

POTENSI EKSTRAK BATANG TABAR KEDAYAN (*Aristolochia foveolata*) DALAM INHIBISI BAKTERI *S. aureus* DAN *E. coli* PADA ULKUS DIABETIKUM MELALUI SEDIAAN *THERMOSENSITIVE HIDROGEL*

Oleh

JUANA FERNANDO

211148201163

SKRIPSI

**Untuk memenuhi salah satu syarat ujian
guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi**



**PROGRAM STUDI S-1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA
2025**

LEMBAR PENGESAHAN

**POTENSI EKSTRAK BATANG TABAR KEDAYAN (*Aristolochia foveolata*)
DALAM INHIBISI BAKTERI *S. aureus* DAN *E. coli* PADA
ULKUS DIABETIKUM MELALUI SEDIAAN
*THERMOSENSITIVE HIDROGEL***

Dipersiapkan dan disusun oleh:

JUANA FERNANDO
211148201163

Telah dipertahankan di depan Tim penguji pada tanggal 15 Juli 2025

Pembimbing Utama



apt. Muh. Taufiqurrahman, M. Farm
NIK: 0923.A4.30

Mengetahui

Ketua Program Studi S-1 Farmasi



apt. Raymon Simanullang, M.Pharm
NIK: 0924.A4.18

Pembimbing Pendamping



Risny Oklyan M. Farm
NIK: -

Tim Penguji

Ketua : apt. Liniati Geografi, M.Sc

Anggota :

1. apt. Raymon Simanullang, M.Pharm

2. apt. Muh. Taufiqurrahman, M.Farm



PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAK SKRIPSI

Skripsi sarjana terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada pengarang dengan mengikuti aturan hak yang berlaku di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh isi skripsi haruslah seizin Ketua Prodi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda.

LEMBAR PERYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Karya tulis saya, skripsi ini, adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar sarjana, baik di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda maupun di perguruan tinggi lain.
2. Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan dari pihak lain, kecuali arahan dari Tim Pembimbing dan masukan Tim Penelaah/Tim Penguji
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan tidak benaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku diperguruan tinggi ini.

Samarinda, Juli 2025
Yang membuat pernyataan,

(Juana Fernando)

LEMBAR KUTIPAN

Kutipan atau saduran baik sebagian atau seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan
Dirgahayu Samarinda

LEMBAR PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya dedikasi kepada bapak,
mama, kakak tercinta dan sahabat terima
kasih atas doa dan dukungannya

ABSTRAK

Tabar Kedayan (*Aristolochia foveolata*) adalah tanaman yang digunakan oleh suku Dayak. Tanaman ini biasa digunakan untuk mengobati keracunan makanan, efek mabuk alkohol, dan gigitan serangga. Karena senyawa seperti *sesquiterpenes β-caryophyllene* dan *iso-caryophyllene* tanaman ini memiliki efek antibakteri. *Thermosensitive hidrogel* adalah sediaan gel yang akan berubah bentuk terhadap suhu. Sediaan ini dipilih kerana minimnya potensi toksisitas sistemik. *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah bakteri yang secara umum terdapat pada ulkus diabetikum. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antibakteri dari ekstrak etanol Tabar Kedayan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian ini dilakukan dengan cara mengamati diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 10%, 15%, 20%, dan 25%. Pada bakteri *Staphylococcus aureus* dihasilkan zona hambat masing-masing 9.9 ± 4.1 mm, 4.7 ± 1.8 mm, 11.8 ± 3.4 mm, 11.3 ± 2.1 mm, dan 15.8 ± 3.9 mm. pada uji *Post-hoc LSD* dihasilkan *P value* sebesar 0.022. Kemudian pada bakteri *Escherichia coli* zona hambat yang dihasilkan adalah masing-masing 8.45 ± 4 mm, 4.4 ± 1.4 mm, 10.13 ± 2.2 mm, 12.96 ± 3.7 mm, dan 16.95 ± 4.9 mm. dan pada uji *post-hoc LSD* dihasilkan *P value* sebesar 0.004. kesimpulan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol tabar kedayan yang terdispersi kedalam sediaan *thermosensitif hydrogel* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan signifikan pada konsentrasi 25%.

Kata kunci : Tabar Kedayan, *Diabetic foot ulcer*, *Thermosensitive hydrogel*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

ABSTRACT

Tabar Kedayan (*Aristolochia foveolata*) is a plant used by the Dayak tribe. This plant is commonly used to treat food poisoning, hangover effects, and insect bites. Because compounds such as sesquiterpenes β -caryophyllene and isocaryophyllene this plant has antibacterial effects. Thermosensitive hydrogel is a gel preparation that will change shape with temperature. This preparation was chosen because of the minimal potential for systemic toxicity. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* are bacteria that are commonly found in diabetic ulcers. This study aims to determine the antibacterial potential of Tabar Kedayan ethanol extract against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. This study was conducted by observing the diameter of the inhibition zone formed around the well. The concentrations of the extract used were 10%, 15%, 20%, and 25%. In *Staphylococcus aureus* bacteria, the inhibition zones produced were 9.9 ± 4.1 mm, 4.7 ± 1.8 mm, 11.8 ± 3.4 mm, 11.3 ± 2.1 mm, and 15.8 ± 3.9 mm, respectively. In the Post-hoc LSD test, the P value was 0.022. Then in *Escherichia coli* bacteria, the inhibition zones produced were 8.45 ± 4 mm, 4.4 ± 1.4 mm, 10.13 ± 2.2 mm, 12.96 ± 3.7 mm, and 16.95 ± 4.9 mm, respectively. and in the post-hoc LSD test, the P value was 0.004. The conclusion of this study is that the ethanol extract of tabar kedayan dispersed into the thermosensitive hydrogel preparation is able to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria significantly at a concentration of 25%.

Key word : Tabar Kedayan, Diabetic foot ulcer, Thermosensitive hydrogel, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

KATA PENGANTAR

Salam damai bagi kita semua. Puji dan syukur kita panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa. Karena atas berkat dan izinnya penulis dapat menyelesaikan dan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul **“POTENSI EKSTRAK BATANG TABAR KEDAYAN (*Aristolochia foveolata*) DALAM INHIBISI *S. aureus* DAN *E. coli* PADA ULKUS DIABETIKUM MELALUI SEDIAAN *THERMOSENSITIVE HIDROGEL*”**. Skripsi ini dibuat untuk memenuhi tugas akhir perkuliahan dan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Strata 1 di Program Studi Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda. Selain itu, skripsi ini juga dibuat sebagai salah satu wujud implementasi dari ilmu yang didapatkan selama masa perkuliahan di Program Studi Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dosen Pembimbing Bapak apt. Muh. Taufiqurrahman, M. Farm. dan Ibu Risny Oklyan, M. Farm. atas bimbingan, nasihat serta pengorbanan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Suster Ns. Andrea Theofrida Bone, S. Kep., MAN. Selaku Rektor Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.
2. Bapak apt. Raymon Simanullang, M. Pharm. Selaku Ketua Program Studi S-1 Farmasi
3. Bapak Muh. Taufiqurrahman, M. Farm. dan Ibu Risny Oklyan, M. Farm. selaku Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis.
4. Ibu apt. Liniati Geografi, M. Sc. dan Bapak apt. Raymon Simanullang, M. Pharm. Selaku Dosen Penguji yang telah banyak memberi masukan dan saran untuk perbaikan skripsi ini.
5. Seluruh staf dosen, staf administrasi serta karyawan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayui Samarinda.
6. Kepada orang tua tercinta Bapak Bidin Jing Bernadus, S. Pd. dan Ibu Tuyan Anyang. Yang telah memberikan amat sangat banyak bantuan finansial

maupun mental sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda ini.

7. Kepada kakak tersayang Ibu Liana Gorettie Ilan, S. Se yang telah banyak memberikan dukungan.
8. Kepada orang yang spesial, seperti yang digambarkan pada lagu “sempurna”-Andra and The Back Bone sebagai *partner* sejak tahun 2019. Yang selalu sabar dalam menemani, membantu, meluangkan waktu, tenaga dan pikiran, serta memberikan dukungan serta motivasi selama enam tahun belakangan ini hingga penulis berhasil menyelesaikan skripsi di perguruan tinggi ini. Semoga segala harapan baik yang telah direncanakan bisa terwujud dikemudian hari.
9. Serta sahabat-sahabat angkatan 2021 yang telah menemani dan berbagi cerita selama penulis kuliah di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga skripsi ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Samarinda, 15 Juli 2025

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAK SKRIPSI	iii
LEMBAR PERYATAAN	iv
LEMBAR KUTIPAN	v
LEMBAR PERSEMBAHAN	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Identifikasi Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan umum.....	3
1.3.2 Tujuan khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Hipotesis.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tabar Kedayan (<i>Aristolochia faveolata</i>).....	4
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Tabar Kedayan.....	4
2.1.2 Morfologi Tanaman Tabar Kedayan.....	4
2.1.3 Kandungan Tanaman Tabar Kedayan.....	5
2.1.4 Pemanfaatan tanaman Tabar Kendayan.....	7
2.2 Diabetic Foot Ulcer/DFU.....	8
2.2.1 Neuropati.....	9
2.2.2 Iskemia.....	9
2.2.3 Infeksi.....	9
2.2.4 Perubahan sirkulasi.....	9
2.3 <i>Thermosensitive Hydrogel</i>	10

2.4	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	11
2.5	Bakteri <i>Escherichia coli</i>	11
2.6	Metode Ekstraksi	12
2.6.1	Cara dingin	13
2.6.2	Cara panas	14
2.7	Metode Pengujian Antibakteri	15
2.7.1	Metode difusi.....	15
2.7.2	Metode dilusi.....	16
2.8	Agen Antibiotik Pembanding	16
BAB 3 METODE PENELITIAN		18
3.1	Tempat dan waktu Penelitian.....	18
3.1.1	Waktu penelitian.....	18
3.1.2	Tempat penelitian	18
3.2	Alat dan bahan.....	18
3.2.1	Alat Penelitian	18
3.2.2	Bahan Penelitian.....	18
3.3	Metode penelitian	19
3.3.1	Jenis Penelitian	19
3.3.2	Definisi operasional.....	19
3.3.3	Fokus penelitian	20
3.3.4	Populasi, sampel dan teknik sampling	20
3.3.5	Teknik analisis data	20
3.3.6	Teknik pengumpulan data	20
3.3.7	Tahap persiapan.....	21
3.4	Variabel penelitian	23
3.4.1	Variabel independen	23
3.4.2	Variabel dependen	24
3.4.3	Variabel terkendali.....	24
3.5	Pembuatan sediaan <i>thermosensitive hydrogel</i>	24
3.5.1	Rancangan formula sediaan gel.....	24
3.5.2	Pembuatan formula	25
3.5.3	Pengujian karakteristik sediaan <i>thermosensitive hydrogels</i>	25
3.6	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol.....	25

3.6.1	Sterilisasi alat dan bahan	25
3.6.2	Tahap pelaksanaan.....	26
3.6.3	Tahap Perlakuan	28
3.6.4	Pengolahan data.....	28
3.7	Alur penelitian	29
BAB IV PEMBAHASAN DAN HASIL		30
4.1	Determinasi Tanaman Tabar Kedayan.....	30
4.2	Pembuatan Simplisia	30
4.3	Skrining Fitokimia.....	30
4.4	Pembuatan Ekstrak Etanol batang tabar kedayan.....	32
4.5	Pembuatan sediaan <i>thermosensitive hydrogel</i>	33
4.6	Pengujian antibakteri dari ekstrak etanol batang tabar kedayan...34	
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		44
5.1	Kesimpulan.....	44
5.2	Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA.....		45
LAMPIRAN		49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1.1 Hasil Skrining Fitokimia Tabar Kedayan	5
1.2 Polimer <i>Thermosensitive Hydrogel</i> serta karakteristiknya	10
1.3 Kategori diameter daya hambat.....	15
3.1 Definisi operasional.....	19
3.2 Formulasi sediaan <i>Thermosensitif hydrogel</i>	25
4.1 Hasil pembuatan simplisia batang tabar kedayan.....	31
4.2 Hasil Skrining Fitokimia ekstrak batang tabar kedayan.....	32
4.3 Hasil rendemen simplisia	34
4.4 Hasil uji mutu fisik sediaan	34
4.5 Hasil Pewarnaan gram.....	36
4.6 Rerata diameter zona hambat ekstrak etanol batang tabar kedayan terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	36
4.7 Rerata diameter zona hambat ekstrak etanol batang tabar kedayan terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	37
4.8 Uji Normalitas Dan Homogenitas data diameter zona hambat pada bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	40
4.9 Uji Normalitas Dan Homogenitas data diameter zona hambat pada bakteri <i>Escherichia coli</i>	40
4.10 Hasil uji <i>Post-Hoc LSD</i> , Perbedaan diameter zona hambat antara ekstrak etanol batang tabar kedayan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	41
4.11 Hasil uji <i>Post-Hoc LSD</i> , Perbedaan diameter zona hambat antara ekstrak etanol batang tabar kedayan terhadap <i>Escherichia coli</i>	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Batang Tabar Kedayan	4
2.2 Pewarnaan Gram <i>Staphylococcus aureus</i>	11
2.3 Pewarnaan Gram <i>Escherichia coli</i>	12
2.4 Struktur kimia Gentamicin sulfat	16
3.1 Diagram alur penelitian	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Surat Determinasi Tanaman	49
2 CoA <i>Staphylococcus aureus</i>	50
3 CoA <i>Eshcerichia coli</i>	52
4 CoA Poloxamer 188	54
5 Kultur murni dari bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Eshcerichia coli</i>	56
6 Hasil Pewarnaan gram bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	56
7 Hasil Pewarnaan gram bakteri <i>Eshcerichia coli</i>	57
8 Sterilisasi alat dan bahan	57
9 Hasil pengujian antibakteri pada bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	58
10 hasil pengujian antibakteri pada bakteri <i>Eshcerichia coli</i>	60
11 hasil uji statistik dari diameter zona hambat pada bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	62
12 Gambar hasil uji statistik dari diameter zona hambat pada bakteri <i>Eshcerichia coli</i>	63
13 Perhitungan diameter zona hambat <i>Sthapylococcus aureus</i>	64
14 Perhitungan diameter zona hambat <i>Escherichia coli</i>	68

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara dengan luas nemempati urutan ke-15 dari negara terluas di dunia. Tahun 2017, luas daratan Indonesia 1.916.862,20 Km². Luas tersebut 3,4 kali negara terluas eropa timur (Ukraina), 1,9 kali negara terluas di Eropa selatan (Yunani), 4,3 kali luas negara terluas di Eropa utara (Swedia), dan 4 kali luas Negara teluas di Eropa Barat (Perancis) (Setiawan, 2022). Dengan wilayah yang luas tersebut, Indonesia menjadi negara dengan keanekaragaman hayati tertinggi di dunia. Tahun 2017, Indonesia memiliki 31.750 jenis tumbuhan yang ditemukan dan sekitar 15.000 tumbuhan yang berpotensi berkhasiat obat (Retnowati & Susan, 2019). Namun, baru sekitar 7000 spesies yang digunakan sebagai bahan obat baku. Tumbuhan atau tanaman obat tradisional merupakan tanaman yang dapat dipergunakan sebai obat, baik yang sengaja ditanam (budidaya) maupun tanaman yang tumbuh secara liar (Mulyani & Sumiwi, 2020).

Salah satu tanaman yang umum digunakan oleh masyarakat yang berada di Kalimantan Utara adalah Tabar Kedayan (*Aristolochia faveolata*) atau *The Dutchman's Pipe* (Liwun, 2009). Secara empiris tanaman ini digunakan oleh masyarakat untuk mengatasi berbagai penyakit seperti gangguan pencernaan, antibisa, kondisi mabuk yang disebabkan oleh alkohol, nyeri kepala, dan nyeri menstruasi. Namun, penelitian ilmiah tentang tumbuhan ini masih terbatas sehingga pengetahuan tentang cara penggunaan, indikasi, dan dosis hanya diketahui secara empiris atau secara turun-temurun. Menurut penelitian, ekstrak dari tanaman Tabar kedayan memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia coli* (Jubaidah, Aprilia, & Wijaya, 2016)

Namun, Berdasarkan keputusan Badan POM Nomor: HK.00.05.4.03960, tumbuhan *Aristolochia sp.* mengandung senyawa Asam Aristolokat (*Aristolochic Acid*) yang berpotensi karsinogenik dan telah dilarang untuk digunakan baik sebagai bahan maupun dalam bentuk sediaan jadi obat tradisional dan suplemen makanan di Indonesia (BPOM, 2001). Meskipun demikian, tanaman ini masih

digunakan oleh masyarakat khususnya suku Dayak karena manfaat dari tanaman ini sangat melimpah.

Ulcer diabetikum adalah perlukaan pada kaki yang umumnya dialami oleh penderita diabetes. Hal ini dapat terjadi diakibatkan oleh rusaknya pembuluh darah dan jaringan syaraf pada kaki sehingga menimbulkan kerusakan pada jaringan. Pada tahun 2021 terdapat 536,6 juta jiwa yang terdiagnosis diabetes melitus dan 19,5 juta jiwa diantaranya mengalami ulkus diabetikum atau 19-34% dari total pasien DM (IDF, 2021).

Sediaan *thermosensitive hidrogel* adalah sediaan yang dapat berubah konsistensinya dari cair menjadi gel saat mengalami perubahan suhu. Pemisahan fasa ini dapat terjadi karena adanya efek hidrofobik antara rantai polimer, sehingga polimer dapat memadat atau pun mencair dengan sendirinya membentuk hidrogel. Sediaan *thermosensitive hidrogel* sangat menjanjikan karena dapat berubah bentuk, toksisitas yang rendah, pengaplikasian secara lokal, dan pelepasan obat secara berkelanjutan. Pelepasan lokal memungkinkan konsentrasi maksimum molekul obat untuk ditransmisikan di dekat target, sehingga mengurangi dosis dan toksisitas obat yang disebabkan oleh penggunaan sejumlah besar obat. (Ranran, *et al.*, 2022)

Berdasarkan uraian di atas dan penggunaan empiris secara luas pengobatan masyarakat dayak di kalimantan utara menggunakan tabar kedayan, penulis bermaksud untuk melaksanakan penelitian dengan judul Potensi Ekstrak Batang Tabar Kedayan Dalam Inhibisi *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Pada Ulkus Diabetikum Melalui Sediaan *Thermosensitive Hidrogel*.

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut.

- 1.2.1 Apakah terdapat perbedaan secara signifikan daya antibakteri gentamicin sulfate 0.1% terhadap ekstrak etanol batang tabar kedayan dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, dan 25% yang terdispersi dalam sediaan *Thermosensitive Hidrogel* terhadap inhibisi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?
- 1.2.2 Bagaimana kadar hambat minimum (KMH) ekstrak tabar kedayan terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol batang tabar kedayan dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, dan 25% yang terdispersi pada sediaan *Thermosensitive Hydrogel* pada bakteri *Sthapylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

1.3.2 Tujuan khusus

1.3.2.1 Menganalisa pengaruh ekstrak batang tabar kedayan dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, dan 25% yang didispersikan pada sediaan *thermosensitive hydrogel* pertumbuhan bakteri *Sthapylococcus. aureus* dan *Escherichia coli*.

1.3.2.2 Mengatahui kadar hambat minimum (KMH) ekstrak tabar kedayan yang terdispersi dalam sediaan *thermosensitive hydrogel* terhadap pertumbuhan bakteri *Sthapylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai aktivitas Ekstrak Batang Tabar Kedayan (*Aristolochia foveolata*) dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, dan 25% yang Terdispersi Dalam Sediaan *Thermosensitive Hidrogel* sebagai antibakteri terhadap bakteri bakteri *Sthapylococcus aureus* dan *Eshcerichia coli*.

1.4.2 Menambah ilmu pengetahuan dan memberikan informasi ilmiah mengenai potensi kearifan lokal tanaman obat di Indonesia

1.5 Hipotesis

1.5.1 H_1 = Ekstrak Batang tabar kedayan yang terdispersi dalam Sediaan *Thermosensitive Hidrogel* berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* secara *in vitro*

1.5.2 H_0 = Ekstrak Batang tabar kedayan yang terdispersi dalam Sediaan *Thermosensitive Hidrogel* tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* secara *in vitro*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tabar Kedayan (*Aristolochia faveolata*)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Tabar Kedayan



Gambar 2.1 Batang Tabar Kedayan (Dokumentasi Pribadi, 2024)

Secara Taksonomi, Tanaman Tabar Kedayan digolongkan sebagai berikut:

Kerajaan	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Ordo	: <i>Piperales</i>
Famili	: <i>Aristolochiaceae</i>
Genus	: <i>Aristolochia</i>
Spesies	: <i>Aristolochia foveolata</i>

2.1.2 Morfologi Tanaman Tabar Kedayan

Tanaman Tabar Kedayan tersebar luas di wilayah beriklim sedang dan tropis di Mediterania, Asia, Afrika, dan Amerika Tengah. Tanaman dari genus *aristolochia* telah digunakan sebagai obat herbal di Eropa selama lebih selama 2000 tahun. Tanaman ini memiliki batang yang melilit biasanya ramping, berwarna hijau dan tidak

berbulu. batang yang lebih tua akan bertekstur seperti kayu atau gabus, sedikit retak, dan berwarna kecolatan. Daunnya tersusun berselang-seling dan tumbuh pada tangkai daun sepanjang 15-50 mm. Helaian daunnya lebar dan berbentuk seperti hati, ginjal atau pun berbentuk seperti segitiga dengan ukuran panjang 3-10 cm dan lebar 3-12 cm. Daunnya tidak berbulu dan memiliki tepi daun yang utuh. Permukaan daun bagian atas berwarna hijau cerah, sedangkan bagian bawahnya lebih pucat. (Abhijit & Jitendra, 2011)

2.1.3 Kandungan Tanaman Tabar Kedayan

Tanaman Tabar Kedayan memiliki beberapa senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa tersebut adalah dari golongan alkaloid, flavonoid, dan tanin. Mekanisme kerja masing-masing senyawa ini adalah alkaloid merusak metabolisme sel bakteri sehingga pertumbuhannya terhambat. Flavonoid menghambat sintesis asam nukleat, merusak fungsi membran sitoplasma, dan metabolisme energi bakteri. Sedangkan tanin menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Skrining fitokimia tabar kedayan dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2.1 Hasil skrining fitokimia tabar kedayan (Jubaidah, Sapri, & Supriningrum, 2013)

Golongan	Hasil
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Tanin	+
Triterpenoid dan steroid	+

2.1.3.1 Asam Aristolokat

Asam Aristolokat atau *Aristolochia Acid* adalah senyawa yang terdapat dalam spesies *Aristolochia sp.* Yang digunakan dalam pengobatan herbal tradisional. Senyawa ini telah dilaporkan berfungsi sebagai penghambat fosfolipase A2, dan sebagai agen antineoplastik, antiseptik, antiinflamasi, dan bakterisida.

2.1.3.2 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tubuhan. Mekanisme kerja senyawa alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel, alkaloid mampu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat membrane sel, dan menghambat metabolisme energi (Nur & Gultom, 2020)

2.1.3.3 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang banyak ditemukan pada jaringan tanaman. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan pelepasan senyawa intraseluler (Tilarso, *et al.*, 2021)

2.1.3.4 Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan oleh tumbuhan. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan mendenaturasi protein. Karena zat aktif permukaan saponin mirip detergen maka saponin dapat digunakan sebagai antibakteri dimana tegangan permukaan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membran bakteri dirusak Kelangsungan hidup bakteri akan terganggu akibat

rusaknya membran sel. Kemudian saponin akan berdifusi melalui membrane sitoplasma sehingga kestabilan membran akan terganggu yang menyebabkan sitoplasma mengalami kebocoran dan keluar sel yang mengakibatkan kematian sel.

2.1.3.5 Steroid dan triterpenoid

Steroid dan triterpenoid menyebabkan terganggunya fungsi membran sel sebagai penghalang selektif terhadap beberapa senyawa, yang menyebabkan terjaninya kebocoran sel. kebocoran sel menyebabkan keluarnya komponen sel/organel sel yang berfungsi untuk menjalankan kehidupan sel baktei dan mempertahankan fungsi normal kehidupan sel bakteri yang pada akhirnya menyebabkan bakteri menjadi lisis dan terjadi kematian sel bakteri.

2.1.3.6 Tanin

Tanin merupakan senyawa kimia yang bersifat polar dan larut dalam pelarut polar seperti air dan etanol. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menyebabkan sel pada bakteri menjadi lisis. Hal ini terjadi karena tanin memiliki target pada dinding polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna dan kemudian sel bakteri akan mati. Tanin juga memiliki kemampuan untuk menginaktifkan enzim bakteri serta mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel (Sapara & Waworuntu, 2016)

2.1.4 Pemanfaatan tanaman Tabar Kedayan

Tabar kedayan (*Aristolochia faveolata* merr.) adalah tanaman tradisional yang terdapat pada pulau Kalimantan. Suku Dayak di daerah Malinau menggunakan Tabar Kedayan sebagai anti racun untuk menetralkan racun serangga, sedatif, analgesik, antihistamin, diare, bisa ular, dan segala macam gigitan binatang berbisa (Liwun, 2009). Spesies genus ini digunakan sebagai tanaman hias dan sebagai

pengobatan tradisional. Penggunaan ekstrak tumbuhan dalam pengobatan dinilai menguntungkan karena tidak diperlukan prosedur yang rumit untuk mendapatkannya, biaya produksi yang relatif rendah, dan bahan yang mudah diakses.

Pada tahun 2001 BPOM mengeluarkan keputusan No: HK.00.05.4.03960, tumbuhan *aristolochia* sp. Mengandung senyawa asam aristolokat (*Aristolochic acid*) yang berpotensi karsinogenik. Sejak saat itu, tanaman ini telah dilarang untuk digunakan baik sebagai bahan maupun dalam bentuk sediaan jadi obat tradisional dan suplemen makanan di Indonesia (BPOM, 2001). Meskipun memiliki masalah kesehatan yang serius, tanaman tabar kedayan masih digunakan oleh masyarakat hingga saat ini dikarenakan khasiatnya yang melimpah.

2.2 Diabetic Foot Ulcer/DFU

Diabetes mellitus (DM) adalah salah satu penyakit endokrin yang paling umum di seluruh dunia ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah yang disebabkan oleh sekresi insulin yang rusak. Secara umum ada beberapa tipe diabetes yaitu, diabetes tipe 1 dimana terjadinya defisit insulin yang diakibatkan oleh kerusakan sel beta pankreas sehingga tidak dapat mengsekresikan insulin. Lalu diabetes tipe 2, diabetes tipe ini terjadi karena kurangnya respon tubuh terhadap insulin sehingga kadar gula dalam darah tinggi. Diabetes tipe ini merupakan tipe paling umum diseluruh dunia sekitar 85% kasus diabetes adalah diabetes tipe 2. Lalu ada tipe diabetes gestasional. Yaitu, terhambatnya sekresi insulin yang diakibatkan oleh hormon kehamilan yang akhirnya menyebabkan hiperglikemik. (Jneid, *et al.*, 2017).

Diabetic Foot Ulcer (DFU) atau ulkus diabetikum adalah komplikasi dari diabetes melitus yang bersifat kronis, sehingga dapat menyebabkan luka terbuka yang terletak dibagian kaki yang tak kunjung sembuh disebabkan adanya neuropati dan atau tanpa penyakit arterial perifer serta menyebabkan kerusakan jaringan dalam atau kematian jaringan hingga terjadinya infeksi hingga amputasi (APMA, 2022)

Banyak faktor penyebab terjadinya DFU antara lain berkaitan dengan neuropati, iskemia, infeksi, dan perubahan sirkulasi akibat adanya gangguan pembuluh darah arterial perifer.

2.2.1 Neuropati

Neuropati merupakan kondisi yang berhubungan dengan gangguan fungsi dan struktur saraf tepi. Neuropati adalah sebagai gejala yang muncul pada perifer tubuh karena disfungsi saraf perifer pada pasien diabetes. Neuropati perifer merupakan salah satu komplikasi mikrovaskular karena gangguan saraf yang disebabkan oleh kenaikan kadar gula dalam darah persisten dan dialami 50% dari jumlah pasien diabetes melitus (Rodica, *et al.*, 2022).

2.2.2 Iskemia

Iskemia adalah penyempitan dinding pembuluh darah, terutama pada pembuluh darah tepi yang diakibatkan oleh tingginya kadar gula dalam darah. Sehingga suplai darah ke jaringan akan berkurang dan terhambat dan akan menimbulkan DFU. Gejala iskemia yaitu nyeri pada otot saat istirahat atau saat beraktifitas (Carlo, *et al.*, 2022).

2.2.3 Infeksi

Pada pasien DFU, terjadinya infeksi akibat luka terbuka. Luka terbuka akan mengakibatkan kolonisasi oleh mikroorganisme dengan tanda klasik yaitu adanya tanda-tanda inflamasi. Mikroorganisme berkembang biak didalam luka dan menyebabkan kerusakan jaringan lokal serta menghambat penyembuhan luka (Boulton, *et al.*, 2018).

2.2.4 Perubahan sirkulasi

Perubahan sirkulasi pada DFU sangat sering terjadi pada pembuluh darah arteri maupun vena. Manifestasi klinisnya yaitu

pada saat istirahat, hilangnya pulsasi perifer, penipisan kulit serta kehilangan rambut pada kaki dan tangan serta kulit kering (Boulton, *et al.*, 2018).

2.3 *Thermosensitive Hydrogel*

Thermosensitive hydrogel Dibagi menjadi 2 jenis yaitu *thermosensitive hydrogel* positif dan *thermosensitive hydrogel* negatif, kedua *thermosensitive hydrogel* ini dibagi menurut struktur sensitif suhunya. *Thermosensitive hydrogel* Polimer dengan LCST (*lower critical solution temperature*) dapat membentuk hidrogel yang sensitif terhadap suhu negatif, polimer menyusut seiring dengan suhu meningkat. Pada suhu yang lebih rendah, ikatan hidrogen terjadi antara kelompok hidrofilik dari rantai polimer dan molekul air adalah mendominasi, menyebabkan pelarutan dalam air. Namun, dengan suhu meningkatkan interaksi hidrofobik antar kelompok hidrofobik menjadi diperkuat sementara hidrogen ikatan menjadi lemah, menyebabkan gelasi (Haiqin, *et al.*, 2019). Berikut adalah beberapa polimer yang sering digunakan dalam pembuatan sediaan *Thermosensitive hydrogel* Serta karakteristiknya.

Tabel 2.2 Polimer *Thermosensitive Hydrogel* serta karakteristiknya (Ranran, *et al.*, 2022)

Klasifikasi	Polimer	Harakteristik
Alami	Poloxamer 407	Biokompabilitas yang sangat baik.
	Poloxamer 188	Toksisitas rendah, kompabilitas yang baik
	Plunoric F127	dengan reagen kimia lainnya dan
	Chitosan	solubilisasi yang kuat, yang dapat menunda
	methylcellulose	pelepasan obat
Sintetis	Poly (<i>N</i> -isopropylacrylamide)	Sensitivitas suhu yang baik, persiapan
	Sodium alginate-g-poly (<i>N</i> -isopropylacrylamide)	sederhana, ketersediaan bahan yang mudah.

2.4 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif yang bersifat patogen. Morfologi bakteri ini selnya berbentuk bulat atau kokus berdiameter 0,8 - 1,0 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Pertumbuhan terbaik pada suasana aerob namun juga bersifat aerob fakultatif. Bakteri ini sering ditemukan ditanah, air tawar, dan selaput lendir pada binatang berdarah panas termasuk manusia (Fuad & Kurniawan, 2022)

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

Divisi	: <i>Protophyta</i> atau <i>Schizophyta</i>
Kelas	: <i>Schizomycetes</i>
Bangsa	: <i>Eubacteriales</i>
Suku	: <i>Micrococcaceae</i>
Marga	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 2.2 Pewarnaan gram *Staphylococcus aureus* (Laila, *et al.*, 2019)

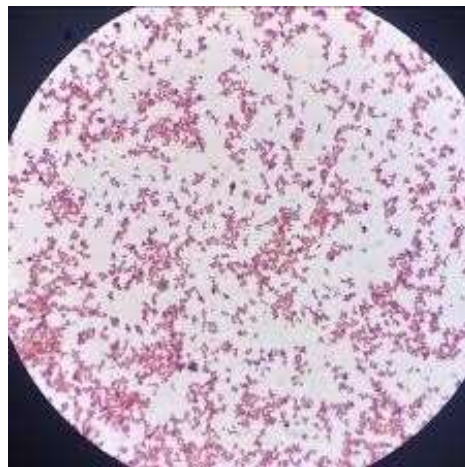
2.5 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4 μm . (Fuad & Kurniawan, 2022). Bakteri ini tidak membentuk spora, tidak tahan asam, sebagian besar bergerak dengan flagel pentrikus (merata tersebar

diseluruh permukaan sel dan beberapa strain mempunyai kapsul). *Escherichia coli* ini bersifat patogen, bakteri ini dapat menyebabkan beberapa penyakit pada manusia, antara lain: menyebabkan infeksi primer pada usus manusia (diare pada anak), infeksi pada saluran kemih. Bakteri ini banyak ditemukan dalam saluran pencernaan, habitat pada umumnya adalah ditanah, lingkungan akuatik, makanan, air seni dan tinja.

Klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :

Devisi : *Bacteria*
Kelas : *Schizomycetes*
Bangsa : *Enterobacteriales*
Suku : *Enterobacteriaceae*
Marga : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*



Gambar 2.3 Pewarnaan gram *Escherichia coli* (Dinda, Cynthia, & Elisabet, 2024)

2.6 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Siplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan

mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. (DepKes, 2000)

Ekstraksi adalah pemisahan bagian aktif sebagai obat dari jaringan tumbuhan ataupun hewan menggunakan pelarut yang sesuai melalui prosedur yang telah ditetapkan. Selama proses ekstraksi, pelarut akan berdifusi sampai ke material padat dari tumbuhan dan akan melarutkan senyawa dengan polaritas yang sesuai dengan pelarutnya (Hurria, Novena, & Nurshalati, 2023).

Beberapa metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yaitu

2.6.1 Cara dingin

2.6.1.1 Maserasi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar (DepKes, 2000). Keuntungan ekstraksi dengan cara maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, sedangkan kerugiannya yakni cara pengerjaannya lama, membutuhkan pelarut yang banyak dan penyarian kurang sempurna. Dalam maserasi (untuk ekstrak cairan), serbuk halus atau kasar dari tumbuhan obat yang kontak dengan pelarut disimpan dalam wadah tertutup untuk periode tertentu dengan pengadukan yang sering, sampai zat tertentu dapat terlarut. Metode ini cocok digunakan untuk senyawa yang termolabil (Hurria, Novena, & Nurshalati, 2023).

2.6.1.2 Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap perendaman, tahap perkolasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak) secara terus menerus sampai

diperoleh ekstrak (perkolat). Untuk menentukan akhir dari pada perkolasi dapat dilakukan pemeriksaan zat secara kualitatif pada perkolat akhir. Ini adalah prosedur yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam penyusunan tincture dan ekstrak cairan (Hurria, Novena, & Nurshalati, 2023).

2.6.2 Cara panas

2.6.2.1 Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan menggunakan alat soklet sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Ditjen POM, 2000).

2.6.2.2 Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Ditjen POM, 2000)

2.6.2.3 Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90°C selama 15 menit. Bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur yang digunakan (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Ditjen POM, 2000).

2.6.2.4 Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air (Ditjen POM, 2000). Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90°C selama 30 menit. Metode ini digunakan untuk ekstraksi konstituen yang larut dalam air dan konstituen yang stabil terhadap panas (Hurria, Novena, & Nurshalati, 2023)

2.6.2.5 Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik pada temperatur lebih tinggi dari temperatur suhu kamar, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Ditjen POM, 2000). Digesti adalah maserasi dengan pengadukan kontinyu pada temperatur lebih tinggi dari temperatur ruang (umumnya 25-30°C). Ini adalah jenis ekstraksi maserasi di mana suhu sedang digunakan selama proses ekstraksi (Hurria, Novena, & Nurshalati, 2023).

2.7 Metode Pengujian Antibakteri

Pengujian mikrobiologi memanfaatkan mikroorganisme sebagai penentu konsentrasi komponen tertentu pada campuran kompleks kimia, untuk mendiagnosis penyakit tertentu serta untuk menguji bahan kimia guna menentukan potensi mutagenik atau karsinogenik suatu bahan. Pada uji ini diukur pertumbuhan mikroorganisme terhadap agen antimikroba. Kegunaan uji antimikroba adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien.

Tabel 2.3 Kategori diameter daya hambat (Tiara, *et al.*, 2019)

Diameter	Kekuatan daya hambat
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat kuat

Adapun uji antimikroba antara lain sebagai berikut

2.7.1 Metode difusi

Metode *disc diffusion* untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimiroba diletakan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada

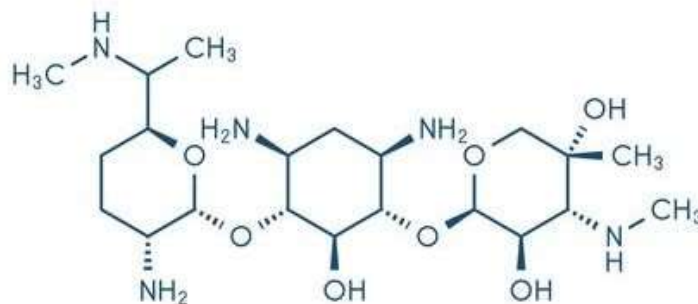
permukaan media agar (Pratiwi, 2008)

2.7.2 Metode dilusi

Metode dilusi cair/broth dilution test adalah metode untuk mengukur MIC (*Minimum Inhibitory concentration*) atau Kadar hambat minimum (KHM) dan MBC (*Minimum Bacteridal Concentration*) atau Kadar Bunuh Minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

2.8 Agen Antibiotik Pemanding

Antibiotik yang digunakan sebagai pembanding adalah Gentamicin Sulfate



Gambar 2.4 struktur kimia Gentamicin sulfat (Depkes, 2020)

Pemerian : Serbuk hablur; Putih; Praktis tidak berbau

Kelarutan : Sukar larut dalam air dan dalam metanol; tidak larut dalam benzen, dalam karbon tetraklorida dan dalam kloroform

Mekanisme : Mekanisme kerja gentamicin belum sepenuhnya dijelaskan. Namun, obat tersebut tampaknya menghambat sintesis protein pada bakteri yang rentan dengan mengikat secara irreversible ke sub unit ribosom 30s.

Penggunaan : penggunaan gentamicin cukup luas. Mencakup bakteri dari gram positif dan negatif. Seperti *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Stapylococcus aureus* dan, *Proteus mirabilis*.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan waktu Penelitian

3.1.1 Waktu penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan November – Januari tahun 2025

3.1.2 Tempat penelitian

Pengujian skrining fitokimia dan uji antibakteri ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda.

3.2 Alat dan bahan

3.2.1 Alat Penelitian

Alat untuk ekstraksi terdiri dari: aluminium foil, blender, cawan penguap chamber maserasi, corong, erlenmeyer, kaca alorji, labu evaporator labu ukur, pipet, spatula, timbangan analitik (Ohaus[®]), dan alat-alat gelas standar laboratorium

Alat untuk uji zona hambat bakteri terdiri dari: autoklaf , batang L, cawan petri (Pyrex[®]), erlenmeyer, gelas ukur, Hot plate, Inkubator (LabTech[®]), Jangka sorong, jarum ose, kapas steril, Laminar Air Flow (Coalca[®]), lampu spiritus, Lemari pendingin, Magnetic stirrer, mikropipet (Joan[®]) dan tip, pinset, spatula, tabung reaksi, vortex.

Alat untuk pembuatan sediaan hydrogel terdiri dari: Erlenmeyer. Gelas ukur, Hot plate, Homogenizer, Mortir dan lumpang, Timbangan analitik.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia Batang tanaman tabar kedayan (*Aristolochia foveolata*), Aquadest

steril, Asam asetat anhidrat, Asam Sulfat, DMSO, Etanol 70%, Etanol 96%, FeCl₃, HCl, Kloroform, NaCl fisiologis, NaOH, Nutrient agar (Merck[®]), Poloxamer 407, Poloxamer 188 (Merck[®]), Pereaksi Dragendorff, Pereaksi Lieberman-bouchardat, Spiritus. Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

3.3 Metode penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true eksperimental*, dengan menggunakan *post test only control*. Uji antibakteri dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode sumuran. Terdapat 6 variabel yang digunakan sebagai perlakuan dengan 4 kali pengulangan dengan 4 konsentrasi yang berbeda

3.3.2 Definisi operasional

Definisi operasional dari penelitian ini dapat di lihat pada tabel 3.3 sebagai berikut:

Tabel 3.1 Definisi operasional

Variabel	Definisi operasional	Cara ukur dan alat ukur	Skala
Tabar kedayan (<i>Aristolochia foveolata</i>)	Tanaman tabar kedayan	Observational	Nominal
Ekstrak etanol tabar kedayan	Ekstrak etanol 96% diekstraksi dengan metode maserasi	Rotate Evaporator	Nominal
Konsentrasi ekstrak tabar kedayan	Konsentrasi dibuat dengan cara mengencerkan ekstrak	Dibuat varisasi dari konsentrasi 10%, 15%, 20% dan 25% menggunakan mikropipet	Ratio
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bakteri gram positif salah satu bakteri yang umum pada DFU	Obsevational	Nominal
<i>Escherichia coli</i>	Bakteri gram negatif salah satu bakteri yang umum pada DFU	Obsevational	Nominal

Aktivitas antibakteri	Kemampuan ekstrak etanol dalam menghambat bakteri uji	Diameter (mm) besarnya zona hambat diukur dengan jangka sorong	Ordinal
-----------------------	---	--	---------

3.3.3 Fokus penelitian

Fokus penelitian ini adalah untuk menguji serta mengetahui efektivitas anti bakteri dari ekstrak tanaman batang tabar kedayan yang terdispersi sediaan *thermosensitive hydrogel* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan melihat diameter zona hambat pada cakram dengan menggunakan konsentrasi 10%, 15%, 20%, dan 25%.

3.3.4 Populasi, sampel dan teknik sampling

3.3.4.1 Populasi

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman tabar kedayan, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

3.3.4.2 Sampel

Sampel yang digunakan yaitu tanaman tabar kedayan yang diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%

3.3.4.3 Teknik sampling

Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini yaitu, *simple random sampling* (SRS), yaitu semua anggota populasi memiliki peluang yang sama untuk dipilih sebagai subjek (Firmansyah & Dede, 2022)

3.3.5 Teknik analisis data

Analisis data diperoleh dengan melihat zona hambat pada media pertumbuhan bakteri yang diukur dengan jangka sorong, kemudian dilakukan pengukuran rerata diameter zona hambat.

3.3.6 Teknik pengumpulan data

Banyaknya pengulangan pada masing-masing perlakuan dalam penelitian ini didasarkan pada rumus federer (1993). Dengan perhitungan seperti berikut

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 15 + 5$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq \frac{15}{5}$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan hasil perhitungan di atas, maka jumlah pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali

3.3.7 Tahap persiapan

3.3.7.1 Pengumpulan bahan

Tanaman tabar kedayan (*Aristolochia foveolata*) diperoleh dari pendalaman hutan di daerah desa Mara Satu, kec. Tanjung Palas Barat, Kab. Bulungan, Prov. Kalimantan Utara.

3.3.7.2 Persiapan determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Mulawarman Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda

3.3.7.3 Pembuatan serbuk simplisia Batang tabar kedayan

Sebanyak 1 kg batang segar disortasi basah, selanjutnya dicuci dengan air mengalir. Sampel kemudian dirajang dan dikeringkan dengan cara jemur dibawah sinar matahari langsung dan selanjutnya disortasi kering. Simplisia yang telah kering dalam bentuk rajangan Selanjutnya dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk simplisia kering sebanyak 500 gram.

3.3.7.4 Pembuatan ekstrak etanol Batang tabar kedayan

Serbuk kering ditimbang 250 gram dan diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1:5 atau 1.25 L. Maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia batang tabar kedayan selama 3 hari dengan sesekali diaduk. Lalu kemudian

disaring menggunakan kapas dan selanjutnya menggunakan kertas saring. Hasil maserasi (maserat) tersebut dikentalkan menggunakan alat vacum rotary evaporator sehingga didapatkan ekstrak kental. Kemudian dihitung persen rendemen.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot total ekstrak}}{\text{berat bubuk simplisia}} \times 100\% \quad (3.1)$$

3.3.7.5 Skrining fitokimia ekstrak etanol tabar kedayan

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak etanol 96%. Metabolit sekunder yang diuji secara kualitatif ini antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid dan tanin.

1. Uji alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dilarutkan dalam larutan HCl encer kemudian disaring. Kedalam filtrat ditambahkan 2 ml larutan ammonia, kemudian ditambahkan kloroform 5 ml dan dikocok perlahan-lahan untuk mengekstraksi basa alkaloid. Lapisan kloroform diambil lalu diekstraksi dengan 10 ml asam asetat, kemudian dibagi menjadi 2 bagian. Pada bagian pertama ditambahkan reagen Mayer dan bagian kedua ditambahkan reagen Dragendorff. Terbentuk warna putih dengan reagen Mayer dan endapan coklat kemerahan dengan reagen Dragendorff menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloid (Syahmani, Leny, & Rilia, 2022).

2. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dilarutkan dengan 2 mL etanol 70% dan ditambahkan 3 tetes larutan NaOH. Terjadinya perubahan intensitas warna kuning menjadi tidak berwarna pada penambahan asam

sulfat mengindikasikan adanya senyawa flavonoid (Syahmani, Leny, & Rilia, 2022).

3. Uji Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dilarutkan dalam 20mL aquades, kemudian larutan dikocok dalam labu ukur selama 15 menit. Terbentuknya busa setinggi 1 cm mengindikasikan adanya senyawa saponin (Syahmani, Leny, & Rilia, 2022).

4. Uji Triterpenoid dan steroid

Dilakukan dengan reaksi Lieberman-Burchard. Larutan uji sebanyak 2 mL diuapkan dalam cawan porselen dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat, selanjutnya melalui dinding tabung ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat. Terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan menandakan positif triterpenoid, jika cincin biru kehijauan menandakan positif steroid (Syahmani, Leny, & Rilia, 2022).

5. Uji Tanin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dididihkan dalam 10 ml aquadest dalam tabung reaksi, lalu disaring. Kemudian kedalam filtrat ditambahkan 3 tetes larutan FeCl₃. Terbentuk warna hijau kecoklatan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tannin (Syahmani, Leny, & Rilia, 2022).

3.4 Variabel penelitian

3.4.1 Variabel independen

Variabel independen atau variabel bebas adalah variabel yang dapat memengaruhi variabel lain dalam suatu penelitian. pada penelitian ini variabel bebasnya adalah konsentrasi dari ekstrak etanol tabar kedayan yaitu menggunakan konsentrasi 10%, 15%, 20%, dan 25%

3.4.2 Variabel dependen

Variabel dependen atau variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas dan hasilnya diukur dalam penelitian. pada penelitian ini variabel terikatnya adalah adalah perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol tabar kedayan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

3.4.3 Variabel terkendali

Variabel terkendali adalah variabel yang sengaja dibuat konstan atau dikendalikan oleh peneliti dalam sebuah penelitian. dalam penelitian ini adalah sterilisasi alat dan bahan dilakukan dengan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 ATM selama 15-20 menit. Suhu dan waktu inokulasi dilakukan pada inkubator dengan suhu 37°C dengan waktu selama 24 jam. Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

3.5 Pembuatan sediaan *thermosensitive hydrogel*

3.5.1 Rancangan formula sediaan gel

Tabel 3.2 Formulasi sediaan *thermosensitive hydrogel*

Bahan	F ₀	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄
Ekstrak	0	10	15	20	25
Poloxamer 407	20	20	20	20	20
Poloxamer 188	10	10	10	10	10
HPMC	5	5	5	5	5
Akuadest	Ad 100%	Ad 100%	Ad 100%	Ad 100%	Ad 100%

3.5.2 Pembuatan formula

Sediaan gel dengan basis poloxamer dikerjakan dengan cara ditimbang poloxamer 188, HPMC, dan poloxamer 407. Kemudian dikembangkan dalam aquadest di gelas beaker, didiamkan hingga mengembang selama 1x24 jam di dalam lemari es.

3.5.3 Pengujian karakteristik sediaan *thermosensitive hydrogels*

3.5.3.1 Uji organoleptis

Uji organoleptis pada gel berupa tekstur, warna dan aroma. Gel dilakukan pengujian bentuk dan warna dengan mengamati secara visual. Gel yang dihasilkan memiliki Uji homogenitas karakteristik bentuk setengah padat (Nursetyowati, 2016)

3.5.3.2 Uji pH

Alat uji pH meter dikalibrasi. pH sediaan gel *thermosensitive hydrogel* diamati menggunakan pH meter. Dengan memasukan pH tester ke dalam sediaan gel, Angka yang muncul pada pH meter menunjukkan nilai pH dari sediaan gel (Depkes, 1995)

3.5.3.3 Uji daya sebar

Sediaan gel ditimbang sebanyak 0,5 g, diletakan dibagian tengah kaca. Kaca yang sudah diberi sediaan gel ditutup dengan kaca yang telah ditimbang. Dibiarkan selama 1 menit kemudian diukur diameter daya sebar sediaan. Beban 50 g ditambahkan, dibiarkan 1 menit, diukur kembali diameternya. Beban ditambahkan sampai gel tidak dapat menyebar lagi (Siti, Gusti, & Nofita, 2024)

3.6 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Tabar Kedayan

3.6.1 Sterilisasi alat dan bahan

Seluruh alat yang akan digunakan dicuci bersih, dikeringkan dan disterilkan terlebih dahulu. Alat alat gelas seperti gelas ukur, labu ukur, dan tip mikropipet dimasukan kedalam plastik tahan panas disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Bahan-bahan yang terbuat dari karet disterilkan dengan direndam dengan alkohol 70% dan jarum ose disterilkan dengan dipijarkan menggunakan nyala bunsen. Alat-alat kaca non presisi seperti tabung reaksi, beaker glass dan erlenmeyer ditutup mulutnya dengan kapas. Cawan petri dibungkus dengan kertas, dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. *Laminar Air Flow* disterilkan dengan lampu UV selama 15 menit dan disemprotkan dengan alkohol 70%. Sterilisasi laminar ini dilakukan sebelum dan sesudah bekerja didalamnya (Pertiwi, 2010)

3.6.2 Tahap pelaksanaan

3.6.2.1 Pembuatan Sediaan uji

Dibuat sediaan uji yaitu dengan mendispersikan ekstrak etanol tanaman tabar kedayan kedalam sediaan *thermosensitive hydrogel* yang telah dibuat. Dengan masing-masing konsentrasi 10%, 15%, 20%, dan 25% dalam (%b/b). Dengan cara menimbang bobot ekstrak tanaman tabar kedayan masing sebanyak 0.4 gram, 0.6 gram, 0.8 gram, dan 1 gram. Kemudian, didispersikan dengan sediaan sebanyak masing-masing 4 gram. Dibuat kontrol negatif yaitu DMSO 1% dengan cara ditimbang sebanyak 0.1 gram DMSO kemudian didispersikan dengan sediaan *thermosensitive hydrogel* sebanyak 10 gram. Dan dibuat sediaan uji kontrol positif yaitu gentamicin dengan konsentrasi 0.1%. dengan cara ditimbang gentamicin sulfat sebanyak 0.1 gram kemudian didispersikan dengan sediaan sebanyak 100 gram.

3.6.2.2 Pembuatan media uji

Pembuatan media uji dilakukan dengan cara, ditimbang nutrient agar sebanyak 3.2 gr dimasukan kedalam erlenmeyer. Kemudian, ditambahkan aquadest sebanyak 176 ml dan dipanaskan diatas hot plate hingga

mendidih. Setelah homogen media yang telah jadi disterilkan dengan autoklaf. Media yang telah disterilkan dengan autoklaf dimasukan kedalam petri dish masing-masing sebanyak 20 ml. kemudian petri dish tersebut di inkubasi pada suhu 38°C selama 24 jam untuk menguji apakah ada bakteri kontaminan pada media.

3.6.2.3 Penyiapan mikroorganisme uji

Peremajaan bakteri menggunakan agar NA, peremajaan bakteri yaitu *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*. Bakteri diambil satu ose menggunakan ose steril selanjutnya digoreskan pada permukaan media agar dengan cara silang (zig-zag) dan di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Nurcahyani dan Timous, 2011)

3.6.2.4 Identifikasi bakteri

Identifikasi bakteri uji dilakukan dengan teknik pewarnaan Gram yaitu dengan cara sebagai berikut, sebanyak 1 tetes NaCL diteteskan diatas kaca objek, kemudian disebar setipis mungkin menggunakan ose yang ada bakterinya yang diambil dari bakteri uji. Selanjutnya difiksasi dengan melewatkannya diatas api. Dan siap diwarnai.

Sebanyak 1 tetes larutan karbol kristal ungu diteteskan pada preparat di atas dan dibiarkan selama 5 menit, kemudian dicuci dengan air. Setelah itu, sebanyak 1 tetes Lugol diteteskan pada preparat dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air, kemudian preparat dibilas dengan alkohol 96% dengan cara dicelupkan kedalam bejana berisi alkohol. Selanjutnya dicuci kembali dengan air, selanjutnya sebanyak 1 tetes larutan Safranin diteteskan pada preparat dan dibiarkan selama 1 sampai 2 menit setelah itu dicuci dengan air dan dibiarkan mengering. Bentuk dan warna sel bakteri dalam

preparat diamati secara mikroskopik pada perbesaran 1000x.

3.6.3 Tahap Perlakuan

3.6.3.1 Penanaman bakteri

Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diambil menggunakan mikropipet sebanyak 100 μ l kemudian disebar di atas cawan menggunakan batang L. lalu dibuat sumuran untuk meletakkan sediaan uji. Kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.6.3.2 Pengamatan dan pengukuran

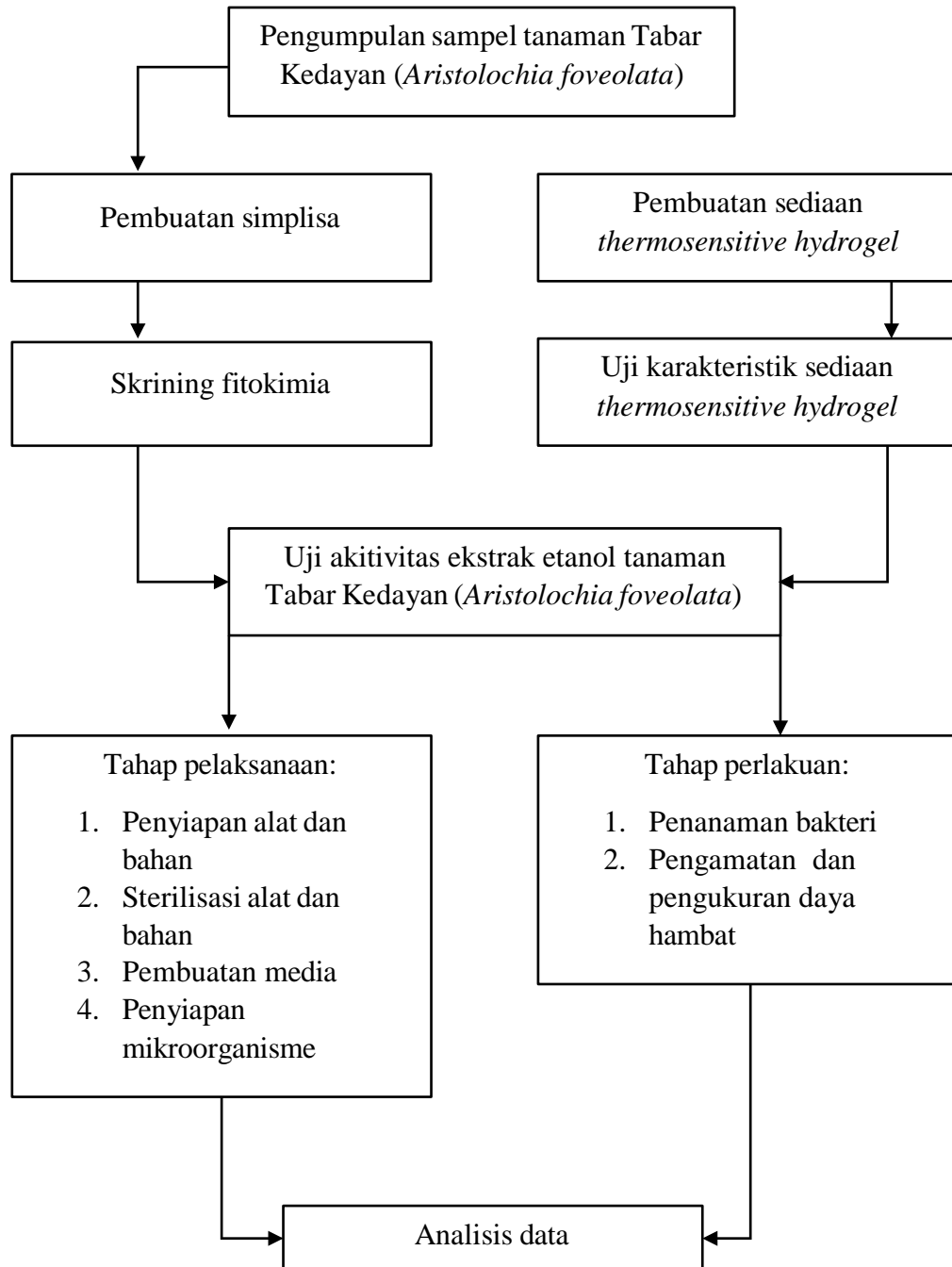
Pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Zona bening merupakan bentuk kepekaan bakteri, terhadap kepekaan dari bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji, dan sebagai lebar diameter zona hambat, zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm).

3.6.4 Pengolahan data

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran diameter zona hambat dari uji aktivitas antibakteri dari uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol tabar kedayan dianalisis menggunakan program SPSS IBM versi 22.0. Menguji sensitivitas bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* terhadap masing-masing konsentrasi ekstrak Tabar kedayan yang berbeda, untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antibakteri dari ekstrak tabar kedayan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Lalu dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* jika terdistribusi normal, jika nilai sig lebih besar dari 0,05. Jika data tidak terdistribusi normal, yaitu jika nilai sig lebih kecil dari 0,05 maka menggunakan uji Kruskal-Wallis.

3.7 Alur penelitian

Diagram alir berdasarkan metode penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alur Penelitian

BAB IV

PEMBAHASAN DAN HASIL

4.1 Determinasi Tanaman Tabar Kedayan

Determinasi tanaman adalah proses menentukan nama atau jenis tumbuhan secara spesifik, yang dilakukan dengan membandingkan ciri-ciri morfologi tanaman yang akan ditentukan dengan tumbuhan yang sudah dikenali. Tujuan dari determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman tersebut sehingga dapat menghindari kesalahan jenis atau spesies sampel yang akan digunakan pada penelitian. Dalam hal ini determinasi dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda. Berdasarkan Surat hasil uji determinasi tanaman, dengan nomor surat **03/UN17.4.08/LL/2025** menunjukkan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah benar spesies *Aristhaolochia foveolata* atau lebih umum dikenal sebagai Tabar kedayan.

4.2 Pembuatan Simplisia

Hasil dari mulai dari pengumpulan simplisia dan proses pembuatan simplisia batang Tabar Kedayan dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4.1 Hasil pembuatan simplisia batang tabar kedayan

NO	Proses	Hasil
1	Pengumpulan bahan batang tabar kedayan	1 kg
2	Berat batang kedayan setelah proses pengeringan	0.5 kg
3	Berat simplisia batang tabar kedayan setelah proses penghalusan	0.25 kg

4.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah metode penelitian kualitatif atau kuantitatif untuk mengidentifikasi ada atau tidaknya senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman. Pada penelitian ini dilakukan identifikasi fitokimia pada 5 golongan metabolit sekunder yaitu meliputi

Alkaloid, Tanin, Flavonoid, Saponin, dan terpenoid. Hasil skrining fitokimia dari ekstrak batang tabar kedayan dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil skrining fitokimia ekstrak batang tabar kedayan

Uji	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
Alkaloid	Dragendorff	Endapan jingga	+
	Mayer	Endapan putih	+
	Wagner	Tidak ada endapan	-
Tanin	FeCl ₃	Kuning bening	-
Flavonoid	Etanol + NaOH	orange	+
Saponin	H ₂ O + HCl 2N	Tidak berbusa	-
Triterpenoid	H ₂ SO ₄ P + As.	kecoklatan	+
Anhidrat			

Keterangan : (+) Hasil Positif

(-) Hasil Negatif

Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol batang tabar kedayan pada tabel diatas menunjukkan, hasil yang positif terhadap golongan senyawa Alkaloid, Tanin, Flavonoid, Saponin dan Triterpenoid. indentifikasi senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan larutan pereaksi dragendorff, larutan pereaksi meyer dan larutan pereaksi wagner. Pada hasil skrining fitokimia, ekstrak batang tabar kedayan ditambahkan dengan pereaksi meyer membentuk endapan putih yang diartikan mengandung senyawa alkaloid.

Pada senyawa alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan atom bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Ion logam pada alkaloid diperkirakan bereaksi dengan ion logam K⁺ dari Kalium tertraiodomerkurat (II) membentuk kalium-alkaloid yang mengendap (Riansyah, Hakim, & Agriana, 2023). Mekanisme antibakteri dari senyawa ini adalah mencegah pembentukan peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga menghambat pembentukan dinding sel dan menyebabkan bakteri lisis (Nurhasanah & Endang, 2020).

Identifikasi senyawa tanin dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes FeCl₃ 1%. Menunjukkan perubahan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya senyawa fenolik yang teroksidasi (Tanin). Terjadinya perubahan warna hitam kehijauan dikarenakan terbentuknya senyawa

kompleks antara tanin dan Fe^{3+} . Mekanisme tanin sebagai antibakteri adalah dengan menghambat pembentukan dinding sel sehingga menyebabkan bakteri menjadi lisis (Trifosa Permata, Widdhi, & Julianri, 2022). Selain itu, tanin juga memiliki kemampuan untuk menginaktif enzim hingga mengganggu jalannya protein dan mengganggu metabolisme pada lapisan sel sehingga menyebabkan kematian bakteri.

Identifikasi flavonoid, ekstrak yang ditambahkan dengan sedikit serbuk magnesium dan HCl Pekat menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya lapisan orange. Serbuk magnesium bertujuan dan HCl pekat bertujuan untuk memutus ikatan glikosidik tanaman flavonoid. Flavonoid berperan secara langsung sebagai antibakteri dengan mekanisme membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang dapat merusak membran. Selain itu, flavonoid mampu menghambat fungsi membran sel dan metabolisme energi bakteri (Yixi, Weijie, Fen, Xiaoqing, & Licheng, 2015).

Pada pengujian saponin, ekstrak ditambahkan dengan 10 ml air panas dan beberapa tetes HCl dan digojok selama 10 menit. Hasil positif menunjukkan adanya buih atau busa yang terbentuk. HCl berfungsi untuk meningkatkan kepolaran senyawa saponin. Buih yang terbentuk diakibatkan oleh karena sifat amfipatik saponin yang menyebabkan bagian hidrofilik pada saponin akan berinteraksi dengan molekul air dan bagian hidrofobik akan menempel pada udara sehingga tercipta struktur seperti buih. Mekanisme saponin sebagai antibakteri yaitu mampu mendenaturasi protein karena sifatnya yang mirip seperti detergen. Sehingga tegangan permukaan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membran bakteri akan dirusak yang akan menyebabkan bakteri lisis (Nyoman, Ni Made, & Ni Nyoman, 2024).

4.4 Pembuatan Ekstrak Etanol batang tabar kedayan

Serbuk kering ditimbang 500 gram dan diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1:5 atau 2.5 L. Maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia batang tabar kedayan selama 3 hari dengan sesekali diaduk. Lalu kemudian disaring menggunakan kapas dan selanjutnya menggunakan kertas saring. Hasil

maserasi (maserat) tersebut dikentalkan menggunakan alat vacum rotary evaporator sehingga didapatkan ekstrak kental sebanyak 5 gram.

Tabel 4.3 hasil rendemen simplisia

Berat Ekstrak	Volume pelarut	Berat Simplisia	Hasil
5 g	1.25 L	250 g	2 %

Rendahnya hasil rendemen dalam proses ekstraksi memiliki beberapa dampak negatif, terutama terkait dengan potensi senyawa aktif yang tidak terekstraksi secara optimal. Hal ini dapat menyebabkan berkurangnya efektivitas produk akhir. Selain itu, rendemen rendah juga dapat menandakan adanya masalah pada proses ekstraksi itu sendiri, seperti pemilihan pelarut yang kurang tepat atau kondisi ekstraksi yang tidak optimal (Govan, Adinda, Dewi, & Dian, 2024)

4.5 Pembuatan sediaan *thermosensitive hydrogel*

Dilakukan pengujian karakteristik sediaan *thermosensitive hydrogel*. Hasil seperti pada tabel berikut

Tabel 4.4 Hasil uji mutu fisik sediaan

NO	Pengujian	F ₀	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄
1	Uji organoleptis	Bening	Bening kekuningan	Bening kekuningan agak pekat	Bening kekuningan agak pekat	Bening kekuningan pekat
2	Uji pH	6	6	6	6	6
3	Uji daya sebar (cm)	6	4	5	6	7
4	Uji homogenitas	homogen	homogen	homogen	homogen	homogen

Pada uji mutu fisik sediaan, dilakukan pengujian yaitu uji organoleptis, uji pH, uji daya sebar, dan uji homogenitas. Berdasarkan pengujian organoleptis, basis atau F₀ memiliki tekstur yang lembut kental dengan warna bening, dan tidak berbau. Sedangkan pada F₁ memiliki tekstur yang lembut kental dengan warna kekuningan, dan berbau khas. Pada F₂ memiliki tekstur yang lembut kental dengan warna bening kekuningan agak pekat dan berbau khas. Pada F₃ memiliki tekstur yang lembut kental dengan warna kekuningan agak kental dan berbau khas. Dan pada F₄ memiliki tekstur lembut kental

dengan warna bening kekuningan pekat, dan berbau khas. Pada uji pH, F₀, F₁, F₂, F₃ dan F₄ menunjukkan nilai pH berkisar diangka 6. Nilai pH merupakan karakteristik yang perlu diperhatikan dalam suatu formulasi sediaan topikal. Nilai pH yang dianjurkan pada sediaan topikal adalah berkisar pada rentang 4,5-6,5. Jika pH sediaan kurang dari 6 atau bersifat asam, maka akan rentan menyebabkan rasa perih, sensasi terbakar dan iritasi pada kulit. Jika sediaan lebih besar dari 6 atau bersifat basa maka akan menyebabkan kulit menjadi kering dan bersisik (Natalia, Hosea, & Eriadys, 2020). Maka dapat disimpulkan F₀, F₁, F₂, F₃ dan F₄ masuk dalam rentang persyaratan pH kulit.

Uji daya sebar adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui apakah sediaan gel memenuhi persyaratan daya sebar jika diaplikasikan pada kulit. Uji daya sebar dilakukan dengan cara menimbang 0.5 gram gel di letakan di kaca selanjutnya di tutup dengan kaca lalu di beri beban di atasnya kemudian diukur diameternya. Persyaratan uji daya sebar adalah berkisar pada rentang 5-7 cm. pada tabel hasil dapat disimpulkan bahwa F₁ tidak memenuhi syarat uji daya sebar. Hal ini dapat menyebabkan sediaan sulit dioleskan atau diaplikasikan secara merata pada kulit (Natalia, Hosea, & Eriadys, 2020). Sedangkan, F₂, F₃ dan F₄ memenuhi syarat uji daya sebar.

Uji homogenitas sediaan gel dilakukan untuk memastikan bahwa semua komponen sediaan tercampur secara merata dan tidak ada partikel yang terlihat atau terpisah (Natalia, Hosea, & Eriadys, 2020). Pengujian homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan sedikit sediaan di atas kaca objek kemudian diamati melalui mikroskop. Pada hasil pengujian homogenitas F₀, F₁, F₂, F₃ dan F₄ tidak menunjukkan adanya partikel ataupun bahan yang tidak tercampur. Maka dapat disimpulkan bahwa F₀, F₁, F₂, F₃ dan F₄ homogen.

4.6 Pengujian antibakteri dari ekstrak etanol batang tabar kedayan

4.6.1 Uji identifikasi bakteri

Pada penelitian ini uji identifikasi bakteri menggunakan metode pewarnaan gram untuk mengetahui jenis gram bakteri. Tahapan dalam pengujian ini adalah diambil 1 kultur bakteri dari hasil peremajaan kemudian difiksasi di atas kaca preparat. Kemudian diberi pewarna

kristal violet. Dicuci dengan air mengalir kemudian diberi larutan lugol. Kemudian ditambahkan Alkohol 98%. Kemudian terakhir ditambahkan pewarna safranin. Kemudian bakteri diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 1000x. Pada penelitian ini dilakukan uji identifikasi bakteri pada dua bakteri yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil identifikasi bakteri dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4.5 hasil pewarnaan gram

No	Bakteri	Warna	Bentuk	Gram Bakteri
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Biru	Bulat	Negatif
2	<i>Escherichia coli</i>	Merah	Tabung	Positif

Bakteri dengan gram positif akan tampak berwarna biru hal ini dikarenakan lapisan peptidoglikan bakteri yang tebal sehingga warna akan tertinggal di lapisan tersebut. Sementara bakteri dengan gram negatif akan terlihat berwarna merah dibawah mikroskop. Hal ini terjadi akibat lapisan peptidoglikan bakteri yang tipis. Sehingga larutan lugol dapat menghilangkan pewarna kristal violet pada bakteri dan digantikan dengan warna merah yang didapat dari pewarna safranin. Identifikasi gram bakteri penting dilakukan untuk mengetahui jenis bakteri, morfologi, dan sebagai acuan pemilihan antibiotik definitif yang tepat.

4.6.2 Uji Aktivitas antibakteri

Hasil pengukuran aktivitas antibakteri ekstrak etanol batang tabar kedayan terhadap bakteri *Staphylococcus auerus* dan *Eshcericria coli* dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4.6 Rerata diameter zona hambat ekstrak etanol batang tabar kedayan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)					Kategori daya hambat
	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	Rerata±SD	
K-	0	0	0	0	0±0	Tidak ada daya hambat
K+	15.8	6.8	7.05	10.3	9.9±4.1	Sedang
K1	5.05	5.5	6.45	2.15	4.7±1.8	Lemah
K2	11.5	7.3	15.6	12.9	11.8±3.4	Kuat
K3	11.1	8.4	12.35	13.35	11.3±2.1	Kuat
K4	18.7	10.3	18.6	15.9	15.8±3.9	Kuat

Keterangan K- : Kontrol negatif (DMSO 1%)
 K+ : Kontrol positif (Gentamicin Sulfate 0.1%)
 K1 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 10%
 K2 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 15%
 K3 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 20%
 K4 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 25%
 P1 : Pengulangan ke-1
 P2 : Pengulangan ke-2
 P3 : Pengulangan ke-3
 P4 : Pengulangan ke-4

Pada tabel 4.6 ekstrak ethanol batang tabar kedayan dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, dan 25% mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Terlihat dari rerata zona hambat yang terbentuk. Zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 10% masuk dalam kategori rendah karena hanya menghasilkan rerata 4.4±1.4 mm. sedangkan pada konsentrasi 15%, 20%, dan 25% masuk dalam kategori kuat dalam menghambat bakteri. Dengan rerata yang dihasilkan yaitu masing-masing 11.8±3.4 mm, 11.3±2.1 mm, dan 15.8±3.9 mm. sehingga dapat dilihat konsentrasi terkecil ekstrak batang tabar kedayan yang mampu menghambat bakteri yaitu pada konsentrasi 15% dengan rerata 11.8±3.4 mm. sehingga dapat dijadikan pengobatan alternatif dari bahan alami sebagai antibakteri.

Tabel 4.7 Rerata diameter zona hambat ekstrak etanol batang tabar kedayan terhadap bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)					Kategori daya hambat
	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	Rerata±SD	
K-	0	0	0	0	0±0	Tidak ada daya hambat
K+	7.4	4.55	14.2	7.6	8.45±4	Sedang
K1	4.15	6.45	2.9	4.05	4.4±1.4	Lemah
K2	12.6	10.5	7.2	10.2	10.13±2.2	Sedang
K3	15	17.2	9.25	10.3	12.96±3.7	Kuat
K4	20.3	22	13.8	11.7	16.95±4.9	Kuat

Keterangan K- : Kontrol negatif (DMSO 1%)
 K+ : Kontrol positif (Gentamicin Sulfate 0.1%)
 K1 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 10%
 K2 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 15%
 K3 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 20%
 K4 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 25%
 P1 : Pengulangan ke-1
 P2 : Pengulangan ke-2
 P3 : Pengulangan ke-3
 P4 : Pengulangan ke-4

Pada tabel 4.7 didapatkan hasil rerata pengujian anti bakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. pada konsentrasi 10% dihasilkan rerata daya hambat dengan kategori lemah dengan rerata diameter 4.4±1.4 mm. sedangkan pada konsentrasi 15% dihasilkan zona hambat dengan kategori sedang dengan rerata diameter 10.13±2.2 mm. kemudian pada konsentrasi 20% hingga 25% dihasilkan zona hambat dengan diameter masing-masing 12.96±3.7 mm dan 16.95±4.9 mm yang termasuk kedalam kategori kuat. Dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak batang tabar kedayan semakin tinggi pula diameter zona hambat yang dihasilkan.

Berdasarkan tabel 4.6 dan tabel 4.7 rerata diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak batang tabar kedayan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* zona hambat terbentuk dikarenakan adanya

aktivitas antimikroba yang ditimbulkan oleh bahan yang mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik dan terpenoid. Sedangkan perbedaan rerata daya hambat dipengaruhi oleh mekanisme kerja antimikroba, konsentrasi, dinding sel bakteri dan lapisan peptidoglikan bakteri. Bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk golongan bakteri positif yang struktur dinding selnya terdiri dari sitoplasma, peptidoglikan yang mengandung lipid dan polisakarida, serta bagian terluar dari peptidoglikan terdapat asam teikhoat. Sedangkan bakteri *Escherichia coli* termasuk kedalam bakteri gram negatif yang struktur dinding selnya terdiri atas 3 lapisan yaitu lipoprotein, lipopolisakarida, dan fosfolipid, dan pada lapisan terluar yaitu peptidoglikan yang tipis.

Rerata diameter zona hambat berdasarkan kategori daya hambat. Kategori daya hambat bakteri dibagi menjadi 4 yaitu: aktivitas lemah dengan ukuran diameter zona hambat <5 mm, aktivitas sedang dengan ukuran diameter zona hambat 5-10 mm, aktivitas kuat dengan ukuran diameter zona hambat 10-20 mm, sedangkan aktivitas sangat kuat yaitu dengan ukuran zona hambat >20 mm. Diameter zona hambat bakteri dinilai efektif apabila bernilai kurang lebih 14 mm sampai dengan 15 mm. berdasarkan pernyataan (Depkes, 1995) ini, konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan yang dinilai efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah dikonsentrasi 20% dan 25% karena menghasilkan diameter daya hambat 11.3 mm sampai 16.9 mm.

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah antibiotik gentamicin sulfat. Pada tabel 4.6 dapat dilihat diameter zona hambat dari gentamicin sulfat. Pada bakteri *Staphylococcus aureus* rerata diameter zona hambat yang dihasilkan adalah 9.9 mm. hal ini termasuk kedalam kategori sedang. Sedangkan pada tabel 4.7 dilibatkan rerata zona hambat gentamicin sulfat terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 8.45 mm. hal ini juga termasuk kedalam kategori sedang. Gentamicin sulfat adalah antibiotik spektrum luas

dari golongan aminoglikosida. Mekanisme kerja gentamicin sulfat adalah dengan mengganggu translasi mRNA, mengganggu pembentukan protein yang dibutuhkan untuk pembentukan dinding sel bakteri.

Berdasarkan hasil rerata diameter zona hambat konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan dan antibiotik gentamicin sulfat, selanjutnya dilakukan standar deviasi yang dapat dilihat pada gambar 4. Dan gambar 4. Pada gambar 4 standar deviasi konsentrasi 10% ekstrak etanol batang tabar kedayan atau K1 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebesar 1.85, konsentrasi 15% atau K2 adalah sebesar 3.46, konsentrasi 20% atau K3 adalah sebesar 2.14, dan konsentrasi 25% adalah sebesar 3.93. Untuk kontrol positif adalah sebesar 4.19 dan kontrol negatif adalah 0. Kemudian pada gambar 4. Konsentrasi 10% ekstrak etanol batang tabar kedayan atau K1 terhadap bakteri *Eschericia coli* adalah sebesar 1.47, konsentrasi 15% atau K2 adalah sebesar 2.24, konsentrasi 20% atau K3 adalah sebesar 3.79, dan konsentrasi 25% adalah sebesar 4.97. untuk kontrol positif adalah sebesar 4.08 dan kontrol negatif adalah 0. Standar deviasi yang rendah menunjukkan bahwa titik data cenderung mendekati rerata. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pada gambar 4. Dan gambar 4. Persebaran titik data cenderung serupa.

4.6.3 Uji statistik

Uji analisis data di lakukan dengan menggunakan uji *One way-Anova* dan uji *Post-Hoc LSD*, *One way Anova* termasuk kedalam uji parametrik yang syarat utamanya adalah data harus terdistribusi normal. Maka dari itu perlu untuk mengetahui data telah mengikuti distribusi normal atau tidak. Dibawah dapat dilihat hasil dari uji normalitas dari diameter zona hambat.

Tabel 4.8 Uji Normalitas Dan Homogenitas data diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*

Pengulangan	Perlakuan	Instrumen Uji Shapiro-wilk (Sig.)
4	K+	.256
4	K1	.391
4	K2	.888
4	K3	.700
4	K4	.175

Keterangan K- : Kontrol negatif (DMSO 1%)
 K+ : Kontrol positif (Gentamicin Sulfate 0.1%)
 K1 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 10%
 K2 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 15%
 K3 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 20%
 K4 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 25%

Pada tabel 4.8 hasil dari uji normalitas menggunakan uji shaphiro-wilk menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Data dikatakan mengikuti asumsi distribusi normal jika Sig. > 0.05. pada hasil dapat dilihat nilai sig. > 0.05 maka dapat disimpulkan bahwa data mengikuti asumsi distribusi normal.

Tabel 4.9 Uji Normalitas Dan Homogenitas data diameter zona hambat pada bakteri *Eshcericia coli*

Pengulangan	Perlakuan	Instrumen Uji Shapiro-wilk (Sig.)
4	K+	.355
4	K1	.451
4	K2	.751
4	K3	.491
4	K4	.418

Keterangan K- : Kontrol negatif (DMSO 1%)
 K+ : Kontrol positif (Gentamicin Sulfate 0.1%)
 K1 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 10%
 K2 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 15%

K3 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 20%

K4 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 25%

Pada tabel 4.8 hasil dari uji normalitas menggunakan uji shaphiro-wilk menunjukan bahwa data terdistribusi normal. Data dikatakan mengikuti asumsi distribusi normal jika Sig. > 0.05. pada hasil dapat dilihat nilai sig. > 0.05 maka dapat disimpulkan bahwa data mengikuti asumsi distribusi normal.

Tabel 4.10 Hasil uji *Post-Hoc LSD*, Perbedaan diameter zona hambat antara ekstrak etanol batang tabar kedayan terhadap *Sthapylococcus Aureus*

Kelompok	Pembanding	Mean Difference	Std Error	P value/sig.
K+	K1	5.20	2.30	.039
	K2	-1.85	2.30	.434
	K3	-1.31	2.30	.577
	K4*	-5.88	2.30	.022
K1	K+*	-5.20	2.30	.039
	K2*	-7.05	2.30	.008
	K3*	-6.51	2.30	.013
	K4*	-11.08	2.30	.000
K2	K+	1.85	2.30	.434
	K1*	7.05	2.30	.008
	K3	.53	2.30	.819
	K4	-4.03	2.30	.100
K3	K+	1.31	2.30	.577
	K1*	6.51	2.30	.013
	K2	-.53	2.30	.819
	K3	-4.57	2.30	.066
K4	K+*	5.88	2.30	.022
	K1*	11.08	2.30	.000
	K2	4.03	2.30	.100
	K3	4.57	2.30	.066

Keterangan K- : Kontrol negatif (DMSO 1%)
 K+ : Kontrol positif (Gentamicin Sulfate 0.1%)
 K1 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 10%
 K2 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 15%
 K3 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 20%
 K4 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 25%
 (*) : berpengaruh signifikan

Pada tabel 4.10 dijelaskan hasil Uji *one way anova post-hoc LSD*. Uji *post hoc one way anova* adalah uji yang digunakan untuk menentukan kelompok yang berbeda secara signifikan. Pada hasil terdapat kelompok yang memiliki rerata yang berbeda secara signifikan yaitu K4 atau konsentrasi 25% ekstrak etanol batang tabar kedayan. Hal ini dapat dilihat pada nilai $\text{sig} < 0.05$. dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol batang tabar kedayan dengan konsentrasi 25% menghasilkan perbedaan rerata yang signifikan jika dibandingkan dengan kontrol positif yaitu gentamicin sulfate 0.01%.

Tabel 4.11 Hasil uji *Post-Hoc LSD*, Perbedaan diameter zona hambat antara ekstrak etanol batang tabar kedayan terhadap *Escherichia coli*

Kelompok	Pembanding	Mean Difference	Std Error	P value/sig.
K+	K1	4.02	2.51	.130
	K2	-1.71	2.51	.506
	K3	-4.53	2.51	.091
	K4*	-8.52	2.51	.004
K1	K+	-4.02	2.51	.130
	K2*	-5.73	2.51	.037
	K3*	-8.56	2.51	.004
	K4*	-12.55	2.51	.000
K2	K+	1.71	2.51	.506
	K1*	5.73	2.51	.037
	K3	-2.82	2.51	.278
	K4*	-6.81	2.51	.016
K3	K+	4.53	2.51	.091
	K1*	8.56	2.51	.004
	K2	2.82	2.51	.278
	K3	-3.98	2.51	.133
K4	K+*	8.52	2.51	.004
	K1*	12.55	2.51	.000
	K2*	6.81	2.51	.016
	K3	3.98	2.51	.133

Keterangan K- : Kontrol negatif (DMSO 1%)
 K+ : Kontrol positif (Gentamicin Sulfate 0.1%)
 K1 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 10%
 K2 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 15%
 K3 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 20%
 K4 : Konsentrasi ekstrak etanol batang tabar kedayan 25%

(*) : berpengaruh signifikan

Pada tabel 4.11 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kontrol positif terhadap ekstrak etanol batang tabar kedayan yang terdispersi dalam sediaan *thermosensitive hidrogel* pada K4. Hal ini dibuktikan dengan nilai *p value/ sig.* < 0.05 . Sedangkan pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20% tidak terdapat perbedaan signifikan. Hal ini terlihat dari nilai *p value/ sig.* > 0.05 . sehingga dapat disimpulkan sediaan dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20% mampu menghambat bakteri namun tidak signifikan jika dibandingkan dengan kontrol positif yaitu gentamicin sulfat.

Berdasarkan tabel 4.8 uji normalitas data menggunakan instrumen uji shapiro-wilk. Hasil menunjukkan bahwa *p value/ sig.* > 0.05 maka dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal, dan pada uji homogenitas *p value* > 0.05 yang berarti bahwa data homogen. Sehingga telah memenuhi asumsi untuk melakukan uji *one way-anova*. Pada tabel 4.10, terdapat nilai *p value* $.022 < 0.05$, maka dapat disimpulkan bahwa adanya perbedaan signifikan aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* dari gentamicin sulfat terhadap ekstrak etanol batang tabar kedayan yang terdispersi dalam sediaan *thermosensitif hidrogel*. Maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

Berdasarkan tabel 4.9 uji normalitas data menggunakan instrumen uji *shapiro-wilk*. Hasil menunjukkan bahwa *p value/ sig.* > 0.05 maka dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal, dan pada uji homogenitas *p value* > 0.05 yang berarti bahwa data homogen. Sehingga telah memenuhi asumsi untuk melakukan uji *one-way anova*. Pada tabel 4.11, terdapat nilai *p value* $.004 < 0.05$, maka dapat disimpulkan bahwa adanya perbedaan signifikan aktivitas antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* dari gentamicin sulfat terhadap ekstrak etanol batang tabar kedayan yang terdispersi dalam sediaan *thermosensitif hidrogel*. Maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak etanol tabar kedayan yang terdispersi dalam sediaan *thermosensitive hidrogel* memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Secara signifikan menghambat pertumbuhan bakteri dikonsentrasi 25%
2. Berdasarkan pengujian antibakteri kadar hambat minimum Ekstrak etanol tabar kedayan yang terdispersi dalam sediaan *thermosensitive hidrogel* yang efektif adalah dengan konsentrasi 25%

5.2 Saran

1. Penelitian selanjutnya dapat dilakukan dengan menguji efektivitas penyembuhan ulkus diabetikum dengan ekstrak etanol batang tabar kedayan kepada hewan uji.
2. Pengujian selanjutnya dapat dilakukan uji toksisitas dengan bentuk sediaan *Thermosensitif hydrogel* pada hewan uji. Ataupun dengan sediaan yang berbeda dengan bahan baku yang lebih mudah didapatkan
3. Pengujian selanjutnya dapat melanjutkan uji kuantitatif pada skrining fitokimia ekstrak etanol batang tabar kedayan

DAFTAR PUSTAKA

- Abhijit, D., & Jitendra, N. D. 2011. *Aristolochia indica L. : A Review. Asian Journal of Plant Science*, 108-116.
- American Podiatric Medical Associate. 2022. Management of Diabetic Foot Disease. *Diabetic Neuropathy*, 235-258.
- Boulton, A. J., Armstrong, D. G., Kirsner, R. S., Attinger, C. E., Lavery, L. A., Lipsky, B. 2018. *Diagnosis and Management of Diabetic Foot Complications*. Arlington: American Diabetes Associations.
- Badan Pengawas Makanan dan Obat. 2001. Larangan Produksi dan Distribusi Obat Tradisional dan Suplemen Makanan yang Mengandung Tanaman *Aristolochia sp.* Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan RI.
- Carlo, D. M., Mario, D., Gaetano, P., Rosario, L. N., Antonio, P., & Antonino, T. 2022. *Diabetes and Ischemic Stroke: An Old an New Relationship an Overview of the Close Interaction between These Disease. International Journal of Molecula Science*, 1-28.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. Farmakope Indonesia ed. IV. Jakarta: Dapertemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat. Jakarta: Dapertemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2020. Farmakope ed. VI. Jakarta: Dapertemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dinda, E. C., Cynthia, D. G., & Elisabet, T. 2024. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*, *Klebsiella Sp.*, dan *Staphylococcus aureus* Pada Kambing dan Susu Kambing Peranakan Etawa. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 1-11.
- Fatimah, S. F., Verda, F., Nuari, Y. R., Viviandhari, D., & Pertiwi, D. V. 2024. *Investigating the Impact of Surfactant and Cosolvent on the Polyphenolic Content in Arumanis Mango Leaf Extract (Magnifera indica L.)*. *Borneo Journal Of Farmasi*.



- Firmansyah, D., & Dede. 2022. Teknik Pengambilan Sampel Umum Dalam Metodologi Penelitian: Literature Review. *Journal Ilmiah Pendidikan Holistik (JIPH)*, 85-114.
- Fuad, A., & Kurniawan. 2022. Morphological Characteristics Of Air Bacteria In Mannitol Salt Agar Medium. *Borneo Journal Of Medical Laboratory Technologi*, 353-359.
- Govan, H., Adinda, N. H., Dewi, C. R., & Dian, A. I. 2024. Uji Parameter Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Herba Meniran (*Phyllanthus niruri L.*). *Jurnal Farmasi IKIFA*, 29-42.
- Haiqin, H., Xiaole, Q., Yanhua, C., Zhenghong, W. 2019. Thermo-sensitive hydrogel for delivering biotherapeutic molecules: A Review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 990-999.
- Hurria, Novena, A., & Nurshalati, T. 2023. Fitokimia. *Purbalingga: Eureka Media Aksara*.
- International Diabetes Federation. 2021. Diabetes Atlas, ed10 th. *Brussels: International Diabetes Federation*.
- Jneid, J., Lavigne, J., Scola, B. L., Cassir, N. 2017. The Diabetic Foot Microbiota: a Riview. *Human Microbiome Journal*, 1-6.
- Jubaidah, S., Aprilia, A., & Wijaya, H. 2016. Uji Bioaktivitas Ekstrak Akar Tabar Kendayan (*Aristaolochia fofeolata merr.*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, 1-3.
- Jubaidah, S., Sapri, & Supriningrum, R. 2013. Karakterisasi Dan Skrining Fitokimia Akar Tabar Kendayan. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, 158-163.
- Laila, N. H., Wiwiek, T., Ratih, N. P., Sri, C., Maya, N. Y., & Prima, A. W. 2019. Isolasi dan Identifikasi *Staphyloccos aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 76-82.
- Liwun, N. 2009. Inventaris dan Identifikasi Tanaman Obat Yang Digunakan Oleh Suku Dayak Lundayeh di Kecamatan Muntarang Kabupaten Malinau Kalimantan Timur. *Samarinda: KTI Akademi Farmasi Samarinda*.

- Mulyani, A. T., & Sumiwi, S. A. 2020. Review Artikel: Tumbuhan Yang Berpotensi Antihiperlipidemia. *Farmaka*, 57-63.
- Natalia, L., Hosea, J. E., & Eriadys, M. R. 2020. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Krim Ekstrak Etanol Kulit Buah Pisang Goroho (*Musa acuminata* L.) Konsentrasi 12.5% Sebagai Tabir Surya. *FMIPA UNSRAT*, 42-46.
- Nur, H., & Gultom, E. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) Terhadap Bakteri MDR (*Multy Drug Resitance*) Dengan Menggunakan Metode KLT Bioautografi . *Jurnal Biosains*, 45.
- Nursetyowati, R. 2016. Uji Aktivitas Gel Isolat Katekin Gambir (*Uncaria gambir Roxb*) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Sprague dawley*. *Journal of Chemical Infomation and Modeling* , 5(3).
- Nyoman, D. N., Ni Made, S. S., & Ni Nyoman, W. U. 2024. Pengujian Fitokimia dan Penentuan Kadar Senyawa Saponin Pada Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*). *USADHA*, 8-13.
- Pouget, C., Dunyach-Remy, C., Pantel, A., Schuldiner, S., Sotto, A., & Lavigne, J.-P. 2020. Biofilms in Diabetic Foot Ulcer: Significance and Clinical Relevance. *Microorganisms*, 1-15.
- Pratiwi, S. 2008. Mikrobiologi Farmasi. *Jakarta: Erlangga*.
- Ranran, F., Cheng, Y., Wang, R., Zhang, T., Zhang, H., Li, J., Zheng, A. 2022. Thermosensitive Hydrogels and Anvance in Their Application in Disease Therapy. *Polimers*, 1-22.
- Retnowati, A., & Susan, D. 2019. Status Keanekaragaman Hayati Indonesia: Kekayaan Jenis Tumbuhan dan Jamur Indonesia. *Jakarta: Lembaga Ilmu Pengatahuan Indonesia (LIPI)*.
- Riansyah, K., Hakim, A., & Agriana, R. H. 2023. Teh Herbal Terstandar Simplisia Bunga Gemitir (*Tateges erecta Linn.*) Sebagai Kandidat Antioksidan Baru. *Sasambo Journal of Farmacy*, 45-52.
- Rodica, B. P., Lynn, A., Boulton, A. J., Feldman, E. L., Marcus, R. L., Stout, K. M., Ziegler, D. 2022. Diagnosis and Treatment of Painful Diabetic Peripheral Neuropathy. *Arlington: American Diabetes Association*.

- Sapara, T., & Waworuntu, O. 2016. Efektifitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina L.*) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmacon*. 10-17.
- Setiawan, A. 2022. Keanekaragaman Hayati Indonesia: Masalah dan Upaya Konservasinya. *Indonesian Journal of Conservation*, 13-21.
- Siti, W., Gusti, A. R., & Nofita. 2024. Formulasi dan Uji Stabilitas Sediaan Gel Ekstrak Etanol (*Tamarindus indica L.*) dengan Variasi Gelling Agent. *Jurnal Mandala Pharmacon*, 508-518.
- Syahmani, Leny, & Rilia, I. 2022. Fitokimia Dan Aplikasinya. *Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press*.
- Tiara, M., Marwati, Fikri, A., 2019. Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Ekstrak Daun Tahongai (*Kleinhovia Hospita L.*). *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*, 41-50.
- Tilarso, D., Muadifah, A., Handaru, W., Pratiwi, P., Khusna, M., 2021. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Dan Belimbing Wuluh Dengan Metode Hidroekstraksi. *Chempublish Journal*, 63-74.
- Trifosa Permata, D. S., Widdhi, B., & Julianri, S. L. 2022. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Afrika Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas Aeruginosa*. *Pharmacon*, 1678-1685.
- Wiranatika, J. S., Herny, S., & Erlandys, R. 2023. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Eshericha coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. *PHARMACON*, 133-139.
- Xiaoxia, K., Yang, X., Yue, H., Conglin, G., Yuechaen, L., Haiwei, J., Li, w. 2023. Steragies and Material for the Prevention and Treatment of Biofilm. *Materials Today Bio*.
- Yixi, X., Weijie, Y., Fen, T., Xiaoqing, C., & Licheng, R. (2015). Antibacterial Activities of Flavonoid: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Current Medicinal Chemistry*, 132-149.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Determinasi Tanaman

	KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI UNIVERSITAS MULAWARMAN FAKULTAS KEHUTANAN LABORATORIUM EKOLOGI DAN KONSERVASI BIODIVERSITAS HUTAN TROPIS Alamat: kampus Unmul Gunung Kelua, Jl. Panajam Gd. B11 Lt.1 Samarinda 75123 Telp./Fax (0541) 7273726, Email: lab.ekobio@fabutan.unmul.ac.id
	Samarinda, 20 Januari 2025
Nomor	: 03/UN17.4.08/LL/2025
Lampiran	: -
Perihal	: <u>Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan</u>
Kepada Yth.	
Bpk/Ibu/Sdr(i).	Juana Fernando (211148201163)
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda	
di-	
Tempat	
Dengan Hormat,	
Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke "Herbarium Mulawarman", Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda, adalah sebagai berikut:	
Kingdom	: Plantae
Phylum	: Streptophyta
Class	: Equisetopsida
Order	: Piperales
Family	: Aristolochiaceae
Species	: <i>Aristolochia foveolata</i> Merr.
Synonyms	: <i>Aristolochia kaoi</i> T.S.Liu & M.J.Lai
Common name	: Tabar Kadayan
Demikian, semoga berguna bagi saudara	
Tembusan:	
Arsip	
	 Prof. Dr. Ir. Pavlitas Manios, M.Sc NIP.195504111984031001

Lampiran 2 CoA *Staphylococcus aureus*

ThermoFisher
SCIENTIFIC
The world leader in serving science

Thermo Fisher Scientific
Microbiology
12076 Santa Fe Trail Drive
Lenexa, KS 66215
800.255.6750
800.447.5761 fax
www.thermofisher.com

Certificate of Analysis - Certified Reference Material thermoscientific

Thermo Scientific™ Trademark™
Product Number R4609002
Product Name S. aureus ssp. aureus ATCC 6538P PK/5
Lot Number 155718
Usage Decision Accepted (OK)
Expiration Date 2026-02-03

SALINAN TERKENDALI
Asosiasi Sinerji Inovasi (ASINOV)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. The results were derived from a representative sample of the batch and were obtained at the time of release. Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use, hazard/safety requirements, and storage conditions.

Product Char Results

Purity	Demonstrates pure growth on applicable media
Viability	Recovered at acceptable level within test period
Passage	3 (Current preserved state)

Microbiological Testing	Results	Specification
>85% Identification on Vitek 2C GP		85 - 100
>95% Identification on MicroSEQ	100	95 - 100
Microscopic Features	Pass	

These tests are performed in accordance with ISO 17025 guidelines. Thermo Fisher Scientific has determined each loop of this reference material to be sufficiently homogeneous for its intended use. Individual products are traceable to a recognized culture collection. Although the Vitek(TM) panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

© 2015 ThermoFisher Scientific

Signed



Dawn Baker
QA Manager

The identity, purity, and authenticity of the Licensed Products are exclusively the responsibility of Remel Inc. and not ATCC. The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative Word mark, and the ATCC Catalog Marks are trademarks of ATCC. Remel Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® culture.

SALINAN TERKENDALI
Sistem Sinergi Inovasi (ASIN)

ATCC Licensed
Derivative*



Thermo Fisher Scientific is accredited by A2LA as a registered reference material producer certificate number 6559.01 in accordance with ISO 17034[1].

[1] ISO 17034 First Edition 2016-11-01 General requirements for the competence of reference material producers

Version 1.0

Lampiran 3 CoA *Eshcerichia coli*

ThermoFisher
SCIENTIFIC
The world leader in serving science

Thermo Fisher Scientific
Microbiology
12076 Santa Fe Trail Drive
Lenexa, KS 66215
800.255.6730
800.447.5761 fax
www.thermofisher.com

Certificate of Analysis - Certified Reference Material thermoscientific

Thermo Scientific™ Trademark™
Product Number R4607050
Product Name E. coli ATCC 25922 PK/S
Lot Number 168884
Usage Decision Accepted (OK)
Expiration Date 2026-03-19

SALINAN TERKENDALI

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. The results were derived from a representative sample of the lot and were obtained at the time of release. Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use, hazard safety requirements, and storage conditions.

Product Char Results

Purity	Demonstrates pure growth on applicable media
Viability	Recovered at acceptable level within test period
Passage	3 (Current preserved state)

Microbiological testing	Results	Specification
>95% Identification on MicroSEQ	100	95 - 100
Microscopic Features	Pass	
>85% Identification on API 20E	Pass	
>85% Identification on RapID ONE	Pass	

These tests are performed in accordance with ISO 17025 guidelines. Thermo Fisher Scientific has determined each loop of this reference material to be sufficiently homogeneous for its intended use. Individual products are traceable to a recognized culture collection. Although the Vitek(TM) panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

CS CS-100-1000-0000-0000

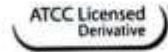
Signed



Dawn Baker
QA Manager

The identity, purity, and authenticity of the Licensed Products are exclusively the responsibility of Remel Inc. and not ATCC.
The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Catalog Mark, and the ATCC Catalog Marks are trademarks of ATCC.
Remel Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® culture.

SALINAN TERKENDAL!
PT. Agritama Energi Inovasi (AGANI)



Thermo Fisher Scientific is accredited by A2LA as a registered reference material producer certificate number 6559.01 in accordance with ISO 17034[1].

[1] ISO 17034 First Edition 2016-11-01 General requirements for the competence of reference material producers.

Version 1.0

Lampiran 4 CoA Poloxamer 188



Specification

1.37112.1000 Poloxamer 188 EMPROVE® EXPERT (stabilized with 70ppm BHT) Ph Eur, NF

Specification		
Identity (IR-spectrum)	passes test	
Identity (Average relative molecular mass)	passes test	
Content of oxyethylene moieties (H-NMR)	79.9 - 83.7	%
Appearance	white to almost white, waxy substance	
Appearance of solution (100 g/l, CO ₂ -free water)	clear and not more intense in color than reference solution BY.	
pH (25 g/l, CO ₂ -free water)	5.0 - 7.5	
pH (100 g/l, CO ₂ -free water)	5.0 - 7.5	
Average relative molecular mass	7680 - 9510	
Unsaturation	≤ 0.034	meq/g
Ethylene oxide (HS-GC) (Ph.Eur.)	≤ 1	ppm
Dioxane (HS-GC) (Ph.Eur.)	≤ 10	ppm
Propylene oxide (HS-GC) (Ph.Eur.)	≤ 5	ppm
Ethylene oxide (HS-GC) (NF) ¹	≤ 1	ppm
Dioxane (HS-GC) (NF) ¹	≤ 5	ppm
Propylene oxide (HS-GC) (NF) ¹	≤ 5	ppm
Formaldehyde	≤ 15	ppm
Other residual solvents (ICH Q3C)	excluded by manufacturing process	
Ash (600 °C)	≤ 0.4	%
Water (according to Karl Fischer)	≤ 1.0	%
Bacterial endotoxins	≤ 2.5	I.U./g
Microbiological test (total aerobic microbial count (TAMC))	≤ 10 ⁶	CFU/g
Microbiological test (total yeast and mould count (TYMC))	≤ 10 ⁴	CFU/g

Elemental impurity specifications have been set considering ICH Q3D (Guideline for Elemental Impurities). Class 1-3 elements are not likely to be present above the ICH Q3D option 1 limit, unless specified and indicated (*).

¹ measured value from external service laboratory

Corresponds to Ph. Eur., NF

Dr. Sebastian Lips
Responsible laboratory manager quality control

Merck KGaA
Corporation with General Partners
Frankfurter Straße 250
64293 Darmstadt, Germany

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Page 1 of 2

64293 Darmstadt, Germany
SALSA Version 1178243/0000000000001 Date: 31.02.2022



Specification

1.37112.1000 Poloxamer 188 EMPROVE® EXPERT (stabilized with 70ppm BHT) Ph Eur,
NF

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

Merck KGaA
Corporation with General Partners
Frankfurter Straße 250
64293 Darmstadt, Germany

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt,
Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and
Canada.

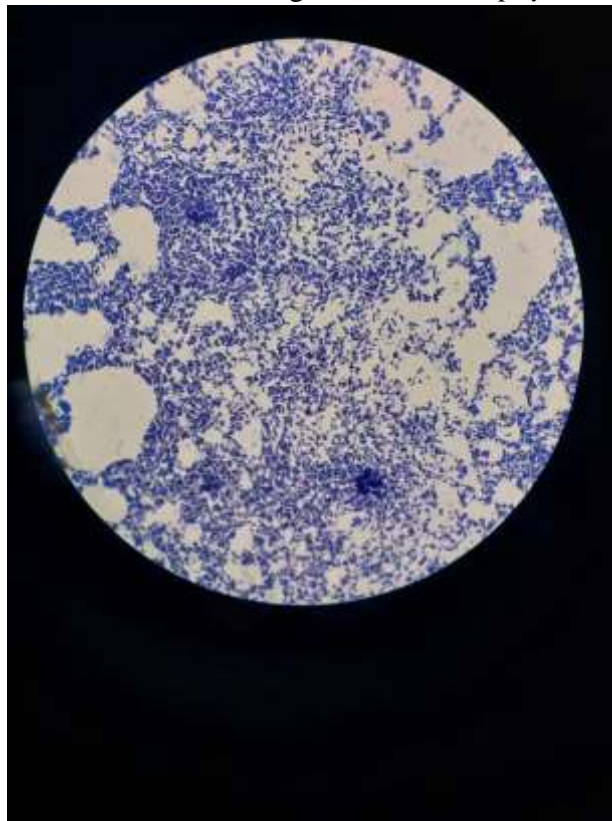
Page 2 of 2

SALSA Version 1178243/000000000000/ Date 21.02.2023

Lampiran 5 Gambar Kultur murni dari bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eshcerichia coli*



Lampiran 6 Gambar Hasil Pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus*



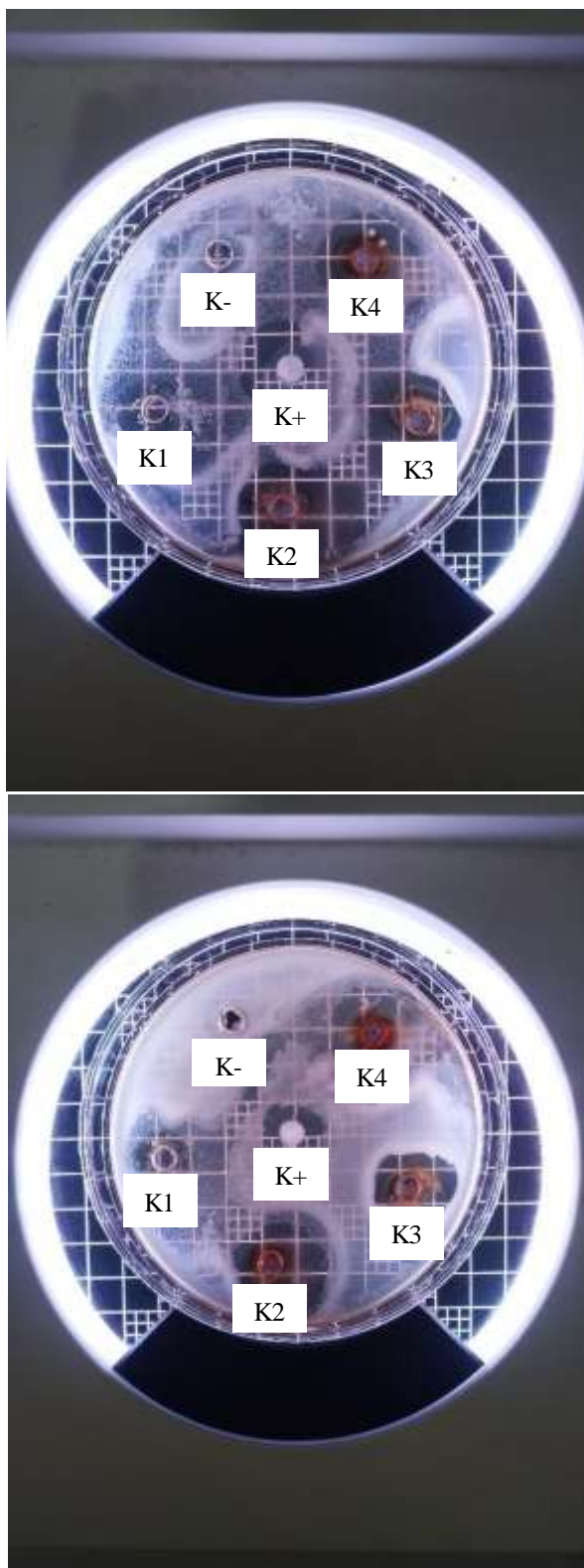
Lampiran 7 Gambar Hasil Pewarnaan gram bakteri *Eshcerichia coli*

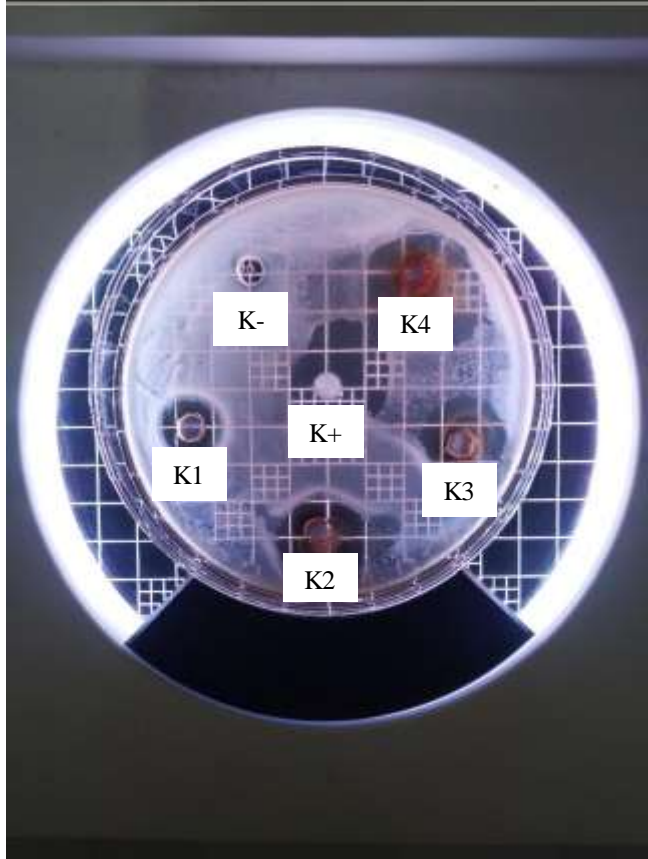
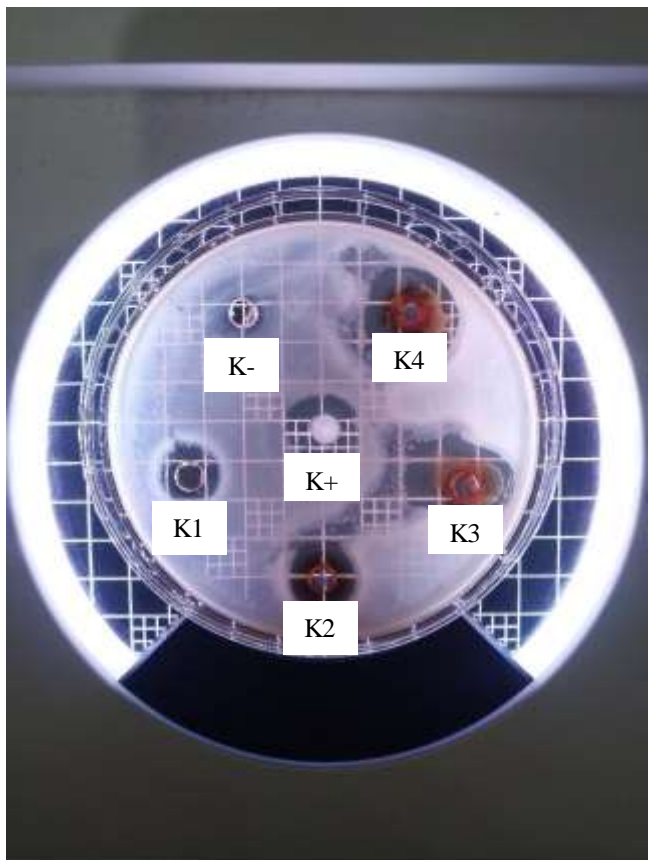


Lampiran 8 gambar sterilisasi alat dan bahan

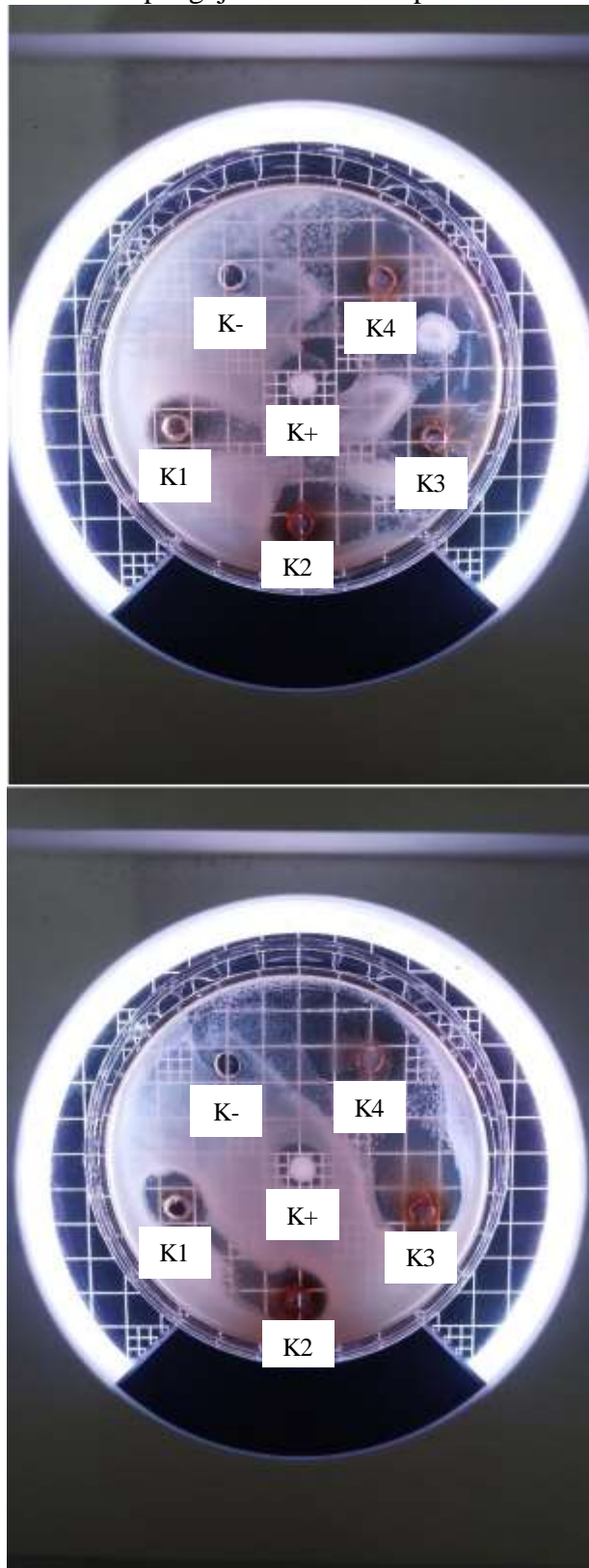


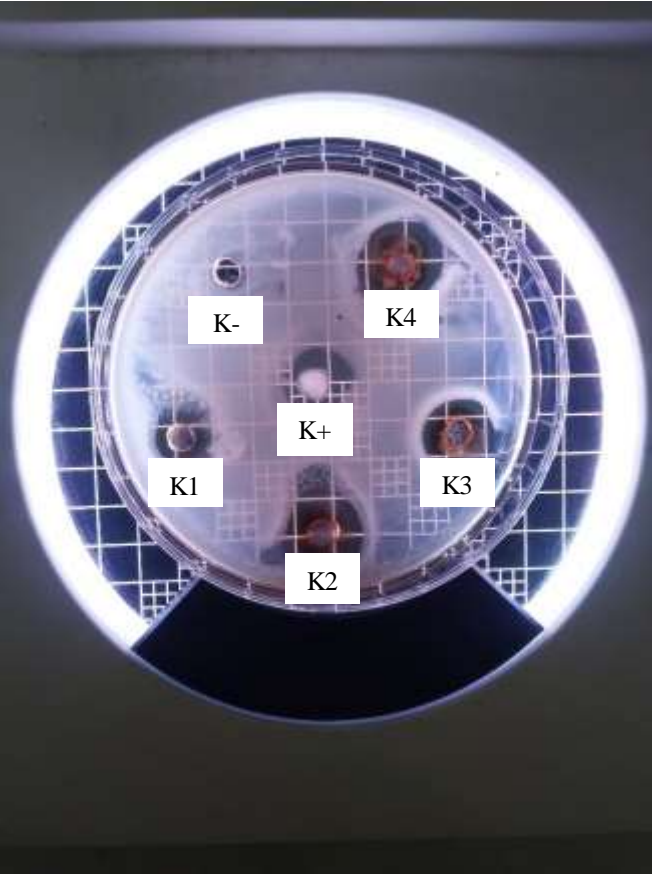
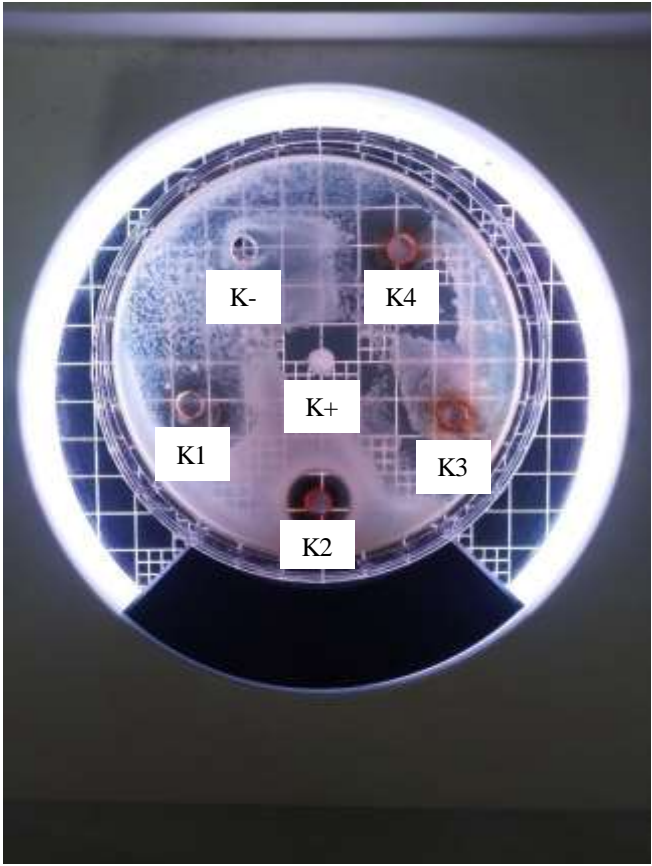
Lampiran 9 Gambar hasil pengujian antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus*





Lampiran 10 Gambar hasil pengujian antibakteri pada bakteri *Escherichia coli*





Lampiran 11 Gambar hasil uji statistik dari diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*

Tests of Normality

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
Diameter_Daya_Hambat_Bakteri	K_Positif	.334	4	.	.884	4	.355
	10%	.317	4	.	.904	4	.451
	15%	.261	4	.	.955	4	.751
	20%	.255	4	.	.912	4	.491
	25%	.250	4	.	.897	4	.418

a. Lilliefors Significance Correction

ANOVA

Diameter_Daya_Hambat_Bakteri

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	357.098	4	89.275	7.082	.002
Within Groups	189.084	15	12.606		
Total	546.182	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter_Daya_Hambat_Bakteri

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K_Positif	10%	4.02750	2.51054	.130	-1.3236	9.3786
	15%	-1.71000	2.51054	.506	-7.0611	3.6411
	20%	-4.53500	2.51054	.091	-9.8861	.8161
	25%	-8.52250*	2.51054	.004	-13.8736	-3.1714
10%	K_Positif	-4.02750	2.51054	.130	-9.3786	1.3236
	15%	-5.73750*	2.51054	.037	-11.0886	-.3864
	20%	-8.56250*	2.51054	.004	-13.9136	-3.2114
	25%	-12.55000*	2.51054	.000	-17.9011	-7.1989
15%	K_Positif	1.71000	2.51054	.506	-3.6411	7.0611
	10%	5.73750*	2.51054	.037	.3864	11.0886
	20%	-2.82500	2.51054	.278	-8.1761	2.5261
	25%	-6.81250*	2.51054	.016	-12.1636	-1.4614
20%	K_Positif	4.53500	2.51054	.091	-.8161	9.8861
	10%	8.56250*	2.51054	.004	3.2114	13.9136
	15%	2.82500	2.51054	.278	-2.5261	8.1761
	25%	-3.98750	2.51054	.133	-9.3386	1.3636
25%	K_Positif	8.52250*	2.51054	.004	3.1714	13.8736
	10%	12.55000*	2.51054	.000	7.1989	17.9011
	15%	6.81250*	2.51054	.016	1.4614	12.1636
	20%	3.98750	2.51054	.133	-1.3636	9.3386

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

Lampiran 12 Gambar hasil uji statistik dari diameter zona hambat pada bakteri *Eshcerichia coli*

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter_Daya_Hambat_Bakteri	K_Positif	.258	4	.	.859	4	.256
	10%	.306	4	.	.892	4	.391
	15%	.217	4	.	.978	4	.888
	20%	.213	4	.	.947	4	.700
	25%	.256	4	.	.833	4	.175

a. Lilliefors Significance Correction

ANOVA

Diameter_Daya_Hambat_Bakteri

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	255.533	4	63.883	6.020	.004
Within Groups	159.168	15	10.611		
Total	414.701	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter_Daya_Hambat_Bakteri

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K_Positif	10%	5.20000*	2.30339	.039	.2904	10.1096
	15%	-1.85000	2.30339	.434	-6.7596	3.0596
	20%	-1.31250	2.30339	.577	-6.2221	3.5971
	25%	-5.88750*	2.30339	.022	-10.7971	-.9779
10%	K_Positif	-5.20000*	2.30339	.039	-10.1096	-.2904
	15%	-7.05000*	2.30339	.008	-11.9596	-2.1404
	20%	-6.51250*	2.30339	.013	-11.4221	-1.6029
	25%	-11.08750*	2.30339	.000	-15.9971	-6.1779
15%	K_Positif	1.85000	2.30339	.434	-3.0596	6.7596
	10%	7.05000*	2.30339	.008	2.1404	11.9596
	20%	.53750	2.30339	.819	-4.3721	5.4471
	25%	-4.03750	2.30339	.100	-8.9471	.8721
20%	K_Positif	1.31250	2.30339	.577	-3.5971	6.2221
	10%	6.51250*	2.30339	.013	1.6029	11.4221
	15%	-.53750	2.30339	.819	-5.4471	4.3721
	25%	-4.57500	2.30339	.066	-9.4846	.3346
25%	K_Positif	5.88750*	2.30339	.022	.9779	10.7971
	10%	11.08750*	2.30339	.000	6.1779	15.9971
	15%	4.03750	2.30339	.100	-.8721	8.9471
	20%	4.57500	2.30339	.066	-.3346	9.4846

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

Lampiran 13 Perhitungan diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus*

$$\text{Rumus : } \frac{(Dv+Dh)}{2} - Ds$$

Keterangan :

Dv : Diameter vertikal

Dh : Diameter horizontal

Ds : Diameter sumuran

PENGULANGAN 1

1. Kontrol +
$$= \frac{21.5 \text{ mm} + 24.1 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$
$$= 15.8 \text{ mm}$$
2. Konsentrasi 10 %
$$= \frac{11.5 \text{ mm} + 12.6 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$
$$= 5.05 \text{ mm}$$
3. Konsentrasi 15 %
$$= \frac{19.1 \text{ mm} + 18 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$
$$= 11.55 \text{ mm}$$
4. Konsentrasi 20 %
$$= \frac{18 \text{ mm} + 18.2 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$
$$= 11.1 \text{ mm}$$
5. Konsentrasi 25 %
$$= \frac{27.4 \text{ mm} + 24 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$
$$= 18.7 \text{ mm}$$

PENGULANGAN 2

1. Kontrol +
$$= \frac{14.3 \text{ mm} + 13.3 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$
$$= 6.8 \text{ mm}$$
2. Konsentrasi 10 %
$$= \frac{11.5 \text{ mm} + 13.5 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$
$$= 5.5 \text{ mm}$$
3. Konsentrasi 15 %

$$= \frac{13.9 \text{ mm} + 14.7 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$

$$= 7.3 \text{ mm}$$

4. Konsentrasi 20 %

$$= \frac{13 \text{ mm} + 17.8 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$

$$= 8.4 \text{ mm}$$

5. Konsentrasi 25 %

$$= \frac{18.9 \text{ mm} + 15.7 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$

$$= 10.3 \text{ mm}$$

PENGULANGAN 3

1. Kontrol +

$$= \frac{14.8 \text{ mm} + 13.3 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$

$$= 7.05 \text{ mm}$$

2. Konsentrasi 10 %

$$= \frac{13.1 \text{ mm} + 13.8 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$

$$= 6.45 \text{ mm}$$

3. Konsentrasi 15 %

$$= \frac{22.4 \text{ mm} + 22.8 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$

$$= 15.6 \text{ mm}$$

4. Konsentrasi 20 %

$$= \frac{19.3 \text{ mm} + 19.4 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$

$$= 12.35 \text{ mm}$$

5. Konsentrasi 25 %

$$= \frac{28.9 \text{ mm} + 22.3 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$

$$= 18.6 \text{ mm}$$

PENGULANGAN 4

1. Kontrol +

$$= \frac{16.8 \text{ mm} + 17.8 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$

$$= 10.3 \text{ mm}$$

2. Konsentrasi 10 %
$$= \frac{9.1 \text{ mm} + 9.2 \text{ mm}}{2} - 7\text{mm}$$
$$= 2.15 \text{ mm}$$
3. Konsentrasi 15 %
$$= \frac{18.5 \text{ mm} + 21.3 \text{ mm}}{2} - 7\text{mm}$$
$$= 12.9 \text{ mm}$$
4. Konsentrasi 20 %
$$= \frac{20.2 \text{ mm} + 20.5 \text{ mm}}{2} - 7\text{mm}$$
$$= 13.35 \text{ mm}$$
5. Konsentrasi 25 %
$$= \frac{24.1 \text{ mm} + 21.7 \text{ mm}}{2} - 7\text{mm}$$
$$= 15.9 \text{ mm}$$

Lampiran 14 Perhitungan diameter zona hambat bakteri 3 *Escherichia coli*

$$\text{Rumus : } \frac{(Dv+Dh)}{2} - Ds$$

Keterangan :

Dv : Diameter vertikal

Dh : Diameter horizontal

Ds : Diameter sumuran

PENGULANGAN 1

$$\begin{aligned} 6. \text{ Kontrol +} \\ &= \frac{14.4 \text{ mm} + 14.4 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm} \\ &= 7.4 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 7. \text{ Konsentrasi 10 \%} \\ &= \frac{11.8 \text{ mm} + 10.5 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm} \\ &= 4.15 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 8. \text{ Konsentrasi 15 \%} \\ &= \frac{18 \text{ mm} + 21 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm} \\ &= 12.65 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 9. \text{ Konsentrasi 20 \%} \\ &= \frac{15.6 \text{ mm} + 28.4 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm} \\ &= 15 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 10. \text{ Konsentrasi 25 \%} \\ &= \frac{24.8 \text{ mm} + 29.8 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm} \\ &= 20.3 \text{ mm} \end{aligned}$$

PENGULANGAN 2

$$\begin{aligned} 6. \text{ Kontrol +} \\ &= \frac{11.1 \text{ mm} + 12 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm} \\ &= 4.55 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 7. \text{ Konsentrasi 10 \%} \\ &= \frac{13.6 \text{ mm} + 13.3 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm} \\ &= 6.45 \text{ mm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 & 8. \text{ Konsentrasi } 15 \% \\
 & = \frac{20.4 \text{ mm} + 14.2 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm} \\
 & = 10.5 \text{ mm}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 & 9. \text{ Konsentrasi } 20 \% \\
 & = \frac{19 \text{ mm} + 29.5 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm} \\
 & = 19.25 \text{ mm}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 & 10. \text{ Konsentrasi } 25 \% \\
 & = \frac{26 \text{ mm} + 32 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm} \\
 & = 22 \text{ mm}
 \end{aligned}$$

PENGULANGAN 3

$$\begin{aligned}
 & 6. \text{ Kontrol +} \\
 & = \frac{23 \text{ mm} + 19.4 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm} \\
 & = 14.2 \text{ mm}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 & 7. \text{ Konsentrasi } 10 \% \\
 & = \frac{9.9 \text{ mm} + 10 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm} \\
 & = 2.95 \text{ mm}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 & 8. \text{ Konsentrasi } 15 \% \\
 & = \frac{14.2 \text{ mm} + 14.2 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm} \\
 & = 7.2 \text{ mm}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 & 9. \text{ Konsentrasi } 20 \% \\
 & = \frac{17 \text{ mm} + 15.5 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm} \\
 & = 9.25 \text{ mm}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 & 10. \text{ Konsentrasi } 25 \% \\
 & = \frac{18.9 \text{ mm} + 22.7 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm} \\
 & = 13.8 \text{ mm}
 \end{aligned}$$

PENGULANGAN 4

$$\begin{aligned}
 & 6. \text{ Kontrol +} \\
 & = \frac{14.5 \text{ mm} + 14.8 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}
 \end{aligned}$$

$$= 7.65 \text{ mm}$$

7. Konsentrasi 10 %
$$= \frac{10.9 \text{ mm} + 11.2 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$
$$= 4.05 \text{ mm}$$

8. Konsentrasi 15 %
$$= \frac{16.8 \text{ mm} + 17.6 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$
$$= 10.2 \text{ mm}$$

9. Konsentrasi 20 %
$$= \frac{17.9 \text{ mm} + 16.8 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$
$$= 10.35 \text{ mm}$$

10. Konsentrasi 25 %
$$= \frac{18.6 \text{ mm} + 18.8 \text{ mm}}{2} - 7 \text{ mm}$$
$$= 11.7 \text{ mm}$$