



**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN SENGGUGU (*Rothecea serrata* (L.)
Steane & Mabb) TERHADAP *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh

**Nimas Ayu Amanda Putri
NIM 152210101002**

**BAGIAN KIMIA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
DAN FRAKSI DAUN SENGGUGU (*Rothecea serrata* (L.) Steane & Mabb)
TERHADAP *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Farmasi
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**Nimas Ayu Amanda Putri
NIM 152210101002**

**BAGIAN KIMIA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang memberi saya kesempatan, nikmat, petunjuk, dan rahmat-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Nabi Muhammad SAW. sebagai panutan terbesar dalam hidup saya;
3. Bapak Imam Rofingi dan Ibu Munfarida serta anggota keluarga besar yang telah memberi saya doa dan dukungan tiada henti;
4. Guru dan dosen yang telah memberikan ilmu dan membimbing saya selama ini;
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

"Life is like riding a bicycle, to keep your balance you must keep moving"

(Albert Einstein)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nimas Ayu Amanda Putri

NIM : 152210101002

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Daun Senggugu (*Rothecea Serrata* (L.) Steane & Mabb) Terhadap *Staphylococcus Aureus*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 2 Juli 2018

Yang menyatakan,

(Nimas Ayu Amanda Putri)

NIM 152210101002

SKRIPSI

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
DAN FRAKSI DAUN SENGGUGU (*Rothecea serrata* (L.) Steane & Mabb)
TERHADAP *Staphylococcus aureus***

Oleh

Nimas Ayu Amanda Putri
NIM 152210101002

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Ari Satria Nugraha, S.F., G.DipSc., MSc-Res.,
Ph.D., Apt

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Senggugu (*Rotheeca serrata* (L.) Steane & Mabb) terhadap *Staphylococcus aureus*” karya Nimas Ayu Amanda Putri telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 2 Juli 2019

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Ari S N, S.F.,G.DipSc.,MSc-res.,Ph.D.,Apt Bawon Triatmoko,S.Farm.,M.Sc., Apt
NIP. 197807212003121001 NIP. 198201292009121003

Tim Penguji

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

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

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

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Daun Senggugu (*Rothecea Serrata* (L.) Steane & Mabb) Terhadap *Staphylococcus Aureus*;
Nimas Ayu Amanda Putri, 152210101002; 2019; 111 halaman; Fakultas Farmasi
Universitas Jember.

Indonesia merupakan salah satu negara berkembang di Asia Tenggara. Sebagai negara berkembang di daerah tropis, Indonesia masih memiliki banyak permasalahan di bidang kesehatan, salah satu diantaranya adalah penyakit infeksi. Penyakit infeksi merupakan kontributor penyebab morbiditas dan mortalitas yang cukup besar hingga saat ini. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diatasi dengan menggunakan antibiotik. Antibiotik memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan dan menghancurkan mikroorganisme di dalam tubuh. Beberapa tahun terakhir penggunaan antibiotik mengalami masalah terkait dengan peningkatan resistensi beberapa bakteri terhadap berbagai jenis antibiotik (*Multi Drug Resistance*). Salah satu contoh bakteri yang mengalami peningkatan resistensi adalah *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

Pencarian atau penelusuran agen antibakteri baru perlu dilakukan untuk mendapatkan alternatif antibiotik lain yang memiliki aktivitas terhadap mikroorganisme patogen. Salah satu cara untuk mendapatkan antibiotik baru adalah dengan memanfaatkan agen antibakteri yang bersumber dari tanaman seperti senggugu (*Rothecea serrata* (L.)). Tanaman tersebut telah diketahui memiliki memiliki aktivitas hepatoprotektif, antioksidan, antinosiseptif, dan antibakteri.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi dari daun senggugu (*Rothecea serrata* (L.)) terhadap *S. aureus* untuk mengetahui nilai konsentrasi yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 50% atau *Inhibitory Concentration 50 %* (IC₅₀) Serta mengetahui kandungan golongan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak dan fraksi daun senggugu. Metode ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut metanol, sedangkan fraksinasi dilakukan dengan partisi cair-cair menggunakan corong pisah. Pelarut yang digunakan adalah heksana, diklorometana, dan etil asetat.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode mikrodilusi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun senggugu mengandung golongan senyawa kimia terpenoid/ steroid bebas, polifenol dan flavonoid. Fraksi heksana dan fraksi diklorometana mengandung terpenoid/ steroid bebas. Fraksi etil asetat dan residu mengandung polifenol dan flavonoid.

Nilai IC₅₀ ekstrak metanol sebesar $463,214 \pm 1,829 \mu\text{g/mL}$, fraksi heksana sebesar $323,729 \pm 2,025 \mu\text{g/mL}$, fraksi diklorometana sebesar $441,060 \pm 7,641 \mu\text{g/mL}$, fraksi etil asetat sebesar $650,296 \pm 4,053 \mu\text{g/mL}$, dan residu sebesar $724,929 \pm 8,181 \mu\text{g/mL}$. Semakin kecil nilai IC₅₀, maka kemampuan kelompok uji sebagai antibakteri tersebut semakin besar. Urutan IC₅₀ dari yang terkecil yaitu fraksi heksana, ekstrak metanol, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat dan diikuti residu. Perbedaan aktivitas antibakteri kelompok ekstrak dan fraksi daun senggugu dapat disebabkan oleh perbedaan kandungan dan konsentrasi golongan senyawa yang terdapat di dalamnya.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan ridho-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Daun Senggugu (*Rotheeca Serrata* (L.) Steane & Mabb) Terhadap *Staphylococcus Aureus*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan proposal skripsi ini tentunya tidak lepas dari bantuan berbagai pihak baik secara lisan maupun tulisan, maka penulis berterima kasih kepada:

1. Allah SWT. yang telah memberikan nikmat dan kesempatan luar biasa kepada penulis hingga skripsi ini selesai;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Prof Bambang Kuswandi. M.Sc., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menempuh S1 Farmasi;
4. Bapak Ari Satia Nugraha, S.F., G.DipSc., MSc-res., Ph.D., Apt dan Bapak Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing utama dan anggota yang telah memberikan bimbingan, arahan, serta semangat sehingga skripsi ini dapat tersusun dengan baik;
5. Bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt dan Ibu Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan kritik, dan saran yang sangat membangun dalam penulisan skripsi ini;
6. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi ilmu, pengalaman, dan motivasi penulis;
7. Bapak Imam Rofingi dan Ibu Munfarida serta anggota keluarga besar, terimakasih atas doa dan semangat serta motivasi demi kelancaran dan keberhasilan dalam menempuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
8. “GENG JOMBS 78” Fitria Nurhabiba, Mala Hayati, Vera Asmita, Fais Dina, Dian Ayu, Yesika Yuma, Anggareta Citra yang telah menemani kehidupan di kos Wisma Kartini selama 4 tahun;

9. "KELUARGA CEMARA" teman belajar sejak Maba, Yesika Yuristi Mahardika., Dian Ayu Chotimah., Ulfi Mawadatur Rohmah., Dwipa Noor Maulina U., Dindha Pratiwi Setyaningrum., Aissa Dinar Yanuariski., dan Jumahwi yang selalu memberi semangat, hiburan, dan tawa di antara resah;
10. "TIM ANTIBAKTERI AMPUH", Ita Husnul Chotimah., Ganevi Resta Savitri dan Ifan Arif Maulana., yang telah berjuang bersama di dalam grup penelitian skripsi;
11. "LAB TUMAN", Nita, Juju, Lanjar, Gayuh, Asrin, Tinton, Fawwas, dan Retno yang telah memberikan semangat dan keceriaan selama nge-Lab di dalam laboratorium;
12. Keluarga besar "LIBITUM" yang telah berjuang bersama-sama demi sebuah gelar Sarjana Farmasi dan selalu memberikan bantuan, support, dan semangatnya dalam penyusunan proposal skripsi ini;
13. Keluarga besar BPMF Farmasi 2017 dan 2018 yang telah memberikan pengalaman berkesan selama 2 tahun.
14. KKN 081 Gunung Sari, Muhi, Nanda, Resta, Vita, Ikke, Rosa, Kinan, Vian yang telah memberikan pengalaman, pelajaran dan kenangan tak terlupakan selama 45 hari didesa pengabdian;
15. Serta untuk setiap nama yang tidak dapat tertulis satu persatu, terimakasih kepada semua pihak yang telah berperan membantu menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih ada kelemahan dan kekurangan baik dalam segi materi ataupun teknik penulisan skripsi ini. Peneliti sangat mengharapkan kritik dan saran dari pembaca agar proposal skripsi ini menjadi lebih baik.

Jember, 2019

Nimas Ayu Amanda Putri

DAFTAR ISI

Contents

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMPAHAN.....	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN.....	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR RUMUS	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Penyakit Infeksi Bakteri	5
2.2 Senggugu (<i>Rothecea serrata</i> (L)).....	7
2.3 Ekstraksi dan Fraksinasi	10
2.4 Skrining Fitokimia	11
2.5 Uji Antibakteri	12
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....	13
3.1 Jenis Penelitian.....	13
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	13
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	13
3.4 Rancangan Penelitian	14

3.5 Variabel Penelitian.....	15
3.6 Definisi Operasional.....	16
3.7 Skema Penelitian	17
3.8 Prosedur Kerja.....	17
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Ekstraksi dan Fraksinasi	24
4.2 Skrining Fitokimia	26
4.3 Uji Aktivitas Antibakteri	30
BAB 5. PENUTUP	35
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN	47

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Aktivitas farmakologi senggugu.....	9
Tabel 4.1 Hasil fraksinasi sampel daun senggugu	25
Tabel 4.2 Hasil skrining fitokimia ekstrak senggugu.....	26
Tabel 4.3 Hasil skrining fitokimia fraksi daun senggugu	26
Tabel 4.4 Persentase penghambatan kontrol positif.....	31
Tabel 4.5 Nilai IC50 ekstrak dan fraksi daun senggugu terhadap S. aureus	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi bakteri Staphylococcus aureus 25923	6
Gambar 2.2 Senggugu.....	7
Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian Uji	14
Gambar 3.2 Skema prosedur penelitian	17
Gambar 3.3 Skema alur fraksinasi bertingkat daun senggugu	18
Gambar 3.4 Pemetaan mikrodilusi microplate-96-well	22
Gambar 4.1 Gambar Proses Ekstrksi dan Fraksinasi	25
Gambar 4.2 Hasil uji alkaloid pada ekstrak daun senggugu	27
Gambar 4.3 Skrining senyawa terpenoid/ steroid bebas bebas pada ekstrak dan fraksi daun senggugu	28
Gambar 4.4 Skrining senyawa fenolat pada ekstrak dan fraksi daun senggugu	29
Gambar 4.5 Skrining senyawa flavonoid pada ekstrak dan fraksi daun senggugu	30

DAFTAR RUMUS

Rumus 3.1 Rendemen ekstraksi.....	18
Rumus 3.2 % Penghambatan aktivitas antibakteri.....	23



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara berkembang di Asia Tenggara. Sebagai negara berkembang di daerah tropis, Indonesia masih memiliki banyak permasalahan di bidang kesehatan, salah satu diantaranya adalah penyakit infeksi. Penyakit infeksi merupakan kontributor penyebab morbiditas dan mortalitas yang cukup besar hingga saat ini (Suwarto, 2019). Menurut *Global Report for Research on infectious diseases of poverty*, penyakit infeksi bertanggung jawab atas kematian lebih dari 8,7 juta orang di seluruh dunia pada tahun 2008 (World Health Organization, 2012). Penyakit infeksi disebabkan invasi mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, jamur maupun parasit ke dalam tubuh dan dapat menyebar dari satu orang ke orang lain baik secara langsung maupun tidak langsung (WHO, 2016).

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diatasi dengan menggunakan antibiotik. Antibiotik memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan dan menghancurkan mikroorganisme di dalam tubuh. Beberapa tahun terakhir penggunaan antibiotik mengalami masalah terkait dengan peningkatan resistensi beberapa bakteri terhadap berbagai jenis antibiotik (*Multi Drug Resistance*) (Rahayu, 2011). Salah satu contoh bakteri yang mengalami peningkatan resistensi adalah *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (Oliveira dkk., 2002).

S. aureus adalah bakteri gram positif yang paling sering menyebabkan infeksi pada manusia dan menjadi penyebab paling umum infeksi pada pasien yang dirawat di rumah sakit (McCarthy dkk., 2015). Bakteri tersebut dapat menyebabkan berbagai infeksi serius seperti bakteremia, infeksi kulit dan jaringan yang lunak, osteomielitis, pneumonia, dan infeksi saluran kemih (Taylor dan Unakal, 2018a). *S. aureus* memiliki kemampuan adaptasi yang luar biasa sehingga dapat mengalami resisten pada banyak antibiotik. Kasus resistensi terhadap *S. aureus* pertama kali muncul sekitar 60 tahun yang lalu yaitu resistensi *S. aureus* terhadap *Penicillin*, kemudian muncul istilah *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA),

MRSA merupakan *strain* dari *S. aureus* yang telah mengalami resistensi terhadap beberapa jenis antibiotik golongan β laktam termasuk *penicillin*, *cephalosporin* dan *carbapenem*. Selain itu, resistensi silang juga terjadi pada antibiotik non- β laktam seperti eritromisin, klindamisin, gentamisin, kotrimoksasol, dan siprofloksasin (Oliveira dkk., 2002).

Pencarian atau penelusuran agen antibakteri baru perlu dilakukan untuk mendapatkan alternatif antibiotik lain yang memiliki aktivitas terhadap mikroorganisme patogen (Zulkifli dkk., 2016). Salah satu cara untuk mendapatkan antibiotik baru adalah dengan memanfaatkan agen antibakteri yang bersumber dari tanaman seperti senggugu (*Rotheeca serrata* (L.)). Tanaman ini dapat ditemukan di beberapa tempat seperti hutan, padang ilalang maupun pekarangan rumah (Dalimartha, 1999). Masyarakat Indonesia telah mengenal senggugu sebagai tanaman obat, hampir semua bagian tanaman tersebut dapat digunakan untuk mengobati penyakit. Daun senggugu memiliki manfaat sebagai obat luka, bisul, borok berair, rematik, dan cacingan, buahnya digunakan untuk mengobati batuk, sedangkan akarnya dapat digunakan untuk mengobati wasir, gurah, asma dan batu ginjal (Dalimartha, 1999).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak akar senggugu memiliki aktivitas hepatoprotektif (Vidya dkk., 2007), antioksidan (Nasrudin dkk., 2017), antinosiseptif, antiinflamasi dan antipiretik (Narayanan dkk., 1999). Daunnya memiliki aktivitas antioksidan (Prasad dkk., 2012) dan antibakteri (Indriani, 2007). Pada penelitian oleh Indriani (2007) menunjukkan ekstrak aseton daun senggugu memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* dengan MIC sebesar 2 mg/mL, sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki MIC sebesar 3 mg/mL. Senyawa yang diduga bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri tersebut adalah alkaloid, terpenoid dan steroid (Indriani, 2007).

Berdasarkan uraian diatas maka pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi dari daun senggugu (*Rotheeca serrata* (L.)) terhadap *S. aureus* untuk mengetahui nilai konsentrasi yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 50% atau *Inhibitory Concentration 50*

% (IC_{50}). Metode ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut metanol, sedangkan fraksinasi dilakukan dengan partisi cair-cair menggunakan corong pisah. Pelarut yang digunakan adalah heksana, diklorometana, dan etil asetat. Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode mikrodilusi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apa saja golongan senyawa kimia dari ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat dan residu daun senggugu (*Rotheeca serrata* (L.))?
2. Berapakah *Inhibitory Concentration 50 %* (IC_{50}) ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat dan residu daun senggugu (*Rotheeca serrata* (L.)) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, tujuan penelitian ini adalah untuk :

1. Mengetahui golongan senyawa kimia dari ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat dan residu daun senggugu (*Rotheeca serrata* (L.)).
2. Mengetahui nilai IC_{50} dari ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, dan residu daun senggugu (*Rotheeca serrata* (L.)) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang ingin didapatkan dari penelitian ini antara lain:

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang potensi daun senggugu (*Rothecea serrata* (L.) Steane & Mabb) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai referensi untuk isolasi senyawa baru dalam penelitian dan pengembangan obat antibakteri.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Infeksi Bakteri

2.1.1 Infeksi Bakteri

Penyakit infeksi merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, parasit atau jamur yang dapat menyebar secara langsung maupun tidak langsung dari satu orang ke orang lain (WHO, 2016). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia mengkategorikan penyakit menular infeksi berdasarkan cara penularannya yaitu melalui: (1) udara, contohnya adalah tuberkulosis, pneumonia, serta penyakit infeksi saluran pernafasan akut (ISPA); (2) makanan, minuman, atau air, contohnya adalah diare dan hepatitis; (3) vektor, contohnya adalah malaria, dengan prevalensi tertinggi yaitu penyakit Infeksi Saluran Pernafasan Akut (ISPA) yang memiliki angka prevalensi sebesar 25 persen (RISKESDAS, 2013).

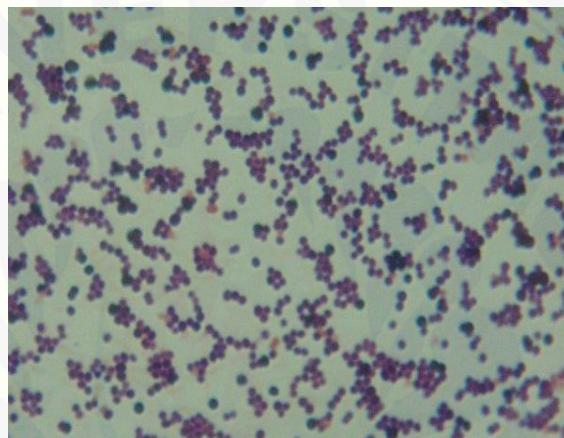
Bakteri patogen merupakan salah satu faktor penyebab dari penyakit infeksi. Patogenesis dari infeksi bakteri dapat terjadi melalui beberapa tahap yaitu proses penempelan atau pelekatan bakteri pada sel inang terutama sel epitel hingga terbentuk tempat infeksi, kemudian terbentuk bakteri yang akan berkembang biak dan menyebar luas melalui jaringan serta peredaran darah sistemik (Brooks dkk., 2013).

Berdasarkan karakteristik dinding selnya bakteri pathogen dibedakan menjadi bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif adalah penyebab infeksi yang berasal dari rumah sakit dan beberapa infeksi serius lainnya (Tally dan DeBruin, 2000). Contoh infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram positif adalah infeksi kulit dan jaringan lunak, osteomyelitis, meningitis, saluran cerna, dan infeksi saluran kemih serta pneumonia (Taylor dan Unakal, 2018a). Beberapa contoh bakteri gram positif yang menjadi penyebab dari infeksi antara lain *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Enterococcus* (Menichetti, 2005; Koda-Kimble dkk., 2009; Li dkk., 2017).

2.1.2 *Staphylococcus aureus*

Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>Aureus</i>

(VetBact.org, 2018)



Gambar 2.1 Morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* 25923 (Sumber : VetBact.org, 2018)

S. aureus adalah bakteri gram positif yang memiliki diameter 0,7-1,2 μm , berbentuk bulat (*coccus*) dan membentuk koloni seperti buah anggur, bakteri ini tidak berspora, tidak bergerak dan dapat tumbuh pada suhu optimum 37 °C. *S. aureus* mampu menghasilkan isolat lebih dari 90% yang diketahui mempunyai kapsul polisakarida yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz dkk., 2007).

S. aureus merupakan bakteri gram positif patogen oportunistik yang dapat menyebabkan infeksi spektrum luas, infeksi berat, dan penyakit invasif yang mematikan. Bakteri ini muncul sebagai patogen atau penyebab utama untuk penyakit infeksi nosokomial dan infeksi komunitatif (Kadariya dkk., 2014). Penyakit infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* contohnya seperti bisul, mastitis, pneumonia, meningitis, endokartitis dan lain-lain. *S. aureus* banyak hidup di permukaan kulit dengan karakter yang tahan terhadap perlakuan fisik atau enzim, tetapi lebih sensitif dengan antibakteri (Taylor dan Unakal, 2018b). Tahapan

patogenesis infeksi *S. aureus* adalah sebagai berikut: (1) kolonisasi; (2) infeksi lokal; (3) penyebaran sistemik; (4) infeksi metastasis; dan (5) toksinosis.

2.2 Senggugu (*Rothecea serrata* (L))

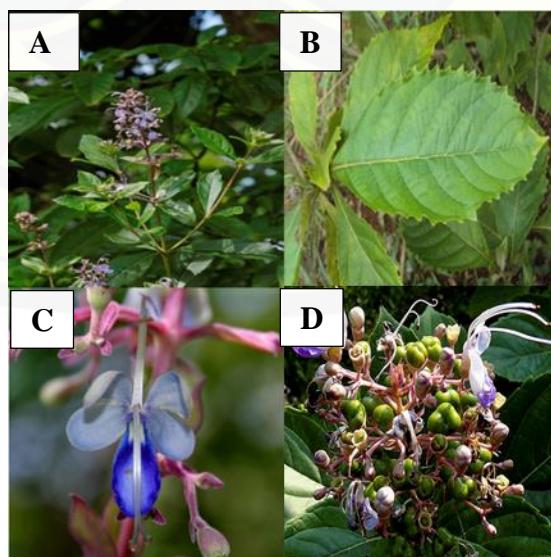
2.2.1. Klasifikasi Taksonomi

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Lamiales
Famili	: Lamiaceae
Genus	: Rothecea
Spesies	: <i>Rothecea serrata</i> (L.) Steane & Mabb (ITIS, 2017)

2.2.2. Nama Lokal dan Sebaran Tumbuh

Tanaman Senggugu tersebar luas di seluruh dunia, terutama di daerah tropis dan hangat seperti Afrika dan Asia (Jayashree dan Swaroopa, 2012). Di Indonesia tanaman ini dikenal dengan nama baunkudu (Batak), singgugu (Sunda), srigunggu (Jawa), pinggir tosek (Madura) (Dalimartha, 1999).

2.2.3. Deskripsi Tanaman



Gambar 2.2 Senggugu A) tanaman, B) daun, C) bunga, D) buah (Facciola, 1998)

Senggugu merupakan semak dengan ketinggian dapat mencapai 90-250 cm, Batangnya berbentuk bersegi empat tumpul, dan tidak terlalu banyak bercabang, sedangkan daunnya merupakan daun tunggal dengan letak saling berhadapan. Daun senggugu berbentuk bulat telur sampai lonjong dengan pangkal dan ujungnya runcing serta tepinya bergerigi. Senggugu memiliki bunga majemuk berwarna ungu kebiruan. Akarnya halus saat masih muda dan berubah menjadi keras, berkayu dan berbentuk silindris saat sudah tua, sedangkan buahnya merupakan *drupe* kasar yang memiliki 4 lobus dan berwarna ungu dengan panjang sekitar 5-14 mm dan lebar 5-8 mm (Singh dkk., 2012).

2.2.4. Kandungan Kimia Senggugu

Kandungan Kimia yang ada pada senggugu diantaranya adalah saponin, polifenol, flavonoid, dan karbohidrat. Saponin dari senggugu mengandung sejumlah besar triterpenoid dan sterol (Patel dkk., 2014).

Terpenoid telah dikaitkan dengan berbagai aktivitas farmakologis seperti antivirus, antibakteri, antimalaria, antiinflamasi, penghambatan sintesis kolesterol dan aktivitas antikanker. Beberapa terpenoid yang berhasil diisolasi dari senggugu adalah asam oleanolat, asam queretaroat dan asam seratagena yang diisolasi dari kulit batang serta asam ursolat yang diisolasi dari batang dan akar tanaman (Liu, 1995).

Sterol ditemukan pada tanaman ini dalam bentuk glikosida, contoh sterol yang berhasil diisolasi adalah β -sitosterol yang merupakan konstituen utama yang terdapat dalam batang dan juga γ -sitosterol yang ditemukan di akar (Shrivastava dan Patel, 2007).

2.2.5. Manfaat Senggugu

Tanaman senggugu telah banyak digunakan sebagai obat oleh masyarakat di India, China, Thailand, Korea, Jepang, dan Indonesia. Masyarakat India menggunakan senggugu untuk mengobati penyakit sipilis, tipoid, kanker, penyakit kuning, dan hipertensi (Shrivastava dan Patel, 2007). Di Indonesia tanaman ini juga digunakan sebagai obat tradisional yaitu seperti daunnya untuk obat luka, bisul, borok berair, rematik, dan cacingan, buahnya juga digunakan untuk mengobati

batuk, sedangkan akarnya dapat digunakan untuk mengobati wasir, gurah, asma dan batu ginjal (Dalimarta, 1999).

Beberapa penelitian telah dilakukan terkait aktivitas farmakologi dari tanaman senggugu diantaranya adalah antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, antikanker dan hepatoprotektif. Aktivitas farmakologi Senggugu tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Aktivitas Farmakologi Senggugu (*Rothecea serrata* (L.))

Aktivitas Farmakologi	Hasil Uji	Referensi
Aktivitas Antioksidan	Pengujian radikal bebas menggunakan DPPH, ekstrak etil asetat akar senggugu menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} $30.968 \pm 0.686 \mu\text{g/mL}$	(Nasrudin dkk., 2017)
Aktivitas Antikanker	Uji in vivo menggunakan sel Dalton's Lymphoma Ascites (DLA), Ekstrak metanol dan ekstrak air dari akar senggugu dengan dosis 100 mg/KgBB dan 200 mg/kgBB. Ekstrak metanol akar senggugu menunjukkan aktivitas antikanker yang signifikan dibandingkan dengan ekstrak air.	(Zalke dkk., 2010)
Aktivitas Antibakteri	Ekstrak etanol dari daun senggugu (<i>Rothecea serrata</i> (L.)) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram negatif <i>Klebsiella pneumonia</i> dan <i>Proteous sp.</i> , dengan zona penghambatan sekitar 10 mm dan MIC 40 μL untuk masing- masing bakteri. Ekstrak aseton daun senggugu (<i>Rothecea serrata</i> (L.)) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>Sphyllococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> dan <i>Bacillus subtilis</i> dengan MIC sebesar 2 mg/mL, sedangkan pada bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dmemiliki MIC sebesar 3 mg/mL	(Prasad dkk., 2012;Indri ani, 2007)
Aktivitas Antiinflamasi	Ekstrak akar etanol dari senggugu menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang signifikan pada edema yang diinduksi karagenan pada tikus dan juga kelinci pada konsentrasi 50, 100 dan 200 mg / kgBB	(Narayanan dkk., 1999)
Hepatoprotektif	Pemberian ekstrak alkohol akar senggugu (20mg/kgBB) selama dua minggu, mampu menurunkan level dari serum bilirubin yang merupakan enzim penanda fungsi hati pada tikus yang diinduksi dalam karbon tetraklorida (CCl_4)	(Vidya dkk., 2007)

2.3 Ekstraksi dan Fraksinasi

2.3.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014). Terdapat beberapa metode ekstraksi yang umum digunakan untuk bahan alam diantaranya maserasi, ultrasonikasi, perkolası, *soxhlet*, digesti, refluks, infusa, dan dekok (Sarker dan Nahar, 2012). Pemilihan metode tersebut tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sehingga sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar dan dapat dibantu dengan pengadukan oleh *magnetic stirrer* (Mukhriani, 2014). Pengadukan tersebut bertujuan proses ekstraksi tidak memerlukan waktu yang cukup lama untuk mendapatkan maserat (Azmir dkk., 2013). Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kemudian maserat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C kecepatan 90 rpm untuk memisahkan pelarut dengan kandungan senyawanya (Reo dkk., 2017). Pada penelitian ini menggunakan metode maserasi karena penggerjaannya yang mudah dan sederhana, tanpa pemanasan sehingga tidak merusak senyawa, serta tidak memerlukan alat khusus (Azwanida, 2015). Sedangkan kekurangan dari metode ini adalah besar kemungkinan beberapa senyawa hilang karena beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar.

2.3.2 Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu senyawa atau golongan senyawa dari sebuah campuran senyawa berdasarkan sifat fisika kimia, seperti polaritas, kelarutan, titik didih, dan tetapan dielektrik. Teknik fraksinasi yang umum digunakan untuk memisahkan senyawa diantaranya partisi cair-cair, destilasi, kristalisasi, dan kromatografi yang meliputi kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi kolom, dan *High Pressure Liquid Chromatography* (HPLC) (Sarker dan Nahar, 2012).

Pada penelitian ini menggunakan metode fraksinasi dengan teknik partisi cair-cair. Prosedur kerja dari metode ini dengan menambahkan cairan dalam ekstrak yang dilarutkan dengan cairan lain yang tidak bercampur untuk membentuk dua fase. Metode partisi cair-cair ini mengandung prinsip *like dissolve like*, yaitu kepolaran senyawa dengan pelarut itu penting untuk mengetahui tingkat kelarutan senyawa antar dua fase (Houghton dan Raman, 2012). Air yang bertindak sebagai fase polar ditambahkan pada sampel dan selanjutnya berurutan dengan menambahkah pelarut non polar. Pelarut non polar yang digunakan pada fraksinasi ini diantaranya heksana, etil asetat, dan diklorometana. Metode ini dipilih karena teknik penggerjaannya sederhana, tidak menggunakan alat khusus, memisahkan senyawa dalam jumlah banyak, biaya yang digunakan murah (Pereira dkk., 2013)

2.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa dari suatu sampel. Metode yang digunakan untuk skrining fitokimia adalah dengan menggunakan uji tabung atau bias juga menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode KLT yaitu dengan menotolkan ekstrak atau fraksi yang akan diuji pada lempeng KLT kemudian dieluasi dengan eluen yang sesuai untuk mendeteksi adanya golongan senyawa tertentu (Harborne, 1980). Metode KLT dipilih karena hanya membutuhkan sampel dengan jumlah sedikit dan lebih sensitif dibandingkan dengan uji tabung.

2.5 Uji Antibakteri

Dalam upaya penemuan antibakteri baru yang perlu diperhatikan adalah pemilihan metode uji antibakteri. Terdapat beberapa metode uji antibakteri secara *in vitro* seperti difusi, KLT bioautografi, dilusi, waktu pembunuhan, ATP *bioluminescence*, dan *Flow cytofluorometri* (Balouiri dkk., 2016). Pada penelitian uji antibakteri ini menggunakan metode dilusi.

Metode dilusi atau pengenceran merupakan metode kuantitatif untuk menentukan nilai *Inhibitory concentration 50%* (IC_{50}) pada uji antibakteri karena dapat memperkirakan konsentrasi zat antimikroba yang diuji pada media cair. IC_{50} adalah konsentrasi yang diperlukan dari senyawa uji untuk menghambat 50% dari bakteri uji. Pada metode dilusi melibatkan pengenceran dalam pembuatan senyawa uji dalam rentang dua kali lipat (*two-fold dilution*) misalnya (1, 2, 4, 8, 16 dan 32 $\mu\text{g/ml}$) dalam 2 mL media cair untuk makrodilusi atau menggunakan volume yang lebih kecil menggunakan pelat 96 sumuran untuk mikrodilusi. Pada metode mikrodilusi selanjutnya dilakukan pengenceran bakteri uji sesuai standar Mc Farland 0,5 dan menginokulasikannya pada sumuran. Setelah dihomogenkan, *microplate* diinkubasi dengan kondisi yang sesuai dan penghambatan pertumbuhan bakteri diukur. Mikrodilusi memiliki keuntungan lebih ekonomis karena penggunaan sampel yang tidak terlalu banyak (Balouiri dkk., 2016).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun senggugu (*Rothecea serrata* (L.) Steane & Mabb) terhadap *Staphylococcus aureus* merupakan jenis penelitian *true experimental laboratories*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium *Drug Utilisation and Discovery Research Group* Fakultas Farmasi, Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi, Laboratorium Teknologi Sediaan Steril Fakultas Farmasi dan Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember mulai bulan Februari 2019 hingga selesai.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat

Pada penelitian ini menggunakan alat seperti neraca analitik (ES 225SM-DR), seperangkat alat gelas, ayakan mesh 100, *blender*, spatula logam, jarum ose, mikropipet (Socorex dan Eppendorf), *yellow tip*, *blue tip*, eppendorf, pembakar spiritus, *orbital incubator* (Stuart SI600), *microplate flat bottom 96 wells* (Iwaki), *Laminar Air Flow* (LabGard AIR), *microplate reader* (Corona SH-1000), *hot plate* (UC152), *vortex* (GENIE2), corong pisah (Pyrex), cawan petri (Duran), autoklaf (TOMY ES-315), *orbital shaker* (Stuart SSL1), *rotary evaporator* (Strike 300), penyemprot reagen, *TLC chamber* (Duran).

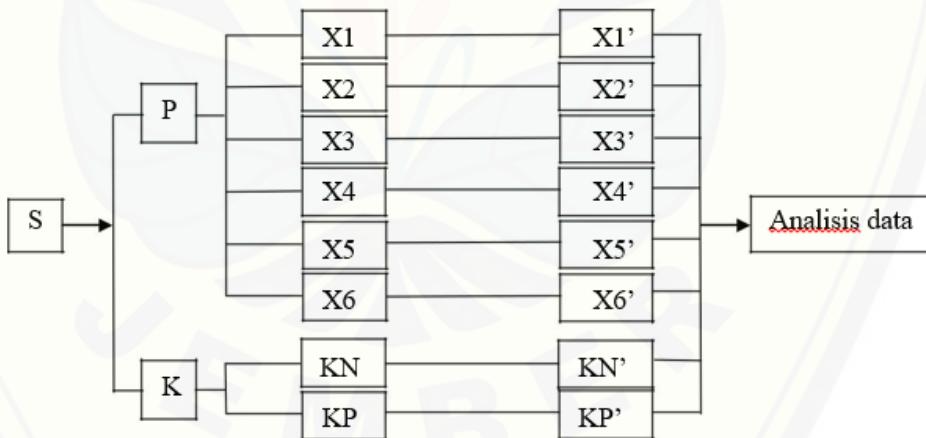
3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain simplisia daun senggugu dari Materia Medika Kota Batu Malang-Jawa Timur. Bahan yang digunakan untuk ekstraksi dan fraksinasi adalah metanol terdestil, heksana terdestil, diklorometan terdestil, etil asetat terdestil. Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri antara lain DMSO (Merck), aquades demineralisata

(Hydrobatt), parafilm (M Parafilm), CaCl₂ dan MgCl₂ (Brataco). Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri *S. aureus* ATCC 25923. Media bakteri yang digunakan antara lain *Mueller Hinton Broth* (Merck) dan *Mueller Hinton Agar* (Merck). Zat pembanding antibakteri adalah gentamisin sediaan injeksi 40 mg/mL (Indofarma). Bahan kimia yang digunakan untuk skrining fitokimia antara lain butanol, asam asetat glasial, kloroform, reagen Dragendorff, KOH, anisaldehid asam sulfat, FeCl₃, vanilin, H₂SO₄, dan silika gel F₂₅₄(Merck).

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan fraksi heksana, diklorometana, dan etil asetat daun senggugu adalah *the post test control only group design*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode mikrodilusi. Penelitian terbagi atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol dan kelompok perlakuan akan diukur absorbansinya dan ditentukan nilai IC₅₀. Rancangan penelitian ditunjukkan Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian Uji

Keterangan:

- S = sampel
P = kelompok perlakuan
Q = kelompok kontrol
 X_{1-6} = kelompok perlakuan berbagai konsentrasi sampel
KN = kontrol negatif (DMSO 10%)
KP = kontrol positif (gentamisin injeksi 40 mg/mL)
 X_{1-6}' = data hasil pada kelompok perlakuan berbagai konsentrasi sampel
KN' = data hasil kontrol negatif (DMSO 10%)
KP' = data hasil kontrol positif (gentamisin injeksi 40 mg/mL)

3.5 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

3.5.1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah variasi konsentrasi dari ekstrak metanol dan fraksi heksana, diklorometana, dan etil asetat daun senggugu.

3.5.2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai *Inhibitory Concentration* 50% (IC₅₀) sampel uji terhadap *S. aureus* pada media *Cation Adjusted Mueller Hinton Broth* (CAMHB) setelah inkubasi 20 jam pada suhu 37°C.

3.5.3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah metode ekstraksi maserasi dengan pengadukan, *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Mueller Hinton Broth* (MHB) untuk peremajaan bakteri, *Cation Adjusted MHB* untuk uji mikrodilusi, biakan *S.aureus* ATCC 25923, waktu inkubasi, dan prosedur pengujian.

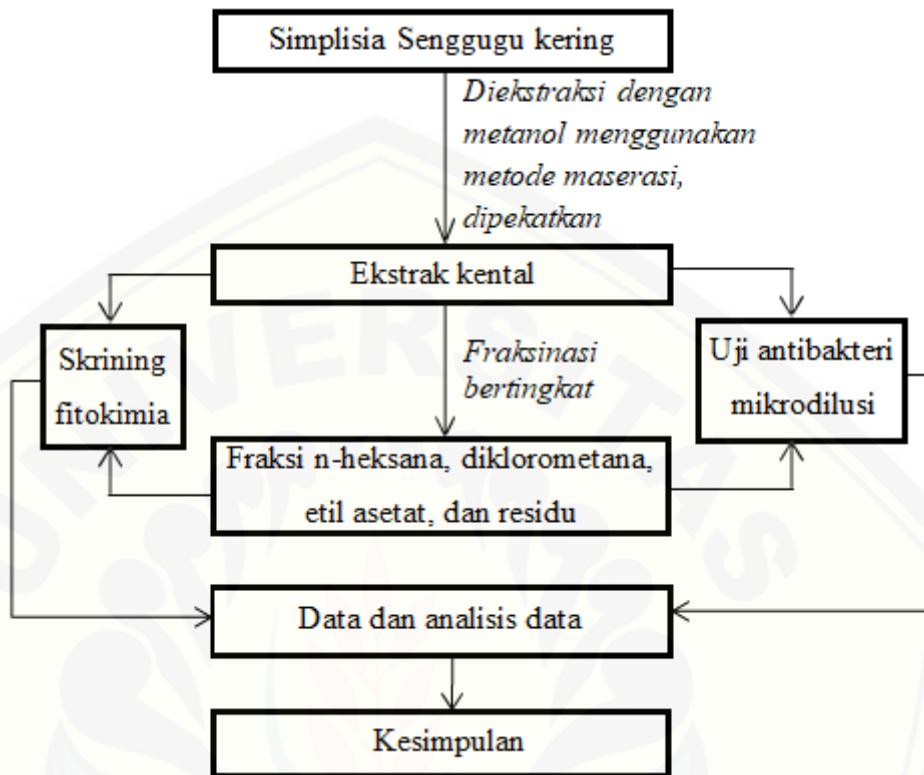
3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah

1. Simplisia daun senggugu yang digunakan pada penelitian ini dipesan dari Materia Medika Kota Batu Kabupaten Malang.
2. Pengecilan ukuran partikel simplisia kering daun senggugu dengan menggunakan *blender*.
3. Ekstraksi daun senggugu dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol dan dibantu pengadukan dengan *magnetic stirrer*.
4. Fraksinasi adalah metode untuk memisahkan senyawa dari suatu campuran. Fraksinasi menggunakan partisi cair-cair berdasarkan sifat kepolarannya. Pelarut polar dan non polar berturut-turut menggunakan heksana, etil asetat, dan diklorometana.
5. Bakteri yang digunakan yaitu bakteri *S. aureus* ATCC 25923.

3.7 Skema Penelitian

Skema prosedur dalam penelitian ini adalah:



Gambar 3.2 Skema prosedur penelitian

3.8 Prosedur Kerja

3.8.1. Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Senggugu

Simplisia kering daun senggugu yang diperoleh dari Materia Medika Kota Batu Malang dibersihkan dan dilakukan pengecilan ukuran partikel menggunakan *blender* sehingga diperoleh serbuk simplisia.

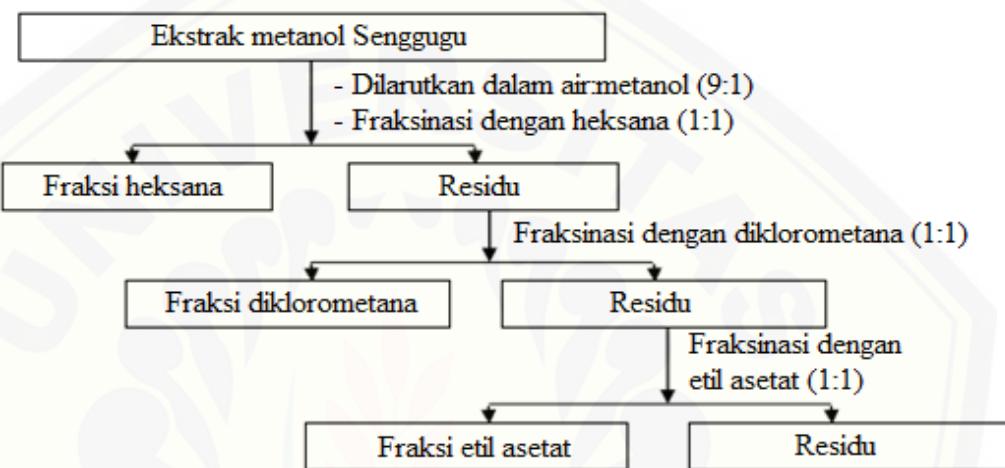
3.8.2. Pembuatan Ekstrak Daun Senggugu

Pembuatan ekstrak daun senggugu dilakukan secara maserasi dengan pengadukan. Ekstraksi dilakukan selama 24 jam kecepatan 200 rpm pada suhu ruangan dengan pengadukan yang dibantu *magnetic stirrer*. Hasil ekstraksi disaring dengan menggunakan corong *buchner*. Residu simplisia diremaserasi lagi dengan menambahkan pelarut yang sama hingga jernih. Maserat yang didapat kemudian digabung dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C kecepatan 90

rpm lalu ekstrak dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C. Rendemen hasil ekstraksi kemudian dihitung sesuai dengan rumus 3.1 :

3.8.3. Fraksinasi Ekstrak Daun Senggugu

Fraksinasi pada penelitian ini dilakukan dengan metode partisi cair – cair bertingkan berdasarkan skema pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Skema alur fraksinasi bertingkat daun senggugu

3.8.4. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan lempeng kromatografi lapis tipis (KLT).

a. Identifikasi Senyawa Golongan Alkaloid

Ekstrak dan fraksi daun senggugu ditimbang seberat 0,1 gram kemudian dilarutkan dalam metanol. Sejumlah larutan ditotolkan ke atas lempeng KLT kemudian dielusi dalam fase gerak toluen : etil asetat : metanol (7:2:1). Plat KLT yang telah dielusi kemudian dikeringkan dan disemprot dengan perekси Dragendorff. Noda berwarna jingga menunjukkan adanya alkaloid di dalam ekstrak.

b. Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid

Ekstrak dan fraksi ditimbang seberat 0,1 gram kemudian dilarutkan dalam metanol. Larutan kemudian ditotolkan di atas plat KLT dan dielusi pada lapisan atas dari campuran butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5). Setelah dielusi, plat

KLT dikeringkan dan diberi penampak noda uap amonia. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulkan warna kuning

c. Identifikasi Senyawa Polifenol

Ekstrak dan fraksi ditimbang seberat 0,1 gram kemudian dilarutkan dalam metanol. Larutan ditotolkan di atas plat KLT dan dielusi dengan menggunakan fase gerak kloroform : etil asetat : metanol (1:2:7). Setelah plat KLT dielusi dan dikeringkan, penampak noda berupa FeCl_3 disemprotkan kemudian dipanaskan selama 1-2 menit. Polifenol diindikasikan dengan timbulnya warna hitam.

d. Identifikasi Terpenoid atau Steroid Bebas

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

3.8.5. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode mikrodilusi. Pengujian dilakukan sesuai dengan protokol yang ditetapkan oleh *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI).

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat gelas, tip dan media yang akan digunakan dilakukan sterilisasi terlebih dahulu menggunakan autoklaf 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sebelum disterilisasi alat - alat dicuci, dikeringkan, dan dibungkus dengan kertas kayu. Alat yang tidak tahan terhadap pemanasan dapat dilakukan sterilisasi dengan menggunakan alkohol. Jarum ose dan pinset dapat disterilisasi dengan pemijaran.

b. Media Mueller Hinton Agar (MHA) untuk Peremajaan Bakteri

Sebanyak 9,5 gram *Muller Hinton Agar* (MHA) dilarutkan dalam *erlenmeyer* 250 mL aqua demineralisata. Suspensi yang diperoleh dipanaskan hingga larutan jenih kemudian disterilkan menggunakan autoklaf suhu 121°C dengan tekanan udara 1 atm selama 15 menit. Media MHA yang sudah steril dituang ke dalam cawan petri steril dalam kondisi aseptik dengan sejumlah

volume tertentu. Media dalam cawan petri steril dimasukkan dalam *Laminar Air Flow* (LAF) pada kondisi suhu ruang hingga memadat, kemudian di segel dengan parafilm.

c. Penyiapan Media CAMHB untuk uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Mikrodilusi

Media CAMHB dibuat dari *Mueller Hinton Broth* (MHB) yang ditambah dengan MgCl₂ dan CaCl₂. Media MHB dibuat dengan melarutkan 3,15 gram MHB dalam 50 mL aqua demineralisata. Media kemudian disterilisasi dengan autoklaf suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

Media MHB yang telah disterilisasi kemudian ditambahkan MgCl₂ dan CaCl₂ hingga konsentrasi Mg²⁺ 11,25 mg/L dan konsentrasi Ca²⁺ adalah 22,5 mg/L (CLSI, 2012). Larutan induk MgCl₂ dibuat dengan melarutkan 835,39 mg MgCl₂.6H₂O dalam 10 mL aquades demineralisata sehingga didapat konsentrasi 10 mg Mg²⁺/mL. Larutan induk CaCl₂ dibuat dengan melarutkan 366,81 mg CaCl₂.2H₂O dalam 10 mL aquades demineralisata sehingga didapat kadar 10 mg Ca²⁺/mL. Pada 150 mL media MHB yang telah disterilisasi, ditambahkan larutan induk MgCl₂ sebanyak 0,169 mL serta larutan induk CaCl₂ sebanyak 0,338 mL sehingga didapatkan konsentrasi 11,25 mg Mg²⁺ /L dan 22,5 mg Ca²⁺ /L.

d. Pembuatan Standar Mc Farland 0,5

Standar Mc Farland 0,5 dibuat dengan mencampurkan 0,05 ml BaCl₂ 1% dengan 9,95 mL H₂SO₄ 1% yang setara dengan 1-2 x 10⁸ CFU/mL (CLSI, 2012).

e. Peremajaan Biakan Murni

Peremajaan biakan murni bakteri dilakukan pada cawan petri yang berisi media MHA dengan cara menggoreskan sejumlah tertentu bakteri *S. aureus* ATCC 25923 secara aseptis dibawah LAF menggunakan jarum ose. Cawan petri di segel dengan parafilm, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator.

f. Pembuatan Suspensi Bakteri

Pada uji aktivitas antibakteri metode mikrodilusi, bakteri uji *S. aureus* dari kultur peremajaan biakan murni diambil sebanyak 2-3 koloni dengan ose secara aseptis dan disuspensikan secara homogen dalam media CAMHB. Biakan

tersebut kemudian disesuaikan kekeruhannya dengan Mc Farland 0,5 menggunakan bantuan spektrofotometer. Absorbansi yang ditargetkan adalah 0,08-0,13 menggunakan panjang gelombang 625 nm (CLSI, 2012). Biakan kemudian diencerkan hingga 100 kali dari konsentrasi awal sehingga didapat suspensi 1×10^6 CFU/mL sebagai biakan aktif.

g. Pembuatan Kontrol Negatif dan Kontrol Positif

1) Kontrol Negatif

Kontrol negatif untuk uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi adalah DMSO 1% dalam media CAMHB.

2) Kontrol Positif

Kontrol positif yang digunakan adalah gentamisin sediaan injeksi 40 mg/mL yang diencerkan dengan CAMHB menjadi 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sebagai larutan induk. Larutan induk kemudian diencerkan menjadi 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dan 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

h. Pembuatan Larutan Uji

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

i. Uji Antibakteri

Preparasi untuk uji aktivitas antibakteri dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Media CAMHB sebanyak 50 μL , biakan aktif bakteri (dalam media CAMHB) sebanyak 50 μL , kontrol negatif DMSO 1% sebanyak 50 μL , kontrol positif gentamisin sebanyak 50 μL , serta ekstrak atau fraksi daun senggugu tiap konsentrasi sebanyak 50 μL dimasukkan ke dalam *microplate-96-well* sebanyak tiga kali replikasi sesuai dengan pemetaan pada Gambar 3.4. Volume akhir tiap sumuran adalah 100 μL . *Microplate* diinkubasi selama 20 jam pada suhu 37°C. Data hasil pengujian didapat dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 625 nm menggunakan *microplate reader*.

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

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

Gambar 3.4 Pemetaan mikrodilusi *microplate-96-well*

Keterangan:

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

3.8.6. Analisis Data

Pada penelitian ini, uji skrining fitokimia akan menghasilkan data berupa perubahan warna sesuai kandungan pada ekstrak atau fraksi yang diuji. Uji aktivitas antibakteri dengan metode mikrodilusi akan menghasilkan data absorbansi.

Tingkat penghambatan bakteri berdasarkan data hasil uji aktivitas antibakteri metode mikrodilusi dapat dihitung dengan rumus 3.2:

(dimodifikasi dari Quave dkk., 2008 dalam Ardani dkk., 2010)

Keterangan:

Abs = Absorbansi

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

Q = kontrol media (DMSO 1% atau media)

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

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

IC_{50} didapatkan dengan menggunakan analisis probit, selanjutnya dilakukan uji *one way* ANOVA untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna dari masing masing kelompok uji, kemudian dilanjutkan dengan *post hoc* untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan bermakna dengan $p<0,05$ dan tingkat kepercayaan 95%.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian, kesimpulan yang dapat diambil yaitu:

1. Ekstrak metanol daun senggugu mengandung golongan senyawa kimia terpenoid/ steroid bebas, polifenol dan flavonoid. Fraksi heksana dan fraksi diklorometana mengandung terpenoid/ steroid bebas. Fraksi etil asetat dan residu mengandung polifenol dan flavonoid.
2. Nilai IC_{50} ekstrak metanol sebesar $463,214 \pm 1,829 \mu\text{g/mL}$, fraksi heksana sebesar $323,729 \pm 2,025 \mu\text{g/mL}$, fraksi diklorometana sebesar $441,060 \pm 7,641 \mu\text{g/mL}$, fraksi etil asetat sebesar $650,296 \pm 4,053 \mu\text{g/mL}$, dan residu sebesar $724,929 \pm 8,181 \mu\text{g/mL}$.

5.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian ini adalah sebagai berikut

1. Perlu dilakukan penelitian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun senggugu terhadap bakteri lain.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk isolasi senyawa yang berperan sebagai antibakteri
3. Perlu dilakukan penelitian aktivitas biologis lain dari senggugu

DAFTAR PUSTAKA

- Ali Jimale Mohamed. 2012. Antioxidant, antiangiogenic and vasorelaxant activities of methanolic extract of clerodendrum serratum (spreng.) leaves. *Journal of Medicinal Plants Research.* 6(3):348–360.
- Aziz Abdur Rahman, M., A. Zafrul Azam, dan M. Gafur. 2000. *In Vitro Antibacterial Principles of Extracts and Two Flavonoids from Clerodendrum Indicum Linn*
- Azmir, J., I. S. M. Zaidul, M. M. Rahman, K. M. Sharif, A. Mohamed, F. Sahena, M. H. A. Jahurul, K. Ghafoor, N. A. N. Norulaini, dan A. K. M. Omar. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *Journal of Food Engineering.* 117(4):426–436.
- Azwanida, N. 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants.* 04(03)
- Balouiri, M., M. Sadiki, dan S. K. Ibnsouda. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis.* 6(2):71–79.
- Bori, R. M. dan R. M. Borik. 2013. Isolation and structural characterization of a steroidial antimicrobial agent from. *World Journal of Chemistry.* 8(2):48–54.
- Brooks, G. F., K. C. Carroll, J. S. Butel, S. A. Morse, dan T. A. Mietzner. 2013. *Medical Microbiology.* Edisi 26th. North America: Appleton & Lange.
- CLSI. 2012. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Ninth Edition.* Wayne. 2. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Cos, P., A. J. Vlietinck, D. Vanden Berghe, dan L. Maes. 2006. Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro “proof-of-concept”. *Journal of Ethnopharmacology.* 106(3):290–302.
- Dalimarta, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 1.* Jakarta: Puspa Swara.
- EEC. 2009. Commission regulation (ec) no 152/2009 of 27 january 2009 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed. *Official Journal of the European Union.* L 054, 26.(152):1–170.
- Facciola, S. 1998. *Cornucopia II: A Source Book of Edible Plants, Rotheca Serrata (L.) Steane & Mabb.* Kampong Publications.

- Harborne, J. B. 1980. *Phytochemical Methods*. London: Chapman and Hall.
- Houghton, P. J. dan A. Raman. 2012. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. Springer.
- Indriani, N. 2007. Aktivitas antibakteri daun senggugu (clerodendron serratum [l.] spr.)
- ITIS. 2017. *Catalogue of Life : Annual Checklist*. Species 2000.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Jayashree, G. dan P. Swaroopa. 2012. *Rothea serrata*: an overview. 185.
- Kadariya, J., T. C. Smith, dan D. Thapaliya. 2014. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. *BioMed Research International*. 2014:827965.
- Karou, S. D., M. Dicko, J. Simpore, dan A. Traore. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of burkina faso. *African Journal Of Biotechnology*. 4:823–828.
- Koda-Kimble, M. A., L. Y. Young, B. K. Alldredge, R. L. Corelli, B. J. Guglielmo, W. A. Kradjan, dan B. R. Williams. 2009. *Applied Therapeutics: The Clinical Use of Drugs Ninth Edition*. Philadelphia, Pennsylvania USA.
- Kumar, P. 2013. Phyto-chemical and pharmacological profiles of clerodendrum serratum linn. (bharngi): a review. *Int. J. Res. Ayurveda Pharm.* 4(2)
- Li, Y., L. Yang, J. Fu, M. Yan, D. Chen, dan L. Zhang. 2017. Microbial pathogenicity and virulence mediated by integrons on gram-positive microorganisms. *Microbial Pathogenesis*. 111:481–486.
- Liu, J. 1995. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology*. 49(2):57–68.
- McCarthy, H., J. K. Rudkin, N. S. Black, L. Gallagher, E. O'Neill, dan J. P. O'Gara. 2015. Methicillin resistance and the biofilm phenotype in *staphylococcus aureus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 5:1.
- Menichetti, F. 2005. Current and emerging serious gram-positive infections. *Clinical Microbiology and Infection*. 11:22–28.
- Mujeeb, F., P. Bajpai, dan N. Pathak. 2014. Phytochemical evaluation, antimicrobial activity, and determination of bioactive components from leaves of aegle marmelos. *BioMed Research International*. 2014:497606.

- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*. VII(2):361–367.
- Narayanan, N., P. Thirugnanasambantham, S. Viswanathan, V. Vijayasekaran, dan E. Sukumar. 1999. Antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic effects of ethanol extract of clerodendron serratum roots in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*. 65(3):237–241.
- Nasrudin, N., M. Mustofa, dan R. Asmah. 2017. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit akar senggugu (clerodendrum serratum) asal imogiri, yogyakarta. *E-Publikasi Fakultas Farmasi*. 0(0):112–117.
- Oliveira, D. C., A. Tomasz, dan H. de Lencastre. 2002. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of meticillin-resistant staphylococcus aureus. *The Lancet. Infectious Diseases*. 2(3):180–189.
- Patel, J. J., S. R. Acharya, dan N. S. Acharya. 2014. Clerodendrum serratum (l.) moon. – a review on traditional uses, phytochemistry and pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*. 154(2):268–285.
- Pereira, J., J. Gonçalves, V. Alves, dan J. S. Câmara. 2013. Microextraction using packed sorbent as an effective and high-throughput sample extraction technique: recent applications and future trends. *Sample Preparation*. 1:38–53.
- Prasad, M. P., S. Sushant, dan B. K. Chikkaswamy. 2012. Phytochemical analysis , antioxidant potential , antibacterial activity and molecular characterization of clerodendrum species. *International Journal of Molecular Biology*. 3(3):71–76.
- Rahayu, E. U. 2011. Antibiotika, resistensi, dan rasionalitas terapi. *El-Hayah*. 1(4):191–198.
- Ramirez-Ronda, C. H., R. K. Holmes, dan J. P. Sanford. 1975. Effects of divalent cations on binding of aminoglycoside antibiotics to human serum proteins and to bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 7(3):239–245.
- Reo, A. R., S. Berhimpon, dan R. Montolalu. 2017. Metabolit sekunder gorgonia (paramuricea clavata). *Jurnal Ilmiah Platax*. 5(1):42–48.
- RISKESDAS. 2013. *Penyakit Yang Ditularkan Melalui Udara*. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.
- rondang tambun, D. 2016. Fenol dari lengkuas merah influence of particle size , time

- and temperature to extract phenol. *Teknik Kimia USU, Vol. 5, No. 4 (Desember 2016)*. 5(4):53–56.
- Sarker, S. . dan L. Nahar. 2012. *Natural Products Isolation Third Edition: Methods and Protocols*. Edisi 3. London: Humana Press.
- Sathish, M., R. Priyadarsini, P. G. Sunitha, dan T. Saraswathy. 2013. *Antimicrobial Activity Of The Extracts And Isolated Compounds Of Clerodendrum Phlomidis*
- Sheel, R. dan K. Nisha. 2014. *Qualitative Phytochemical Analysis for Isolation of Terpens from Clerodendron Infortunatum Leaves*
- Shrivastava, N. dan T. Patel. 2007. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology ©2007 Global Science Books Clerodendrum and Healthcare: An Overview-Part II Phytochemistry and Biotechnology*
- Singh, M. K., G. Khare, S. K. Iyer, G. Sharwan, dan D. K. Tripathi. 2012. Clerodendrum serratum: a clinical approach
- Suwarto, S. 2019. Penyakit tropik dan infeksi pada abad 21 : apakah masih relevan ? 77–78.
- Tally, F. P. dan M. F. DeBruin. 2000. Development of daptomycin for gram-positive infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 46(4):523–526.
- Taylor, T. A. dan C. G. Unakal. 2018a. *Staphylococcus Aureus*. StatPearls Publishing. *StatPearls*.
- Taylor, T. A. dan C. G. Unakal. 2018b. *Staphylococcus Aureus*. *StatPearls*.
- VetBact.org. 2018. VetBact-Staphylococcus Aureus
- Vidya, S. M., V. Krishna, B. K. Manjunatha, K. L. Mankani, M. Ahmed, dan S. D. J. Singh. 2007. Evaluation of hepatoprotective activity of clerodendrum serratum l. *Indian Journal of Experimental Biology*. 45(6):538–542.
- WHO. 2016. WHO | Infectious Diseases
- World Health Organization. 2012. Global report for infectious diseases of poverty 2012. 1–168.
- Yashashri, H., J. Akshay S, K. Sagar, dan C. Prmod. 2017. *Application of Magnetic Stirrer for Influencing Extraction Method on Tectona Grandis as Analgesic Activity*
- Zalke, A., A. V Kulkarni, D. S. Shirode, dan B. Duraiswamy. 2010. In vivo anticancer activity of clerodendrum serratum (l) moon. *Research Journal of Pharmaceutical,*

Biological and Chemical Sciences. 1:89–98.

Zulkifli, L., D. S. D. Jekti, N. Lestari, dan D. A. C. Rasmi. 2016. Isolasi bakteri endofit dari sea grass yang tumbuh di kawasan pantai pulau lombok dan potensinya sebagai sumber antimikroba terhadap bakteri patogen 1). 16(2):80–93.

LAMPIRAN

Lampiran A. Perhitungan Rendemen Ekstrak Metanol, Fraksi Heksana, Fraksi Diklorometana, Fraksi Etil Asetat dan Residu Daun Senggugu (*Rotheca serrate* (L) Steane & Mabb).

1. Rendemen Ekstrak Metanol



Berat serbuk kering senggugu	= 15,7399 gram
Berat wadah + ekstrak kering	= 15,7121 gram
Berat wadah kosong	= 11,2948 gram
Ekstrak kering	= 4,4173 gram
Rendemen ekstrak metanol	$= \frac{\text{Berat ekstrak kering}}{\text{Berat serbuk kering}} \times 100\%$ $= \frac{4,4173 \text{ gram}}{15,7399 \text{ gram}} \times 100\%$ $= 28,064\%$

2. Rendemen Fraksi Heksana



Berat ekstrak untuk fraksi heksana	= 1,044 gram
Berat wadah + fraksi heksana	= 100,2759 gram
Berat wadah kosong	= 100,1829 gram
Fraksi heksana	= 0,0921 gram
Rendemen fraksi heksana	$= \frac{\text{Berat fraksi kering}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\%$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{0,0921 \text{ gram}}{1,044 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 8,82\%
 \end{aligned}$$

3. Rendemen Fraksi Diklorometana



Berat ekstrak untuk fraksi diklorometana	= 1,044 gram
Berat wadah + fraksi diklorometana	= 96,3590 gram
Berat wadah kosong	= 96,2927 gram
Fraksi diklorometana	= 0,0663 gram
Rendemen fraksi diklorometana	$ \begin{aligned} &= \frac{\text{Berat fraksi kering}}{\text{Berat ekstrak kering}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0663 \text{ gram}}{1,044 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 6,35\% \end{aligned} $

4. Rendemen Fraksi Etil Asetat



Berat ekstrak untuk fraksi etil asetat	= 1,044 gram
Berat wadah + fraksi etil asetat	= 100,0926 gram
Berat wadah kosong	= 99,7553 gram
Fraksi Etil Asetat	= 0,3373 gram
Rendemen fraksi etil asetat	$ \begin{aligned} &= \frac{\text{Berat fraksi kering}}{\text{Berat ekstrak kering}} \times 100\% \\ &= \frac{0,3373 \text{ gram}}{1,044 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 32,31\% \end{aligned} $

5. Rendemen Residu



Berat ekstrak untuk residu	= 1,044 gram
Berat wadah + residu	= 103,6135 gram
Berat wadah kosong	= 103,0663 gram
Residu	= 0,5472 gram
Rendemen Residu	$\begin{aligned} &= \frac{\text{Berat residu kering}}{\text{Berat ekstrak kering}} \times 100\% \\ &= \frac{0,5472 \text{ gram}}{1,044 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 52,41\% \end{aligned}$

Lampiran B. Perhitungan Pembuatan Media CAMHB

1. Pembuatan larutan induk MgCl₂

Bahan	= MgCl ₂ .6H ₂ O (Berat molekul= 203,3027 g/mol)
Berat Molekul MgCl ₂	= 95,211 g/mol
Berat Molekul Mg ²⁺	= 24,305 g/mol

Dibutuhkan larutan induk MgCl₂ dengan konsentrasi 10 mg/mL Mg²⁺.

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah MgCl}_2 \text{ dibutuhkan} &= \frac{BM \text{ MgCl}_2}{BM \text{ Mg}^{2+}} \times 10 \text{ mg/mL} \\
 &= \frac{95,211 \text{ g/mol}}{24,305 \text{ g/mol}} \times 10 \text{ mg/mL} \\
 &= 39,123 \text{ mg/mL} \\
 \text{Jumlah MgCl}_2\text{.6H}_2\text{O dibutuhkan} &= \frac{BM \text{ MgCl}_2\text{.6H}_2\text{O}}{BM \text{ MgCl}_2} \times 39,123 \text{ mg/mL} \\
 &= \frac{203,3027 \text{ g/mol}}{95,211 \text{ g/mol}} \times 39,123 \text{ mg/mL} \\
 &= 83,539 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Larutan induk MgCl₂ dibuat dengan melarutkan 835,39 mg MgCl₂.6H₂O dalam 10 mL akuades.

2. Pembuatan Induk CaCl₂

Bahan	= CaCl ₂ .2H ₂ O (Berat molekul= 147,01 g/mol)
Berat Molekul CaCl ₂	= 110,98 g/mol
Berat Molekul Ca ²⁺	= 40,078 g/mol

Dibutuhkan larutan induk CaCl₂ dengan konsentrasi 10 mg/mL Ca²⁺.

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah CaCl}_2 \text{ dibutuhkan} &= \frac{BM \text{ CaCl}_2}{BM \text{ Ca}^{2+}} \times 10 \text{ mg/mL} \\
 &= \frac{110,98 \text{ g/mol}}{40,078 \text{ g/mol}} \times 10 \text{ mg/mL} \\
 &= 27,691 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah CaCl}_2\text{.2H}_2\text{O dibutuhkan} &= \frac{BM \text{ CaCl}_2\text{.2H}_2\text{O}}{BM \text{ CaCl}_2} \times 27,691 \text{ mg/mL} \\
 &= \frac{147,01 \text{ g/mol}}{110,98 \text{ g/mol}} \times 27,691 \text{ mg/mL} \\
 &= 36,681 \text{ mg/mL}
 \end{aligned}$$

Larutan induk CaCl₂ dibuat dengan melarutkan 835,39 mg CaCl₂.2H₂O dalam 10 mL akuades.

3. Perhitungan MgCl₂ yang ditambahkan dalam media

Dibutuhkan konsentrasi 11,25 mg Mg²⁺/L dalam media MHB. Penambahan Mg²⁺ dilakukan dengan menggunakan larutan induk MgCl₂ konsentrasi 10 mg Mg²⁺/mL.

Media yang digunakan adalah sebanyak 150 mL, maka dibutuhkan Mg²⁺ sebanyak:

$$\frac{150 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \times 11,25 \text{ mg Mg}^{2+} = 1,69 \text{ mg Mg}^{2+}$$

Jumlah larutan MgCl₂ yang ditambahkan :

$$\frac{1,69 \text{ mg Mg}^{2+}}{10 \text{ mg Mg}^{2+}} \times 1 \text{ mL} = 0,169 \text{ mL}$$

Larutan induk MgCl₂ konsentrasi 10 mg Mg²⁺/mL ditambahkan sebanyak 0,169 mL ke dalam media MHB 150 mL.

4. Perhitungan MgCl₂ yang ditambahkan dalam media

Dibutuhkan konsentrasi 22,5 mg Ca²⁺/L dalam media MHB. Penambahan Ca²⁺ dilakukan dengan menggunakan larutan induk CaCl₂ konsentrasi 10 mg Ca²⁺/mL.

Media yang digunakan adalah sebanyak 150 mL, maka dibutuhkan Ca²⁺ sebanyak:

$$\frac{150 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \times 22,5 \text{ mg Ca}^{2+} = 3,38 \text{ mg Ca}^{2+}$$

Jumlah larutan CaCl₂ yang ditambahkan :

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

Larutan induk CaCl₂ konsentrasi 10 mg Ca²⁺/mL ditambahkan sebanyak 0,338 mL ke dalam media MHB 150 mL.

Lampiran C. Perhitungan Konsentrasi Gentamisin untuk Uji Antibakteri

1. Pembuatan larutan induk gentamisin

Bahan = Larutan injeksi gentamisin sulfat

Kesetaraan gentamisin = 40 mg/mL

= 40.000 µg/mL

Dibutuhkan larutan induk gentamisin 160 µg/mL:

$40.000 \mu\text{g/mL} \times \text{volume yang dibutuhkan} = 160 \mu\text{g/mL} \times 2000 \mu\text{L}$

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

2. Pengenceran larutan induk gentamisin

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

Konsentrasi larutan yang diambil (µg/mL)	Volume diambil (µL)	+ Pelarut CAMHB (µL) =	Konsentrasi dihasilkan (µg/mL)
160	100	1900	8
8	1000	1000	4
4	1000	1000	2
2	1000	1000	1
1	1000	1000	0,5

Contoh perhitungan pengenceran 1 µg/mL menjadi 0,5 µg/mL:

$1 \mu\text{g/mL} \times \text{volume yang dibutuhkan} = 0,5 \mu\text{g/mL} \times 2000 \mu\text{L}$

Volume yang dibutuhkan = 1000 µL add 1000 µL (dengan media CAMHB)

Lampiran D. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Metanol, Fraksi Heksana, Fraksi Diklorometana, Fraksi Etil Asetat dan Residu Daun Senggugu (*Rothecea serrate* (L) Steane & Mabb) untuk Uji Aktivitas Antibakteri Metode Mikrodilusi.

Jumlah penimbangan sampel uji = 20,48 mg

DMSO 100% untuk melarutkan sampel uji = 100 μ L

Akuades deionisasi yang ditambahkan = ad 1000 μ L

Konsentrasi induk larutan uji
= 20,48 mg/1000 μ L
= 20480 μ g/mL

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

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

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

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

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

Lampiran E. Data Hasil dan Persentase Penghambatan Kontrol Positif/Gentamisin dan Kontrol negatif DMSO 1% terhadap Pertumbuhan Bakteri *S. aureus*

1. Data absorbansi kelompok kontrol DMSO 1% dan gentamisin

Replikasi	Kontrol Negatif (P)			Kontrol Media (Q)			Rerata		
	P	Q	P-Q	P	Q	P-Q	P	Q	P-Q
1	0,999	0,992	0,989	0,159	0,155	0,152	0,993	0,155	0,838
2	1,012	1,017	1,021	0,159	0,155	0,159	1,017	0,158	0,859
3	1,022	1,018	1,025	0,161	0,163	0,161	1,022	0,162	0,860

2. Hasil uji aktivitas antibakteri kontrol positif gentamisin

- Hasil absorbansi uji gentamisin

Konsentrasi µg/mL	pengujian gentamisin (R)			kontrol gentamisin (S)			R-S		
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3
0,5	0,259	0,261	0,255	0,110	0,110	0,110	0,149	0,151	0,145
1	0,201	0,197	0,205	0,113	0,113	0,113	0,088	0,084	0,092
2	0,178	0,175	0,173	0,124	0,124	0,123	0,054	0,051	0,050
4	0,153	0,149	0,147	0,135	0,135	0,134	0,018	0,014	0,013

Keterangan:

Rep =Replikasi

- Data hasil dan persentase penghambatan pertumbuhan bakteri

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

Keterangan:

Abs = Absorbansi

P = kontrol negatif (media + suspensi bakteri)

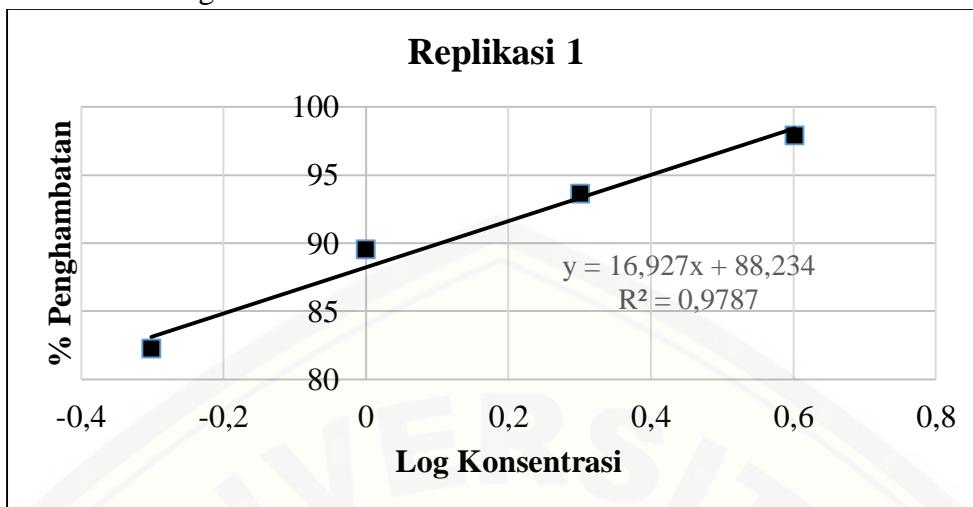
Q = kontrol media (media)

R = uji (gentamisin + suspensi bakteri)

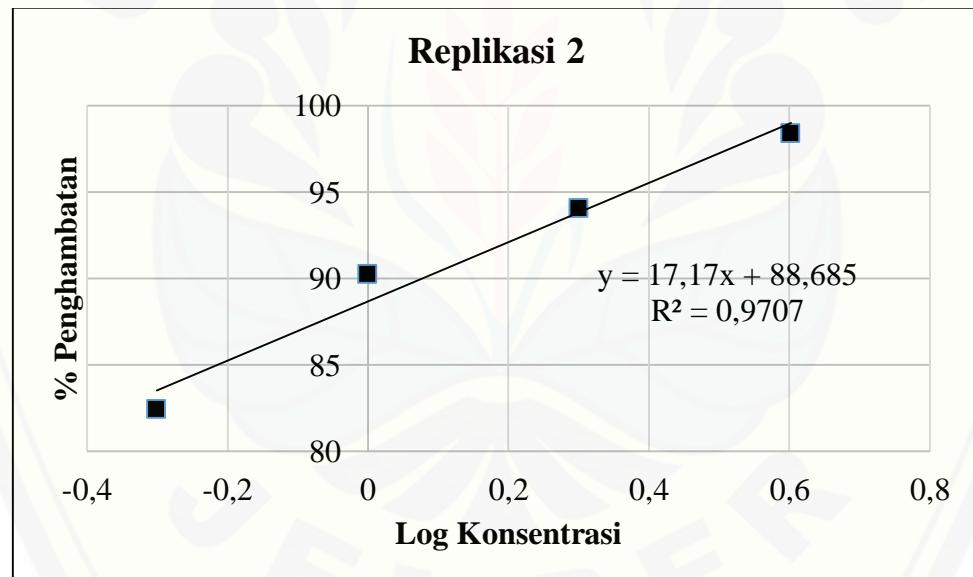
S = kontrol uji (gentamisin + media)

konsentrasi	log konsentrasi	% Penghambatan			rata - rata	SD	CV
		1	2	3			
0,5	-0,30103	82,21957	82,42142	83,13953	82,59351	0,483523	0,585425
1	0	89,49881	90,22119	89,30233	89,67411	0,483864	0,53958
2	0,30103	93,55609	94,06286	94,18605	93,935	0,333878	0,355435
4	0,60206	97,85203	98,3702	98,48837	98,23687	0,338476	0,344551

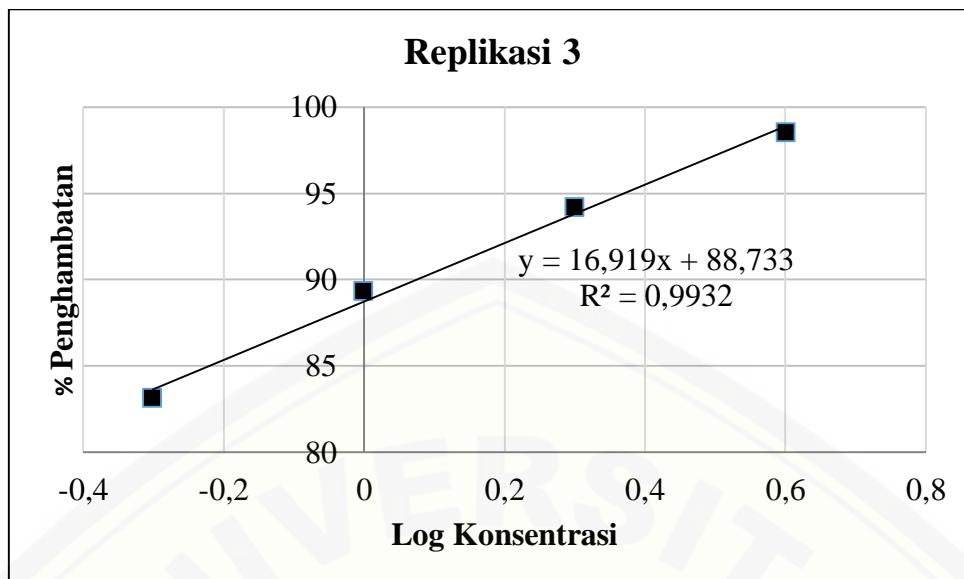
- Kurva Penghambatan Bakteri oleh Gentamisin



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=4$ adalah 0,950.
2. $r = 0,9787 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi gentamisin dengan persen penghambatan.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=4$ adalah 0,950.
2. $r = 0,9707 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi gentamisin dengan persen penghambatan.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=4$ adalah 0,950.
2. $r = 0,9932 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi gentamisin dengan persen penghambatan

3. Hasil uji aktivitas antibakteri Kelompok Uji dan Kontrol Uji DMSO 1%

- Hasil absorbansi uji DMSO 1%

Replikasi	Bakteri + DMSO 1% (P)			CaMHB+DMSO 1% (Q)			Rerata		
	P	Q	P - Q	P	Q	P - Q	P	Q	P - Q
1	0,993	0,995	1,031	0,090	0,114	0,110	1,006	0,105	0,902
2	0,991	0,992	1,03	0,100	0,108	0,113	1,004	0,107	0,897
3	0,995	0,992	1,028	0,086	0,115	0,143	1,005	0,115	0,890

- Data hasil dan persentase penghambatan pertumbuhan bakteri

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

Keterangan:

Abs = Absorbansi

P = kontrol negatif (media + suspensi bakteri)

Q = kontrol media (media)

R = uji (DMSO 1% + suspensi bakteri)

S = kontrol uji (DMSO 1% + media)

Replikasi	% penghambatan	rata-rata	SD	CV
1	-7,597			
2	-4,463	5,196	1,507	-29,014
3	-3,527			

Lampiran F. Data Hasil dan Persentase Penghambatan Ekstrak Metanol, Fraksi heksana, Fraksi Diklorometana, Fraksi Etil Asetat dan Residu Daun Senggugu terhadap Pertumbuhan Bakteri *S. aureus*

1. Data absorbansi kontrol negatif serta kontrol media untuk ekstrak dan fraksi

Replikasi	Bakteri + DMSO 1% (P)			CaMHB+DMSO 1% (Q)			Rerata		
	P	Q	P - Q	P	Q	P - Q	P	Q	P - Q
1	0,993	0,995	1,031	0,090	0,114	0,110	1,006	0,105	0,902
2	0,991	0,992	1,03	0,100	0,108	0,113	1,004	0,107	0,897
3	0,995	0,992	1,028	0,086	0,115	0,143	1,005	0,115	0,890

2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun senggugu

- Hasil absorbansi uji ekstrak metanol daun senggugu

Konsentrasi	Uji (R)			Kontrol Uji (S)			R - S		
	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2048	0,294	0,295	0,294	0,226	0,227	0,225	0,068	0,068	0,069
1024	0,405	0,403	0,410	0,177	0,179	0,180	0,228	0,224	0,230
512	0,528	0,525	0,529	0,165	0,164	0,163	0,363	0,361	0,366
256	0,611	0,609	0,610	0,156	0,155	0,155	0,455	0,454	0,455
128	0,676	0,667	0,672	0,137	0,136	0,137	0,539	0,531	0,535
64	0,806	0,801	0,805	0,126	0,125	0,125	0,680	0,676	0,680

- Data hasil dan persentase penghambatan pertumbuhan bakteri

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

Keterangan:

Abs = Absorbansi

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

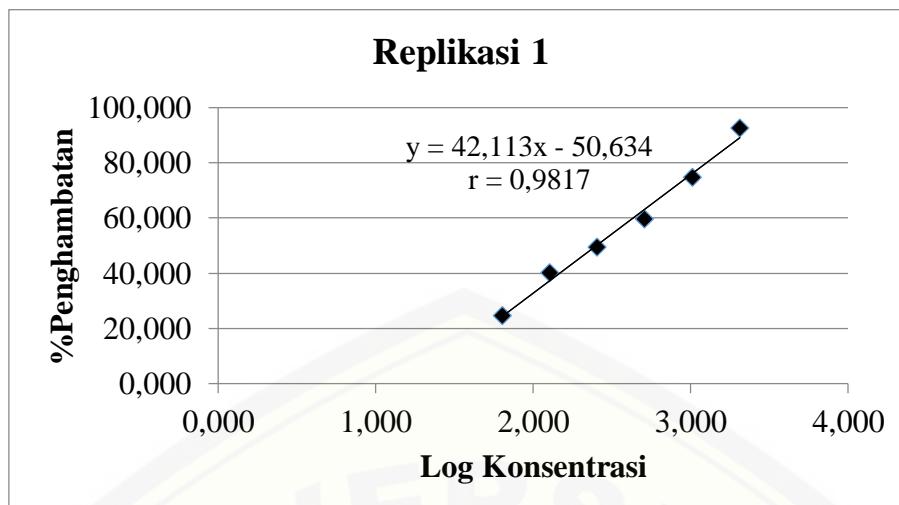
Q = kontrol media (CaMHB+DMSO 1%)

R = uji (Ekstrak metanol + suspensi bakteri)

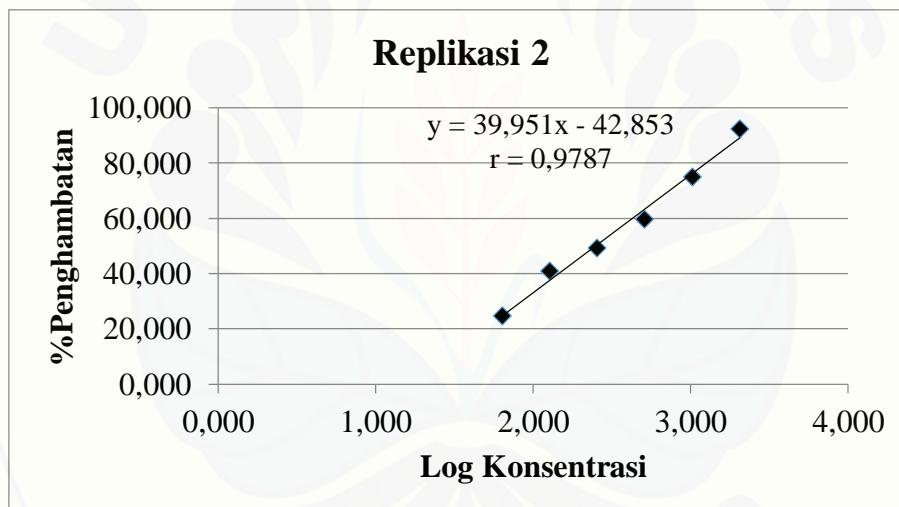
S = kontrol uji (CaMJB + ekstrak metanol)

Konsentrasi	Log Kons.	% Penghambatan				SD	CV
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rerata		
2048	3,311	92,458	92,385	92,250	92,364	0,106	0,114
1024	3,010	74,677	75,000	74,167	74,615	0,420	0,563
512	2,709	59,704	59,770	58,929	59,468	0,467	0,786
256	2,408	49,501	49,368	48,896	49,255	0,318	0,646
128	2,107	40,222	40,862	39,948	40,344	0,469	1,163
64	1,806	24,621	24,703	23,587	24,304	0,622	2,560

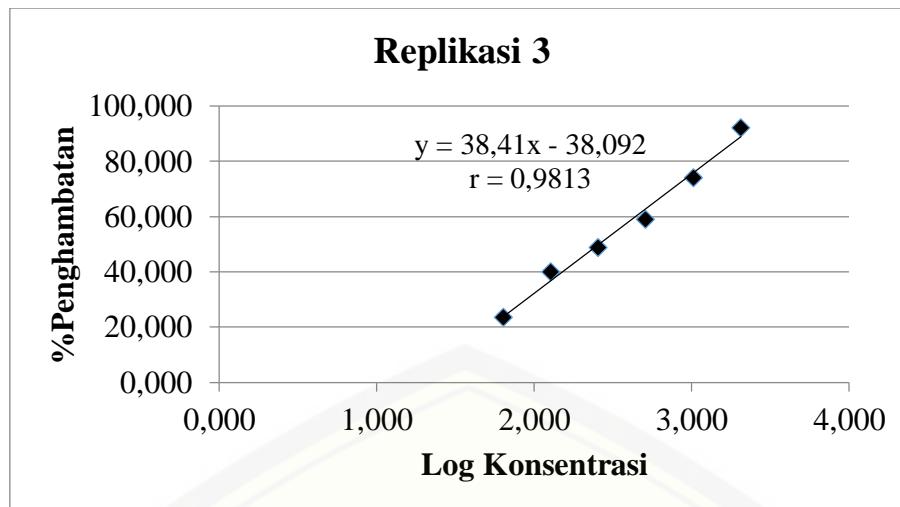
- Kurva penghambatan bakteri oleh ekstrak metanol daun senggugu



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=6$ adalah 0,811.
2. $r = 0,9817 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi ekstrak metanol daun senggugu dengan persen penghambatan.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=6$ adalah 0,811.
2. $r = 0,9787 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi ekstrak metanol daun senggugu dengan persen penghambatan.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=6$ adalah 0,811.
2. $r = 0,9813 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi ekstrak metanol daun senggugu dengan persen penghambatan.

3. Hasil uji aktivitas antibakteri Fraksi Heksana daun senggugu

- Hasil absorbansi uji fraksi heksana daun senggugu

Konsentrasi	Uji (R)			Kontrol Uji (S)			R - S		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
2048	0,262	0,261	0,260	0,227	0,228	0,228	0,035	0,033	0,032
1024	0,368	0,366	0,365	0,200	0,199	0,198	0,168	0,167	0,167
512	0,396	0,393	0,397	0,174	0,175	0,175	0,222	0,218	0,222
256	0,581	0,575	0,572	0,167	0,166	0,166	0,414	0,409	0,406
128	0,728	0,726	0,722	0,155	0,154	0,153	0,573	0,572	0,569
64	0,778	0,775	0,772	0,127	0,128	0,128	0,651	0,647	0,644

- Data hasil dan persentase penghambatan pertumbuhan bakteri

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

Keterangan:

Abs = Absorbansi

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

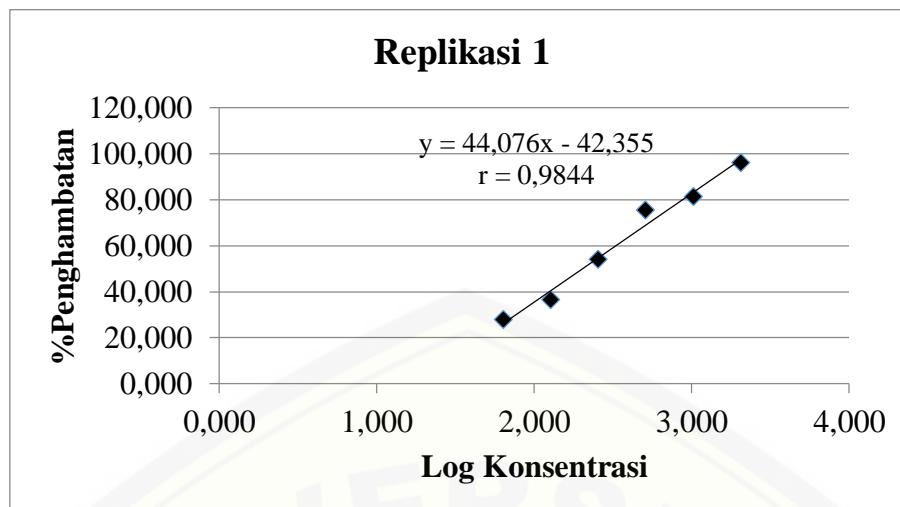
Q = kontrol media (CaMHB+DMSO 1%)

R = uji (fraksi feksana + suspensi bakteri)

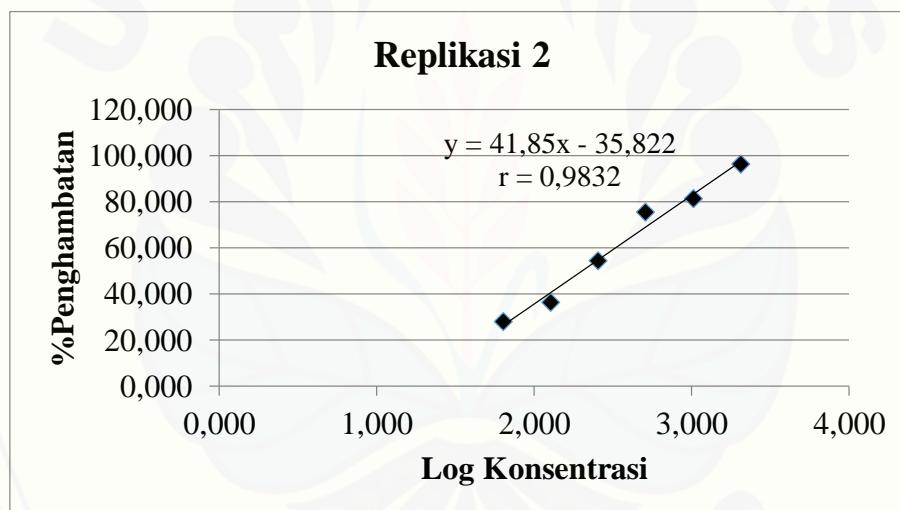
S = kontrol uji (CaMJB + fraksi heksana)

Konsentrasi	Log Kons.	% Penghambatan				SD	CV
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rerata		
2048	3,311	96,155	96,360	96,406	96,307	0,133	0,138
1024	3,010	81,331	81,352	81,243	81,309	0,058	0,071
512	2,709	75,416	75,706	75,103	75,408	0,301	0,400
256	2,408	54,122	54,421	54,399	54,314	0,167	0,307
128	2,107	36,414	36,293	36,054	36,254	0,183	0,505
64	1,806	27,800	27,897	27,668	27,788	0,115	0,415

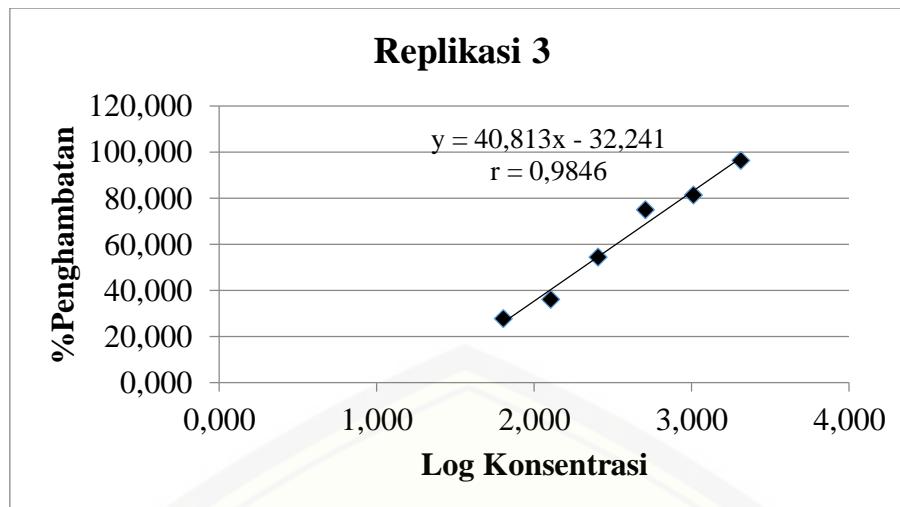
- Kurva penghambatan bakteri oleh fraksi heksana daun senggugu



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=6$ adalah 0,811.
2. $r = 0,9844 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi fraksi heksana daun senggugu dengan persen penghambatan.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=6$ adalah 0,811.
2. $r = 0,9832 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi fraksi heksana daun senggugu dengan persen penghambatan.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=6$ adalah 0,811.
2. $r = 0,9846 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi fraksi heksana daun senggugu dengan persen penghambatan.

4. Hasil uji aktivitas antibakteri Fraksi Diklorometana daun senggugu

- Hasil absorbansi uji fraksi diklorometana daun senggugu

Konsentrasi	Uji (R)			Kontrol Uji (S)			R - S		
	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2048	0,488	0,488	0,486	0,434	0,436	0,435	0,054	0,052	0,051
1024	0,514	0,517	0,511	0,339	0,340	0,337	0,175	0,177	0,174
512	0,560	0,558	0,555	0,258	0,257	0,256	0,302	0,301	0,299
256	0,610	0,605	0,602	0,199	0,200	0,198	0,411	0,405	0,404
128	0,697	0,694	0,690	0,149	0,152	0,150	0,548	0,542	0,540
64	0,730	0,720	0,721	0,113	0,115	0,114	0,617	0,605	0,607

- Data hasil dan persentase penghambatan pertumbuhan bakteri

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

Keterangan:

Abs = Absorbansi

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

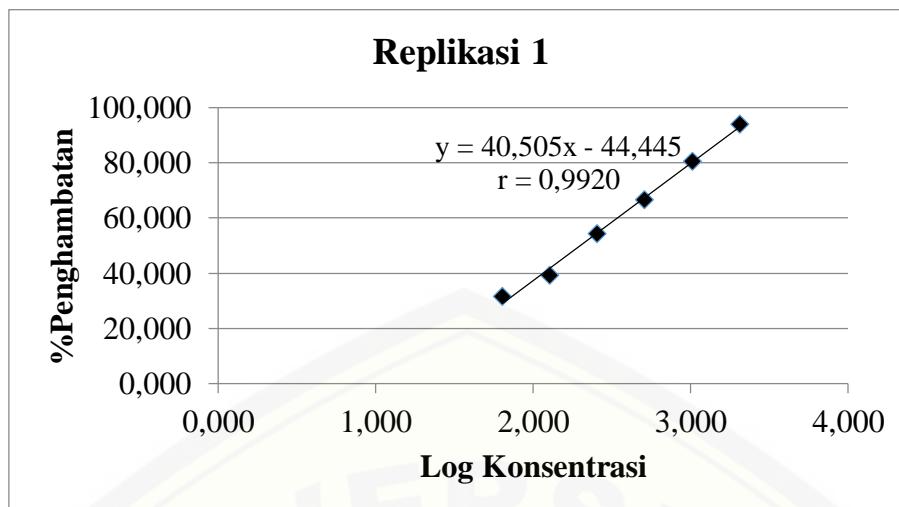
Q = kontrol media (CaMHB+DMSO 1%)

R = uji (fraksi diklorometana + suspensi bakteri)

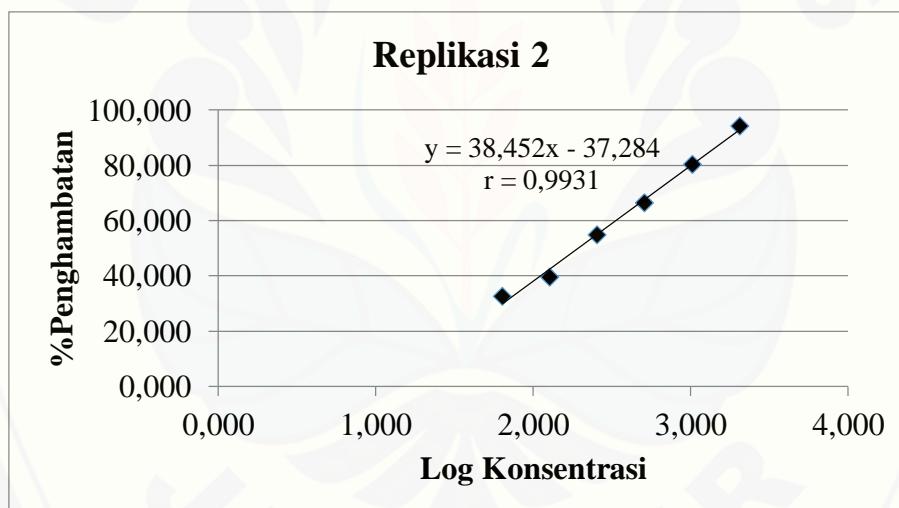
S = kontrol uji (CaMJB + fraksi diklorometan)

Konsentrasi	Log Kons.	% Penghambatan				SD	CV
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rerata		
2048	3,311	94,011	94,205	94,272	94,163	0,135	0,144
1024	3,010	80,591	80,275	80,457	80,441	0,159	0,198
512	2,709	66,506	66,456	66,417	66,460	0,045	0,067
256	2,408	54,418	54,866	54,624	54,636	0,225	0,411
128	2,107	39,224	39,599	39,349	39,390	0,191	0,485
64	1,806	31,571	32,578	31,823	31,991	0,524	1,638

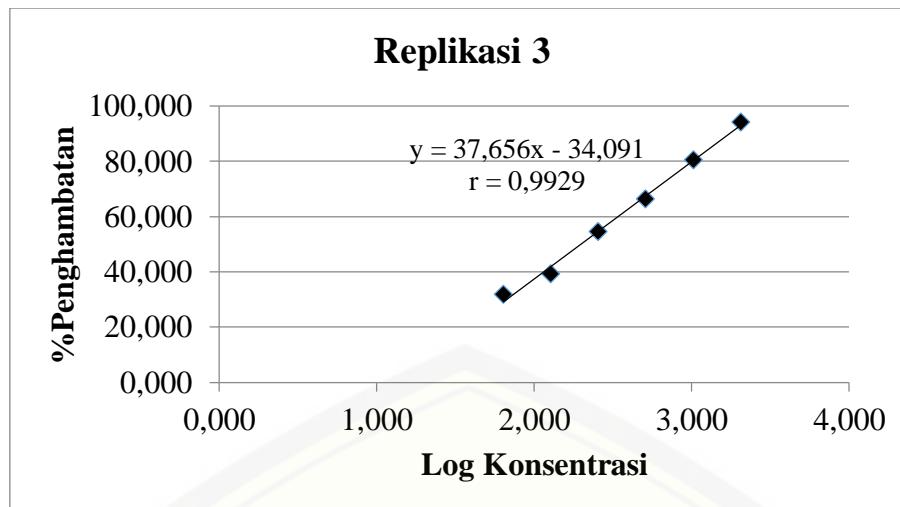
- Kurva penghambatan bakteri oleh fraksi diklorometana daun senggugu



- Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=6$ adalah 0,811.
- $r = 0,9920 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi fraksi diklorometana daun senggugu dengan persen penghambatan.



- Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=6$ adalah 0,811.
- $r = 0,9931 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi fraksi diklorometana daun senggugu dengan persen penghambatan.



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

5. Hasil uji aktivitas antibakteri Fraksi Etil Asetat daun senggugu

- Hasil absorbansi uji fraksi etil asetat daun senggugu

Konsentrasi	Uji (R)			Kontrol Uji (S)			R - S		
	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2048	0,342	0,344	0,338	0,254	0,252	0,253	0,088	0,092	0,085
1024	0,440	0,436	0,433	0,188	0,190	0,190	0,252	0,246	0,243
512	0,552	0,553	0,558	0,162	0,163	0,162	0,390	0,390	0,396
256	0,653	0,647	0,659	0,140	0,140	0,142	0,513	0,507	0,517
128	0,703	0,698	0,702	0,123	0,125	0,123	0,580	0,573	0,579
64	0,780	0,777	0,781	0,117	0,118	0,116	0,663	0,659	0,665

- Data hasil dan persentase penghambatan pertumbuhan bakteri

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

Keterangan:

Abs = Absorbansi

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

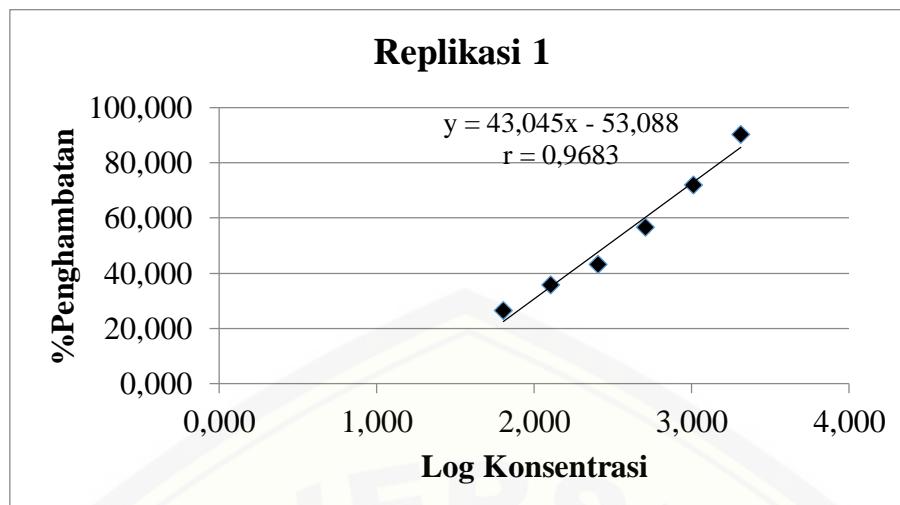
Q = kontrol media (CaMHB+DMSO 1%)

R = uji (fraksi etil asetat + suspensi bakteri)

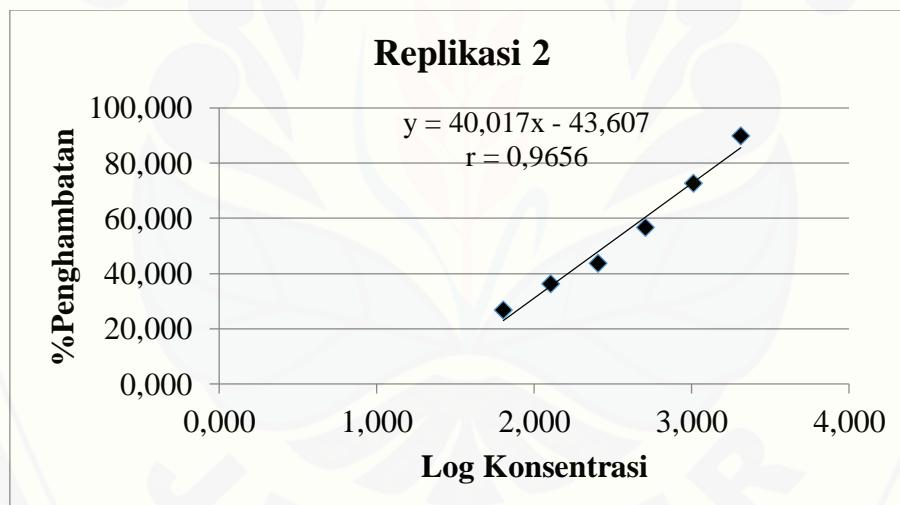
S = kontrol uji (CaMJB + fraksi etil asetat)

Konsentrasi	Log Kons.	% Penghambatan				SD	CV
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rerata		
2048	3,311	90,240	89,747	90,453	90,147	0,362	0,402
1024	3,010	72,052	72,585	72,707	72,448	0,348	0,481
512	2,709	56,747	56,538	55,522	56,269	0,655	1,164
256	2,408	43,105	43,499	41,932	42,845	0,815	1,903
128	2,107	35,675	36,144	34,968	35,596	0,592	1,663
64	1,806	26,470	26,560	25,309	26,113	0,698	2,672

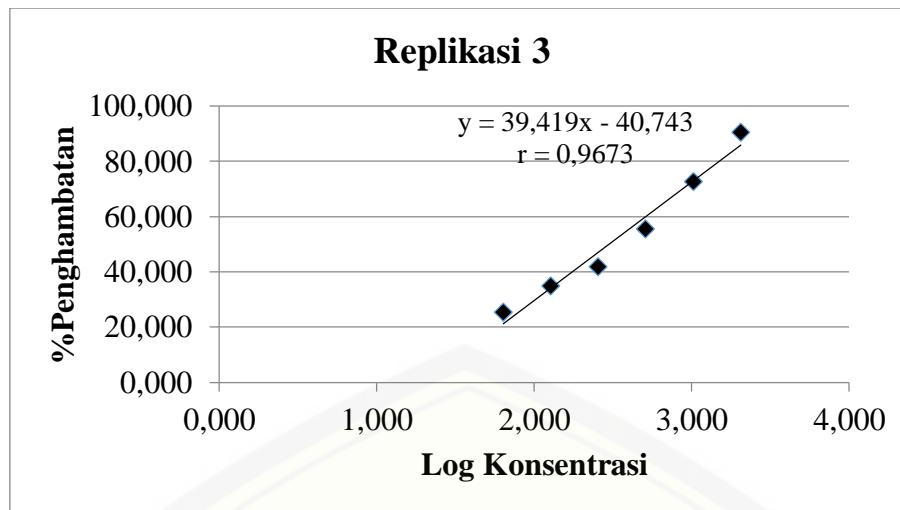
- Kurva penghambatan bakteri oleh fraksi etil asetat daun senggugu



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=6$ adalah 0,811.
2. $r = 0,9683 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi fraksi etil asetat daun senggugu dengan persen penghambatan.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=6$ adalah 0,811.
2. $r = 0,9656 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi fraksi etil asetat daun senggugu dengan persen penghambatan.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=6$ adalah 0,811.
2. $r = 0,9673 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi fraksi etil asetat daun senggugu dengan persen penghambatan.

6. Hasil uji aktivitas antibakteri Residu daun senggugu

- Hasil absorbansi uji fraksi etil asetat daun senggugu

Konsentrasi	Uji (R)			Kontrol Uji (S)			R - S		
	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
2048	0,237	0,244	0,241	0,136	0,138	0,139	0,262	0,262	0,269
1024	0,398	0,400	0,408	0,117	0,118	0,119	0,399	0,402	0,400
512	0,516	0,520	0,519	0,098	0,096	0,099	0,495	0,489	0,499
256	0,616	0,612	0,615	0,088	0,089	0,087	0,528	0,523	0,528
128	0,690	0,689	0,689	0,078	0,077	0,079	0,612	0,612	0,610
64	0,739	0,736	0,742	0,067	0,069	0,068	0,672	0,667	0,674

- Data hasil dan persentase penghambatan pertumbuhan bakteri

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

Keterangan:

Abs = Absorbansi

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

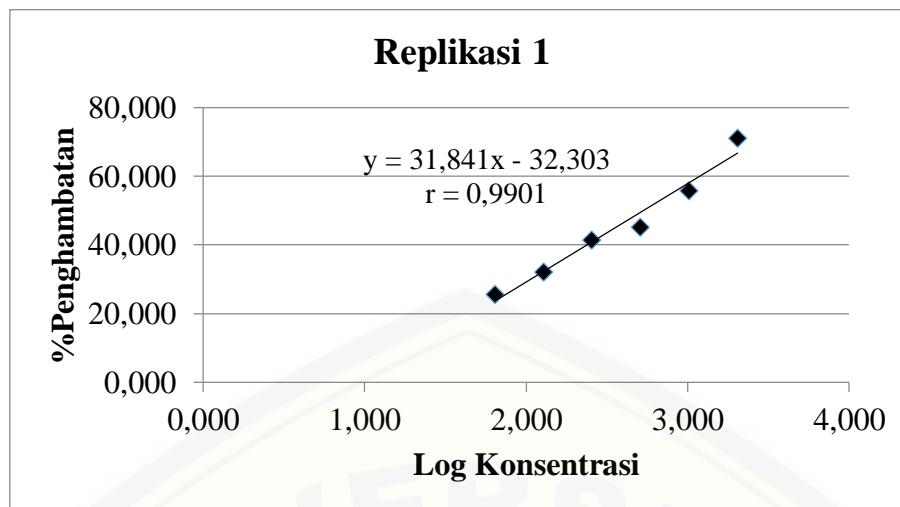
Q = kontrol media (CaMHB+DMSO 1%)

R = uji (residu + suspensi bakteri)

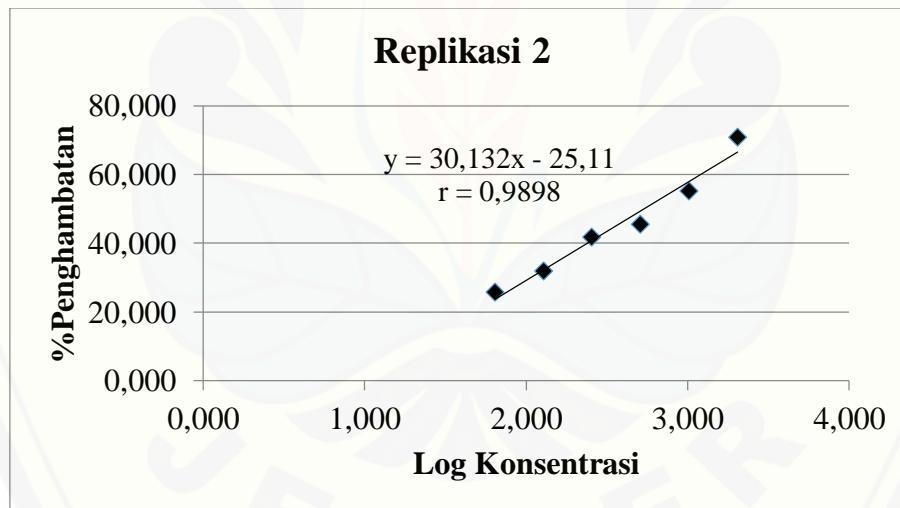
S = kontrol uji (CaMJB + residu)

Konsentrasi	Log Kons.	% Penghambatan				SD	CV
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rerata		
2048	3,311	88,799	88,187	88,544	88,510	0,307	0,347
1024	3,010	68,835	68,574	67,540	68,316	0,685	1,002
512	2,709	53,641	52,749	52,827	53,072	0,494	0,932
256	2,408	41,442	41,716	40,696	41,285	0,528	1,278
128	2,107	32,126	31,798	31,486	31,803	0,320	1,005
64	1,806	25,471	25,669	24,298	25,146	0,741	2,947

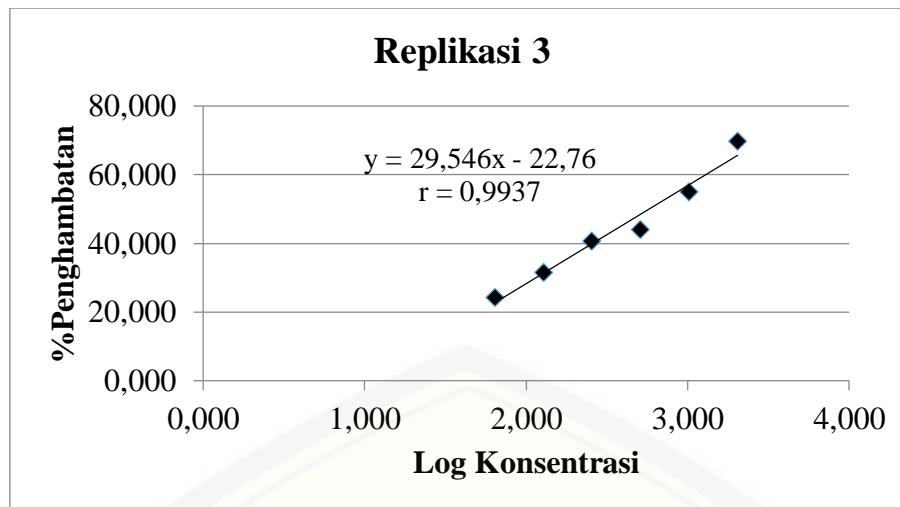
- Kurva penghambatan bakteri oleh residu daun senggugu



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=6$ adalah 0,811.
2. $r = 0,9901 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi residu daun senggugu dengan persen penghambatan.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=6$ adalah 0,811.
2. $r = 0,9898 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi residu daun senggugu dengan persen penghambatan.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ($P<0,05$) dan $n=6$ adalah 0,811.
2. $r = 0,9937 > r$ tabel, maka artinya terdapat hubungan linier antara konsentrasi residu daun senggugu dengan persen penghambatan.

Lampiran E. Hasil Analisis Probit (IC_{50}) Antibakteri Daun Senggugu (*Rothecea serrate* (L) Steane & Mabb).

1. Ekstrak Metanol Senggugu

Replikasi 1

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsebtiasi			95% Confidence Limits for log(konsebtiasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	20.006	.000	156.865	1.301	-9.647	2.196
	.020	28.924	.000	192.295	1.461	-8.566	2.284
	.030	36.546	.000	218.919	1.563	-7.881	2.340
	.040	43.576	.000	241.420	1.639	-7.366	2.383
	.050	50.281	.000	261.473	1.701	-6.946	2.417
	.060	56.795	.000	279.895	1.754	-6.590	2.447
	.070	63.197	.000	297.156	1.801	-6.277	2.473
	.080	69.539	.000	313.551	1.842	-5.997	2.496
	.090	75.858	.000	329.283	1.880	-5.743	2.518
	.100	82.181	.000	344.496	1.915	-5.508	2.537
	.150	114.480	.000	415.848	2.059	-4.539	2.619
	.200	148.985	.000	483.839	2.173	-3.770	2.685
	.250	186.766	.001	551.940	2.271	-3.110	2.742
	.300	228.794	.003	622.397	2.359	-2.519	2.794
	.350	276.137	.011	697.172	2.441	-1.972	2.843
	.400	330.090	.035	778.397	2.519	-1.454	2.891
	.450	392.303	.111	868.777	2.594	-.954	2.939

.500	464.967	.343	972.154	2.667	-.464	2.988
.550	551.090	1.055	1094.574	2.741	.023	3.039
.600	654.955	3.267	1246.616	2.816	.514	3.096
.650	782.923	10.342	1449.430	2.894	1.015	3.161
.700	944.931	33.741	1753.713	2.975	1.528	3.244
.750	1157.568	112.368	2317.501	3.064	2.051	3.365
.800	1451.116	351.825	3854.288	3.162	2.546	3.586
.850	1888.489	833.179	11138.576	3.276	2.921	4.047
.900	2630.700	1417.444	73630.194	3.420	3.152	4.867
.910	2849.976	1545.541	121151.321	3.455	3.189	5.083
.920	3108.952	1682.202	210039.428	3.493	3.226	5.322
.930	3420.955	1831.365	387818.215	3.534	3.263	5.589
.940	3806.566	1998.734	775000.376	3.581	3.301	5.889
.950	4299.689	2193.113	1718827.403	3.633	3.341	6.235
.960	4961.259	2429.356	4411437.731	3.696	3.385	6.645
.970	5915.664	2735.869	14152677.800	3.772	3.437	7.151
.980	7474.452	3178.677	67184400.879	3.874	3.502	7.827
.990	10806.262	3981.240	791261325.24 5	4.034	3.600	8.898

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 2

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsebtrasi			95% Confidence Limits for log(konsebtrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	19.793	.000	159.350	1.297	-11.046	2.202
	.020	28.642	.000	195.145	1.457	-9.849	2.290
	.030	36.210	.000	222.022	1.559	-9.090	2.346
	.040	43.194	.000	244.724	1.635	-8.519	2.389
	.050	49.857	.000	264.948	1.698	-8.055	2.423
	.060	56.332	.000	283.522	1.751	-7.660	2.453
	.070	62.698	.000	300.919	1.797	-7.313	2.478
	.080	69.007	.000	317.439	1.839	-7.003	2.502
	.090	75.293	.000	333.287	1.877	-6.722	2.523
	.100	81.585	.000	348.609	1.912	-6.462	2.542
	.150	113.741	.000	420.434	2.056	-5.388	2.624
	.200	148.117	.000	488.824	2.171	-4.536	2.689
	.250	185.780	.000	557.282	2.269	-3.805	2.746
	.300	227.699	.001	628.072	2.357	-3.150	2.798
	.350	274.941	.003	703.166	2.439	-2.543	2.847
	.400	328.803	.011	784.705	2.517	-1.969	2.895
	.450	390.937	.038	875.400	2.592	-1.415	2.942
	.500	463.539	.135	979.107	2.666	-.871	2.991
	.550	549.624	.467	1101.893	2.740	-.330	3.042

.600	653.487	1.641	1254.399	2.815	.215	3.098
.650	781.506	5.912	1457.982	2.893	.772	3.164
.700	943.652	22.099	1764.271	2.975	1.344	3.247
.750	1156.571	85.010	2337.629	3.063	1.929	3.369
.800	1450.662	307.495	3962.957	3.162	2.488	3.598
.850	1889.106	802.116	12580.026	3.276	2.904	4.100
.900	2633.677	1405.204	102638.256	3.421	3.148	5.011
.910	2853.756	1535.416	178575.253	3.455	3.186	5.252
.920	3113.732	1673.734	329196.648	3.493	3.224	5.517
.930	3427.009	1824.148	650654.273	3.535	3.261	5.813
.940	3814.292	1992.394	1403601.180	3.581	3.299	6.147
.950	4309.690	2187.279	3397979.603	3.634	3.340	6.531
.960	4974.527	2423.608	9669465.286	3.697	3.384	6.985
.970	5934.017	2729.637	35228754.982	3.773	3.436	7.547
.980	7501.899	3170.964	198093493.23 5	3.875	3.501	8.297
.990	10855.653	3969.381	3047705407.3 29	4.036	3.599	9.484

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 3

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsebtrasi			95% Confidence Limits for log(konsebtrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	18.911	.000	164.554	1.277	-17.048	2.216
	.020	27.497	.000	201.253	1.439	-15.347	2.304
	.030	34.867	.000	228.784	1.542	-14.267	2.359
	.040	41.687	.000	252.025	1.620	-13.455	2.401
	.050	48.208	.000	272.721	1.683	-12.795	2.436
	.060	54.555	.000	291.721	1.737	-12.233	2.465
	.070	60.804	.000	309.513	1.784	-11.740	2.491
	.080	67.005	.000	326.405	1.826	-11.299	2.514
	.090	73.191	.000	342.606	1.864	-10.898	2.535
	.100	79.390	.000	358.267	1.900	-10.529	2.554
	.150	111.157	.000	431.659	2.046	-9.001	2.635
	.200	145.248	.000	501.523	2.162	-7.788	2.700
	.250	182.716	.000	571.461	2.262	-6.748	2.757
	.300	224.533	.000	643.804	2.351	-5.814	2.809
	.350	271.781	.000	720.594	2.434	-4.951	2.858
	.400	325.776	.000	804.062	2.513	-4.132	2.905
	.450	388.207	.000	897.052	2.589	-3.342	2.953

.500	461.317	.003	1003.646	2.664	-2.566	3.002
.550	548.195	.016	1130.337	2.739	-1.793	3.053
.600	653.249	.097	1288.698	2.815	-1.011	3.110
.650	783.031	.614	1502.527	2.894	-.212	3.177
.700	947.801	4.118	1831.833	2.977	.615	3.263
.750	1164.718	29.330	2484.990	3.066	1.467	3.395
.800	1465.166	193.929	4697.576	3.166	2.288	3.672
.850	1914.521	725.182	23857.470	3.282	2.860	4.378
.900	2680.604	1380.542	509020.482	3.428	3.140	5.707
.910	2907.620	1516.433	1133743.140	3.464	3.181	6.055
.920	3176.083	1659.406	2738390.827	3.502	3.220	6.437
.930	3499.970	1813.671	7294948.027	3.544	3.259	6.863
.940	3900.896	1985.132	21986432.844	3.591	3.298	7.342
.950	4414.507	2182.714	78008825.725	3.645	3.339	7.892
.960	5104.976	2421.289	348075498.27 8	3.708	3.384	8.542
.970	6103.534	2729.109	2205953779.5 62	3.786	3.436	9.344
.980	7739.636	3171.596	25908786392. 393	3.889	3.501	10.413
.990	11253.322	3969.577	127365238484 3.189	4.051	3.599	12.105

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

2. Fraksi Heksana

Replikasi 1

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsebrasi			95% Confidence Limits for log(konsebrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	18.392	.036	92.038	1.265	-1.438	1.964
	.020	25.734	.083	114.053	1.411	-1.079	2.057
	.030	31.847	.141	130.726	1.503	-.851	2.116
	.040	37.384	.209	144.891	1.573	-.680	2.161
	.050	42.591	.288	157.563	1.629	-.540	2.197
	.060	47.591	.379	169.241	1.678	-.422	2.229
	.070	52.455	.481	180.210	1.720	-.318	2.256
	.080	57.231	.595	190.652	1.758	-.225	2.280
	.090	61.951	.723	200.689	1.792	-.141	2.303
	.100	66.639	.865	210.412	1.824	-.063	2.323
	.150	90.135	1.813	256.172	1.955	.258	2.409
	.200	114.589	3.260	299.933	2.059	.513	2.477
	.250	140.792	5.386	343.807	2.149	.731	2.536
	.300	169.392	8.444	389.135	2.229	.927	2.590
	.350	201.055	12.793	437.043	2.303	1.107	2.641
	.400	236.557	18.944	488.694	2.374	1.277	2.689
	.450	276.862	27.648	545.462	2.442	1.442	2.737

.500	323.226	40.019	609.147	2.510	1.602	2.785
.550	377.355	57.752	682.287	2.577	1.762	2.834
.600	441.649	83.497	768.739	2.645	1.922	2.886
.650	519.634	121.494	874.836	2.716	2.085	2.942
.700	616.768	178.701	1011.990	2.790	2.252	3.005
.750	742.057	266.687	1203.364	2.870	2.426	3.080
.800	911.742	404.236	1503.638	2.960	2.607	3.177
.850	1159.095	618.724	2068.239	3.064	2.791	3.316
.900	1567.782	945.734	3452.535	3.195	2.976	3.538
.910	1686.422	1030.046	3974.729	3.227	3.013	3.599
.920	1825.505	1123.371	4659.974	3.261	3.051	3.668
.930	1991.711	1228.129	5585.116	3.299	3.089	3.747
.940	2195.286	1348.107	6880.735	3.341	3.130	3.838
.950	2452.982	1489.496	8786.600	3.390	3.173	3.944
.960	2794.647	1663.128	11791.767	3.446	3.221	4.072
.970	3280.572	1890.176	17058.269	3.516	3.277	4.232
.980	4059.764	2220.493	28121.107	3.609	3.346	4.449
.990	5680.320	2824.440	62656.701	3.754	3.451	4.797

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 2

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsebrasi			95% Confidence Limits for log(konsebrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	18.658	.021	96.158	1.271	-1.688	1.983
	.020	26.050	.049	118.666	1.416	-1.309	2.074
	.030	32.194	.085	135.660	1.508	-1.069	2.132
	.040	37.753	.129	150.066	1.577	-.888	2.176
	.050	42.977	.181	162.934	1.633	-.742	2.212
	.060	47.988	.242	174.776	1.681	-.617	2.242
	.070	52.860	.311	185.887	1.723	-.507	2.269
	.080	57.641	.390	196.453	1.761	-.409	2.293
	.090	62.364	.478	206.601	1.795	-.320	2.315
	.100	67.052	.578	216.423	1.826	-.238	2.335
	.150	90.521	1.260	262.562	1.957	.100	2.419
	.200	114.905	2.340	306.573	2.060	.369	2.487
	.250	140.997	3.972	350.615	2.149	.599	2.545
	.300	169.440	6.382	396.049	2.229	.805	2.598
	.350	200.895	9.889	444.019	2.303	.995	2.647
	.400	236.127	14.961	495.696	2.373	1.175	2.695
	.450	276.083	22.287	552.472	2.441	1.348	2.742
	.500	322.002	32.913	616.167	2.508	1.517	2.790
	.550	375.558	48.454	689.362	2.575	1.685	2.838

.600	439.109	71.469	775.996	2.643	1.854	2.890
.650	516.116	106.125	882.580	2.713	2.026	2.946
.700	611.929	159.372	1020.952	2.787	2.202	3.009
.750	735.375	242.954	1215.424	2.867	2.386	3.085
.800	902.358	376.188	1524.304	2.955	2.575	3.183
.850	1145.427	587.136	2116.891	3.059	2.769	3.326
.900	1546.342	910.043	3614.850	3.189	2.959	3.558
.910	1662.593	992.950	4191.057	3.221	2.997	3.622
.920	1798.811	1084.465	4953.947	3.255	3.035	3.695
.930	1961.505	1186.865	5994.097	3.293	3.074	3.778
.940	2160.665	1303.736	7466.961	3.335	3.115	3.873
.950	2412.604	1440.952	9661.184	3.382	3.159	3.985
.960	2746.382	1608.800	13173.149	3.439	3.207	4.120
.970	3220.652	1827.371	19441.954	3.508	3.262	4.289
.980	3980.250	2143.897	32932.931	3.600	3.331	4.518
.990	5557.263	2719.346	76643.705	3.745	3.434	4.884

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 3

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsebrasi			95% Confidence Limits for log(konsebrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	19.116	.031	95.380	1.281	-1.505	1.979
	.020	26.652	.072	117.784	1.426	-1.140	2.071
	.030	32.908	.123	134.707	1.517	-.909	2.129
	.040	38.565	.184	149.058	1.586	-.735	2.173
	.050	43.876	.255	161.879	1.642	-.593	2.209
	.060	48.969	.337	173.681	1.690	-.473	2.240
	.070	53.918	.429	184.755	1.732	-.368	2.267
	.080	58.773	.533	195.289	1.769	-.273	2.291
	.090	63.567	.650	205.407	1.803	-.187	2.313
	.100	68.325	.779	215.201	1.835	-.108	2.333
	.150	92.122	1.653	261.222	1.964	.218	2.417
	.200	116.818	3.000	305.137	2.068	.477	2.484
	.250	143.219	4.997	349.094	2.156	.699	2.543
	.300	171.976	7.891	394.451	2.235	.897	2.596
	.350	203.754	12.033	442.346	2.309	1.080	2.646
	.400	239.322	17.930	493.950	2.379	1.254	2.694
	.450	279.633	26.321	550.649	2.447	1.420	2.741
	.500	325.928	38.315	614.261	2.513	1.583	2.788
	.550	379.888	55.601	687.360	2.580	1.745	2.837

.600	443.875	80.823	773.871	2.647	1.908	2.889
.650	521.359	118.223	880.277	2.717	2.073	2.945
.700	617.696	174.764	1018.343	2.791	2.242	3.008
.750	741.724	261.980	1212.124	2.870	2.418	3.084
.800	909.355	398.404	1518.853	2.959	2.600	3.182
.850	1153.135	610.357	2102.125	3.062	2.786	3.323
.900	1554.757	930.843	3548.579	3.192	2.969	3.550
.910	1671.125	1013.041	4097.296	3.223	3.006	3.612
.920	1807.434	1103.876	4819.087	3.257	3.043	3.683
.930	1970.181	1205.675	5796.200	3.295	3.081	3.763
.940	2169.326	1322.082	7168.831	3.336	3.121	3.855
.950	2421.137	1459.041	9195.298	3.384	3.164	3.964
.960	2754.573	1626.940	12404.551	3.440	3.211	4.094
.970	3228.064	1846.050	18059.281	3.509	3.266	4.257
.980	3985.808	2164.029	30023.588	3.601	3.335	4.477
.990	5557.108	2743.369	67791.221	3.745	3.438	4.831

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

1. Fraksi DCM

Replikasi 1

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsebtrasi			95% Confidence Limits for log(konsebtrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	25.387	1.840	80.160	1.405	.265	1.904
	.020	35.406	3.186	101.986	1.549	.503	2.009
	.030	43.726	4.513	118.852	1.641	.654	2.075
	.040	51.250	5.862	133.376	1.710	.768	2.125
	.050	58.315	7.251	146.508	1.766	.860	2.166
	.060	65.090	8.690	158.713	1.814	.939	2.201
	.070	71.676	10.183	170.262	1.855	1.008	2.231
	.080	78.137	11.735	181.327	1.893	1.069	2.258
	.090	84.516	13.351	192.025	1.927	1.126	2.283
	.100	90.848	15.033	202.440	1.958	1.177	2.306
	.150	122.523	24.557	252.098	2.088	1.390	2.402
	.200	155.404	36.234	300.410	2.191	1.559	2.478
	.250	190.562	50.543	349.497	2.280	1.704	2.543
	.300	228.865	68.084	400.762	2.360	1.833	2.603
	.350	271.198	89.635	455.437	2.433	1.952	2.658
	.400	318.586	116.220	514.828	2.503	2.065	2.712
	.450	372.303	149.203	580.507	2.571	2.174	2.764

.500	434.002	190.433	654.542	2.637	2.280	2.816
.550	505.927	242.457	739.846	2.704	2.385	2.869
.600	591.231	308.831	840.810	2.772	2.490	2.925
.650	694.542	394.585	964.526	2.842	2.596	2.984
.700	823.011	506.861	1123.422	2.915	2.705	3.051
.750	988.434	655.703	1341.384	2.995	2.817	3.128
.800	1212.053	855.082	1669.251	3.084	2.932	3.223
.850	1537.323	1126.467	2227.950	3.187	3.052	3.348
.900	2073.333	1519.382	3360.018	3.317	3.182	3.526
.910	2228.665	1623.365	3733.159	3.348	3.210	3.572
.920	2410.629	1740.916	4194.033	3.382	3.241	3.623
.930	2627.902	1876.175	4776.491	3.420	3.273	3.679
.940	2893.791	2035.401	5534.787	3.461	3.309	3.743
.950	3230.028	2228.623	6562.125	3.509	3.348	3.817
.960	3675.308	2473.283	8034.442	3.565	3.393	3.905
.970	4307.707	2803.559	10332.582	3.634	3.448	4.014
.980	5319.935	3300.686	14484.731	3.726	3.519	4.161
.990	7419.491	4246.871	24797.282	3.870	3.628	4.394

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 2

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsebtrasi			95% Confidence Limits for log(konsebtrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	27.480	2.087	84.803	1.439	.320	1.928
	.020	38.124	3.586	107.472	1.581	.555	2.031
	.030	46.925	5.053	124.936	1.671	.704	2.097
	.040	54.862	6.540	139.943	1.739	.816	2.146
	.050	62.298	8.065	153.489	1.794	.907	2.186
	.060	69.416	9.640	166.063	1.841	.984	2.220
	.070	76.323	11.271	177.947	1.883	1.052	2.250
	.080	83.088	12.963	189.322	1.920	1.113	2.277
	.090	89.761	14.721	200.309	1.953	1.168	2.302
	.100	96.376	16.548	210.997	1.984	1.219	2.324
	.150	129.366	26.842	261.851	2.112	1.429	2.418
	.200	163.468	39.384	311.189	2.213	1.595	2.493
	.250	199.805	54.670	361.209	2.301	1.738	2.558
	.300	239.272	73.320	413.357	2.379	1.865	2.616
	.350	282.771	96.133	468.891	2.451	1.983	2.671
	.400	331.338	124.153	529.144	2.520	2.094	2.724
	.450	386.252	158.769	595.717	2.587	2.201	2.775
	.500	449.174	201.850	670.716	2.652	2.305	2.827
	.550	522.347	255.956	757.121	2.718	2.408	2.879

.600	608.918	324.633	859.429	2.785	2.511	2.934
.650	713.502	412.839	984.938	2.853	2.616	2.993
.700	843.214	527.504	1146.462	2.926	2.722	3.059
.750	1009.772	678.179	1368.623	3.004	2.831	3.136
.800	1234.235	877.926	1703.481	3.091	2.943	3.231
.850	1559.590	1147.107	2273.367	3.193	3.060	3.357
.900	2093.447	1534.424	3421.079	3.321	3.186	3.534
.910	2247.719	1636.745	3797.630	3.352	3.214	3.580
.920	2428.226	1752.363	4261.797	3.385	3.244	3.630
.930	2643.479	1885.330	4847.184	3.422	3.275	3.685
.940	2906.514	2041.762	5607.563	3.463	3.310	3.749
.950	3238.602	2231.448	6635.150	3.510	3.349	3.822
.960	3677.553	2471.388	8103.648	3.566	3.393	3.909
.970	4299.540	2794.851	10388.120	3.633	3.446	4.017
.980	5292.174	3280.785	14497.854	3.724	3.516	4.161
.990	7342.087	4202.821	24639.911	3.866	3.624	4.392

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 3

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsebtrasi			95% Confidence Limits for log(konsebtrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	26.676	2.045	82.532	1.426	.311	1.917
	.020	37.049	3.512	104.715	1.569	.545	2.020
	.030	45.633	4.947	121.820	1.659	.694	2.086
	.040	53.378	6.401	136.528	1.727	.806	2.135
	.050	60.638	7.893	149.810	1.783	.897	2.176
	.060	67.590	9.433	162.143	1.830	.975	2.210
	.070	74.339	11.027	173.804	1.871	1.042	2.240
	.080	80.951	12.681	184.967	1.908	1.103	2.267
	.090	87.474	14.399	195.753	1.942	1.158	2.292
	.100	93.942	16.184	206.249	1.973	1.209	2.314
	.150	126.220	26.241	256.211	2.101	1.419	2.409
	.200	159.614	38.491	304.718	2.203	1.585	2.484
	.250	195.222	53.418	353.921	2.291	1.728	2.549
	.300	233.921	71.628	405.235	2.369	1.855	2.608
	.350	276.598	93.902	459.894	2.442	1.973	2.663
	.400	324.273	121.260	519.203	2.511	2.084	2.715
	.450	378.205	155.062	584.728	2.578	2.191	2.767
	.500	440.033	197.142	658.528	2.643	2.295	2.819
	.550	511.968	250.014	743.502	2.709	2.398	2.871

.600	597.117	317.174	844.023	2.776	2.501	2.926
.650	700.036	403.533	967.155	2.845	2.606	2.985
.700	827.751	516.012	1125.269	2.918	2.713	3.051
.750	991.837	664.250	1342.093	2.996	2.822	3.128
.800	1213.106	861.584	1667.851	3.084	2.935	3.222
.850	1534.061	1128.701	2221.040	3.186	3.053	3.347
.900	2061.157	1514.134	3334.727	3.314	3.180	3.523
.910	2213.562	1616.024	3700.186	3.345	3.208	3.568
.920	2391.928	1731.166	4150.713	3.379	3.238	3.618
.930	2604.684	1863.597	4718.921	3.416	3.270	3.674
.940	2864.746	2019.416	5456.993	3.457	3.305	3.737
.950	3193.186	2208.387	6454.399	3.504	3.344	3.810
.960	3627.484	2447.474	7879.646	3.560	3.389	3.897
.970	4243.164	2769.894	10096.501	3.628	3.442	4.004
.980	5226.320	3254.505	14083.626	3.718	3.512	4.149
.990	7258.468	4174.821	23919.011	3.861	3.621	4.379

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

2. Fraksi Etil Asetat
Replikasi 1

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konseptrasi			95% Confidence Limits for log(konseptrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	45.475	4.469	123.509	1.658	.650	2.092
	.020	62.122	7.525	154.641	1.793	.877	2.189
	.030	75.718	10.471	178.399	1.879	1.020	2.251
	.040	87.873	13.423	198.685	1.944	1.128	2.298
	.050	99.186	16.425	216.906	1.996	1.216	2.336
	.060	109.955	19.502	233.751	2.041	1.290	2.369
	.070	120.356	22.669	249.618	2.080	1.355	2.397
	.080	130.500	25.936	264.759	2.116	1.414	2.423
	.090	140.467	29.312	279.346	2.148	1.467	2.446
	.100	150.312	32.804	293.504	2.177	1.516	2.468
	.150	198.980	52.236	360.478	2.299	1.718	2.557
	.200	248.669	75.508	424.991	2.396	1.878	2.628
	.250	301.078	103.448	490.090	2.479	2.015	2.690
	.300	357.493	137.059	557.776	2.553	2.137	2.746
	.350	419.164	177.599	629.818	2.622	2.249	2.799
	.400	487.494	226.663	708.134	2.688	2.355	2.850
	.450	564.188	286.292	795.122	2.751	2.457	2.900

.500	651.436	359.086	894.098	2.814	2.555	2.951
.550	752.178	448.323	1010.025	2.876	2.652	3.004
.600	870.512	558.006	1150.882	2.940	2.747	3.061
.650	1012.418	692.709	1330.333	3.005	2.841	3.124
.700	1187.071	857.174	1573.005	3.074	2.933	3.197
.750	1409.499	1056.343	1924.709	3.149	3.024	3.284
.800	1706.562	1298.534	2473.669	3.232	3.113	3.393
.850	2132.728	1606.004	3408.553	3.329	3.206	3.533
.900	2823.247	2042.368	5241.908	3.451	3.310	3.719
.910	3021.138	2158.313	5832.686	3.480	3.334	3.766
.920	3251.870	2289.721	6555.961	3.512	3.360	3.817
.930	3525.963	2441.281	7461.851	3.547	3.388	3.873
.940	3859.479	2620.018	8630.296	3.587	3.418	3.936
.950	4278.531	2837.121	10197.799	3.631	3.453	4.009
.960	4829.353	3111.934	12420.207	3.684	3.493	4.094
.970	5604.629	3482.164	15846.535	3.749	3.542	4.200
.980	6831.221	4036.860	21942.493	3.834	3.606	4.341
.990	9331.866	5082.577	36746.145	3.970	3.706	4.565

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 2

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsebtrasi			95% Confidence Limits for log(konsebtrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	42.414	3.641	119.771	1.628	.561	2.078
	.020	58.356	6.248	150.545	1.766	.796	2.178
	.030	71.451	8.799	174.104	1.854	.944	2.241
	.040	83.205	11.381	194.262	1.920	1.056	2.288
	.050	94.177	14.029	212.398	1.974	1.147	2.327
	.060	104.650	16.761	229.188	2.020	1.224	2.360
	.070	114.786	19.590	245.022	2.060	1.292	2.389
	.080	124.692	22.523	260.147	2.096	1.353	2.415
	.090	134.441	25.568	274.732	2.129	1.408	2.439
	.100	144.088	28.732	288.900	2.159	1.458	2.461
	.150	191.969	46.535	356.070	2.283	1.668	2.552
	.200	241.137	68.178	420.966	2.382	1.834	2.624
	.250	293.240	94.492	486.611	2.467	1.975	2.687
	.300	349.558	126.500	555.009	2.544	2.102	2.744
	.350	411.358	165.501	627.944	2.614	2.219	2.798
	.400	480.073	213.159	707.367	2.681	2.329	2.850
	.450	557.462	271.620	795.724	2.746	2.434	2.901
	.500	645.795	343.647	896.411	2.810	2.536	2.953
	.550	748.124	432.763	1014.532	2.874	2.636	3.006

.600	868.723	543.325	1158.328	2.939	2.735	3.064
.650	1013.839	680.382	1342.040	3.006	2.833	3.128
.700	1193.079	849.186	1591.643	3.077	2.929	3.202
.750	1422.217	1054.986	1956.205	3.153	3.023	3.291
.800	1729.521	1306.078	2531.491	3.238	3.116	3.403
.850	2172.486	1625.059	3524.201	3.337	3.211	3.547
.900	2894.416	2078.042	5501.350	3.462	3.318	3.740
.910	3102.105	2198.528	6144.656	3.492	3.342	3.788
.920	3344.655	2335.167	6935.528	3.524	3.368	3.841
.930	3633.298	2492.874	7930.609	3.560	3.397	3.899
.940	3985.210	2679.025	9220.604	3.600	3.428	3.965
.950	4428.357	2905.370	10961.115	3.646	3.463	4.040
.960	5012.354	3192.253	13445.311	3.700	3.504	4.129
.970	5836.881	3579.365	17306.277	3.766	3.554	4.238
.980	7146.630	4160.588	24247.756	3.854	3.619	4.385
.990	9832.746	5259.839	41371.678	3.993	3.721	4.617

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 3

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsebtrasi			95% Confidence Limits for log(konsebtrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	49.614	5.865	127.738	1.696	.768	2.106
	.020	67.113	9.621	159.098	1.827	.983	2.202
	.030	81.292	13.166	182.930	1.910	1.119	2.262
	.040	93.901	16.667	203.219	1.973	1.222	2.308
	.050	105.587	20.189	221.401	2.024	1.305	2.345
	.060	116.672	23.764	238.179	2.067	1.376	2.377
	.070	127.345	27.413	253.956	2.105	1.438	2.405
	.080	137.727	31.152	268.990	2.139	1.493	2.430
	.090	147.902	34.990	283.454	2.170	1.544	2.452
	.100	157.932	38.937	297.476	2.198	1.590	2.473
	.150	207.227	60.560	363.604	2.316	1.782	2.561
	.200	257.165	85.921	427.028	2.410	1.934	2.630
	.250	309.495	115.847	490.797	2.491	2.064	2.691
	.300	365.504	151.306	556.889	2.563	2.180	2.746
	.350	426.415	193.485	627.023	2.630	2.287	2.797
	.400	493.574	243.873	703.046	2.693	2.387	2.847
	.450	568.602	304.351	787.243	2.755	2.483	2.896
	.500	653.567	377.292	882.750	2.815	2.577	2.946
	.550	751.229	465.650	994.230	2.876	2.668	2.997

.600	865.423	572.988	1129.112	2.937	2.758	3.053
.650	1001.724	703.340	1299.973	3.001	2.847	3.114
.700	1168.661	860.915	1529.130	3.068	2.935	3.184
.750	1380.155	1050.361	1857.387	3.140	3.021	3.269
.800	1660.999	1279.897	2362.114	3.220	3.107	3.373
.850	2061.266	1570.955	3206.667	3.314	3.196	3.506
.900	2704.652	1983.394	4828.478	3.432	3.297	3.684
.910	2888.062	2092.792	5344.172	3.461	3.321	3.728
.920	3101.435	2216.671	5971.899	3.492	3.346	3.776
.930	3354.289	2359.397	6753.172	3.526	3.373	3.830
.940	3661.132	2527.510	7753.837	3.564	3.403	3.890
.950	4045.495	2731.409	9085.625	3.607	3.436	3.958
.960	4548.934	2989.058	10956.434	3.658	3.476	4.040
.970	5254.501	3335.409	13808.522	3.721	3.523	4.140
.980	6364.675	3852.845	18809.542	3.804	3.586	4.274
.990	8609.547	4824.128	30691.776	3.935	3.683	4.487

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

3. Residu
Replikasi 1

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsebtrasi			95% Confidence Limits for log(konsebtrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	50.915	5.747	132.439	1.707	.759	2.122
	.020	69.409	9.585	165.777	1.841	.982	2.220
	.030	84.489	13.256	191.217	1.927	1.122	2.282
	.040	97.956	16.914	212.939	1.991	1.228	2.328
	.050	110.478	20.619	232.450	2.043	1.314	2.366
	.060	122.390	24.402	250.489	2.088	1.387	2.399
	.070	133.886	28.284	267.482	2.127	1.452	2.427
	.080	145.093	32.278	283.699	2.162	1.509	2.453
	.090	156.098	36.395	299.324	2.193	1.561	2.476
	.100	166.965	40.644	314.490	2.223	1.609	2.498
	.150	220.613	64.141	386.267	2.344	1.807	2.587
	.200	275.298	92.044	455.474	2.440	1.964	2.658
	.250	332.897	125.298	525.401	2.522	2.098	2.720
	.300	394.823	165.025	598.242	2.596	2.218	2.777
	.350	462.447	212.611	675.965	2.665	2.328	2.830
	.400	537.295	269.785	760.752	2.730	2.431	2.881
	.450	621.221	338.705	855.386	2.793	2.530	2.932

.500	716.607	422.038	963.789	2.855	2.625	2.984
.550	826.638	522.982	1091.933	2.917	2.718	3.038
.600	955.761	645.154	1249.519	2.980	2.810	3.097
.650	1110.452	792.253	1453.090	3.045	2.899	3.162
.700	1300.645	967.754	1731.713	3.114	2.986	3.238
.750	1542.597	1175.940	2137.218	3.188	3.070	3.330
.800	1865.346	1426.678	2766.207	3.271	3.154	3.442
.850	2327.723	1746.170	3824.363	3.367	3.242	3.583
.900	3075.653	2204.042	5872.850	3.488	3.343	3.769
.910	3289.758	2326.345	6528.539	3.517	3.367	3.815
.920	3539.279	2465.182	7329.225	3.549	3.392	3.865
.930	3835.540	2625.542	8329.389	3.584	3.419	3.921
.940	4195.825	2814.900	9615.751	3.623	3.449	3.983
.950	4648.220	3045.166	11336.063	3.667	3.484	4.054
.960	5242.427	3336.930	13766.524	3.720	3.523	4.139
.970	6078.016	3730.322	17497.977	3.784	3.572	4.243
.980	7398.501	4320.118	24101.510	3.869	3.635	4.382
.990	10085.936	5432.543	40011.390	4.004	3.735	4.602

a. Logarithm base = 10.

Replikasi 2

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsebtrasi			95% Confidence Limits for log(konsebtrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	50.989	5.478	134.086	1.707	.739	2.127
	.020	69.682	9.211	168.017	1.843	.964	2.225
	.030	84.955	12.803	193.933	1.929	1.107	2.288
	.040	98.612	16.400	216.075	1.994	1.215	2.335
	.050	111.325	20.056	235.973	2.047	1.302	2.373
	.060	123.429	23.799	254.378	2.091	1.377	2.405
	.070	135.120	27.650	271.721	2.131	1.442	2.434
	.080	146.524	31.620	288.278	2.166	1.500	2.460
	.090	157.730	35.721	304.235	2.198	1.553	2.483
	.100	168.800	39.961	319.729	2.227	1.602	2.505
	.150	223.535	63.521	393.112	2.349	1.803	2.595
	.200	279.438	91.674	463.950	2.446	1.962	2.666
	.250	338.416	125.400	535.605	2.529	2.098	2.729
	.300	401.917	165.869	610.333	2.604	2.220	2.786
	.350	471.349	214.533	690.176	2.673	2.331	2.839
	.400	548.294	273.203	777.412	2.739	2.436	2.891
	.450	634.674	344.140	874.973	2.803	2.537	2.942
	.500	732.961	430.123	987.021	2.865	2.634	2.994
	.550	846.468	534.458	1119.940	2.928	2.728	3.049

.600	979.823	660.815	1284.164	2.991	2.820	3.109
.650	1139.773	812.825	1497.568	3.057	2.910	3.175
.700	1336.674	993.748	1791.544	3.126	2.997	3.253
.750	1587.489	1207.730	2221.901	3.201	3.082	3.347
.800	1922.544	1465.001	2892.548	3.284	3.166	3.461
.850	2403.344	1792.922	4025.726	3.381	3.254	3.605
.900	3182.644	2263.655	6231.716	3.503	3.355	3.795
.910	3406.027	2389.538	6940.524	3.532	3.378	3.841
.920	3666.505	2532.499	7807.562	3.564	3.404	3.893
.930	3975.967	2697.695	8892.673	3.599	3.431	3.949
.940	4352.562	2892.855	10291.277	3.639	3.461	4.012
.950	4825.799	3130.289	12166.269	3.684	3.496	4.085
.960	5447.937	3431.292	14822.852	3.736	3.535	4.171
.970	6323.745	3837.382	18915.696	3.801	3.584	4.277
.980	7709.708	4446.644	26191.664	3.887	3.648	4.418
.990	10536.217	5596.907	43841.521	4.023	3.748	4.642

a. Logarithm base = 10.

Replikasi 3

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsebtrasi			95% Confidence Limits for log(konsebtrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	50.199	5.419	132.127	1.701	.734	2.121
	.020	68.643	9.110	165.660	1.837	.960	2.219
	.030	83.719	12.662	191.282	1.923	1.102	2.282
	.040	97.205	16.217	213.178	1.988	1.210	2.329
	.050	109.761	19.830	232.860	2.040	1.297	2.367
	.060	121.718	23.530	251.067	2.085	1.372	2.400
	.070	133.270	27.335	268.226	2.125	1.437	2.429
	.080	144.540	31.259	284.608	2.160	1.495	2.454
	.090	155.615	35.312	300.400	2.192	1.548	2.478
	.100	166.559	39.502	315.733	2.222	1.597	2.499
	.150	220.683	62.783	388.365	2.344	1.798	2.589
	.200	275.988	90.605	458.486	2.441	1.957	2.661
	.250	334.357	123.937	529.412	2.524	2.093	2.724
	.300	397.224	163.941	603.366	2.599	2.215	2.781
	.350	465.985	212.058	682.355	2.668	2.326	2.834
	.400	542.208	270.093	768.612	2.734	2.432	2.886
	.450	627.801	340.302	865.004	2.798	2.532	2.937
	.500	725.218	425.473	975.593	2.860	2.629	2.989
	.550	837.752	528.939	1106.606	2.923	2.723	3.044

.600	970.000	654.435	1268.220	2.987	2.816	3.103
.650	1128.666	805.690	1477.912	3.053	2.906	3.170
.700	1324.043	986.049	1766.504	3.122	2.994	3.247
.750	1572.994	1199.617	2188.990	3.197	3.079	3.340
.800	1905.673	1456.433	2847.813	3.280	3.163	3.455
.850	2383.249	1783.661	3961.720	3.377	3.251	3.598
.900	3157.693	2253.336	6130.798	3.499	3.353	3.788
.910	3379.754	2378.951	6827.757	3.529	3.376	3.834
.920	3638.725	2521.623	7680.285	3.561	3.402	3.885
.930	3946.440	2686.505	8747.200	3.596	3.429	3.942
.940	4320.970	2881.323	10122.291	3.636	3.460	4.005
.950	4791.699	3118.384	11965.655	3.680	3.494	4.078
.960	5410.668	3418.982	14577.230	3.733	3.534	4.164
.970	6282.237	3824.636	18600.340	3.798	3.583	4.270
.980	7661.944	4433.467	25751.380	3.884	3.647	4.411
.990	10477.066	5583.541	43094.527	4.020	3.747	4.634

a. Logarithm base = 10.

Tabel IC₅₀ Ekstrak dan Fraksi

Kelompok Uji	IC ₅₀ (µg/mL)			Rerata ±	
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	SD (µg/mL)	CV (%)
Ekstrak Metanol	464,967	463,359	461,317	463,214 ± 1,829	0,395
Fraksi Heksana	323,226	322,002	325,958	323,729 ± 2,025	0,626
Fraksi Diklorometana	434,002	449,174	440,003	441,060 ± 7,641	1,732
Fraksi Etil Asetat	651,436	645,795	653,657	650,296 ± 4,053	0,623
Residu	716,607	732,961	725,218	724,929 ± 8,181	1,129

Lampiran F. Hasil Analisis Statistika

1. Tes Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50 ekstrak	.198	3	.	.995	3	.869
IC50 f.heksana	.265	3	.	.954	3	.586
IC50 f.dcm	.222	3	.	.986	3	.771
IC50 f.etil asetat	.277	3	.	.941	3	.530
IC50 f.residu	.181	3	.	.999	3	.941

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.599	4	10	.249

3. Uji One Way Anova

ANOVA

IC50

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	320848.042	4	80212.011	2688.310	.000
Within Groups	298.373	10	29.837		
Total	321146.415	14			

4. Uji LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: IC50

LSD

(I) sampel uji	(J) sampel uji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak	fraksi heksana	139.485667*	4.459995	.000	129.54818	149.42316
	fraksi dcm	22.154667*	4.459995	.001	12.21718	32.09216
	fraksi etil asetat	-187.081667*	4.459995	.000	-197.01916	-177.14418
	fraksi residu	-261.714333*	4.459995	.000	-271.65182	-251.77684
fraksi heksana	ekstrak	-139.485667*	4.459995	.000	-149.42316	-129.54818
	fraksi dcm	-117.331000*	4.459995	.000	-127.26849	-107.39351
	fraksi etil asetat	-326.567333*	4.459995	.000	-336.50482	-316.62984
	fraksi residu	-401.200000*	4.459995	.000	-411.13749	-391.26251
fraksi dcm	ekstrak	-22.154667*	4.459995	.001	-32.09216	-12.21718
	fraksi heksana	117.331000*	4.459995	.000	107.39351	127.26849
	fraksi etil asetat	-209.236333*	4.459995	.000	-219.17382	-199.29884
	fraksi residu	-283.869000*	4.459995	.000	-293.80649	-273.93151
fraksi etil asetat	ekstrak	187.081667*	4.459995	.000	177.14418	197.01916
	fraksi heksana	326.567333*	4.459995	.000	316.62984	336.50482
	fraksi dcm	209.236333*	4.459995	.000	199.29884	219.17382
	fraksi residu	-74.632667*	4.459995	.000	-84.57016	-64.69518
fraksi residu	ekstrak	261.714333*	4.459995	.000	251.77684	271.65182
	fraksi heksana	401.200000*	4.459995	.000	391.26251	411.13749
	fraksi dcm	283.869000*	4.459995	.000	273.93151	293.80649
	fraksi etil asetat	74.632667*	4.459995	.000	64.69518	84.57016

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