, air, dan lain sebagainya (Nelson dan Williams, 2014).

Proses infeksi terjadi melalui beberapa tahap, yakni transmisi, berikatan dengan inang, invasi untuk melewati mukosa atau membran sel, motilitas untuk mencari sumber makanan baru atau sebagai respons terhadap sinyal kemotaksis, dan penghindaran sistem imun untuk bertahan hidup dalam tubuh inang (Gillespie dan Bamford, 2012). Gangguan kesehatan akibat infeksi disebabkan oleh toksin yang dihasilkan mikroorganisme patogen. Terdapat dua jenis toksin yang dihasilkan, yakni endotoksin dan eksotoksin. Endotoksin merangsang makrofag untuk memproduksi sitokin seperti interleukin-1 (IL-1) dan *tumor necrosis factor* (TNF) yang menyebabkan demam dan syok. Eksotoksin bakteri biasanya berupa protein, memiliki struktur subunit, dan dapat menyebabkan kerusakan lokal atau sistemik (Gillespie dan Bamford, 2012).

Penyakit infeksi umumnya meningkatkan jumlah neutrofil yang matang dan belum matang di sirkulasi darah. Mekanisme ini melibatkan demarginasi dan pelepasan granulosit *immature* (Tunkel, 2016). Peningkatan leukosit mengindikasikan adanya infeksi. Adanya infeksi harus memenuhi dua di antara kondisi berikut, yakni peningkatan suhu (demam), peningkatan leukosit (WBC), peningkatan RR (*Respiration Rate*), peningkatan nadi (Kemenkes RI, 2011). Tanda klinis pada infeksi di antaranya adalah sindrom respon inflamasi sistemik (muncul gejala hiper/hipotermia, takikardi, takipnea, leukositosis, dan leukopenia), sepsis,

sepsis dengan disfungsi akut sedikitnya satu sistem organ, dan syok sepsis (terjadi hipotensi hingga tingkat yang membahayakan) (Warrell dkk., 2012).

2.2 Tinjauan Tumbuhan Kemaitan

2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan Kemaitan

Klasifikasi tumbuhan kemaitan adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Filum : Tracheophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Sapindales

Famili : Rutaceae

Genus : Lunasia

Spesies : *Lunasia amara* Blanco

Sinonim : Sanrego, Maitan (Jawa), Dulinggahe (Sulawesi), Kayu karang (Papua)

(ITIS, 2016)

2.2.2 Morfologi Tumbuhan Kemaitan

Kemaitan tergolong dalam famili Rutaceae. Kemaitan merupakan pohon kecil yang tersebar luas di hutan tropis Filipina, Jawa Timur, Kalimantan, Sulawesi, Maluku, Papua New Guinea dan Australia. Kemaitan merupakan tumbuhan berupa perdu tegak setinggi 3 m. Ranting tumbuhan ini halus dan ujung yang masih muda berbentuk tanjung bewarna kuning langsung. Daun tersusun berseling, memanjang, berbentuk telur sungsang, memiliki panjang 20-40 cm dan lebar 7-12 cm (Macabeo & Aguinaldo, 2008). Bunga jantan dan bunga betina tertutup dengan sisik halus, berukuran kecil dengan diameter 3-6 mm, bewarna kuning, kebanyakan berada pada pangkal daun, dan masing-masing mempunyai panjang sekitar 1 cm atau lebih (Nadzrun dkk., 2006). Kelopak bunga jantan memiliki panjang 0,5 mm, sedangkan kelopak bunga betina memiliki panjang 1,5 mm. Benang sari yang subur memiliki panjang 1 mm (Macabeo dan Aguinaldo, 2008). Biji berbentuk bulat telur, memiliki

testa gelap atau coklat kemerahan, dan tipis. Buah kemaitan terdiri dari tiga kapsul kekuningan yang masing-masing memiliki panjang 1 cm atau lebih (Macabeo dan Aguinaldo, 2008). Morfologi tumbuhan kemaitan ditunjukkan oleh Gambar 2.1.



Gambar 2. 1 Morfologi kemaitan (Sumber: Macabeo dan Aguinaldo, 2008)

2.2.3 Khasiat dan Kandungan Kimia

Kemaitan merupakan obat tradisional yang populer digunakan di Indonesia, khususnya di Provinsi Sulawesi Selatan baik sebagai kayu kecil kering maupun dalam campuran dengan beberapa herbal yang disebut sebagai jamu untuk meningkatkan agresivitas seksual. Tumbuhan ini juga digunakan oleh masyarakat setempat sebagai antibakteri dalam pengobatan bengkak, penyakit kulit, dan iritasi mata (Subehan dkk., 2011). Oleh masyarakat sekitar Taman Nasional Meru Betiri, kemaitan digunakan untuk obat gosok bagian tubuh yang bengkak, afrodisiak, obat nyeri perut, penawar racun ular dan serangga, dan penyubur rambut (Darmadja dkk., 2012). Ramuan kulit batang kemaitan digunakan untuk mengatasi diare, nyeri, dan anti bisa ular di Filipina (Macabeo & Aguinaldo, 2008).

Menurut Goh dkk. (2008) kandungan dalam daun kemaitan adalah alkaloid, terpena, dan flavonoid. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa alkaloid kuinolin dan seskuiterpen merupakan senyawa utama dalam tumbuhan ini. Berdasarkan Cowan (1999) golongan senyawa alkaloid dan terpenoid dapat diekstraksi menggunakan pelarut etanol, selain itu etanol merupakan pelarut universal, sehingga

memungkinkan mengekstraksi hampir seluruh senyawa dalam daun kemaitan. Tumbuhan ini sebagian besar mengandung alkaloid jenis kuinolin seperti *lunamarine*, *lunacrine*, *hydroxylunacrine*, *lunacridine*, dan *hydroxylunacridine* (Macabeo & Aguinaldo, 2008). Dua jenis alkaloid akridon baru yaitu *5-hidroxygraveroline* dan *8-methoxyfflaiamine* juga dilaporkan terdapat dalam kemaitan (Subehan dkk., 2011). Penelitian terhadap ekstrak kayu kemaitan menunjukkan bahwa kandungan alkaloid total dalam ekstrak metanol adalah $19,44 \pm 1,72\%$, dalam ekstrak n-heksana adalah $08,55 \pm 1,08\%$ dan dalam ekstrak etil asetat adalah $10,46 \pm 12,28\%$ (Zubair dkk., 2016).

Kandungan alkaloid kuinolin dikaitkan dengan aktivitas biologis antimikroba dan sitotoksik tumbuhan ini. Ekstrak kulit batang dan isolat alkaloid kuinolin kemaitan dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* (Prescott dkk., 2007). Alkaloid kuinolin dari kemaitan dapat menghambat *M. tuberculosis* H37Rv (Metallidis dkk., 2007). Alkaloid kuinolin, *lunacridine*, dilaporkan sebagai penghambat DNA topoisomerase II. Mekanisme ini akan menyebabkan aktivitas antimikroba dan aktivitas sitotoksik berdasarkan penghambatan terhadap proliferasi sel (Prescott dkk., 2007).

2.3 Tinjauan *B. cereus*

2.3.1 Sistem Klasifikasi *B. cereus*

Klasifikasi bakteri *B. cereus* menurut Frankland (1887) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

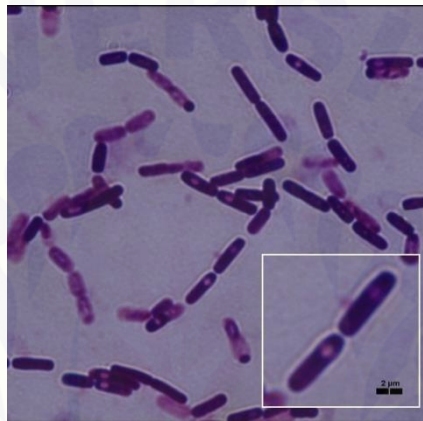
Famili : Bacillaceae

Genus : Bacillus

Spesies : *Bacillus cereus*

2.3.2 Karakteristik *B. cereus*

B. cereus merupakan patogen yang menyebabkan gastroenteritis, infeksi okular, dan sepsis kateter intravena (Murray dkk., 1998). *B. cereus* merupakan bakteri gram positif pembentuk spora yang bersifat aerobik fakultatif, berukuran besar (luas permukaan sel $> 0,9\mu\text{m}$) dan berbentuk batang (Hart dan Shears, 1996; Labbé dan García, 2001). Morfologi *B. cereus* ditunjukkan oleh Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Morfologi *B. cereus* (Sumber: Newman, 2015)

B. cereus tersebar luas di lingkungan dan dapat ditemukan di dalam tanah, sedimen, debu, air, dan tumbuhan (Granum, 1994). Karena distribusi yang luas dan spora yang resisten, *B. cereus* ditemukan pada berbagai jenis makanan (Labbé dan García, 2001). *B. cereus* sangat cepat menghasilkan spora dalam kondisi normal. Bentuk bakteri ini tidak memiliki aktivitas metabolik dan spora relatif tahan terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim seperti pemanasan, pembekuan, pengeringan, radiasi, keasaman, desinfektan, dan agen pembersih (Kotiranta dkk., 2000; Labbé dan García, 2001). Germinasi spora dan inisiasi pertumbuhan sporangial sangat tergantung pada kondisi lingkungan yang cocok (Kotiranta dkk., 2000). Kondisi yang diperlukan bagi pertumbuhan optimum *B. cereus* ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kondisi pertumbuhan optimum *B. cereus*

Parameter	Nilai data
pH minimal	4,3
pH maksimal	9,3
% maksimal NaCl	18
Suhu minimal	4°C (39,2°F)
Suhu maksimal	55°C (131°F)

(Sumber: Harianja, 2009)

2.3.3 Patogenesis *B. cereus*

B. cereus dapat menyebabkan keracunan makanan yang mengakibatkan diare dan emetik. Patogenisitas *B. cereus* pada infeksi gastrointestinal dan non-gastrointestinal dikaitkan dengan kemampuannya menghasilkan toksin. Patogenesis diare akibat *B. cereus* setidaknya melibatkan tiga toksin, yakni toksin nekrotik (enterotoksin tidak tahan panas), *cereolysin* (hemolisin poten), dan fosfolipase C (lecithinase poten) (Murray dkk., 1998).

Teridentifikasi empat enterotoksin yang dapat menyebabkan diare, yakni Hemolisis BL (HBL), enterotoksin nonhemolisis (NHE), enterotoksin T, dan sitotoksin K (Kotiranta dkk., 2000). Fosfolipase C berkontribusi terhadap kerusakan jaringan dengan menginduksi degranulasi neutrofil manusia (Wazny dkk., 1990; Ding dkk., 1995). *B. cereus* menghasilkan tiga jenis fosfolipase C, yakni *phosphatidylinositol hydrolase*, *phosphatidylcholine hydrolase* dan *hemolytic sphingomyelinase*. Spektrum luas fosfolipase C dari *B. cereus* dapat mempengaruhi proses penyembuhan dengan menghancurkan epitel jaringan yang terinfeksi dan meningkatkan degradasi matriks subepitel (Kotiranta dkk., 2000). Karakteristik penyakit akibat infeksi *B. cereus* ditunjukkan oleh Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Keracunan akibat *B. cereus*

	Tipe diare	Tipe emetik
Pangan yang tercemar	produk asal daging, sup, dan sayuran.	Nasi
Masa inkubasi	> 6 jam (rata-rata 9 jam)	<6 jam (rata-rata 2 jam)
Gejala	mual, nyeri perut seperti kram, dan diare berair	mual, muntah, dan nyeri perut
Durasi	20 – 36 jam (rata-rata 24 jam)	8 – 10 jam (rata-rata 9 jam)
Enterotoksin	tidak tahan panas	tahan panas

(Sumber: Murray dkk., 1998)

2.4 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa basa nitrogen yang dihasilkan oleh tumbuhan dan memiliki aksi fisiologis (Ebady, 2002). Alkaloid umumnya didefinisikan sebagai senyawa dasar fisiologis aktif yang berasal dari tumbuhan, di mana setidaknya terdapat satu atom nitrogen dalam struktur sikliknya, dan bersifat basa (alkali) (Kar, 1996).

Sifat fisika kimia alkaloid dipengaruhi oleh kompleksitas dan variasi struktur kimia. Alkaloid bebas cukup larut dalam pelarut organik seperti kloroform, pelarut yang relatif non-polar (heksana, benzena, eter minyak bumi), pelarut bercampur, dan alkohol rendah (metanol, etanol). Alkaloid bebas praktis tidak larut atau sangat sedikit larut dalam air. Menariknya, garam alkaloid hampir bebas larut dalam air, relatif kurang larut dalam alkohol, dan sebagian besar larut atau sedikit larut dalam pelarut organik (Kar, 1996).

Alkaloid merupakan kelompok produk alami yang memiliki dampak yang besar sepanjang sejarah dalam hal ekonomi, kesehatan, politik, dan sosial manusia. Alkaloid memiliki efek fisiologis yang kuat pada sistem mamalia serta organisme lain, akibatnya beberapa alkaloid merupakan agen terapeutik penting (Shamsa dkk., 2008). Alkaloid memiliki aktivitas biologis, sehingga dimanfaatkan sebagai obat-obatan, stimulan, narkotika, dan racun (John dkk., 2014), selain itu alkaloid juga dilaporkan memiliki efek mikrobiosidal dan efek anti-diare karena efek yang

ditimbulkan selama waktu transit di usus kecil dan kemampuan berinterkalasi dengan asam deoksiribonukleat (DNA) mikroba (Garba dan Okeniyi, 2012).

Alkaloid menunjukkan keberagaman dalam hal asal botani, biokimia, struktur kimia, dan aksi farmakologi. Hal tersebut mengakibatkan banyaknya sistem klasifikasi alkaloid (Evans, 2002). Alkaloid dibagi menjadi dua kategori utama yakni alkaloid non-heterosiklik dan alkaloid heterosiklik (Kar, 1996). Alkaloid nonheterosiklik terkadang disebut protoalkaloid atau amin biologis, sedangkan alkaloid heterosiklik dibagi menjadi 14 grup berdasarkan struktur cincinnya (Evans, 2002).

2.5 Penetapan Kadar Alkaloid Total

Beberapa metode dengan sensitivitas yang berbeda telah dikembangkan untuk penetapan kadar alkaloid dalam bahan tumbuhan, misalnya metode gravimetri, titrimetri, dan HPLC. Metode gravimetri dan titrimetri memiliki sensitivitas yang rendah. Metode gravimetri menghasilkan residu yang mengandung kotoran, ditunjukkan dengan hasil KLT yang menunjukkan lebih dari satu noda. Kelemahan metode titrimetri adalah *end-point* tertutup oleh warna ekstrak. Metode HPLC memiliki sensitivitas dan akurasi yang tinggi untuk penentuan satu atau lebih alkaloid individu, namun tidak berlaku untuk penetapan kadar alkaloid total dalam ekstrak karena terdapat berbagai jenis dan struktur alkaloid yang kompleks di dalamnya. Metode HPLC tidak dapat digunakan sebagai metode rutin untuk penentuan alkaloid total karena sangat mahal dan membutuhkan peralatan khusus (Shamsa dkk., 2008).

Penetapan kadar alkaloid total menggunakan metode spektrofotometri dengan *bromocresol green* (BCG) adalah metode yang sederhana, sensitif, stabil dan tidak membutuhkan peralatan yang sangat khusus. Metode tersebut memiliki keuntungan diantaranya adalah hemat waktu, dengan uji yang membutuhkan waktu rata-rata 1 jam (Shamsa dkk., 2008). Prinsip metode ini adalah pelarut organik tertentu dapat mengekstrak kompleks berwarna secara kuantitatif. Kompleks berwarna merupakan

kombinasi dari BCG dan ion garam yang terbentuk oleh reaksi antara alkaloid dan ion hidrogen pada pH asam. Kandungan senyawa lain yang dapat larut dalam kloroform dihilangkan dengan cara dilakukan pencucian sebanyak tiga kali menggunakan kloroform sebelum direaksikan dengan BCG dan fase air ditampung. Hal ini bertujuan agar senyawa tersebut tidak ikut larut dalam kloroform pada saat ekstraksi kompleks dengan kloroform, sehingga hanya alkaloid yang akan ada pada larutan akhir (Shamsa dkk., 2008).

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

2.8.1 Metode Difusi Sumuran

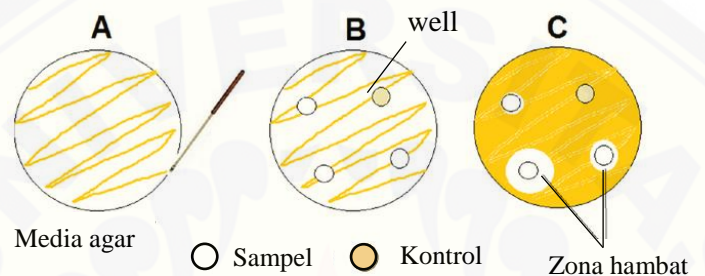
Teknik difusi agar telah banyak digunakan untuk uji aktivitas antimikroba ekstrak. Prinsip metode difusi sumuran adalah agen antimikroba akan berdifusi dalam media agar dan menghambat pertumbuhan strain mikroba uji. Metode difusi sumuran cocok untuk identifikasi awal tetapi tidak efektif untuk kuantifikasi bioaktivitas. Teknik difusi umumnya tidak dapat menunjukkan efek bakterisida, efek bakteriostatik, dan nilai MIC. Metode difusi biasanya digunakan untuk screening awal, dan hanya merupakan uji kualitatif terhadap aktivitas antibakteri (Ncube dkk., 2008).

Prosedur yang dilakukan dalam metode difusi sumuran adalah permukaan plat agar diinokulasi dengan mikroba. Lubang dengan diameter 6 sampai 8 mm pada agar dibuat secara aseptis dengan menggunakan *sterile cork borer*, lalu sejumlah volume agen antimikroba atau larutan ekstrak dengan konsentrasi tertentu dimasukkan ke dalam sumur. Plat agar diinkubasi dalam kondisi yang sesuai tergantung pada mikroorganisme uji. Gambaran metode difusi (sumuran) ditunjukkan oleh Gambar 2.3. Aktivitas antimikroba senyawa uji ditunjukkan oleh adanya zona hambat. Besarnya diameter hambat tersebut dapat menunjukkan kekuatan antibakteri. Klasifikasi kekuatan antibakteri menurut Rauha dkk., (2000) ditunjukkan oleh Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Klasifikasi kekuatan antibakteri berdasar diameter zona hambat

Diameter zona hambat (mm)	Klasifikasi
>10	kuat
4-10	baik
3-4	sedang
1-3	rendah
<1	tidak memiliki aktivitas

(Sumber: Rauha dkk., 2000)



Gambar 2.3 Gambaran metode difusi sumuran (dimodifikasi dari Paiva dkk., 2013)

2.8.2 Metode Mikrodilusi

Metode dilusi adalah metode yang paling tepat untuk tujuan kuantifikasi aktivitas antibakteri suatu ekstrak, karena memungkinkan untuk memperkirakan konsentrasi agen antimikroba dalam agar (dilusi agar) atau media kaldu (makrodilusi atau mikrodilusi). Nilai IC_{50} merujuk pada konsentrasi minimum yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan 50% strain (Balouiri dkk., 2016).

Mikrodilusi atau makrodilusi dengan menggunakan media kaldu adalah salah satu metode pengujian antimikroba yang paling dasar. Prosedur ini melibatkan pengenceran dua kali lipat agen antimikroba dalam media pertumbuhan cair dalam tabung dengan volume minimal 2 mL (makrodilusi) atau lebih kecil menggunakan *96-well microtitration plate* (mikrodilusi) (Balouiri dkk., 2016). Metode mikrodilusi memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan metode makrodilusi. Keuntungan metode mikrodilusi adalah membutuhkan peralatan dan reagen/ media dengan jumlah yang relatif sedikit, hemat dalam segi ekonomi, dan hanya membutuhkan sedikit ruang dalam pelaksanaannya (Balouiri dkk., 2016).

Pada metode mikrodilusi masing-masing sumur pada *96-well microtitration plate* diinokulasi dengan inokulum mikroba yang telah disiapkan di media yang sama. Pengenceran suspensi mikroba standar disesuaikan dengan skala 0,5 McFarland. Setelah pencampuran, *96-well microtitration plate* diinkubasi (kebanyakan tanpa agitasi) dalam kondisi yang sesuai tergantung pada mikroorganisme uji.

Standar McFarland digunakan untuk standarisasi perkiraan jumlah bakteri dalam suspensi cair dengan membandingkan kekeruhannya dengan suspensi bakteri uji. Standar McFarland adalah campuran antara barium klorida dan asam sulfat, reaksi antara keduanya akan menghasilkan endapan halus barium sulfat. Kekeruhan Standar McFarland ketika dikocok secara visual sebanding dengan suspensi bakteri pada konsentrasi yang diketahui. Standar McFarland berada dalam bentuk skala yang bernomor dari 0,5 sampai 10 yang menjelaskan konsentrasi spesifik dari bakteri per mL. Standar yang paling umum digunakan di laboratorium mikrobiologi klinik untuk pengujian antimikroba dan pengujian kinerja media kultur adalah Standar McFarland 0,5 (DALYNN Biological, 2014).

Pertumbuhan bakteri diketahui dengan mengukur selisih absorbansi bakteri dengan absorbansi kontrol. Jumlah sel bakteri dapat diukur dengan cara mengetahui kekeruhan (turbiditas) larutan uji. Semakin keruh suatu kultur, semakin banyak jumlah selnya. Cahaya yang dipancarkan pada spektrofotometer akan mengenai sel sehingga sebagian cahaya akan diserap dan sebagian diteruskan. Banyaknya cahaya yang diabsorpsi sebanding dengan banyaknya sel bakteri (Purwoko, 2009).

2.7 Tinjauan Antibakteri

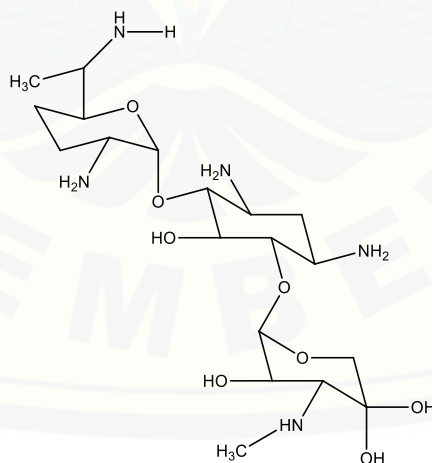
2.9.1 Definisi dan Mekanisme Kerja Antibakteri

Antimikroba merupakan obat yang digunakan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroba, terutama mikroba yang merugikan manusia. Bahan antibakteri diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri, sehingga bahan tersebut dapat menghambat pertumbuhan atau

bahkan membunuh bakteri. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi dua macam, yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks dkk., 2005). Cara kerja bahan antibakteri antara lain dengan merusak dinding sel, mengubah permeabilitas sel, mengubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim, serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Pelczar dan Chan, 1998; Setiabudy, 2007; Pratiwi, 2008)

2.9.2 Gentamisin

Gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida (Murray dkk., 2002). Gentamisin merupakan kompleks antibiotik yang dihasilkan dari fermentasi *Micromonospora purpurea* dan *M. echinospora*. Gentamisin berupa bubuk amorf putih yang memiliki titik lebur 102-108 °C. Gentamisin larut dalam air, piridin, DMF (dimetilformamida); sedikit larut dalam metanol, etanol, aseton; dan hampir tidak larut dalam benzena dan hidrokarbon terhalogenasi (Kar, 1996). Struktur kimia gentamisin ditunjukkan oleh Gambar 2.4.



Gambar 2. 4 Struktur kimia gentamisin (Sumber: Kar, 1996)

Gentamisin merupakan antibiotik yang bekerja dengan aktivitas bakterisidal (Finch dkk., 2010). Mekanisme kerja antibiotik gentamisin sama seperti mekanisme kerja antibiotik golongan aminoglikosida lainnya yaitu dengan menghambat sintesis protein bakteri. Antibiotik golongan aminoglikosida terikat pada sub unit 30S ribosom yang akan mengakibatkan kode genetika pada mRNA tidak terbaca dengan baik sehingga tidak terbentuk sub unit 70S, akibatnya biosintesis protein bakteri dikacaukan (Tjay dan Rahardja, 2007).

Gentamisin menunjukkan aktivitas antibakteri spektrum luas. Gentamisin merupakan antibiotik pilihan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram-negatif aerobik, selain beberapa strain *Staphylococcus*. Gentamisin efektif terhadap *Pseudomonas*, *Proteus*, dan *Staphylococcus* yang resisten terhadap penisilin dan metisilin. Gentamisin juga sangat efektif pada pasien dengan luka bakar parah yaitu, luka bakar tingkat tiga, dan infeksi saluran kemih parah yang disebabkan oleh *Pseudomonas* (Kar, 1996). Menurut Gigantelli dkk., (1991), gentamisin efektif terhadap *B. cereus* sebagai agen tunggal, serta memiliki efek sebagai bakterisidal dan bakteriostatik.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penetapan kadar alkaloid total dan uji aktivitas antimikroba terhadap *B. cereus* dari ekstrak etanol daun kemaitan ini merupakan penelitian *true experimental laboratories*.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah *the post test control only group design*. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemaitan dilakukan dengan metode difusi sumuran dan mikrodilusi. Rancangan penelitian pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemaitan ini terbagi atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Aktivitas antibakteri kelompok kontrol dan kelompok perlakuan untuk metode difusi sumuran ditunjukkan oleh diameter zona hambat yang terbentuk, sedangkan untuk metode mikrodilusi ditunjukkan oleh nilai IC_{50} . Rancangan penelitian pengujian aktivitas antibakteri ditunjukkan pada Gambar 3.1.

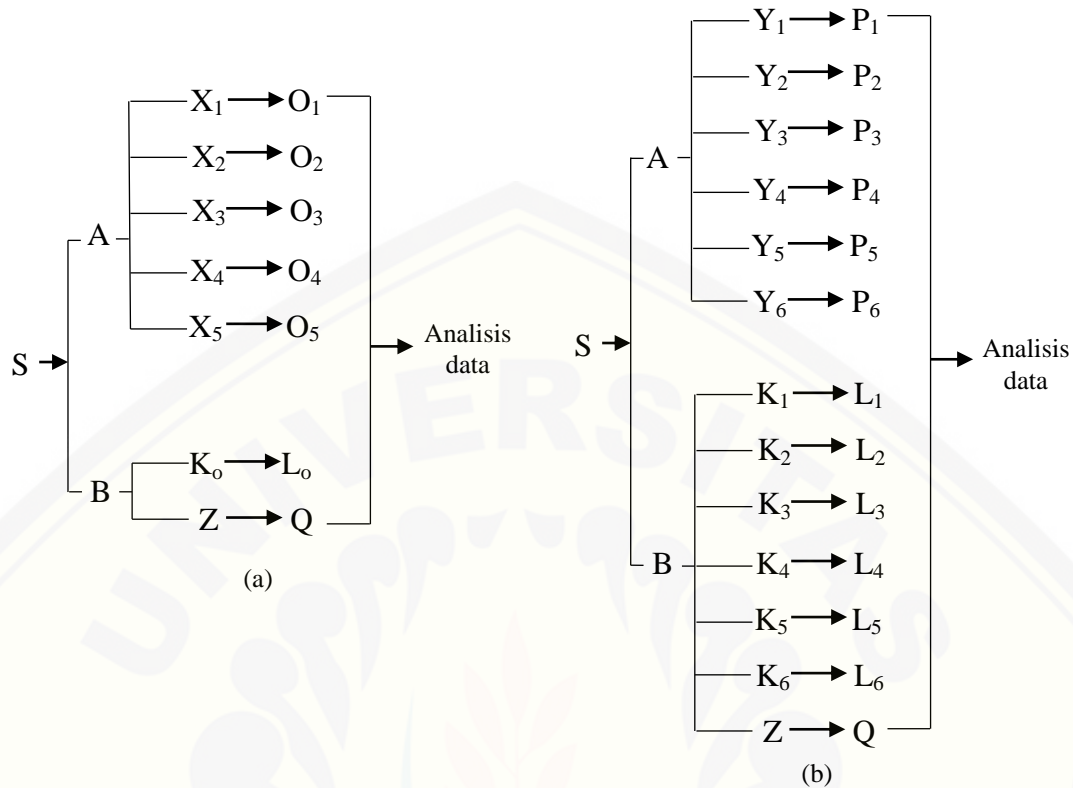
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

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

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah set alat gelas, jarum ose, inkubator (Clifton), pipet tetes, penggiling, autoklaf (ALP), pipet mikro (Socorex), pinset, pembakar spiritus, *microplate flat bottom 96 wells* (SPL), *microplate reader*



(a) metode difusi (sumuran); (b) metode mikrodilusi

Gambar 3. 1 Skema rancangan penelitian pengujian aktivitas antibakteri

Keterangan

S = sampel

A = kelompok perlakuan

B = kelompok kontrol

X₁₋₅ = perlakuan dengan ekstrak etanol daun kemaitan berturut-turut konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5%

Y₁₋₆ = perlakuan dengan ekstrak etanol daun kemaitan berturut-turut konsentrasi 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; dan 7,8125 µg/mL

K₀₋₆ = perlakuan kontrol positif dengan antibiotik gentamisin berturut-turut konsentrasi 50; 4; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125 µg/mL

Z = kontrol negatif

O₁₋₅ = data hasil perlakuan dengan ekstrak etanol daun kemaitan berturut-turut konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5%

P₁₋₆ = data hasil perlakuan dengan ekstrak etanol daun kemaitan berturut-turut konsentrasi 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; dan 7,8125 µg/mL

L₀₋₆ = data hasil perlakuan kontrol positif dengan antibiotik gentamisin berturut-turut konsentrasi 50; 4; 2; 1; 0,5; 0,25; dan 0,125 µg/mL

Q = data hasil kontrol negatif

(Dia-Lab), *hot plate stirrer* (Thermo Cimarex), tip kuning, tip biru, *swab*, *wrap plastic*, spatula logam, batang pengaduk, timbangan analitik (Ohaus), *rotavapour* (Steroglass Strike 300), *laminar air flow* (Airtech), oven (memmert), corong buchner, lemari asam (FH 120G *Standart*), desikator, vortex (Maxi Mix-II), spektrofotometer (Hitachi U-1800), *ultrasonic cleaner* (Elmasonic E 30 H), dan kertas kayu.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kemaitan yang dikeringkan sehingga menjadi simplisia. Bahan kimia yang digunakan untuk penetapan kadar alkaloid total diantaranya adalah etanol 96%, *bromocresol green* (Sigma-Aldrich), NaOH 2 N, akuades, Na₂HPO₄ 0,2 M, asam sitrat 0,2 M, standar berberin klorida (Sigma-Aldrich), metanol, asam klorida (Emsure) dan kloroform (Emsure).

. Bahan kimia yang digunakan untuk uji antibakteri diantaranya adalah akuades steril (Otsuka), NaCl fisiologis (Widatra), DMSO (Dimetil sulfoksida) (Emsure), standar McFarland 0,5. Bakteri uji yang digunakan adalah *Bacillus cereus* ATCC 11778. Media bakteri yang digunakan untuk peremajaan biakan murni adalah *Nutrient Agar* (Merck). Media bakteri yang digunakan pada metode difusi (sumuran) adalah *Mueller Hinton Agar* (MHA) (HiMedia). Media bakteri yang digunakan pada metode mikrodilusi adalah *Trypticase Soy Broth* (TSB) (Merck). Zat pembanding antibakteri yang digunakan sebagai kontrol positif pada percobaan ini adalah injeksi gentamisin 40 mg/mL (Indofarma).

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian uji aktivitas antibakteri metode difusi (sumuran) adalah konsentrasi ekstrak etanol daun kemaitan sebesar 5, 4, 3, 2, dan 1%. Variabel bebas pada penelitian uji aktivitas antibakteri metode mikrodilusi adalah

konsentrasi ekstrak etanol daun kemaitan sebesar 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; dan 7,8125 µg/mL.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat penetapan kadar alkaloid total adalah BE (*Berberine Equivalen*). Variabel terikat pada penelitian uji antibakteri metode difusi sumuran adalah nilai diameter zona hambat ekstrak etanol daun kemaitan terhadap *B. cereus* pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) setelah inkubasi selama 18-24 jam dalam satuan mm (milimeter), sedangkan variabel terikat untuk uji antibakteri menggunakan metode mikrodilusi adalah nilai IC_{50} ekstrak etanol daun kemaitan terhadap *B. cereus* pada media *Trypticase Soy Broth* (TSB) setelah inkubasi selama 18-24 jam.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah daun kemaitan diekstraksi menggunakan metode ekstraksi maserasi (remaserasi), media *Nutrient Agar Slant* (NAS) untuk peremajaan bakteri, media *Mueller Hinton Agar* (MHA) untuk uji antibakteri difusi (sumuran), media *Trypticase Soy Broth* (TSB) untuk uji antibakteri mikrodilusi, waktu inkubasi, cara penetapan kadar alkaloid total, dan pengukuran untuk uji antibakteri.

3.6 Definisi Operasional

Berikut definisi operasional dari penelitian ini adalah:

- a. Kemaitan pada penelitian ini adalah bagian daun segar yang dikumpulkan secara acak dari tumbuhan kemaitan yang sudah berbunga penuh dengan tinggi pohon minimal 3 m. Daun kemaitan yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Taman Nasional Meru Betiri (TNMB).
- b. Bakteri yang digunakan sebagai bakteri uji adalah *Bacillus cereus* ATCC 11778.

- c. Penetapan kadar alkaloid total dalam ekstrak etanol daun kemaitan dilakukan menggunakan metode spektrofotometri dengan *bromocresol green* (BCG) dan dinyatakan dalam BE (*Berberine Equivalen*).

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Determinasi Tumbuhan Kemaitan

Semua bagian tumbuhan kemaitan dideterminasi di LIPI Kebun Raya Purwodadi untuk memastikan bahwa tumbuhan yang diuji merupakan spesies *Lunasia amara* Blanco.

3.7.2 Pembuatan Simplisia dan Serbuk Daun Kemaitan

Daun kemaitan dikumpulkan dan diangin-anginkan selama satu hari, kemudian dirajang dengan menggunakan pisau, kemudian dilakukan pencucian menggunakan air, selanjutnya dilakukan proses sortasi basah. Daun kemaitan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan tidak dipanaskan di bawah sinar matahari. Setelah kering, dilakukan sortasi kering untuk memisahkan pengotor dan bagian yang tidak diinginkan, sehingga dihasilkan simplisia daun kemaitan. Simplisia daun kemaitan selanjutnya diserbuk menggunakan alat penggilingan.

3.7.3 Ekstraksi Maserasi

Serbuk simplisia daun kemaitan ditimbang sejumlah 500 gram, lalu dimasukkan ke dalam maserator, kemudian ditambahkan 2 liter pelarut etanol 96%. Serbuk daun kemaitan direndam dalam pelarut etanol selama 5 hari dengan pengadukan setiap 24 jam kemudian disaring menggunakan corong *buchner*. Filtrat yang didapatkan dipekatkan dengan menggunakan *rotavapour* pada suhu 50°C dengan kecepatan 50 rpm. Pelarut etanol hasil *rotavapour* digunakan kembali untuk remaserasi selama 5 hari dengan pengadukan setiap 24 jam kemudian disaring menggunakan corong *buchner*. Filtrat yang didapatkan dipekatkan dengan menggunakan *rotavapour* pada suhu 50°C dengan kecepatan 50 rpm. Ekstrak kental

yang diperoleh diambil dan dituang ke dalam vial. Ekstrak kental dalam vial dioven pada suhu 40°C hingga tidak dapat dituang. Rendemen Ekstrak etanol daun kemaitan yang didapatkan dihitung dan disimpan dalam desikator.

3.7.4 Penetapan Kadar Alkaloid Total

a. Pembuatan larutan bromocresol green (BCG) 10^{-4} M

Larutan *bromocresol green* (BCG) dibuat dengan mencampur 69,8 mg *bromocresol green* dengan 3 mL NaOH 2 N dan 5 mL akuades, kemudian dipanaskan pada suhu 50-60°C selama 15 menit hingga larut sempurna. Kemudian larutan campuran diencerkan dengan 1 liter akuades (Patel dkk., 2015).

b. Pembuatan dapar fosfat pH 4,7

Dapar fosfat pH 4,7 dibuat dengan mencampur natrium fosfat (Na_2HPO_4) 0,2 M dengan asam sitrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) 0,2 M hingga dihasilkan pH 4,7 (Patel dkk., 2015).

c. Preparasi larutan induk standar berberin klorida 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan induk standar berberin klorida 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dibuat dengan menimbang 1 mg berberin klorida kemudian dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 10 ml hingga tepat tanda (Patel dkk., 2015).

d. Optimasi panjang gelombang maksimum

Optimasi panjang gelombang maksimum dilakukan pada standar berberin 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dan larutan sampel yang telah dipreparasi dengan *bromocresol green* (BCG) 10^{-4} M. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200 nm – 800 nm.

e. Preparasi kurva kalibrasi lautan standar berberin

Diambil sejumlah 0,4; 0,6; 0,8; 1; 1,2; dan 1,4 ml larutan induk standar berberin klorida 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ kemudian masing-masing dimasukkan ke dalam corong pisah. Kemudian ditambahkan 5 mL dapar fosfat pH 4,7 dan 5 mL larutan *bromocresol green* (BCG) 10^{-4} M. Campuran dikocok dan kompleks yang terbentuk diekstraksi dengan 5 mL kloroform. Lapisan kloroform diambil kemudian dilarutkan dalam labu ukur 10 mL dengan kloroform hingga tepat tanda. Sehingga

menghasilkan konsentrasi 4, 6, 8, 10, 12, dan 14 $\mu\text{g/mL}$. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum. Blanko yaitu semua reagen tanpa larutan standar, kemudian diambil fase kloroformnya. Kurva kalibrasi dan persamaan regresi dibuat antara data absorbansi dan konsentrasi standar berberin ($\mu\text{g/mL}$) (Patel dkk., 2015).

f. Penetapan kadar alkaloid total

Larutan sampel dibuat dengan menimbang 50 mg ekstrak etanol daun kemaitan, dilarutkan dalam asam klorida (HCl) 2 N dan kemudian disaring. Selanjutnya dilakukan pencucian sebanyak tiga kali menggunakan kloroform, dimana fase air ditampung dan dilakukan penyesuaian pH larutan hingga mencapai pH netral dengan NaOH. Larutan uji diambil kemudian ditambahkan 5 mL dapar fosfat pH 4,7 dan 5 mL larutan *bromocresol green* (BCG) 10^{-4} M. Campuran dikocok dan kompleks yang terbentuk diekstraksi dengan 5 mL kloroform. Lapisan kloroform diambil kemudian dilarutkan dalam labu ukur 10 mL dengan kloroform hingga tepat tanda. Pembuatan larutan sampel dilakukan sebanyak 3 kali replikasi (Patel dkk., 2015). Blanko yaitu semua reagen tanpa larutan ekstrak, kemudian diambil fase kloroformnya. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum. Kadar alkaloid total ditentukan berdasarkan interpolasi absorbansi analit ke dalam persamaan regresi linear standar berberin sehingga didapatkan konsentrasi (x) dalam satuan $\mu\text{g/mL}$. Kadar alkaloid total dalam ekstrak etanol daun kemaitan dihitung dengan Persamaan 3.1.

$$\text{Kadar alkaloid total} = \frac{\text{bobot alkaloid } (\mu\text{g})}{\text{bobot ekstrak } (\mu\text{g})} \times 100\% \text{ b/b BE} \dots\dots\dots (3.1)$$

3.7.5 Uji Aktivitas Antibakteri

a. Sterilisasi alat dan bahan

Alat yang akan digunakan dalam uji aktivitas antibakteri disterilisasi dengan cara dicuci bersih, dikeringkan, dan dibungkus satu per satu dengan kertas kayu kemudian dilakukan proses sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C

dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Ose disterilkan dengan pemijaran. Alat yang tidak tahan panas disterilisasi dengan alkohol.

b. Penyiapan media

Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dilakukan dengan menimbang 1,71 gram *Mueller Hinton*, kemudian dilarutkan dalam 45 mL akuades. Dicampur dan dilarutkan dengan pemanasan dan pengadukan. Didihkan selama satu menit hingga larut sempurna. Media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Larutan media dituang ke dalam 3 cawan petri steril masing-masing dengan volume 15 ml, kemudian diamkan hingga memadat.

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

c. Pembuatan standar McFarland 0,5

BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 mL dicampur dengan 9,95 mL H₂SO₄ 1% sehingga setara dengan 1,5 x 10⁸ CFU (koloni/ml) (Pro-Lab Diagnostics, 2012). Kekeruhan standar McFarland diperiksa dengan menggunakan spektrofotometer. Standar McFarland 0,5 memiliki pembacaan absorbansi 0,08 sampai 0,1 pada 625 nm (DALYNN Biological, 2014).

d. Peremajaan biakan murni

Biakan murni bakteri diremajakan pada NAS (*Nutrient Agar Slant*) dalam tabung reaksi dengan cara mengambil *B. cereus* dengan jarum ose steril kemudian jarum ose digoreskan pada NAS. Proses tersebut dilakukan secara aseptis yaitu dengan mendekatkan mulut tabung reaksi pada nyala api saat menggoreskan jarum ose. Setelah itu media dalam tabung reaksi ditutup rapat dengan menggunakan kapas dan plastik *wrap* kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C.

e. Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri (*B. cereus*) dari kultur peremajaan biakan murni diambil menggunakan ose steril kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL NaCl 0,9% steril secara aseptis dan divortex. Kekeruhan suspensi bakteri dibandingkan dengan standar McFarland 0,5 dengan cara diperiksa menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm. Suspensi bakteri ini berfungsi sebagai biakan aktif.

f. Pembuatan kontrol negatif dan kontrol positif

1) Kontrol negatif

Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10% (Amalia dkk., 2014).

2) Kontrol positif

Kontrol positif yang digunakan adalah injeksi gentamisin dengan kandungan 40 mg/ml kemudian diencerkan hingga menjadi konsentrasi 50; 4; 2; 1; 0,5; 0,25; dan 0,125 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Konsentrasi kontrol positif injeksi gentamisin dibuat dengan memipet 10 μL injeksi gentamisin kemudian dilarutkan dalam akuades hingga 1 mL sehingga konsentrasinya menjadi 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$, selanjutnya dilakukan pengenceran sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan.

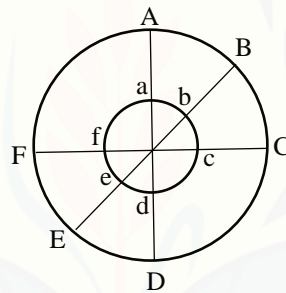
g. Pembuatan larutan uji

Uji aktivitas antibakteri metode difusi sumuran dilakukan menggunakan lima konsentrasi ekstrak etanol daun kemaitan yaitu 5, 4, 3, 2, dan 1%. Kelima konsentrasi tersebut berasal dari pengenceran larutan induk dengan konsentrasi 10%. Uji aktivitas antibakteri metode mikrodilusi dilakukan menggunakan seri konsentrasi ekstrak etanol daun kemaitan 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; dan 7,8125 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Seri konsentrasi tersebut berasal dari pengenceran larutan induk dengan konsentrasi 25.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Prosedur pembuatan larutan uji dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF).

h. Uji aktivitas antibakteri metode difusi sumuran

Mueller Hinton Agar steril sejumlah 15 mL dituang ke dalam cawan petri steril, setelah agar memadat, suspensi bakteri *B. cereus* diusap di permukaan agar.

Dibuat sumur dengan diameter 10 mm pada agar secara aseptis dengan menggunakan *sterile cork borer*, kemudian diberi perlakuan ekstrak etanol daun kemaitan, kontrol positif, dan kontrol negatif dengan volume masing-masing 40 μL ke dalam sumuran secara aseptis. Cawan petri diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi dilakukan pengukuran terhadap diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar masing-masing sumuran. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dengan paling sedikit tiga kali pengukuran pada sisi yang berbeda. Pengukuran diameter zona hambat yang memiliki bentuk tidak beraturan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat melalui titik pusat lubang sumuran dengan jumlah pengukuran yang mewakili bentuk zona hambat. Diagram pengukuran diameter zona hambat ditunjukkan oleh Gambar 3.2.



Lingkaran (abcdef) = lubang sumuran; Lingkaran (ABCDEF) = zona bening

Gambar 3.2 Diagram pengukuran diameter zona hambat

Diameter zona hambat dihitung sesuai dengan Persamaan 3.2.

$$\text{Diameter zona hambat} = \frac{(AD - ad) + (BE - be) + (CF - cf)}{3} \dots\dots\dots (3.2)$$

i. Uji aktivitas antibakteri metode mikrodilusi

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemaitan dinyatakan dalam nilai IC_{50} . Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode mikrodilusi. Suspensi mikroba uji sejumlah 50 μL , 50 μL media TSB dan 100 μL ekstrak etanol daun kemaitan dengan seri konsentrasi 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; dan 7,8125 $\mu\text{g/mL}$

dimasukkan ke dalam masing-masing sumur *microplate 96-well* sebanyak tiga kali replikasi.

Kontrol bakteri merupakan campuran 50 μL media TSB, 50 μL bakteri uji, dan 100 μL akuades. Campuran 100 μL larutan gentamisin masing-masing konsentrasi, 50 μL media TSB, dan 50 μL bakteri uji digunakan sebagai kontrol positif. Sebagai kontrol ekstrak, campuran 100 μL ekstrak etanol daun kemaitan masing-masing konsentrasi, 50 μL media tanpa bakteri, dan 50 μL NaCl 0,9% dimasukkan ke dalam sumuran. Campuran 100 μL larutan gentamisin setiap konsentrasi, 50 μL media tanpa bakteri, dan 50 μL NaCl 0,9% steril digunakan sebagai kontrol gentamisin. Campuran 50 μL media TSB tanpa bakteri, 50 μL NaCl 0,9% steril, dan 100 μL akuades digunakan sebagai kontrol media. Seluruh prosedur tersebut diatas dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) dalam kondisi aseptis. Pengamatan dilakukan setelah inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Densitas sel dihitung menggunakan instrumen *microplate reader* dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 595 nm. Nilai absorbansi yang didapatkan digunakan untuk menghitung penghambatan pertumbuhan *B. cereus*. Penghambatan pertumbuhan *B. cereus* dihitung berdasarkan Persamaan 3.3. IC₅₀ ditetapkan sebagai konsentrasi yang dapat menghambat 50% pertumbuhan mikroba uji. Desain *microplate* ditunjukkan oleh Gambar 3.2.

$$\text{penghambatan pertumbuhan } B. \text{ cereus} = \left(1 - \frac{(\text{Abs. R}-\text{Abs. S})}{(\text{Abs P}-\text{Abs. Q})}\right) \times 100\% \dots\dots\dots (3.3)$$

(dimodifikasi dari Quave dkk., 2008)

Keterangan

- Abs = absorbansi
- P = kontrol bakteri (media TSB + akuades + *B. cereus*)
- Q = kontrol media (media TSB + akuades + NaCl 0,9%)
- R = uji (media TSB + *B. cereus* + ekstrak etanol daun kemaitan/
gentamisin)
- S = kontrol ekstrak (media TSB + ekstrak/gentamisin + NaCl 0,9%)

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

Gambar 3. 3 Desain *microplate* 96-well

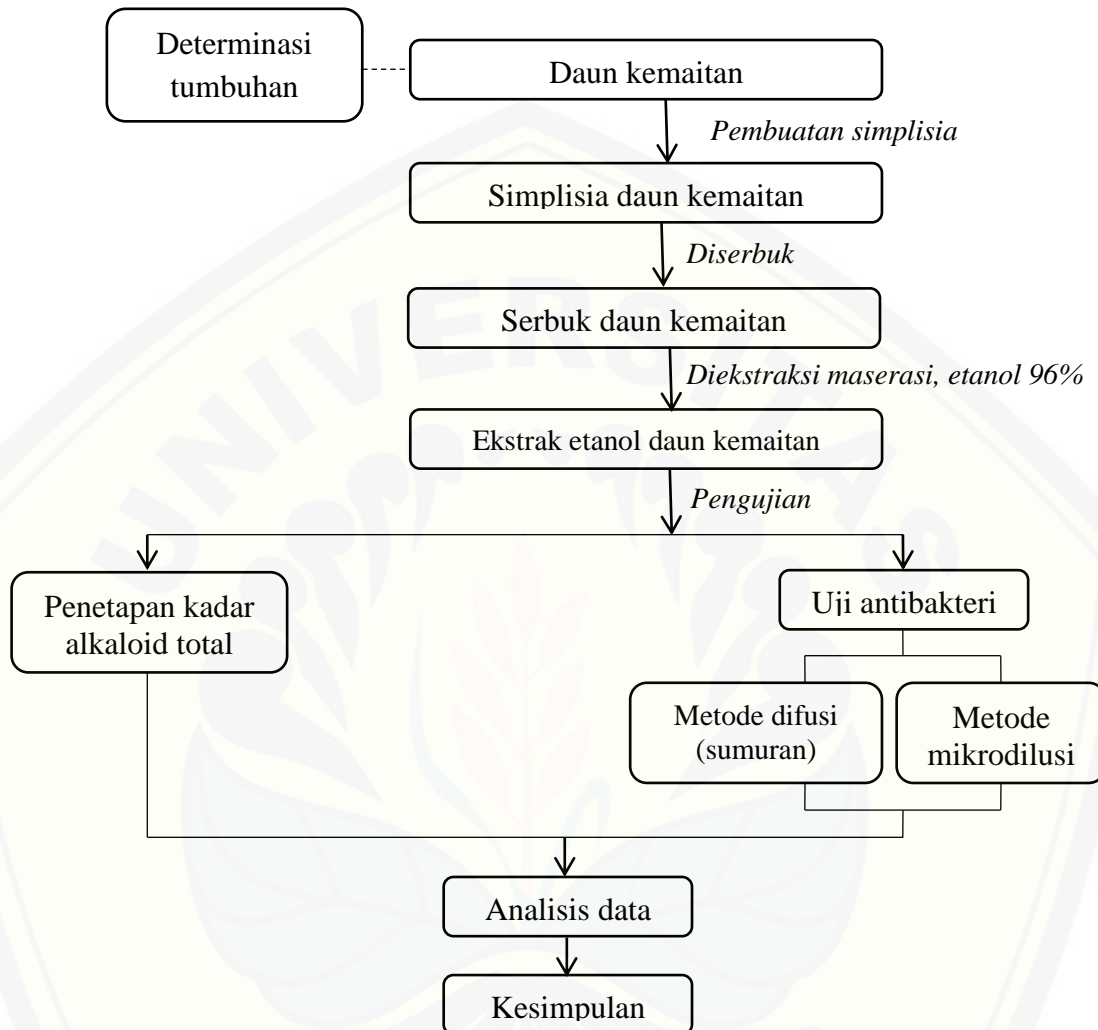
Keterangan :

- = media TSB + ekstrak etanol daun kemaitan + suspensi *B. cereus*
- = media TSB + ekstrak etanol daun kemaitan + NaCl 0,9% (kontrol ekstrak)
- = media TSB + gentamisin + suspensi *B. cereus* (kontrol positif)
- = media TSB + gentamisin + NaCl 0,9% steril
- = media TSB + akuades + suspensi *B. cereus* (kontrol bakteri)
- = media TSB + akuades + NaCl 0,9% steril (kontrol media)
- = Pengujian ekstrak lain

3.8 Analisis Data

Data hasil uji antibakteri metode difusi (sumuran) dianalisis dengan uji *one way* ANOVA untuk melihat adanya perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok perlakuan ekstrak etanol daun kemaitan, kemudian dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan bermakna (Sudjana, 2000). Hasil uji *one way* ANOVA dan LSD dikatakan signifikan jika $p < 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) (Dahlan, 2013). Nilai IC_{50} hasil uji mikrodilusi didapatkan dengan dianalisis menggunakan metode *Litchfield and Wilcoxon* (analisis probit).

3.9 Skema Penelitian



Gambar 3. 4 Skema penelitian

BAB 5. PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Kadar alkaloid total ekstrak etanol daun kemaitan adalah $0,230 \pm 0,001\%$ b/b BE.
2. Ekstrak etanol daun kemaitan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *B. cereus* yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pada metode difusi sumuran pada konsentrasi 2, 3, 4, dan 5% dengan kategori baik
3. Nilai IC_{50} ekstrak etanol daun kemaitan sebagai antibakteri terhadap *B. cereus* adalah $48,3 \pm 4,57 \mu\text{g/mL}$.

5.2. Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh adalah:

1. Perlu dilakukan penetapan kadar total golongan senyawa lain, seperti flavonoid.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memisahkan senyawa bioaktif yang spesifik memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *B. cereus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adila, R., Nurmiati, dan A. Agustien. 2013. Uji antimikroba *Curcuma spp.* terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 2(1):1–7.
- Amalia, S., Wahdaningsih, S. & Untari, E.K., 2014. Antibacterial activity testing of n-hexane fraction of red dragon (*Hylocereus polyrhizus* britton & rose) fruit peel on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Traditional Medical Journal*, 19, pp.89–95.
- 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.
- Barreto, M. L., M. G. Teixeira, dan E. H. Carmo. 2006. Infectious diseases epidemiology. *Journal of Epidemiology and Community Health*. 60(3):192–195.
- Brooks, G. F., J. S. Butel, dan L. N. Ornstorn. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika.
- Carson, C. F. dan T. V Riley. 1995. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*. 78:264–269.
- Cos, P., A. J. Vlietinck, D. Vanden Berghe, dan L. Maes. 2006. Anti-infective potential of natural products : how to develop a stronger in vitro “proof-of-concept”. *Journal of Ethnopharmacology*. 106:290–302.
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4):564–582.
- Dahlan, M. S. 2013. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Edisi 5. Jakarta: Salemba Medika.
- DALYNN Biological. 2014. *McFARLAND STANDARD*. Canada: DALYNN Biological.
- Darmadja, B., B. Indarto, N. R. Syarif, A. A. Ananda, dan D. A. Guntoro. 2012. *Keanekaragaman Hayati Flora dan Fauna di Taman Nasional Meru Betiri*. Jember: Balai Taman Nasional Meru Betiri.

- Darsana, I. G. O., I. N. K. Besung, dan H. Mahatma. 2012. Potensi daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro. *Indonesia Medicus Veterinus*. 1(3):337–351.
- Departemen Kehutanan dan IPB. 2000. *Inventarisasi, Identifikasi, dan Pemetaan Potensi Wanafarma*. Jawa Timur: Departemen Kehutanan dan Perkebunan.
- Ding, Y., V. J. Uitto, J. Firth, T. Salo, M. Haapasalo, Y. T. Konttinen, dan T. Sorsa. 1995. Modulation of host matrix metalloproteinases by bacterial virulence factors relevant in human periodontal diseases. *Oral Dis*. 1(4):279–286.
- Ebady, M. 2002. *Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine*. Washington D.C: CRC Press.
- Evans, W. C. 2002. *Pharmacognosy*. London: Saunders Elsevier.
- Finch, R. G., D. Greenwood, S. R. Norrby, dan R. J. Whitley. 2010. *Antibiotic and Chemotherapy: Anti-Infective Agents and Their Use In Therapy*. London: Saunders Elsevier.
- Frankland. 1887. *Bacillus Cereus*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=959821#null [Diakses pada 7 Januari 2017].
- Garba, S. dan S. O. Okeniyi. 2012. Antimicrobial activities of total alkaloids extracted from some nigerian medicinal plants. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*. 4(3):60–63.
- Gigantelli, J. W., J. T. Gomez, dan M. S. Osatol. 1991. In vitro susceptibilities of ocular *Bacillus cereus* isolates to clindamycin, gentamicin, and vancomycin alone or in combination. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 35(1):201–202.
- Gillespie, S. dan K. Bamford. 2012. *Microbiology and Infection at a Glance*. Edisi 4. United Kingdom: John Wiley & Sons, Ltd.
- Goh, S. H., K. H. Lee, C. H. Chuah, H. C. Ong, L. Madani, dan J. T. Pereira. 2008. A phytochemical study of borneo: selected plants from sabah lowland forests. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*. 5(1):37–41.
- Granum, P. E. 1994. *Bacillus cereus* and its toxins. *J. Appl. Bacteriol*. 76:61S–66S.
- Hadi, S. 1991. *Statistik dalam Basica*. Yogyakarta: ANDI OFFSET.
- Harianja, D. S. M. 2009. Kajian Tingkat Keamanan Susu UHT (Ultra High Temperatur) impor Terhadap Mikroba *Bacillus cereus*. *Tesis*. Bogor: Institute Pertanian Bogor.

- Hart, T. dan P. Shears. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran (Color Atlas of Medical Microbiology)*. Jakarta: Hipokrates.
- ITIS (Integrated Taxonomic Information System). 2016. *Lunasia amara Blanco*. <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2016/details/species/id/07d3fdc0bd12f1a974571a3945e6deb0> [Diakses pada 30 Desember 2016].
- 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):5–6.
- Kar, A. 1996. *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*. Edisi 2. New Delhi: New Age International (P) Ltd., Publishers.
- Kemenkes RI. 2011. *Pedoman Interpretasi Data Klinik*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kemenkes RI. 2015. Penggunaan Antibiotik Bijak dan Rasional Kurangi Beban Penyakit Infeksi. <http://www.depkes.go.id/article/view/15081100001/penggunaan-antibiotik-bijak-dan-rasional-kurangi-beban-penyakit-infeksi.html> [Diakses pada November 30, 2016].
- Kemenkes RI. 2016. *Profil Kesehatan Indonesia 2015*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kotiranta, A., K. Lounatmaa, dan M. Haapasalo. 2000. Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes and Infection*. 2(2):189–198.
- Kurniawati, A. F., P. Satyabakti, dan N. Arbianti. 2015. Perbedaan risiko multidrug resistance organism (MDRO) menurut faktor risiko dan kepatuhan hand hygien. *Jurnal Berkala Epidemiologi*. 3:277–289.
- Labbé, R. G. dan S. García. 2001. *Guide to Foodborne Pathogens*. USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Macabeo, A. P. dan A. M. Aguinaldo. 2008. Phcog rev.: plant review chemical and phytomedicinal investigations in *Lunasia amara*. *Pharmacognosy Reviews [Phcog Rev.]*. 2(4):317–325.
- Metallidis, S., J. Nikolaidis, G. Lazaraki, E. Koumentaki, V. Gogou, D. Topsis, dan P. Nikolaidis. 2007. Quinoline alkaloids from *Lunasia amara* inhibit *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv in vitro. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 29(6):742–744.
- Murray, P. R., K. S. Rosenthal, G. S. Kobayashi, dan M. A. Pfaller. 1998. *Medical Microbiology*. Edisi 3. USA: Mosby, Inc.

- Murray, P. R., K. S. Rosenthal, G. S. Kobayashi, dan M. A. Pfaller. 2002. *Medical Microbiology*. Edisi 4. USA: Mosby, Inc.
- Nadzrun, J., D. A. Nugroho, dan E. F. Afiyan. 2006. *Buku Tumbuhan Obat Taman Nasional Meru Betiri*. Jember: Balai Taman Nasional Meru Betiri.
- Ncube, N. S., A. J. Afolayan, dan A. I. Okoh. 2008. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African Journal of Biotechnology*. 7(12):1797–1806.
- Nelson, K. E. dan C. M. Williams. 2014. *Infectious Disease Epidemiology*. Burlington: Jones & Bartlett Learning.
- Newman, H. 2015. *Bacillus cereus* Gram Strain. <http://www.microbiologyinpictures.com/bacteria-micrographs/gram-stain/gram-positive/bacillus-cereus.html> [Diakses pada 7 Januari 2017].
- Paiva, P. M. G., E. V. Pontual, L. C. B. B. Coelho, dan T. H. Napoleão. 2013. Protease inhibitors from plants: biotechnological insights with emphasis on their effects on microbial pathogens. 641–649.
- 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.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Prescott, T. A. K., I. H. Sadler, R. Kiapranis, dan S. K. Maciver. 2007. Lunacridine from *Lunasia amara* is a DNA intercalating topoisomerase II inhibitor. *Journal of Ethnopharmacology*. 109(2):289–294.
- Pro-Lab Diagnostics. 2012. *Mcfarland Standards. Standard Operating Procedure*. USA: Pro-Lab Diagnostic.
- Purwoko, T. 2009. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Quave, C. L., L. R. W. Plano, T. Pantuso, dan B. C. Bennett. 2008. Effects of extracts from italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation, and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 118(3):418–428.
- Rais, I. R. 2014. Ekstraksi andrografolid dari *Andrographis paniculata* (Burm.f.) menggunakan ekstraktor soxhlet. *Pharmaciana*. 4:85–92.

- Rauha, J.-P., S. Remes, M. Heinonen, A. Hopia, M. Kahkonen, T. Kujala, K. Pihlaja, H. Vuorela, dan P. Vuorela. 2000. Antimicrobial effects of finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology*. 56:3–12.
- Setiabudy, R. 2007. *Farmakologi Dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: FK-Universitas Indonesia.
- Setyowati, F. M. 2010. Etnofarmakologi dan pemakaian tanaman obat suku dayak tunjung di Kalimantan Timur. *Media Litbang Kesehatan*. XX:104–112.
- Shamsa, F., H. Monsef, R. Ghamooshi, dan V.-R. Mohammadreza. 2008. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some iranian medicinal plants. *Thai J. Pharm. Sci*. 32(1):17–20.
- Subehan, N. Takahashi, S. Kadota, dan Y. Tezuka. 2011. Cytochrome p450 2d6 inhibitory constituents of *Lunasia amara*. *Phytochemistry Letters*. 4(1):30–33.
- Sudjana. 2000. *Metode Statistika*. Bandung: Tarsito.
- Takoy, D. M., R. Linda, dan I. Lovadi. 2013. Tumbuhan berkhasiat obat suku dayak seberuang di kawasan hutan desa ensabang kecamatan sepauk kabupaten sintang. *Jurnal Probiont*. 2(3):122–128.
- Tiwari, P., B. Kumar, M. Kaur, G. Kaur, dan H. Kaur. 2011. Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Phamaceutica Scientia*. 1(1):98–106.
- Tjay, T. H. dan K. Rahardja. 2007. *Obat-Obat Penting*. Edisi 6. Jakarta: PT Gramedia.
- Toy, T. S. S., B. S. Lampus, dan B. S. P. Hutagalung. 2015. Uji daya hambat ekstrak rumput laut *Gracilaria sp* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal E-GiGi*. 3:153–159.
- Tunkel, A. R. 2016. Manifestations of Infection. <http://www.merckmanuals.com/professional/infectious-diseases/biology-of-infectious-disease/manifestations-of-infection> [Diakses pada 12 Januari 2017].
- Vanderperren, H., N. Van Wouwe, S. Behets, I. Windal, I. Van Overmeire, dan A. Fontaine. 2004. Teq-value determinations of animal feed; emphasis on the calux bioassay validation. *Talanta*. 63:1277–1280.
- Warrell, D. A., T. M. Cox, dan J. D. Firth. 2012. *Oxford Textbook of Medicine : Infection*. United Kingdom: Oxford University Press.

- Wazny, T. K., N. Mummaw, dan B. Styr. 1990. Degranulation of human neutrophils after exposure to bacterial phospholipase c. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 9(11):830–832.
- WHO. 2000. *Penyakit Bawaan Makanan: Fokus Pendidikan Kesehatan*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran (EGC).
- WHO. 2016a. Infectious Diseases. http://www.who.int/topics/infectious_diseases/en/ [Diakses pada 30 November 2016].
- WHO. 2016b. Antimicrobial Resistance. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/> [Diakses pada 30 November 2016].
- Zubair, M. S., S. Anam, dan S. Lallo. 2016. Cytotoxic activity and phytochemical standardization of *Lunasia amara* Blanco wood extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 6(11):962–966.

LAMPIRAN

Lampiran A. Hasil Determinasi Tumbuhan



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: 0696/IPH.06/HM/V/2017

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

Nama : Carina Puspita Kadarwenny
NIM : 132210101073
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 : Sapindales
Family : Rutaceae
Genus : Lunasia
Species : *Lunasia amara* Blanco

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1965. Flora of Java Vol. II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 99
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVI

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 10 Juni 2017

An. Kepala

Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Deden Mudhara, S.Hut., M.Si.

Lampiran B. Gambar Ekstrak Etanol Daun Kemaitan**Lampiran C. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Kemaitan**

Bobot serbuk kering kemaitan	= 500 gram
Volume etanol yang digunakan	= 2000 mL
Ekstrak kental	= 15,64 gram
Rendemen yang diperoleh	= $\frac{15,64 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\%$
	= 3,125%

Lampiran D. Perhitungan Bahan Penetapan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Etanol Daun Kemaitan

1. *Bromocresol Green* (BCG) 10^{-4} M

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1}{V(L)}$$

$$10^{-4} \text{ mol/L} = \frac{m}{698,02 \text{ g/mol}} \times \frac{1}{1 \text{ L}}$$

$$m = 0,0698 \text{ g}$$

$$= 69,8 \text{ mg}$$

2. NaOH 2 N

$$N = \frac{m}{M_r} \times \frac{1}{V(L)} \times e$$

$$2 \text{ mol/l} = \frac{m}{40 \text{ g/mol}} \times \frac{1}{0,025 \text{ L}} \times 1$$

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

3. Natrium fosfat (Na_2HPO_4) 2 M

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1}{V(L)}$$

$$2 \text{ M} = \frac{m}{358,2 \text{ g/mol}} \times \frac{1}{1 \text{ L}}$$

$$m = 71,6 \text{ gram}$$

4. Asam Sitrat monohidrat 0,2 M

$$M = \frac{m}{M_r} \times \frac{1 \text{ LDMSO}}{V(L)}$$

$$0,2 \text{ M} = \frac{m}{210,14 \text{ g/mol}} \times \frac{1}{1 \text{ L}}$$

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

5. HCl 2 N

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12 \text{ N} \times V_1 = 2 \text{ N} \times 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{2 \text{ N} \times 50 \text{ ml}}{12 \text{ N}}$$

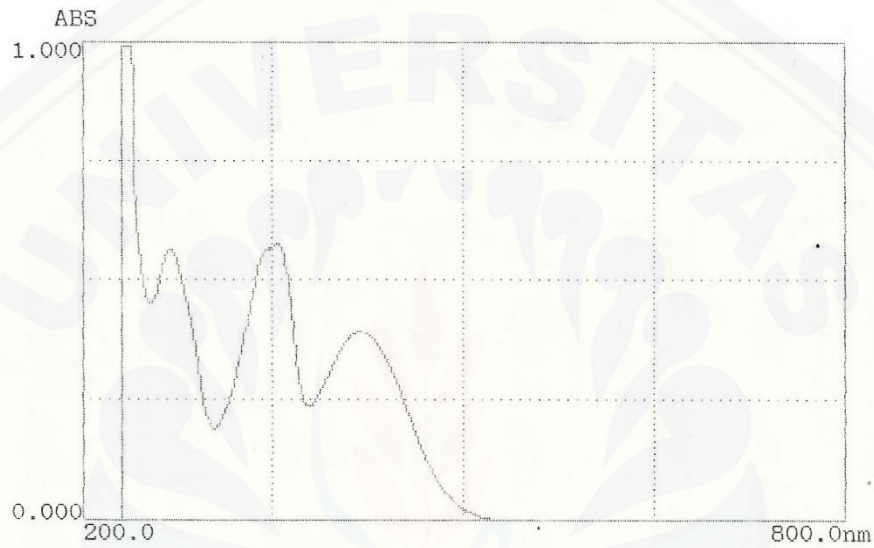
$$V_1 = 8,33 \text{ ml}$$

Lampiran E. Data Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

1. Standar berberin 100 µg/mL

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	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						

ALL Data

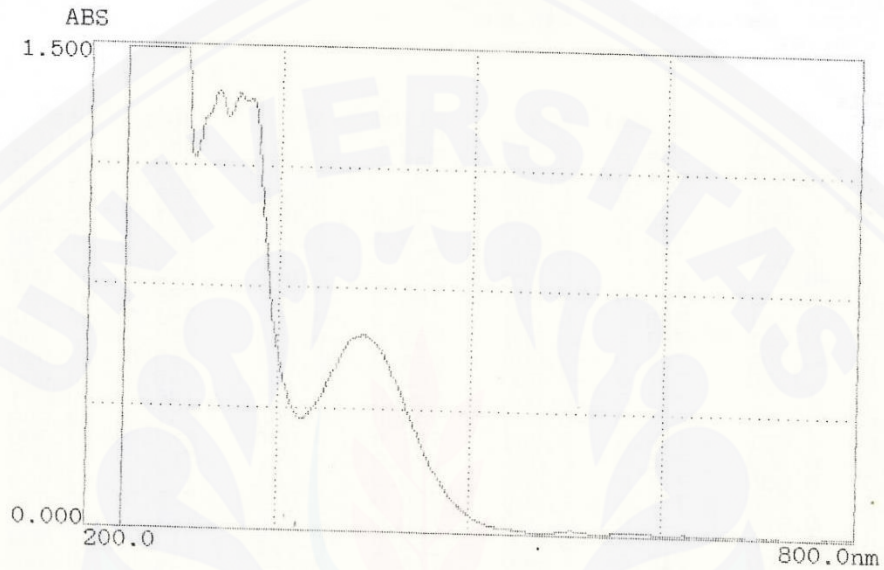
WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	-0.006	799.0	-0.006	798.0	-0.006	797.0	-0.006
796.0	-0.006	795.0	-0.006	794.0	-0.006	793.0	-0.006
792.0	-0.006	791.0	-0.006	790.0	-0.006	789.0	-0.006
788.0	-0.006	787.0	-0.006	786.0	-0.006	785.0	-0.006
784.0	-0.006	783.0	-0.006	782.0	-0.006	781.0	-0.006
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	0.498	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						

2. Sampel ekstrak etanol daun kemaitan 5.000 µg/mL

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:

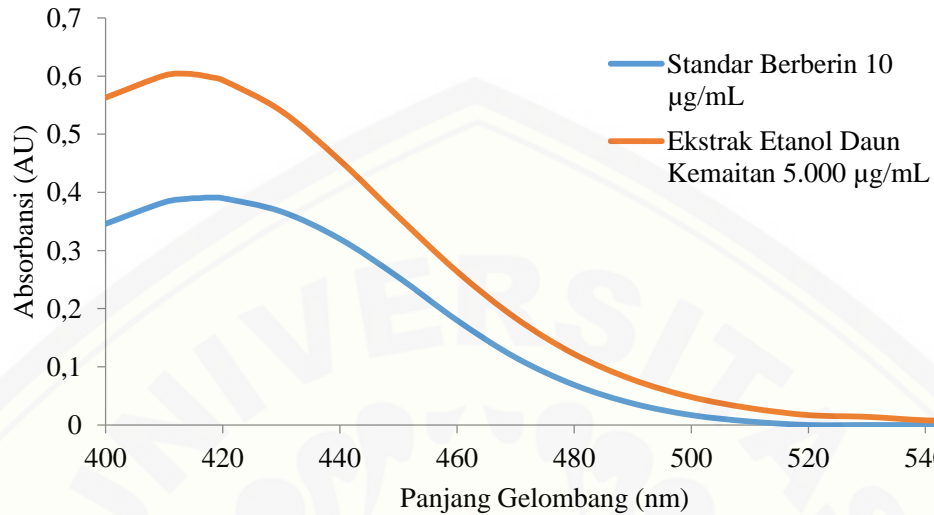
ALL Data

WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS	WL(nm)	ABS
800.0	0.000	799.0	0.000	798.0	0.001	797.0	0.001
796.0	0.000	795.0	0.000	794.0	0.001	793.0	0.001
792.0	0.000	791.0	0.000	790.0	0.000	789.0	0.000
788.0	0.000	787.0	0.000	786.0	0.000	785.0	0.000
784.0	0.000	783.0	0.001	782.0	0.001	781.0	0.000
780.0	0.000	779.0	0.000	778.0	0.000	777.0	0.000
776.0	0.000	775.0	0.000	774.0	-0.000	773.0	-0.000
772.0	-0.000	771.0	-0.000	770.0	-0.001	769.0	-0.001
768.0	-0.001	767.0	-0.001	766.0	-0.001	765.0	-0.001
764.0	-0.001	763.0	-0.001	762.0	-0.001	761.0	-0.001
760.0	-0.001	759.0	-0.001	758.0	-0.000	757.0	-0.000
756.0	-0.000	755.0	-0.000	754.0	-0.000	753.0	-0.000
752.0	-0.000	751.0	-0.000	750.0	-0.000	749.0	-0.000
748.0	-0.000	747.0	-0.000	746.0	-0.000	745.0	-0.001
744.0	-0.001	743.0	-0.001	742.0	-0.000	741.0	0.000
740.0	0.001	739.0	0.001	738.0	0.000	737.0	0.000
736.0	0.000	735.0	0.000	734.0	0.000	733.0	0.000
732.0	0.000	731.0	0.000	730.0	0.000	729.0	0.000
728.0	0.000	727.0	0.000	726.0	0.000	725.0	0.000
724.0	0.000	723.0	0.000	722.0	0.000	721.0	-0.000
720.0	-0.000	719.0	-0.000	718.0	-0.000	717.0	-0.000
716.0	-0.000	715.0	0.000	714.0	0.000	713.0	0.000
712.0	0.000	711.0	0.000	710.0	0.001	709.0	0.001
708.0	0.001	707.0	0.001	706.0	0.001	705.0	0.002
704.0	0.002	703.0	0.002	702.0	0.002	701.0	0.002
700.0	0.002	699.0	0.002	698.0	0.002	697.0	0.002

696.0	0.002	695.0	0.002	694.0	0.002	693.0	0.002
692.0	0.002	691.0	0.002	690.0	0.002	689.0	0.002
688.0	0.002	687.0	0.002	686.0	0.002	685.0	0.002
684.0	0.002	683.0	0.003	682.0	0.003	681.0	0.003
680.0	0.004	679.0	0.004	678.0	0.004	677.0	0.004
676.0	0.005	675.0	0.005	674.0	0.005	673.0	0.005
672.0	0.006	671.0	0.006	670.0	0.006	669.0	0.006
668.0	0.006	667.0	0.006	666.0	0.007	665.0	0.006
664.0	0.006	663.0	0.006	662.0	0.006	661.0	0.006
660.0	0.006	659.0	0.006	658.0	0.006	657.0	0.006
656.0	0.006	655.0	0.006	654.0	0.006	653.0	0.006
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	0.006	641.0	0.006
640.0	0.006	639.0	0.006	638.0	0.006	637.0	0.007
636.0	0.007	635.0	0.007	634.0	0.007	633.0	0.007
632.0	0.007	631.0	0.007	630.0	0.007	629.0	0.007
628.0	0.008	627.0	0.008	626.0	0.007	625.0	0.008
624.0	0.008	623.0	0.007	622.0	0.007	621.0	0.007
620.0	0.007	619.0	0.007	618.0	0.007	617.0	0.007
616.0	0.007	615.0	0.007	614.0	0.007	613.0	0.006
612.0	0.007	611.0	0.007	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	0.006
592.0	0.006	591.0	0.007	590.0	0.007	589.0	0.008
588.0	0.009	587.0	0.010	586.0	0.011	585.0	0.012
584.0	0.012	583.0	0.012	582.0	0.012	581.0	0.012
580.0	0.013	579.0	0.013	578.0	0.014	577.0	0.013
576.0	0.012	575.0	0.011	574.0	0.011	573.0	0.010
572.0	0.009	571.0	0.009	570.0	0.008	569.0	0.008
568.0	0.007	567.0	0.007	566.0	0.007	565.0	0.006
564.0	0.006	563.0	0.005	562.0	0.005	561.0	0.005
560.0	0.004	559.0	0.004	558.0	0.003	557.0	0.004
556.0	0.004	555.0	0.004	554.0	0.005	553.0	0.005
552.0	0.006	551.0	0.006	550.0	0.006	549.0	0.005
548.0	0.005	547.0	0.005	546.0	0.006	545.0	0.006
544.0	0.006	543.0	0.007	542.0	0.007	541.0	0.008
540.0	0.008	539.0	0.009	538.0	0.009	537.0	0.010
536.0	0.011	535.0	0.011	534.0	0.012	533.0	0.012
532.0	0.013	531.0	0.014	530.0	0.014	529.0	0.014
528.0	0.015	527.0	0.015	526.0	0.016	525.0	0.016
524.0	0.016	523.0	0.016	522.0	0.017	521.0	0.018
520.0	0.018	519.0	0.018	518.0	0.019	517.0	0.020
516.0	0.021	515.0	0.022	514.0	0.023	513.0	0.024
512.0	0.025	511.0	0.027	510.0	0.029	509.0	0.031
508.0	0.032	507.0	0.034	506.0	0.035	505.0	0.037
504.0	0.039	503.0	0.041	502.0	0.043	501.0	0.045
500.0	0.048	499.0	0.050	498.0	0.053	497.0	0.055
496.0	0.058	495.0	0.062	494.0	0.065	493.0	0.068
492.0	0.071	491.0	0.074	490.0	0.078	489.0	0.081
488.0	0.085	487.0	0.088	486.0	0.092	485.0	0.096
484.0	0.101	483.0	0.106	482.0	0.111	481.0	0.116
480.0	0.122	479.0	0.127	478.0	0.132	477.0	0.138
476.0	0.144	475.0	0.150	474.0	0.157	473.0	0.164
472.0	0.170	471.0	0.177	470.0	0.184	469.0	0.191
468.0	0.198	467.0	0.206	466.0	0.214	465.0	0.221
464.0	0.229	463.0	0.238	462.0	0.247	461.0	0.255
460.0	0.264	459.0	0.272	458.0	0.281	457.0	0.290
456.0	0.299	455.0	0.309	454.0	0.319	453.0	0.329
452.0	0.339	451.0	0.349	450.0	0.358	449.0	0.367
448.0	0.377	447.0	0.386	446.0	0.396	445.0	0.406
444.0	0.416	443.0	0.426	442.0	0.436	441.0	0.446
440.0	0.455	439.0	0.464	438.0	0.473	437.0	0.483
436.0	0.492	435.0	0.501	434.0	0.510	433.0	0.518
432.0	0.526	431.0	0.533	430.0	0.540	429.0	0.547
428.0	0.553	427.0	0.559	426.0	0.565	425.0	0.571
424.0	0.576	423.0	0.581	422.0	0.586	421.0	0.589
420.0	0.593	419.0	0.596	418.0	0.598	417.0	0.600
416.0	0.602	415.0	0.603	414.0	0.604	413.0	0.604
412.0	0.603	411.0	0.602	410.0	0.601	409.0	0.600
408.0	0.598	407.0	0.595	406.0	0.592	405.0	0.588
404.0	0.584	403.0	0.579	402.0	0.574	401.0	0.568
400.0	0.563	399.0	0.557	398.0	0.550	397.0	0.543
396.0	0.535	395.0	0.528	394.0	0.519	393.0	0.511

392.0	0.503	391.0	0.495	390.0	0.487	389.0	0.478
388.0	0.470	387.0	0.462	386.0	0.454	385.0	0.446
384.0	0.437	383.0	0.429	382.0	0.421	381.0	0.412
380.0	0.406	379.0	0.400	378.0	0.394	377.0	0.387
376.0	0.381	375.0	0.374	374.0	0.368	373.0	0.362
372.0	0.357	371.0	0.353	370.0	0.349	369.0	0.346
368.0	0.344	367.0	0.342	366.0	0.341	365.0	0.342
364.0	0.344	363.0	0.348	362.0	0.353	361.0	0.359
360.0	0.366	359.0	0.374	358.0	0.383	357.0	0.394
356.0	0.405	355.0	0.418	354.0	0.431	353.0	0.444
352.0	0.457	351.0	0.472	350.0	0.487	349.0	0.501
348.0	0.518	347.0	0.537	346.0	0.559	345.0	0.582
344.0	0.609	343.0	0.641	342.0	0.675	341.0	0.711
340.0	0.752	339.0	0.801	338.0	0.846	337.0	0.886
336.0	0.928	335.0	0.972	334.0	1.016	333.0	1.064
332.0	1.114	331.0	1.166	330.0	1.215	329.0	1.257
328.0	1.290	327.0	1.312	326.0	1.324	325.0	1.331
324.0	1.332	323.0	1.331	322.0	1.328	321.0	1.324
320.0	1.325	319.0	1.327	318.0	1.332	317.0	1.340
316.0	1.348	315.0	1.352	314.0	1.351	313.0	1.344
312.0	1.335	311.0	1.323	310.0	1.306	309.0	1.293
308.0	1.282	307.0	1.277	306.0	1.277	305.0	1.281
304.0	1.292	303.0	1.307	302.0	1.324	301.0	1.340
300.0	1.354	299.0	1.361	298.0	1.360	297.0	1.353
296.0	1.340	295.0	1.325	294.0	1.310	293.0	1.296
292.0	1.286	291.0	1.279	290.0	1.275	289.0	1.273
288.0	1.269	287.0	1.259	286.0	1.243	285.0	1.223
284.0	1.203	283.0	1.181	282.0	1.161	281.0	1.150
280.0	1.149	279.0	1.161	278.0	1.191	277.0	1.240
276.0	1.313	275.0	1.419	274.0	1.558	273.0	1.724
272.0	1.910	271.0	2.125	270.0	2.366	269.0	2.620
268.0	3.000	267.0	3.000	266.0	3.000	265.0	3.000
264.0	3.000	263.0	3.000	262.0	3.000	261.0	3.000
260.0	3.000	259.0	3.000	258.0	3.000	257.0	3.000
256.0	3.000	255.0	3.000	254.0	3.000	253.0	3.000
252.0	3.000	251.0	3.000	250.0	3.000	249.0	3.000
248.0	3.000	247.0	3.000	246.0	3.000	245.0	3.000
244.0	3.000	243.0	3.000	242.0	3.000	241.0	3.000
240.0	3.000	239.0	3.000	238.0	3.000	237.0	3.000
236.0	3.000	235.0	3.000	234.0	3.000	233.0	3.000
232.0	3.000	231.0	3.000	230.0	3.000	229.0	3.000
228.0	3.000	227.0	-0.176	226.0	-0.654	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 F. Spektra Optimasi Panjang Gelombang Maksimum



Lampiran G. Hasil Analisis *t*-test Panjang Gelombang Ekstrak Etanol Daun Kemaitan

Tests of Normality

panjang_gelombang	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
absorbansi lamda 414	,377	3	.	,770	3	,045
absorbansi lamda 418	,377	3	.	,769	3	,043

a. Lilliefors Significance Correction

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					
		F	Sig.	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
						Lower	Upper		
absorbansi	Equal variances assumed	,023	,888	,805	,004667	,017689	-,044445	,053778	
	Equal variances not assumed			,805	,004667	,017689	-,044500	,053833	

Lampiran H. Perhitungan Larutan Standar Berberin

1. Larutan induk standar berberin 101 µg/mL

$$\frac{1,01 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ ml} = 101 \text{ µg/mL}$$

2. Pengenceran larutan induk standar berberin 0,1 mg/mL

a) $\frac{0,4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 101,1 \text{ µg/mL} = 4,044 \text{ µg/mL}$

b) $\frac{0,6 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 101,1 \text{ µg/mL} = 6,066 \text{ µg/mL}$

c) $\frac{0,8 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 101,1 \text{ µg/mL} = 8,088 \text{ µg/mL}$

d) $\frac{1,0 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 101,1 \text{ µg/mL} = 10,11 \text{ µg/mL}$

e) $\frac{1,2 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 101,1 \text{ µg/mL} = 12,132 \text{ µg/mL}$

f) $\frac{1,4 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 101,1 \text{ µg/mL} = 14,154 \text{ µg/mL}$

Lampiran I. Data Absorbansi Penetapan Kadar Alkaloid Total

1. Data absorbansi standar berberin

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

ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	0.147	2	0.250	3	0.346	4	0.458
5	0.568	6	0.682				

2. Data absorbansi sampel ekstrak etanol daun kemaitan

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

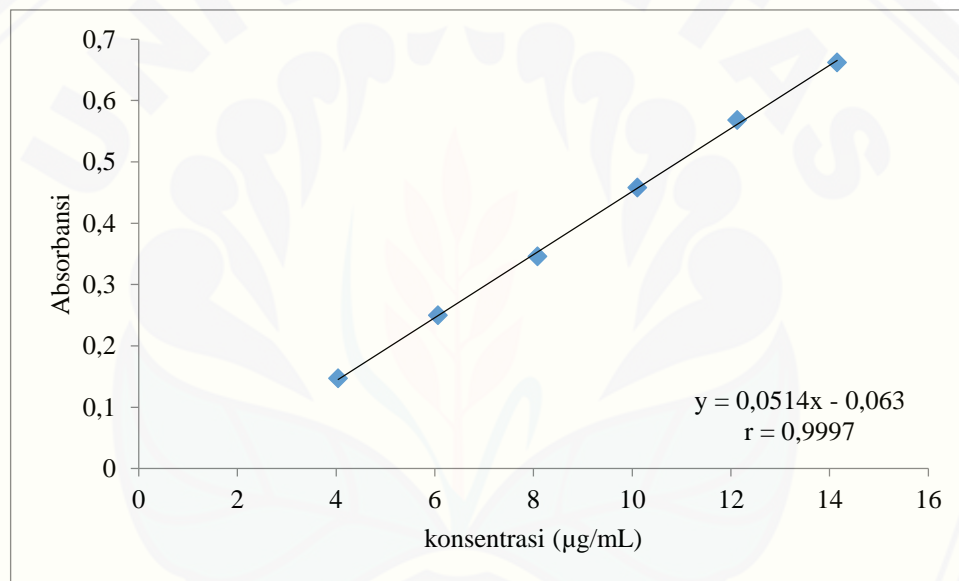
ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS	ID	ABS
1	0.563	2	0.556	3	0.558		

Lampiran J. Perhitungan Kurva Kalibrasi Standar Berberin

1. Data konsentrasi dan absorbansi standar berberin

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
4,044	0,147
6,066	0,250
8,088	0,346
10,11	0,458
12,132	0,568
14,154	0,662

2. Kurva kalibrasi standar berberin



Persamaan regresi : $y = 0,051448x - 0,06296$

r hitung = 0,9997

r tabel = 0,974 ($\alpha=0,01$, $n=6$)

Lampiran K. Perhitungan Kadar Alkaloid Total

Replikasi	Penimbangan (gram)	Absorbansi	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Kadar alkaloid (% b/b BE)
1	0,0531	0,563	12,167	0,229
2	0,0522	0,556	12,031	0,230
3	0,0523	0,558	12,07	0,231

PERHITUNGAN :**• Replikasi 1**

$$y = 0,051448x - 0,06296$$

$$0,563 = 0,051448x - 0,06296$$

$$x = \frac{0,563 + 0,06296}{0,051448}$$

$$x = 12,167 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\text{Dalam } 10 \text{ mL} \Rightarrow 12,167 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times 10 \text{ mL} = 121,67 \text{ mg}$$

$$\% \frac{b}{b} = \frac{121,67 \mu\text{g}}{0,0531 \times 10^6 \mu\text{g}} \times 100$$

$$\% \frac{b}{b} = 0,229\% \text{ b/b BE}$$

• Replikasi 2

$$y = 0,051448x - 0,06296$$

$$0,556 = 0,051448x - 0,06296$$

$$x = \frac{0,556 + 0,06296}{0,051448}$$

$$x = 12,031 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\text{Dalam } 10 \text{ mL} \Rightarrow 12,031 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times 10 \text{ mL} = 120,31 \mu\text{g}$$

$$\% \frac{b}{b} = \frac{120,31 \mu\text{g}}{0,0522 \times 10^6 \mu\text{g}} \times 100$$

$$\% \frac{b}{b} = 0,230\% \text{ b/b BE}$$

- **Replikasi 3**

$$y = 0,051448x - 0,06296$$

$$0,558 = 0,051448x - 0,06296$$

$$x = \frac{0,558 + 0,06296}{0,051448}$$

$$x = 12,07 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

$$\text{Dalam } 10 \text{ mL} \Rightarrow 12,07 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times 10 \text{ mL} = 120,7 \mu\text{g}$$

$$\% \frac{b}{b} = \frac{0,01207 \mu\text{g}}{0,0523 \times 10^6 \mu\text{g}} \times 100$$

$$\% \frac{b}{b} = 0,230\% \text{ b/b BE}$$

$$\text{Rata-rata } \% \text{ b/b} = \frac{0,229\% + 0,230\% + 0,231\%}{3} = 0,230\% \text{ b/b BE}$$

$$\text{SD} = 0,001$$

$$\text{Cv} = 0,435\%$$

Lampiran L. Perhitungan Pembuatan Konsentrasi Uji Difusi Sumuran

1. Pembuatan larutan induk 10 %

$$10\% = \frac{10 \text{ g}}{100 \text{ mL}}$$

Penimbangan untuk 1 mL larutan induk

$$\frac{1 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} \times 10 \text{ g} = 0,1 \text{ gram} = 100 \text{ mg}$$

2. Pengenceran larutan induk

- 1%

$$10\% \cdot x = 1\% \cdot 0,25$$

$$x = 0,025 \text{ mL}$$

➔ 0,025 mL larutan induk 10% + 0,225 mL pelarut

- 2%

$$10\% \cdot x = 2\% \cdot 0,25$$

$$x = 0,05 \text{ mL}$$

→ 0,05 mL larutan induk 10% + 0,2 mL pelarut

- 3%

$$10\% \cdot x = 3\% \cdot 0,25$$

$$x = 0,075 \text{ mL}$$

→ 0,075 mL larutan induk 10% + 0,175 mL pelarut

- 4%

$$10\% \cdot x = 4\% \cdot 0,25$$

$$x = 0,1 \text{ mL}$$

→ 0,1 mL larutan induk 10% + 0,4 mL pelarut

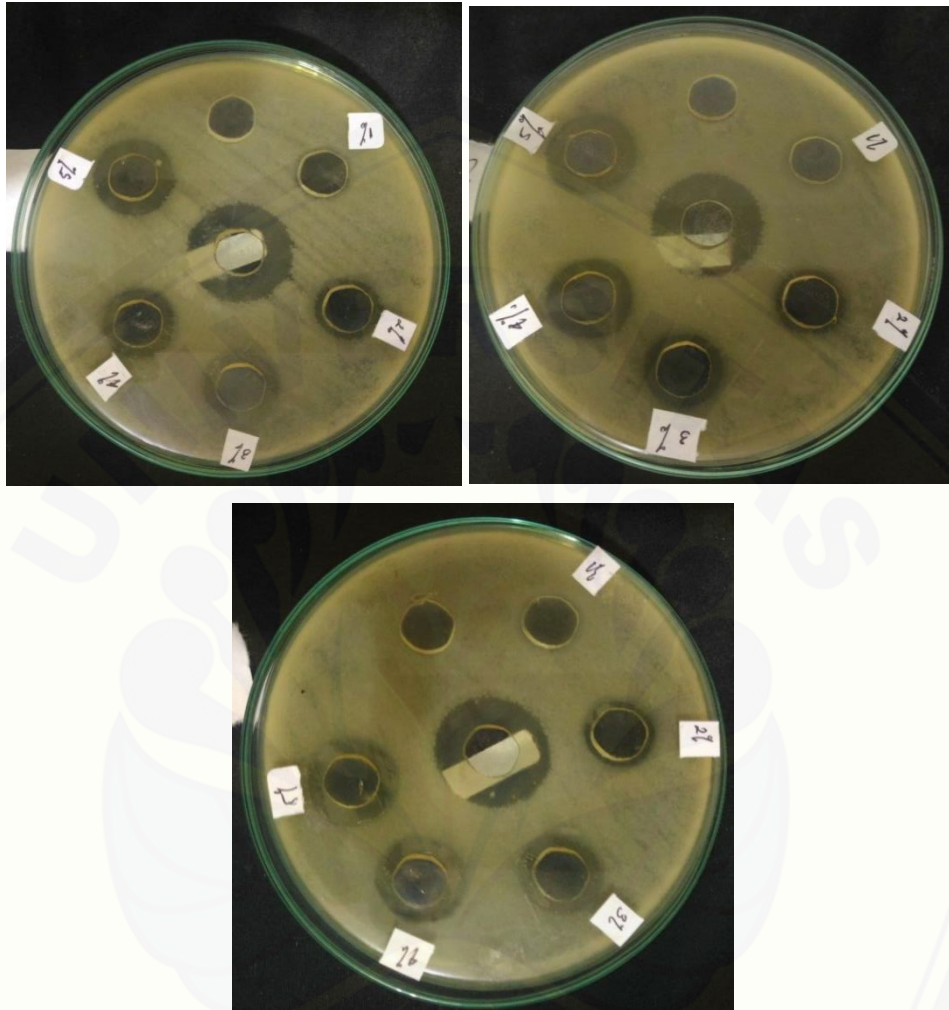
- 5%

$$10\% \cdot x = 5\% \cdot 0,25$$

$$x = 0,125 \text{ mL}$$

→ 0,125 mL larutan induk 10% + 0,125 mL pelarut

Lampiran M. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Metode Difusi



Kelompok	Diameter zona hambat (mm)			SD	
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
Ekstrak uji	Konsentrasi 1%	0,00	0,00	0,00	
	Konsentrasi 2%	4,35	4,57	4,60	
	Konsentrasi 3%	5,33	5,55	5,47	
	Konsentrasi 4%	6,40	6,55	6,78	
	Konsentrasi 5%	7,90	8,07	8,08	
	Negatif (DMSO 10%)	0,00	0,00	0,00	0,00
Kontrol	Positif (gentamisin 50 µg/mL)	14,07	13,65	13,68	0,23

Lampiran N. Hasil Uji One Way ANOVA dan LSD

Tests of Normality^a

Sampel	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter kons 2%	,345	3	.	,839	3	,210
_hambat kons 3%	,238	3	.	,976	3	,702
kons 4%	,222	3	.	,985	3	,769
kons 5%	,368	3	.	,792	3	,094

- a. diameter_hambat is constant when sampel = kons 1%. It has been omitted.
- b. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

diameter_hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,473	4	10	,112

ANOVA

diameter_hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	110,975	4	27,744	1780,722	,000
Within Groups	,156	10	,016		
Total	111,130	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter_hambat

LSD

(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kons 1%	kons 2%	-4,5066667 [*]	,1019150	,000	-4,733747	-4,279586
	kons 3%	-5,4500000 [*]	,1019150	,000	-5,677081	-5,222919
	kons 4%	-6,5766667 [*]	,1019150	,000	-6,803747	-6,349586

	kons 5%	-8,0166667 [*]	,1019150	,000	-8,243747	-7,789586
kons 2%	kons 1%	4,5066667 [*]	,1019150	,000	4,279586	4,733747
	kons 3%	-,9433333 [*]	,1019150	,000	-1,170414	-,716253
	kons 4%	-2,0700000 [*]	,1019150	,000	-2,297081	-1,842919
	kons 5%	-3,5100000 [*]	,1019150	,000	-3,737081	-3,282919
kons 3%	kons 1%	5,4500000 [*]	,1019150	,000	5,222919	5,677081
	kons 2%	,9433333 [*]	,1019150	,000	,716253	1,170414
	kons 4%	-1,1266667 [*]	,1019150	,000	-1,353747	-,899586
	kons 5%	-2,5666667 [*]	,1019150	,000	-2,793747	-2,339586
kons 4%	kons 1%	6,5766667 [*]	,1019150	,000	6,349586	6,803747
	kons 2%	2,0700000 [*]	,1019150	,000	1,842919	2,297081
	kons 3%	1,1266667 [*]	,1019150	,000	,899586	1,353747
	kons 5%	-1,4400000 [*]	,1019150	,000	-1,667081	-1,212919
kons 5%	kons 1%	8,0166667 [*]	,1019150	,000	7,789586	8,243747
	kons 2%	3,5100000 [*]	,1019150	,000	3,282919	3,737081
	kons 3%	2,5666667 [*]	,1019150	,000	2,339586	2,793747
	kons 4%	1,4400000 [*]	,1019150	,000	1,212919	1,667081

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

Lampiran O. Serial Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kemaitan untuk Uji Mikrodilusi

1. Pembuatan larutan induk 25.000 µg/mL

$$25.000 \mu\text{g/mL} = \frac{25 \text{ mg}}{1 \text{ mL}}$$

2. Pembuatan serial konsentrasi uji

- 500 µg/ mL

$$25.000 \mu\text{g/mL} \cdot x = 500 \mu\text{g/mL} \cdot 1000 \mu\text{L}$$

$$x = 20\mu\text{L}$$

→ 20µL larutan induk 25.000 µg/mL + 980 µL pelarut

- 250 µg/mL

$$500 \mu\text{g/mL} \cdot x = 250 \mu\text{g/mL} \cdot 1000 \mu\text{L}$$

$$x = 500 \mu\text{L}$$

→ 500 µL larutan 500 µg/mL + 500 µL pelarut

- 125 µg/mL

$$250 \mu\text{g/mL} \cdot x = 125 \mu\text{g/mL} \cdot 1000 \mu\text{L}$$

$$x = 500 \mu\text{L}$$

→ 500 µL larutan 125 µg/mL + 500 µL pelarut

- 62,5 µg/mL

$$125 \mu\text{g/mL} \cdot x = 62,5 \mu\text{g/mL} \cdot 1000 \mu\text{L}$$

$$x = 500 \mu\text{L}$$

→ 500 µL larutan 125 µg/mL + 500 µL pelarut

- 31,25 µg/mL

$$62,5 \mu\text{g/mL} \cdot x = 31,25 \mu\text{g/mL} \cdot 1000 \mu\text{L}$$

$$x = 500 \mu\text{L}$$

→ 500 µL larutan induk 62,5 µg/mL + 500 µL pelarut

- 15,625 µg/mL

$$31,25 \mu\text{g/mL} \cdot x = 15,625 \mu\text{g/mL} \cdot 1000 \mu\text{L}$$

$$x = 500 \mu\text{L}$$

→ 500 µL larutan induk 31,25 µg/mL + 500 µL pelarut

Lampiran P. Serial Konsentrasi Gentamisin untuk Uji Mikrodilusi

1. Pengenceran gentamisin injeksi 40.000 µg/mL

$$40.000 \mu\text{g/mL} \cdot x = 400 \mu\text{g/mL} \cdot 1000 \mu\text{L}$$

$$x = 10 \mu\text{L}$$

→ 10 µL gentamisin 40.000 µg/mL + 990 µL pelarut

2. Pembuatan serial konsentrasi uji

- 8 µg/mL

$$400 \mu\text{g/mL} \cdot x = 8 \mu\text{g/mL} \cdot 500 \mu\text{L}$$

$$x = 10 \mu\text{L}$$

→ 10 µL larutan 400 µg/mL + 990 µL pelarut

- 4 µg/mL

$$8 \mu\text{g/mL} \cdot x = 4 \mu\text{g/mL} \cdot 500 \mu\text{L}$$

$$x = 250 \mu\text{L}$$

→ 250 μL larutan 8 $\mu\text{g/mL}$ + 250 μL pelarut

• 2 $\mu\text{g/mL}$

$$4 \mu\text{g/mL} \cdot x = 2 \mu\text{g/mL} \cdot 500 \mu\text{L}$$

$$x = 500 \mu\text{L}$$

→ 250 μL larutan 4 $\mu\text{g/mL}$ + 250 μL pelarut

• 1 $\mu\text{g/mL}$

$$2 \mu\text{g/mL} \cdot x = 1 \mu\text{g/mL} \cdot 500 \mu\text{L}$$

$$x = 500 \mu\text{L}$$

→ 250 μL larutan 1 $\mu\text{g/mL}$ + 250 μL pelarut

• 0,5 $\mu\text{g/mL}$

$$1 \mu\text{g/mL} \cdot x = 0,5 \mu\text{g/mL} \cdot 500 \mu\text{L}$$

$$x = 500 \mu\text{L}$$

→ 250 μL larutan induk 1 $\mu\text{g/mL}$ + 250 μL pelarut

• 0,25 $\mu\text{g/mL}$

$$0,5 \mu\text{g/mL} \cdot x = 0,25 \mu\text{g/mL} \cdot 500 \mu\text{L}$$

$$x = 500 \mu\text{L}$$

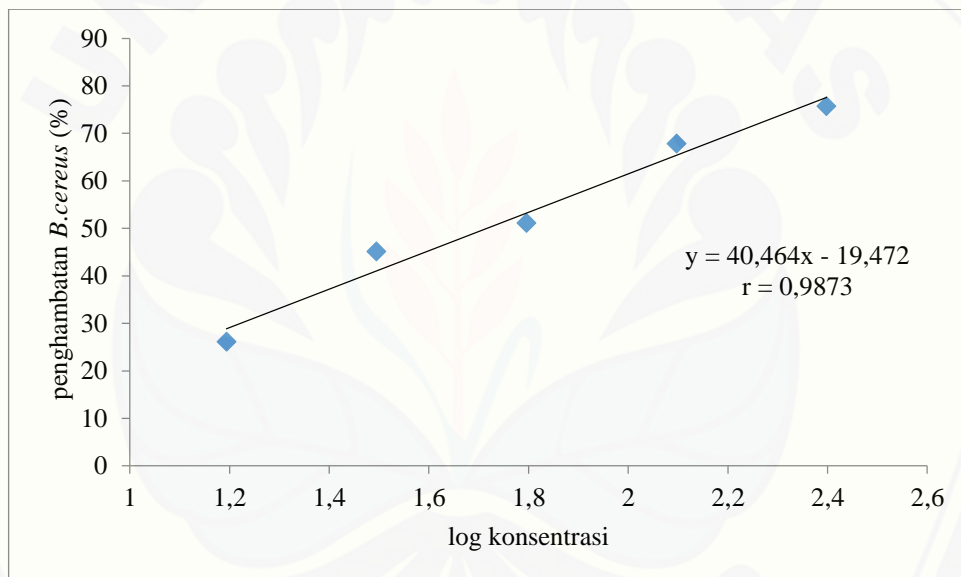
→ 250 μL larutan induk 0,5 $\mu\text{g/mL}$ + 250 μL pelarut

Lampiran Q. Data Absorbansi dan Penghambatan Pertumbuhan *B. cereus*

1. Ekstrak etanol daun kemaitan

Replikasi 1

Kons ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi				Penghambatan pertumbuhan <i>B. cereus</i> (%)			
	1	2	3	Kontrol	1	2	3	rerata
250	1,517	1,462	1,574	1,387	75,8	86,1	65,2	75,7
125	1,542	1,36	1,496	1,293	53,7	87,5	62,3	67,8
62,5	1,506	1,647	1,509	1,291	60,0	33,8	59,5	51,1
31,25	1,513	1,618	1,528	1,28	52,6	33,1	49,8	45,2
15,625	1,488	1,527	1,468	1,097	27,3	20,1	31,0	26,1

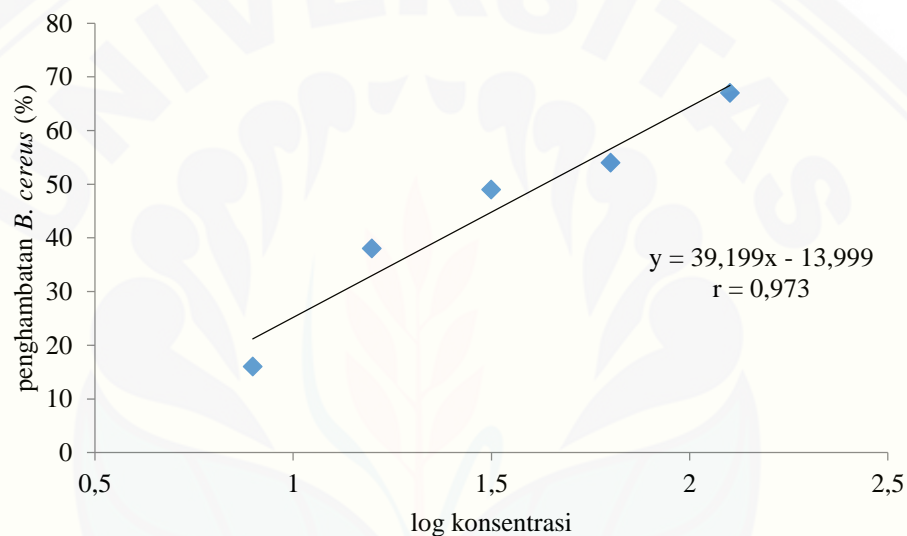


Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 5$ adalah 0,878

$r = 0,9873 > r$ tabel, artinya terdapat korelasi yang baik antara persen penghambatan dengan log konsentrasi ekstrak etanol daun kemaitan.

Replikasi 2

Kons ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi				Penghambatan pertumbuhan <i>B. cereus</i> (%)			
	1	2	3	Kontrol	1	2	3	rerata
126,5	1,209	1,203	1,209	1,06	66,7	68,0	66,7	67,1
63,25	1,18	1,233	1,225	1,008	61,5	49,7	51,5	54,2
31,625	1,186	1,189	1,193	0,961	49,7	49,0	48,3	49
15,8125	1,21	1,212	1,203	0,932	37,8	37,4	39,1	38,2
7,90625	1,213	1,211	1,219	0,84	16,6	17,1	15,3	16,3

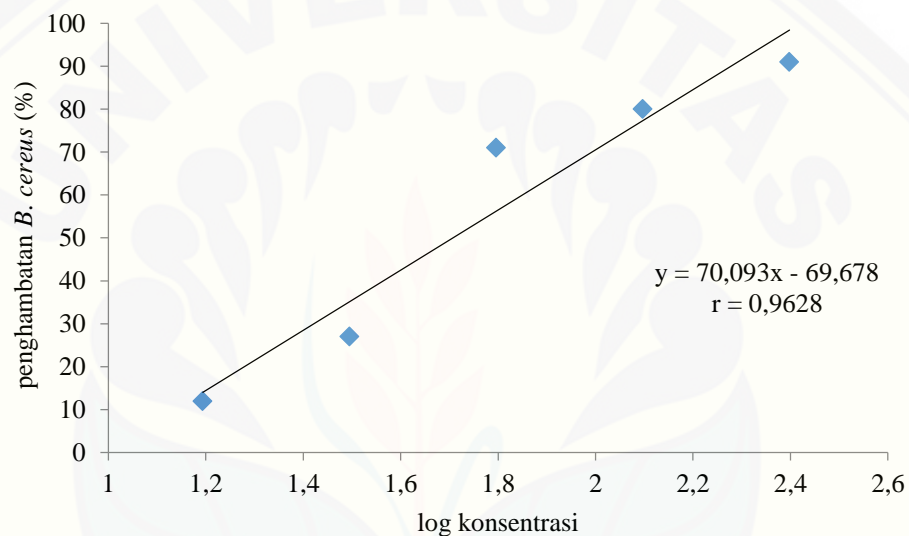


Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 5$ adalah 0,878

$r = 0,973 > r$ tabel, artinya terdapat terdapat korelasi yang baik antara persen penghambatan dengan log konsentrasi ekstrak etanol daun kemaitan.

Replikasi 3

Kons ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi				Penghambatan pertumbuhan <i>B. cereus</i> (%)			
	1	2	3	Kontrol	1	2	3	rerata
250	1,509	1,513	1,537	1,505	97,4	94,8	79,3	90,5
125	1,305	1,3	1,329	1,28	83,8	62,3	68,3	79,8
62,5	1,226	1,235	1,263	1,197	81,2	57,3	57,3	71,3
31,25	1,154	1,151	1,125	1,02	19,7	38,5	38,5	26,6
15,625	1,276	1,277	1,243	1,13	5,50	26,9	26,9	12,4

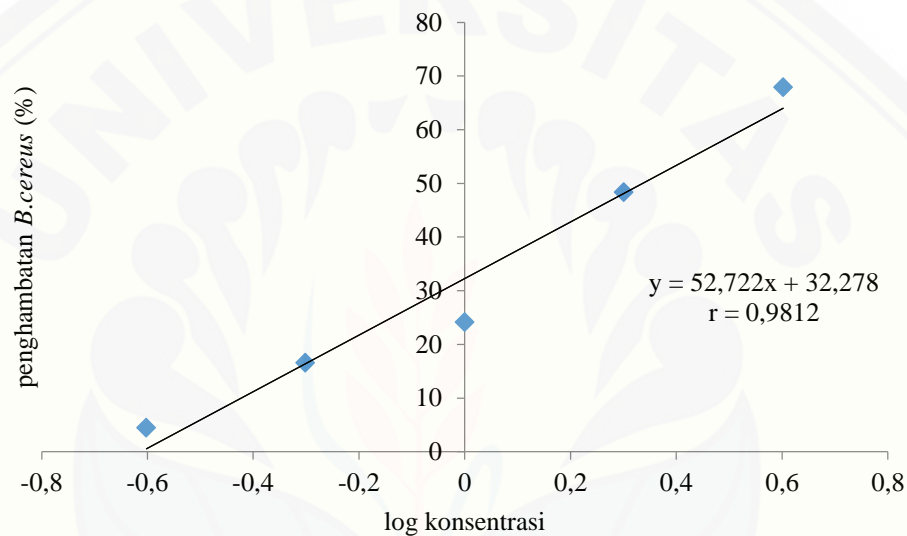


Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$), $n = 5$ adalah 0,878

$r = 0,9628 > r$ tabel, artinya terdapat terdapat korelasi yang baik antara persen penghambatan dengan log konsentrasi ekstrak etanol daun kemaitan.

2. Gentamisin

Kons ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi		Penghambatan pertumbuhan <i>B. cereus</i> (%)
	Uji	Kontrol	
4	0,545	0,23	67,9
2	0,738	0,231	48,4
1	0,962	0,217	24,1
0,5	1,051	0,232	16,6
0,25	1,237	0,299	4,45



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

$r = 0,9812 > r$ tabel, artinya terdapat korelasi yang baik antara persen penghambatan dengan log konsentrasi Gentamisin.

Lampiran R. Analisis Probit Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun

Kemaitan

Replikasi 1

Data Information

		N of Cases
Valid		5
Rejected	Missing	0
	LOG Transform Cannot be Done	0
	Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group		0

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for kons			95% Confidence Limits for log(kons) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	,010	,361	,061	1,051	-,442	-1,217	,022
	,020	,647	,132	1,675	-,189	-,879	,224
	,030	,935	,216	2,252	-,029	-,665	,353
	,040	1,235	,314	2,814	,092	-,503	,449
	,050	1,548	,424	3,375	,190	-,372	,528
	,060	1,876	,548	3,940	,273	-,261	,595
	,070	2,220	,687	4,513	,346	-,163	,654
	,080	2,582	,840	5,097	,412	-,076	,707
	,090	2,962	1,008	5,695	,472	,004	,755
	,100	3,361	1,193	6,307	,526	,077	,800
	,150	5,671	2,390	9,644	,754	,378	,984
	,200	8,594	4,142	13,552	,934	,617	1,132
	,250	12,277	6,615	18,202	1,089	,821	1,260
	,300	16,912	10,034	23,818	1,228	1,001	1,377
	,350	22,757	14,681	30,726	1,357	1,167	1,488
	,400	30,160	20,902	39,431	1,479	1,320	1,596
	,450	39,607	29,089	50,765	1,598	1,464	1,706
	,500	51,789	39,634	66,143	1,714	1,598	1,820
	,550	67,719	52,929	87,925	1,831	1,724	1,944
	,600	88,931	69,533	119,917	1,949	1,842	2,079
	,650	117,861	90,524	168,299	2,071	1,957	2,226
	,700	158,590	117,904	243,887	2,200	2,072	2,387
	,750	218,467	155,267	367,574	2,339	2,191	2,565
	,800	312,098	209,439	584,624	2,494	2,321	2,767
	,850	472,989	295,191	1009,833	2,675	2,470	3,004
	,900	798,063	452,345	2018,753	2,902	2,655	3,305

,910	905,544	501,192	2387,705	2,957	2,700	3,378
,920	1038,773	560,153	2865,843	3,017	2,748	3,457
,930	1207,999	632,900	3503,471	3,082	2,801	3,544
,940	1429,787	725,222	4385,584	3,155	2,860	3,642
,950	1732,851	846,872	5667,060	3,239	2,928	3,753
,960	2171,958	1015,846	7660,724	3,337	3,007	3,884
,970	2867,086	1270,054	11100,652	3,457	3,104	4,045
,980	4147,089	1708,317	18182,992	3,618	3,233	4,260
,990	7419,932	2723,671	39608,558	3,870	3,435	4,598

a. Logarithm base = 10.



Replikasi 2

Data Information

		N of Cases
Valid		5
Rejected	Missing	0
	LOG Transform Cannot be Done	0
	Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group		0

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df ^b	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	4,700	3	,195 ^a

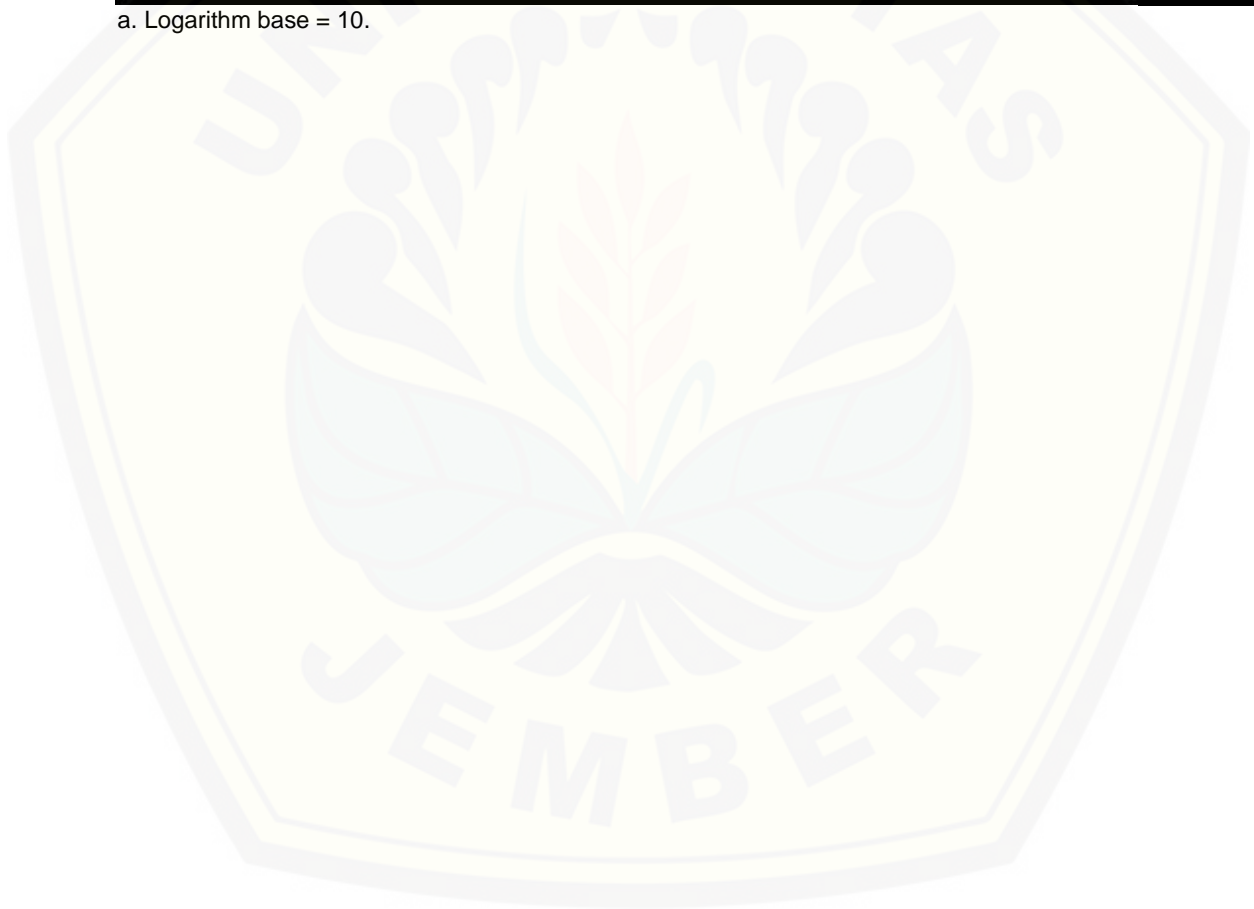
- a. Since the significance level is greater than ,050, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.
- b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for kons			95% Confidence Limits for log(kons) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	,010	,262	,045	,738	-,582	-1,347	-,132
	,020	,476	,101	1,188	-,322	-,995	,075
	,030	,696	,169	1,609	-,157	-,773	,207
	,040	,926	,248	2,021	-,033	-,605	,306
	,050	1,168	,339	2,434	,067	-,469	,386
	,060	1,423	,443	2,852	,153	-,353	,455
	,070	1,693	,560	3,278	,229	-,252	,516
	,080	1,977	,689	3,714	,296	-,162	,570
	,090	2,276	,833	4,161	,357	-,079	,619
	,100	2,592	,992	4,621	,414	-,003	,665
	,150	4,438	2,037	7,151	,647	,309	,854
	,200	6,805	3,593	10,163	,833	,555	1,007
	,250	9,820	5,813	13,817	,992	,764	1,140
	,300	13,649	8,885	18,348	1,135	,949	1,264
	,350	18,520	13,019	24,129	1,268	1,115	1,383
	,400	24,739	18,413	31,792	1,393	1,265	1,502
	,450	32,738	25,215	42,395	1,515	1,402	1,627
	,500	43,131	33,572	57,597	1,635	1,526	1,760
	,550	56,824	43,783	79,886	1,755	1,641	1,902
	,600	75,197	56,457	113,134	1,876	1,752	2,054
	,650	100,451	72,639	163,859	2,002	1,861	2,214

,700	136,294	94,035	243,909	2,134	1,973	2,387
,750	189,449	123,593	376,667	2,277	2,092	2,576
,800	273,368	166,888	613,572	2,437	2,222	2,788
,850	419,159	236,053	1087,224	2,622	2,373	3,036
,900	717,702	364,017	2240,203	2,856	2,561	3,350
,910	817,254	404,017	2668,557	2,912	2,606	3,426
,920	941,115	452,413	3227,616	2,974	2,656	3,509
,930	1099,079	512,278	3978,944	3,041	2,710	3,600
,940	1307,041	588,464	5027,305	3,116	2,770	3,701
,950	1592,662	689,168	6565,127	3,202	2,838	3,817
,960	2008,945	829,555	8984,662	3,303	2,919	3,954
,970	2672,660	1041,676	13216,499	3,427	3,018	4,121
,980	3906,137	1409,429	22083,798	3,592	3,149	4,344
,990	7103,932	2268,556	49629,244	3,851	3,356	4,696

a. Logarithm base = 10.



Replikasi 3

Data Information

		N of Cases
Valid		5
Rejected	Missing	0
	LOG Transform Cannot be Done	0
	Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group		0

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for kons			95% Confidence Limits for log(kons) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ,010	4,260	,410	10,396	,629	-,388	1,017
,020	5,684	,699	12,755	,755	-,156	1,106
,030	6,825	,979	14,538	,834	-,009	1,163
,040	7,833	1,262	16,052	,894	,101	1,206
,050	8,761	1,550	17,409	,943	,190	1,241
,060	9,637	1,845	18,661	,984	,266	1,271
,070	10,477	2,149	19,840	1,020	,332	1,298
,080	11,291	2,463	20,966	1,053	,392	1,322
,090	12,086	2,788	22,052	1,082	,445	1,343
,100	12,867	3,123	23,108	1,109	,495	1,364
,150	16,676	4,980	28,144	1,222	,697	1,449
,200	20,493	7,176	33,103	1,312	,856	1,520
,250	24,457	9,762	38,268	1,388	,990	1,583
,300	28,667	12,787	43,868	1,457	1,107	1,642
,350	33,211	16,301	50,152	1,521	1,212	1,700
,400	38,188	20,348	57,439	1,582	1,309	1,759
,450	43,711	24,964	66,162	1,641	1,397	1,821
,500	49,927	30,173	76,935	1,698	1,480	1,886
,550	57,026	35,993	90,641	1,756	1,556	1,957
,600	65,275	42,463	108,575	1,815	1,628	2,036
,650	75,056	49,670	132,701	1,875	1,696	2,123
,700	86,955	57,808	166,180	1,939	1,762	2,221
,750	101,920	67,242	214,518	2,008	1,828	2,331
,800	121,634	78,657	288,378	2,085	1,896	2,460
,850	149,476	93,404	411,607	2,175	1,970	2,614
,900	193,732	114,664	651,240	2,287	2,059	2,814
,910	206,255	120,326	728,529	2,314	2,080	2,862

,920	220,779	126,735	823,306	2,344	2,103	2,916
,930	237,932	134,111	942,279	2,376	2,127	2,974
,940	258,669	142,779	1096,183	2,413	2,155	3,040
,950	284,535	153,256	1303,420	2,454	2,185	3,115
,960	318,247	166,433	1598,632	2,503	2,221	3,204
,970	365,215	184,030	2056,555	2,563	2,265	3,313
,980	438,551	210,071	2878,080	2,642	2,322	3,459
,990	585,165	258,217	4899,249	2,767	2,412	3,690

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Rata-rata nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun Kemaitan

Replikasi	IC ₅₀	Rata-rata IC ₅₀	CV
1	51,8		
2	43,1	48,3 ± 4,57	9,48%
3	49,9		

Lampiran S. Analisis Probit Aktivitas Antibakteri Gentamisin

Data Information

		N of Cases
Valid		5
Rejected	Missing	0
	LOG Transform Cannot be Done	0
	Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group		0

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for kons			95% Confidence Limits for log(kons) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	,010	,099	,052	,153	-1,006	-1,282	-,815
	,020	,142	,081	,209	-,849	-1,089	-,681
	,030	,178	,108	,254	-,749	-,967	-,595
	,040	,212	,133	,295	-,674	-,876	-,531
	,050	,244	,158	,333	-,612	-,801	-,478
	,060	,275	,183	,369	-,560	-,738	-,433
	,070	,306	,207	,404	-,515	-,683	-,393
	,080	,336	,232	,439	-,474	-,634	-,358
	,090	,366	,257	,473	-,437	-,589	-,325
	,100	,396	,283	,507	-,402	-,548	-,295
	,150	,549	,417	,677	-,261	-,380	-,170
	,200	,711	,564	,857	-,148	-,249	-,067
	,250	,889	,726	1,056	-,051	-,139	,024
	,300	1,085	,904	1,283	,035	-,044	,108
	,350	1,306	1,100	1,549	,116	,042	,190
	,400	1,557	1,316	1,865	,192	,119	,271
	,450	1,845	1,555	2,245	,266	,192	,351
	,500	2,181	1,824	2,710	,339	,261	,433
	,550	2,578	2,129	3,283	,411	,328	,516
	,600	3,056	2,485	4,004	,485	,395	,602
	,650	3,643	2,907	4,927	,561	,463	,693
	,700	4,384	3,423	6,144	,642	,534	,788
	,750	5,354	4,076	7,811	,729	,610	,893
	,800	6,688	4,943	10,220	,825	,694	1,009
	,850	8,668	6,179	14,002	,938	,791	1,146
	,900	12,013	8,171	20,839	1,080	,912	1,319
	,910	12,999	8,740	22,944	1,114	,942	1,361
	,920	14,161	9,402	25,475	1,151	,973	1,406

,930	15,559	10,187	28,583	1,192	1,008	1,456
,940	17,284	11,141	32,507	1,238	1,047	1,512
,950	19,486	12,337	37,648	1,290	1,091	1,576
,960	22,435	13,906	44,742	1,351	1,143	1,651
,970	26,678	16,108	55,329	1,426	1,207	1,743
,980	33,585	19,580	73,392	1,526	1,292	1,866
,990	48,280	26,623	114,610	1,684	1,425	2,059

Logarithm base = 10.

