UJI SENSITIVITAS ANTI BAKTERI TUBERKULOSIS (*Mycobacterium tuberculosis)* EKSTRAK DAUN TANAMAN BUNGA PAGODA (*Clerodendrum japonicum*)

SKRIPSI

Oleh :

HARTONO
00613084

JURUSAN FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

JOGJAKARTA

FEBRUARI 2006

UJI SENSITIVITAS ANTI BAKTERI TUBERKULOSIS (*Mycobacterium tuberculosis)* EKSTRAK DAUN TANAMAN BUNGA PAGODA (*Clerodendrum japonicum*)

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Oleh :

HARTONO
00613084

JURUSAN FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

JOGJAKARTA

FEBRUARI 2006

SKRIPSI

UJI SENSITIVITAS ANTI BAKTERI TUBERKULOSIS (*Mycobacterium tuberculosis)* EKSTRAK DAUN TANAMAN BUNGA PAGODA (*Clerodendrum japonicum*)

Yang diajukan oleh:

HARTONO

00613084

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,	Pembimbing pendamping,
(Dr. Gemini Alam M.Si., Apt.)	(M. Hatta Prabowo, S.F., Apt.)

SKRIPSI

UJI SENSITIVITAS ANTI BAKTERI TUBERKULOSIS (*Mycobacterium tuberculosis)* EKSTRAK DAUN TANAMAN BUNGA PAGODA (*Clerodendrum japonicum*)

Oleh :

HARTONO
00613084

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 22 Febuari 2006

Ketua Penguji,

Dr. Gemini Alam, M. Si., Apt

Anggota Penguji,

M. Hatta Prabowo., SF., Apt

Anggota Penguji,

Sri Mulyaningsih, M. Si., Apt

Mengetahui
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Jaka Nugraha., M.Si

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya, juga terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Jogjakarta, Januari 2006

Penulis,

Hartono

KARYA KECIL INI KUPERSEMBAHKAN KEPADA :

Ayahanda Haryono & Ibunda Prasetyaningtyas

Sebagai ungkapan terimakasih dan sujud baktiku untuk semua perhatian,
kasih sayang, do'a, dukungan dan pengorbanannya selama ini.
Semoga dapat menjadikan pahala yang berlimpah di sisi Allah SWT, amien..

Adik dan Saudara – saudaraku

Atas segala perhatian yang selama ini diberikan baik material maupun spiritual, serta dukungan yang sangat luar biasa untuk diriku.
Semoga Allah selalu mempersatukan kita dalam semua keadaan & harapan

Almamaterku,

Prodi Farmasi Universitas Islam Indonesia
Maaf, penelitianku jauh dari sempurna & ada ketidakjujurannya

Karjono Fa'98,She- gate Fa'00,
Trimakasih atas semua bantuan

The GE - BANX CITY "121" comunity Dedy, Pamijo, Nia, Wiedie, RipeH, Eta, Ifa
Thank's all, Kalian emang asyik dan menggemaskan
Semoga qt senantiasa bisa selalu berjuang dijalan-Nya, Insya Allah

MOTTO

"...Allah pasti akan mengangkat orang yang beriman dan berpengetahuan di antara kamu beberapa tingkat lebih tinggi..."
[QS, Al Mujaadilah (58:11)]

" Sesungguhnya bersama kesukaran pasti ada kemudahan, oleh karena itu apabila selesai satu tugas mulailah tugas yang lain dengan sungguh-sungguh, dan hanya kepada Tuhanmu hendaknya kamu berharap "
[QS Asy-syarh (94 :58)]

Pengetahuan dan pengertian merupakan teman hidup yang setia dan tak pernah punah, Pengetahuan merupakan mahkota kita, dan pengertian menjadi tongkat kebesaran, Jika keduannya kita miliki, tak ada milik kita yang lebih berarti dari pada keduannya. (kahlil Gibran)

orang sukses bukan terlahir, namun orang sukses karena kemauan yang kuat yang diiringi ikhtiar, doa dan usaha.

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِيْمِ

Assalamu'alaikum Wr.Wb

Puji syukur senantiasa saya panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan Skripsi dengan judul "**UJI SENSITIVITAS ANTI BAKTERI TUBERKULOSIS (*Mycobacterium tuberculosis)* EKSTRAK TANAMAN BUNGA PAGODA *(Clorodendrum japonicum*)**". Sallawat serta salam tak henti-hentinya kita panjatkan kepada junjungan kita Nabi besar Muhammad SAW beserta seluruh keluarga dan kerabatnya.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Farmasi di Jurusan Farnmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Pada kesempata ini, perkenankanlah penulis menghaturkan banyak terima kasih kepada :

1. **Dr. Gemini Alam, M. Si., Apt.,** selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan, arahan dan masukan selama penelitian sampai penyusunan skripsi.
2. **M. Hatta Prabowo, SF., Apt.,** selaku dosen pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan, arahan, dan masukan selama penelitian sampai penyusunan skripsi.
3. **Sri Mulyaningsih, M.Si., Apt.,** selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran serta masukannya.
4. **Jaka Nugraha., M.Si.** selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
5. **Farida Hayati, M.Si., Apt.,** ketua jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unversitas Islam Indonesia.

6. **Ibu Ni Ketut Chandra,** selaku pembimbing penelitian di Laboratorium Mikrobiologi AAK Depkes yogyakarta.
7. Semua pihak yang telah membantu selama penelitian dan pernyususnan skripsi yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyususnan ini masih jauh dari sempurna, hal ini dikarenakan keterbatasan kemampuan penulis. Oleh karena itu segala kritik dan saran dari pembaca dan yang sifatnya membangun, diterima dengan senang hati, demi kesempurnaan dan kemajuan bersama. Saya berharap semoga skripsi ini berguna bagi pembaca pada umumnya dan masyarakat khususnya. Amin..

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR viii

DAFTAR ISI x

ABSTRAK xiv

BAB I PENDAHULUAN

A Latar belakang Masalah 1

B Rumusan Masalah 3

C Tujuan 4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Studi Pustaka 5

1. Uraian tentang tanaman Bunga Pagoda 5

2. Metode Penyarian 6

3. Uraian tentang tuberkulosis 8

a Uraian tentang penyakit tuberkulosis 8

b Uraian tentang bakteri tuberkulosis. 9

c. Uraian tentang media untuk bakteri tuberkulosis 11

d. Uraian cara sterilisasi 12

e. Uji anti bakteri dan kepekaan kuman 14

B. Keterangan Empiris 17

BAB III. METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat 18

1. Bahan yang digunakan 18

2. Alat yang digunakan..... 18

B. Cara penelitian..... 19

1. Determinasi Tumbuhan. 19

2. Penyiapan serbuk tumbuhan 19

3. Penyarian Serbuk 19

4. Pengujian ekstrak Terhadap *Mycobacterium tuberculosis*..... 23

C. Analisis Hasil 26

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi tanaman Bunga Pagoda 28

B. Penyiapan bahan 28

C. Penyarian simplisia 29

D. Hasil Uji Aktivitas Antimikrobia 31

a. Hasil uji sensitivitas anti bakteri tuberkulosis ekstrak PE Beserta fraksinasinya 34

b. Hasil uji sensitivitas anti bakteri tuberkulosis ekstrak etanol 70% beserta fraksinasinya 38

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan 49

B. Saran 49

DAFTAR PUSTAKA 50

LAMPIRAN 52

DAFTAR GAMBAR

Skema Ekstraksi 20
Skema Partisi Ekstrak PE 21
Skema Partisi Ekstrak Etanol 70% 22
Foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 4 34
Foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 4 Ekstrak PE 34
Foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 3 Ekstrak PE
fraksi tidak larut dalam n-heksan 35
Foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 4 Ekstrak PE
fraksi tidak larut n-heksan 35
Foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 2 Ekstrak Etanol 70%..... 38
Foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 2 Ekstrak Etanol 70%..... 39
Foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 3 Ekstrak Etanol 70%..... 39
Foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 4 Ekstrak Etanol 70%..... 40
Foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 1 Ekstrak Etanol 70%
fraksi larut Metanol 40
Foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 2 Ekstrak Etanol 70%
fraksi larut Metanol 41
Foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 3 Ekstrak Etanol 70%
fraksi larut Metanol 41
Foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 2 Ekstrak Etanol 70%
fraksi tidak larut Metanol 42
Foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 3 Ekstrak Etanol 70%
fraksi tidak larut Metanol 42
Foto tanaman Bunga Pagoda 75
Foto daun dan bunga Tanaman Bunga Pagoda 75

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Bobot ekstrak kering masing-masing penyari dari 100 gram serbuk sample 30

Tabel 2. Bobot ekstrak kering masing-masing penyari dari 5 gram ekstrak n-heksan dan etanol 70% 30

Tabel 3. Data uji aktivitas antimikroba menurut skala IUATLD 33

Tabel 4. Persentase resistensi ekstrak PE dan fraksinasinya 36

Tabel 5. Persentase resistensi ekstrak Etanol 70% dan fraksinasinya.... 43

Tabel 6. Persentase resistensi kontrol positif INH dan Ethambutol 43

Tabel 7. Rata-rata persentase resistensi 46

DAFTAR LAMPIRAN

1. Hasil determinasi tanaman bunga pagoda 52
2. Hasil uji statistik Anova satu arah ekstrak Etanol 70% 53
3. Hasil uji statistik Anova satu arah ekstrak PE 54
4. Hasil uji statistik Anova dua arah 55
5. Komposisi Media Louwerstain – Jensen dan cat BTA 65
6. Daftar perhitungan jumlah ekstrak per ml medium basal 67
7. Daftar perhitungan persentase resistensi 69

UJI SENSITIVITAS ANTI BAKTERI TUBERKULOSIS (*mycobacterium tuberculosis*) EKSTRAK DAUN TANAMAN BUNGA PAGODA (*Clerodendrum japonicum*)

Abstrak

Penelitian yang dilakukan ini adalah untuk menguji ada tidaknya sensitivitas anti bakteri tuberkulosis dari ekstrak Petroleum Eter (PE) dan Etanol 70% berserta fraksinasinya dari daun tanaman bunga pagoda. Untuk mengetahui aktivitas anti tuberkulosis tanaman bunga pagoda tersebut maka dilakukan pengujian uji sensitivitas anti tuberkulosis dan ekstrak daun tanaman bunga pagoda. Pengujian ada tidaknya sensitivitas anti tuberculosis pertama kali dengan mengekstrak daun tanaman bunga pagoda dengan PE dan Etanol 70%, kemudian difraksinasi dengan n-heksan untuk ekstrak PE dan Metanol untuk ekstrak Etanol 70% sampai diperoleh ekstrak PE fraksi larut dan tidak larut n-heksan serta ekstrak Etanol 70% fraksi larut dan tidak larut Metanol. Semua ekstrak dan fraksinasinya dibuat seri kadar 20%; 10%; 5%; 2,5% dengan diencerkan menggunakan DMSO. Seri kadar yang diperoleh di campur dengan media Louwerstain Jensen yang masih cair, disterilisasi dan inokulasi dengan bakteri tuberculosis, inkubasi 37°C selama 6-8 minggu. Kemudian dilihat pertumbuhan bakteri tuberkulosis dengan menghitung jumlah bakteri tuberculosis secara mikroskopis menggunakan pengecatan Bakteri Tahan Asam (BTA), jumlah bakteri dihitung dalam 10 lapang pandang dijumlah dan dihitung persentase resistensinya. Dari persentase resistensi ekstrak PE diperoleh nilai terendah 74,49% pada ekstrak PE tak larut n-heksan kadar 20% dan tertinggi 106,91% pada ekstrak PE tak larut n-heksan kadar 2,5%. Sedang untuk ekstrak Etanol 70% diperoleh persentase resistensi terendah adalah 2,63% pada ekstrak etanol 70% fraksilarut methanol kadar 20% dan tertinggi 96,58 pada ekstrak etanol 70% kadar 2,5%. Hasil nilai Persentasi Resistensi masing-masing ekstrak dihitung secara statistic menggunakan uji ANAVA satu arah dan dua arah. Dari uji statistic diperoleh bahwa tidak ada perbedaan bermakna, dari uji ANAVA dua arah diperoleh ada perbedaan bermakna kemudian dilanjutkan uji Multiple comparison diperoleh ada perbedaan nyata, dari uji tukey diperoleh perbedaan nyata

Kata kunci: daun tanaman bunga pagoda, fraksinasi, bakteri tuberculosis, persentase resistensi, sensitivitas.

TUBERCULOSIS ANTI BACTERIAL ACTIVITY TEST (*Mycobacterium tuberculosis*) OF THE PAGODA PANT'S LEAVES EXTRACT (*Clerodendrum japonicum*)

Abstract

The research is conducted to examine if there is a tuberculosis anti bacteria activity from the extract of Petroleum Ether (PE) and 70% Ethanol with its vaccination from the pagoda plant's leaves. In order to find out the anti tuberculosis activity from pagoda plant's leaves, the anti tuberculosis sensitivity test is done from the pagoda plant's leaves. The anti tuberculosis sensitivity test is firstly done by extracting the pagoda plant's leaves with PE and 70% Ethanol and then the extract is fragmented with n-hecsan for the PE extract and with Methanol for 70% ethanol extract until it is obtained n-hecsan soluble and insoluble fraction PE extract and Methanol soluble and insoluble fraction of 70% Ethanol extract. All the extract and its fraction is made of series with the degree of 20%; 10%; 5%; 2.5% by diluting them with DMSO. The series of concentration are then mixed with Louwerstain Jensen medium in liquid form, sterilized and incubated with the tuberculosis bacteria, with the 37 °C incubation for 6-8 weeks. Then the growth of tuberculosis bacteria is examined by counting the amount of tuberculosis bacteria microscopically using the color of Acid Resistant Bacteria (BTA), the amount of the bacteria is counted in 10 seeing area, added and counted their resistance presentation. From the PE extract's resistance, it is obtained the smallest value for 74.49% in 20% n-hecsan insoluble fraction and the highest value for 106.91% in 2.5% n-hecsan insoluble fraction. While from the 70% Ethanol extract, it is obtained the smallest resistance percentage is 2.63% in 20% methanol soluble fraction and the highest resistance percentage is 96.58% in 2.5% of 70% ethanol extract. The Resistance Percentage value from each extract is counted statistically by suing one way and round way ANOVA test. From the statistic test, it is revealed that there is no significant difference, from the round way ANOVA test it is revealed that there is a significant difference and then examination is continued with multiple comparison and it is revealed that there is a real difference, from the tuckey test it is revealed that there is a real difference.

Key words: pagoda plant's leaves, fraction, tuberculosis bacteria, resistance percentage, sensitivity.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Banyak program nasional tuberkulosis dimulai sebagai program eksklusif untuk memerangi penyakit tuberkulosis ini, karena tuberkulosis (TBC) telah menginfeksi lebih dari 8 juta penduduk dunia dan ± 3 juta diantaranya meninggal dunia, di dunia Indonesia menyumbang TBC terbesar ketiga dengan jumlah penderita ± 583.000 orang pertahun. Sebagai akibatnya WHO sekarang merekomendasikan bahwa seluruh program kesehatan negara-negara berkembang termasuk tuberkulosis harus melalui pemeriksaan berkala secara rutin. Ahli-ahli tuberkulosis akan membantu merencanakan, mengawasi, melatih dan melatih ulang. Bilamana program sudah mantap sepenuhnya pekerja pusat kesehatan masyarakat akan menentukan mengenai pemeriksaan terapi rutin untuk penyakit TBC tersebut (Budiman,1996).

Pada beberapa program pemberantasan penyakit TBC kemampuan penata laksanaan sama pentingnya dengan kemampuan klinik. Harus terdapat tim ahli yang kuat dan berwenang dan mempunyai kemauan yang kuat untuk melaksanakan program pencegahan primer. Setelah itu baru penyakit tuberkulosis beru dapat diatasi dan penyebarannya dapat dicegah (Budiman,1996).

Untuk upaya pemberantasan penyakit tuberkulosis dapat dilakukan dengan berbagai metode seperti dengan pengobatan menggunakan obat-obat paten yang telah ditentukan untuk obat anti tuberkulosis seperti INH, Isoniazid, Rimpamisin dan antibiotik lain yang dapat menghambat dari kuman penyebab tuberkulosis ini. Selain itu pengobatan dapat dilakukan dengan pengobatan tradisional seperti yang telah dilakukan nenek moyang kita dengan menggunakan ramuan obat-obatan tradisional sebagai pengobatan alternatif untuk tuberkulosis. Telah diketahui bahwa Indonesia kaya akan berbagai tanaman obat yang dapat digunakan sebagai obat, baik yang masih berupa tanaman liar atau gulma maupun yang telah banyak di budidayakan oleh masyarakat kita. Sumber tanaman obat tersebut merupakan prospek yang sangat baik bagi obyek penelitian untuk mencari obat-obat baru ataupun sebagai pengobatan alternatif (Anonim, 1996)

Akhir-akhir ini ada kecenderungan masyarakat untuk menggunakan bahan obat alam yang dikenal dengan obat tradisional. Negara Indonesia yang saat ini mengalami krisis moneter telah membuat masyarakat tidak mampu lagi untuk membeli obat yang harganya relatif mahal, terutama masyarakat yang berpenghasilan rendah, Oleh karena itu, perlu dicari pengobatan alternatif antara lain melalui penggunaan obat-obatan tradisional. Penggunaan obat-obatan tradisional ini memiliki kelebihan-kelebihan antara lain, mudah didapat, murah, dapat diramu sendiri, hal ini sangat berbeda dengan obat-obatan yang berasal dari bahan-bahan kimia, yang proses pembuatannya memerlukan biaya yang cukup mahal dan juga dapat menimbulkan efek samping pada penggunaannya. Biasanya penggunaan obat tradisional diperoleh dari pengalaman turun-temurun dari nenek moyang maupun dari hasil penelitian dan pengembangan para ilmuwan. Fakta menunjukkan bahwa upaya kesehatan tradisional telah dikenal sejak dulu kala sebelum pelayanan secara modern dengan obat-obatan paten yang dibuat oleh pabrik. Sampai saat ini masih banyak masyarakat kita yang memanfaatkan pengunaan jamu (obat tradisional) sebagai obat (Tjokronegoro dan Bazit, 1992).

Obat tradisional adalah obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, mineral atau campuran dari bahan-bahan tersebut yang belum mempunyai data khusus dan digunakan dalam usaha pengobatan berdasarkan pengalaman. Tanaman berkhasiat obat adalah salah satu diantara obat tradisional yang paling banyak digunakan secara empirik oleh masyarakat dalam rangka menanggulangi masalah-masalah kesehatan yang dihadapinya, baik untuk pengobatan, maupun pemeliharan kesehatan. Seperti pada penyakit tuberkulosis juga dapat digunakan tanaman obat. Tanaman tersebut adalah tanaman Bunga Pagoda (*Clerodendrum japonicum*). Tanaman-tanaman lain yang diduga juga dapat dipergunakan sebagai tanaman obat untuk penyakit tuberculosis ini antara lain : daun waru (*Hibiscus tilanceus* L) dan daun Pegagan (*Cantella asiatica* [L] urban) (Dalimartha, 2000).

Pada penyakit tuberkulosis, tanaman Bunga Pagoda (*Clerodendrum japonicum*) yang telah lama digunakan oleh masyarakat sebagai obat untuk penyakit tuberkulosis, yaitu pada bagian akar, daun dan bunga dari tanaman Bunga Pagoda teresebut dengan cara merebus 30 -90 gram bagian akar, daun atau bunga tanaman tersebut dengan ± 3 gelas air dan direbus hingga menjadi ± 1 gelas air dan diminum atau juga dapat diserbuk

kemudian diseduh seperti menyeduh daun teh kemudian di saring dan air seduhan diminum (Dalimartha, 2000).

Walaupun telah banyak penelitian mengenai tanaman bunga pagoda serta secara empirik daun dari tanaman bunga pagoda sudah banyak digunakan untuk pengobatan, tetapi khasiat daunnya sebagai antibakteri belum dibuktikan secara ilmiah. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui potensinya sebagai obat antibakteri dan diketahui kandungan senyawa kimia pada daun tanaman bunga pagoda yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Untuk membuktikan kebenaran sebagai obat antibakteri, maka dilakukan penelitian tentang uji aktifitas tuberkulosis daun *Clerodendrum japonicum* atau daun tanaman bunga pagoda terhadap *Mycobacterium tuberculosis*, dari hasil penelitian ini diharapkan dapat diketahui adanya golongan senyawa kimia yang mempunyai aktivitas antibakteri sehingga dapat memberikan sumbangan yang berarti bagi masyarakat luas dalam upaya perkembangan obat tradisional di Indonesia.

B. Rumusan Masalah

Dari latar belakang tersebut perlu dibuktikan bahwa tanaman Bunga Pagoda (*Clerodendrum japonicum*) tersebut mempunyai khasiat sebagai obat anti tuberkulosis. Maka perlu dilakukan pengujian untuk membuktikan kebenarannya. Permasalahan yang timbul adalah :

1. Apakah ada aktifitas antibakteri ekstrak petroleum eter dan etanol daun dari tanaman bunga pagoda (*C. japonicum*) terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* ?
2. Fraksi aktif ekstrak daun bunga pagoda (*C. japonicum*) manakah yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* ?

C. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui :

1. Aktifitas antibakteri ekstrak petroleum eter dan etanol daun *C.. japonicum* terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis.*
2. Fraksi aktif ekstrak daun *C. japonicum* yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis.*
3. Pada konsentrasi berapa cukup optimal menghambat pertumbuhan bakteri tuberkulosis.

BAB II

STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Uraian tentang tanaman Bunga Pagoda

Klasifikasi tanaman Bunga Pagoda (*Clerodendrum japonicum* [Thumb] sweet) adalah :

Divisi	: Spermatophyta
Sub devisi	: Angiospermae
Classis	: Dycotiledone
Ordo	: Lamiles
Familia	: Verbenaceae
Genus	: Clerodendrum
Spesies	:*Clerodendrum japonicum*

(Backer dan Bakhuizen van den Brink, 1965)

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA PERPUSTAKAAN FMIPA

Tanaman Bunga Pagoda umumnya tumbuh di halaman rumah, pekarangan, atau di tepi jalan dan biasanya tumbuh sebagai tanaman hias. Tanaman Bunga Pagoda berbentuk berupa tanaman perdu yang meranggas, tinggi sekitar 1-3 meter, batang dipenuhi bulu-bulu halus, daun tunggal, bertangkai dan letak berhadap-hadapan (Dalimartha, 2000).

Batang berbentuk tegak, bulat, sedikit bercabang, berwarna putih kehitaman, daun tunggal berselang-seling, berbentuk seperti jantung, tepi bergerigi, ujung runcing, pangkal bertoreh dalam, panjang 15-30 cm, lebar 10-25cm, bertulang melengkung, permukaan kasab. Bunga berbentuk payung, tumbuh di ujung batang atau pada cabang, tangkai silindris, kelopak berbentuk corong bercongop, lima helai, benang sari dan putik memanjang keluar dari tabung mahkota, mahkota berbentuk tabung, ujung beruang, bercangkap lima, panjang 5-10mm, berwarna orange. Buah berbentuk kotak, beruang 3-4 dengan diameter 1 cm berwarna ungu. Biji berbentuk bulat telur, permukaan beralur jala putih. Dan akar berupa akar tunggal berwarna putih kotor. Pada umumnya anggota

genus ini mengandung senyawa-senyawa alkaloid, flavanoid,saponin dan poli fenol, disamping itu daun dan batangnya mengandung senyawa alkaloid (Anonim, 1997).

2. Metode penyarian

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstrak zat aktif simplisia nabati maupun simplisia hewani dengan pelarut yang sesuai. Pelarut kemudian diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa memenuhi baku standar yang telah ditetapkan. Penyari yang dapat digunakan antara lain air, eter atau campuran etanol dan air (Anonim, 1994).

Ekstrak cair adalah sediaan cair simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau pengawet atau pengawet dan pelarut. Ekstrak cair yang cenderung membentuk endapan dapat didiamkan dan disaring dan bagian yang bening dienaptuangkan. Beningan yang diperoleh memenuhi persyaratan farmakope Indonesia (Anonim, 1994).

Cara penyarian dapat dibedakan menjadi infudasi, maserasi, perkolasi, dan penyarian berkesinambungan menggunakan shoxlet. Dari keempat cara tersebut sering dilakukan modifikasi untuk memperoleh hasil yang lebih baik.

Penyarian merupakan peristiwa perpindahan massa zat aktif yang semula berada dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif tersebut larut dalam cairan penyari. Pada umumnya penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin luas. Metode penyarian merupakan salah satu bagian dari proses isolasi bahan alam. Pemilihan cara penyarian dari keempat metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik. Dari keempat cara tesebut sering dilakukan modifikasi untuk memperoleh hasil yang lebih baik (Anonim, 1994).

a. Infudasi

Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraki simplisia nabati dengan menggunakan air pada suhu 90^{o}C selama 15 menit. Infudasi adalah proses penyarian yang pada umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut didalam air dari bahan-bahan nabati. Penyarian menggunakan metode ini menghasilkan sari yang kurang stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh karena itu

sari yang diperoleh dengan cara infudasi tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Anonim, 1986).

b. Maserasi

Maserasi merupakan proses penyarian dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut kedalam cairan penyari karena adanya perbedaan konsentrasi antara zat aktif didalam sel dengan zat aktif diluar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut terjadi berulang-ulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi senyawa zat aktif antara larutan diluar sel dan didalam sel (Anonim,1986).

c. Perkolasi

Perkolasi dilakukan dalam wadah silindris atau kerucut (Perkolator) yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai. Cairan penyari akan melarutkan sel-sel zat aktif, sel-sel zat aktif yang dilalui sampai menjadi keadaan jenuh. Gerakan kebawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan penyari diatasnya dikurangi dengan gaya kapiler yang cenderung untuk menahan (Voight, 1995).

d. Penyarian berkesinambungan menggunakan shoxlet

Prosedur klasik untuk memperoleh kandungan senyawa organik dari jaringan tumbuhan kering seperti akar, biji kering, daun ialah dengan mengekstrasi sinambung serbuk bahan menggunakan alat shoxlet dengan sederetan pelarut secara berganti-ganti mulai mengunakan pelarut eter, lalu eter minyak bumi, dan kloroform (untuk memisahkan lipid dan terpenoid), kemudian digunakan alkohol dan etil asetat (untuk senyawa yang lebih polar). Dalam metode menggunakan alat shoxlet, bahan yang akan diekstraksi berada didalam sebuah kantung ekstrasi yang biasanya terbuat dari kertas saring, didalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinyu (Voight, 1995).

Kemudian dilakukan elusi dengan pelarut yang cocok sedemikian rupa sehingga terjadi dua kali proses sirkulasi pelarut dalam waktu 30 menit. Adanya pemanasan menyebabkan pelarut akan menguap sesuai titik didihnya kemudian akan diembunkan untuk pendinginan udara menjadi tetesan-tetesan yang akan terkumpul kembali dan bila melewati batas lubang pipa di samping dari shoxlet maka akan terjadi sirkulasi. Sirkulasi yang berulang-ulang akan menghasilkan penyarian yang lebih baik /

sempurna. Pada cara ini diperlukan bahan pelarut yang lebih sedikit dan bahan secara terus menerus diperbaharui, artinya dimasukkan bahan pelarut bebas zat aktif, tetapi dalam metode ini dibutuhkan suatu ekstrasi yang cukup lama dan energi yang tinggi (Harbone, 1987).

3. Tuberkulosis

a. Uraian tentang penyakit tuberkulosis

Kuman *Micobacterium tuberculosis* merupakan penyebab utama penyakit tuberkulosis di seluruh dunia. Sekalipun ada beberapa jenis basilus yang dapat menyebabkan terjadinya tubekel. Di Afrika Barat ditemukan jenis *Micobacterium tuberculosis* yang sedikit berbeda yang disebut *Micobacterium africanum.* Tipe ini resisten terhadap pengobatan menggunakan tiasetason (Budiman, 1996).

Mycobacterium bovis dapat menyebabkan infeksi pada manusia melalui susu sapi yang tidak diolah dengan baik. Kasus tuberkulosis pada hewan ternak yang menginfeksi manusia ditemukan di Amerika dan Eropa. Tapi penyakit tersebut jarang terjadi di Asia terutama di India karena kebiasaan memasak susu sebelum dikonsumsi. Pemberantasan penyakit tuberculosis yang di sebabkan oleh *Micobacterium bovin* dilakukan dengan cara membunuh ternak yang terinfeksi dan pasteurisasi susu sapi sebelum dikonsumsi (Budiman, 1996).

Mycobacterium non tuberculosis merupakan spesies yang banyak ditemukan , tetapi pada umumnya tidak berbahaya dan jarang menimbulkan penyakit. Akan tetapi pada uji tuberkulin kadang-kadang menunjukkan hasil positif lemah. Kuman tipe ini banyak ditemukan di Australia, yang mana tuberculosis frekuensinya menurun. Penyakit akibat kuman ini juga ditemukan pada penderita HIV positif dan kuman ini resisten terhadap pengobatan menggunakan obat-obatan yang biasa digunakan sehingga penyakit ini sukar sembuh, penderita dengan hasil pemeriksaan sputum secara langsung positif lebih infeksius di bandingkan penderita dengan hasil positifnya pada kultur. Keluarga yang tinggal dekat dengan penderita memiliki kemungkinan lebih banyak tertular. Bayi dari ibu yang terinfeksi tuberkulosis beresiko tinggi untuk tertular sehingga penderita harus dilatih untuk menutup mulutnya dan menghadapkan wajahnya

kearah lain saat batuk. Tetapi apabila pengobatan tidak dilakukan secara lengkap penderita dapat kambuh dan menjadi infeksi kembali (Budiman, 1996).

Pemberian khemoterapi akan menurunkan dengan cepat virulensinya. Hal ini berlangsung biasanya dalam waktu kurang lebih dalam 2 minggu. Hal ini menjelaskan mengapa pengobatan yang baik pada penderita dengan hasil sputum yang positif merupakan tindakan pencegahan. Penularan lewat urin dan sekret secara teoritis memungkinkan tetapi dalam kenyataannya tidak banyak ditemukan kasus kejadiannya. Anak dengan tuberkulosis paru primer bukan merupakan sumber penularan oleh karena di dalam sputumnya tidak ditemukan adanya kuman (Budiman, 1996).

b. Uraian tentang bakteri tuberkulosis

Kingdom	: Thalophyta
Sub Phylum	: Fungi
Class	: Schlizomycetes
Ordo	: Actinomycetales
Famili	: Mycobacteriaceae
Genus	: Mycobacterium
Spesies	: *Mycobacterium tuberculosis* (Buchanan, *et al*, 1975)

Bakteri tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) di kenal dengan 3 macam type yaitu :

- *Mycobacterium tuberculosis tipe humane*
- *Mycobacterium tuberculosis tipe bovine*
- *Mycobacterium tuberculosis tipe avian*

Tipe-tipe ini dapat dibedakan dengan tes kultur dan dengan tes patogenitasnya terhadap hewan-hewan percobaan :

Micobacterium tuberculosis			
Perbedaan	Tipe Humane	Tipe Bovine	Tipe Avian
Pertumbuhan	Tumbuh subur dimedia pada suhu 37^0C	Dalam media tumbuh lambat dan kurang subur	Tumbuh paling baik di media pada suhu 40^0C atau lebih
Pigmen	Menghasilkan pigmen kuning muda sampai jingga	Tidak berpigmen	-
Penembahan gliserol	Pertumbuhan terpacu	Pertumbuhan tidak terpacu	Pertumbuhan terpacu
phatogenitas	Phatogen terhadap marmot tetapi tidak pada ayam	Phatogen terhadap marmot tetapi tidak pada ayam	-

Tuberkulosis yang terjadi pada manusia dapat menyerang bermacam-macam jaringan tubuh, terutama jaringan-jaringan tertentu seperti paru. Penyebabnya adalah :

- *Mycobacterium tuberculosis tipe humane*
- *Mycobacterium tuberculosis tipe avian*

Masuknya basil kedalam tubuh manusia sering kali melalui saluran pernafasan dan saluran pencernaan, jarang terjadi melalui selaput lendir mata, kulit dan saluran kencing.

Yang terbanyak adalah tuberkulosis pada saluran pernafasan (tbc paru-paru, comsution) yang mengakibatkan 90 % fatal, penyakit ini bersifat menahun dimulai dengan terjadinya tubikel-tubikel yang kemudian menimbulkan peradangan kronis yang disebut granuloma dengan mekanisme kuman masuk melalui saluran pernafasan dan akan berada pada sekret bronkus dan sputum kemudian akan menginfeksi perikardium dan akan ke paru-paru membentuk tubikel-tubikel, dengan produk hasil tubikel yang

berupa asam pthiritik yang mempengaruhi pembentukan produk-produk toksik hipersensitifitas (Anonim, 1989).

Mycobacterium tuberculosis berbentuk batang ramping, lurus atau sedikit bengkok dengan kedua ujung membulat seperti halter. Memiliki sifat khusus yaitu pada pengecatantahan terhadap pelunturan warna oleh asam ataupun alkohol sehingga disebut Basil Tahan Asam (BTA). Koloni mengering dengan permukaan seperti bunga kol dan berwarna kuning, tumbuh secara lambat walau dalam keadaan optimal, pH optimum pertumbuhan adalah 6,8 – 8 , dan untuk mempertahankan virulensinya maka ditanam pada media dengan pH 6,8 sedangkan untuk merangsang pertumbuhannya diperlukan CO_2 5 – 10 %. Koloni akan tampak tubuh setelah kultur berumur 14- 28 hari dan biasanya harus ditunggu sampai 8 minggu.

Mycobacterium tuberculosis memproduksi katalase tetapi akan berhenti setelah dipanaskan pada suhu 65^0 C selam 20 menit dalam larutan dapar phospat, uji biokimia untuk membedakan adalah menggunakan uji niasin, uji nitrat dan uji mikroskopis menggunakan pewarnaan BTA (Anonim, 1989).

c. Uraian tentang media untuk bakteri tuberkulosis

Dalam pemeriksaan laboratorium mikrobiologi media sangatlah penting baik untuk isolasi, identifikasi maupun differensiasi. Media digunakan untuk membawa material dari rumah sakit atau tempat lain ke laboratorium, agar kuman dalam material tersebut masih tetap hidup setelah sampai di laboratorium. Media dianggap sebagai kumpulan zat-zat organik maupun anorganik yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri dengan syarat-syarat tertentu (Anonim, 2000).

Ada 3 macam media yang digunakan dalam kultur bakteri tuberculosis yaitu media Louwerstain- Jensen, media Middle brook 7 H10 dan media Kudoh. Namun yang paling sering digunakan adalah media Louwerstain – Jensen. Media ini mengandung telur yang dapat merangsang pertumbuhan terutama bila mengandung CO_2, selain itu media ini juga mengandung unsur, aspargin, gliderol sebagai sumber nitrogen dan karbon untuk pertumbuhan (Sanjaya, 1992).

Untuk mendapatkan suatu lingkungan kehidupan yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri, maka pembuatan media harus memenuhi beberapa hal:

1). Komposisi media

Dalam suatu media yang digunakan pertumbuhan haruslah ada : Air, sumber karbon, sumber nitrogen, mineral, vitamin, dan gas.

2). Lingkungan media

(a). Tekanan osmosis

Mengingat sifat-sifat bakteri, juga sama seperti sifat-sifat sel yang lain terhadap tekanan osmosis, maka bakteri untuk pertumbuhannya membutuhkan media yang isotonis. Bila media tersebut hipotonis maka bakteri akan mengalami *plasmoptysis,* sedangkan bila media tersebut hipertonis maka akan terjadi *plasmolysis*.

(b). Derajat keasaman (pH)

Pada umumnya bakteri membutuhkan pH sekitar netral. Namun pada bakteri tertentu yang membutuhkan pH yang sangat alkalis, yakni vibrio yang butuh pH antara 8–10 untuk pertumbuhannya yang optimal.

(c). Temperatur

Umumnya untuk bakteri yang patogen membutuhkan temperatur sekitar 37 ^{0}C, sesuai temperatur tubuh. Namun ada bakteri patogen yang membutuhkan sekitar 42 ^{0}C yakni *Camphylobacter.*

(d). Kesterilan

Sterilisasi media merupakan syarat yang paling penting. Adalah tidak mungkin kita dapat melakukan pemeriksaan mikrobiologis apabila media yang digunakan tidak steril, karena tidak dapat dibedakan dengan pasti apakah bakteri tersebut berasal dari material yang diperiksa atau hanya merupakan kontaminan (Anonim, 2000).

d. Uraian cara sterilisasi

Terdapat berbagai macam cara sterilisasi yang dikenal dan pemilihan cara sterilisasi tergantung dari alat atau bahan yang disterilkan. Secara garis besar sterilisasi dapat dikerjakan dengan tujuan merusak atau membunuh mikroba dengan cara:

1). Pemanasan kering:

(a).Membakar, cara ini digunakan untuk sterilisasi alat-alat yang berupa: logam (ose, pinset), gelas (ujung pipet, bibir tabung, bibir atau mulut erlemeyer) pada penuangan media.

(b).Udara panas, digunakan untuk sterilisasi alat-alat laboratorium dari gelas, misalnya petri, tabung gelas, botol pipet, juga untuk bahan-bahan minyak dan serbuk, misalnya talk. Biasanya untuk alat-alat tersebut sterilisasi dilakukan pada panas 175 ^{0}C selama 1,5–2 jam.

2). Pemanasan basah

(a).Perebusan, digunakan untuk mensterilkan alat-alat berupa: gunting, pinset, skapel, jarum, spuit injeksi dan lain-lain dengan cara direbus dalam suasana mendidih selama 30–60 menit.

(b).Uap air panas, digunakan terutama untuk mensterilkan media-media yang akan mengalami kerusakan bila dikerjakan sterilisasi uap air panas bertekanan (autoklaf) ataupun alat-alat tertentu. Cara ini dilakukan dengan pemanasan 100 ^{0} C selama 1 jam.

(c).Uap air panas bertekanan, cara ini dilakukan untuk sterilisasi media yang tahan terhadap pemanasan tinggi, sterilisasi ini dijalankan dengan menggunakan panas 120^0 C selama 10–30 menit tergantung pada kebutuhan.

(d) Pasteurisasi, digunakan untuk mensterilkan susu dan minuman beralkohol. panas yang digunakan 61,7^0 C selama 30 menit (Anonim, 2000).

3) Sterilisasi kimia

Sterilisasi secara kimia merupakan cara sterilisasi alat atau bahan yang tidak tahan terhadap panas. Pembebasan kuman menggunakan zat kimia atau gas yang memiliki efektivitas sebagai mikrobisit seperti etilen oksida(gas), formal dehid (campuran gas udara).

4) Sterilisasi penyaringan pembebasan kuman

Penyaringan pembebasan kuman atau penyaringan dilakukan terhadap alat atau bahan yang bersifat termolabil. Pembebasan kuman berlangsung melalui efek

ayakan secara mekanik atau melalui absorbsi. Virus serta mikroorganisme tanpa dinding sel tidak dapat dijerat dalam proses ini. Penyaring yang sering digunakan adalah penyaring membran, gelas fusi dan selulosa asbes serta selulosa silikat.

5) sterilisasi dengan sinar terionisasi

Yaitu sterilisasi dengan cara penyinaran menggunakan sinar yang telah dikenal dapat merusak dinding sel kuman atau bakteri seperti sinar α dan sinar β serta sinar sinar elektromagnetik seperti sinar γ dan sinar X. kedua jenis sinar tersebut memiliki daya penetrasi berlainan tetapi memiliki sifat mikrobisit yang hampir sama.

Cara yang digunakan dalam pegujian ini adalah sterilisasi dengan uap bertekanan menggunakan alat autoclave untuk alat-alat dan bahan selain media. Cara ini dilakukan karena bahan yang akan di sterilisasi relatif tahan terhadap panas selain itu cara ini mudah dan murah. Untuk sterilisasi media digunakan cara sterilisasi tersendiri yaitu menggunakan perebusan secara bertingkat sesuai cara sterilisasi untuk media dan dengan panas bertekanan.

e. Uji anti bakteri dan kepekaan kuman

Pada dasarnya daya antibakteri dibagi kedalam dua golongan yaitu bakteriostatik dan bakteriosidal. Antibakteri adalah obat yang digunakan pada pengobatan, perawatan kasus yang disebabkan oleh infeksi bakteri. Obat ini berfungsi melawan atau mencegah pertumbuhan kegiatan jasad renik. Suatu antibakteri disebut sebagai bakteriostatik apabila bersifat hanya menghambat pertumbuhan suatu inokulum bakteri saja dan disebut sebagai bakteriosidal apabila mampu membunuh bakteri tersebut. Suatu bakteri yang telah terpapar terhadap antibakteri yang bersifat bakteriostatik akan pulih kembali setelah kontak itu berakhir,sebaliknya pemaparan terhadap suatu antibakteri yang bersifat bakteriosidal akan menyababkan bakteri tak mapu lagi melanjutkan kehidupannya akibat beberapa proses letal yang *irreversible* seperti inaktivasi enzim, kerusakan membran, atau oksidasi komponen vital bakteri. Suatu agen antibakteri dapat bersifat bakteriostatik maupun bakteriosidal tergantung dari berapa konsentrasi yang digunakan (Russel, 1997).

Suatu obat antibakteri yang bersifat bakteriostatik dalam dosis yang tinggi dapat bersifat bakteriosidal,dan sebaliknya. Obat antibakteri yang bersifat bakteriostatik adalah obat yang memiliki kemampuan menghambat multiplikasi kuman. Multiplikasi akan berlangsung lagi apabila unsur penghambat tersebut tidak ada. Sedangkan antibakteri yang bersifat bakteriosidal memiliki sifat mematikan kuman. Aksi dari kedua jenis obat ini berbeda, sifat bakteriosid tidak dapat dipulihkan lagi, yaitu kuman yang telah dimatikan tidak dapat lagi bermultiplikasi, meski sudah tidak berhubungan lagi dengan unsur tersebut (Jewetz, 1991).

Berkaitan dengan hal ini ada dua istilah yang sering dipakai dalam uji kepekaan kuman yaitu *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) atau Kadar Hambat Minimal dan *Minimum bacteriosidal Concentration* (MBC) atau Kadar Bunuh Minimum. MIC menyatakan konsentrasi terendah suatu antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan suatu inokulum bakteri, dan MBC adalah menyatakan konsentrasi terendah suatu antibakteri yang dapat membunuh suatu inokulum bakteri. Ada beberapa cara untuk mengetahui MIC dan MBC suatu antibakteri diantaranya adalah metode *Macro Broth Dilution dan Viable Counting Technigue* (Russel, 1997)

Metode Macro Broth dilution

Pada prisipnya Metode Macro Broth Dillution adalah berupa pengenceran berseri suatu antibiotik dalam tabung-tabung yang disertakan kedalamnya kuman-kuman dengan konsentrasi standart (10^6 cfu / ml). Tabung-tabung dieramkan pada suhu 37^0C selam 18-24 jam, kemudian dibaca hasilnya. Pembacaan hasil dilakukan dengan mata telanjang. Tabung-tabung yang keruh menyatakan bakteri yang tidak tumbuh, atau dengan kata lain bakteri dihambat oleh antibiotik pada konsentrasi tersebut. Konsentrasi terendah yang menyebabkan dihambatnya pertumbuhan bakteri menyatakan MIC antibiotika yang bersangkutan.

Viable Counting technique

Cara ini dilakukan dengan mengkontakkan bakteri dalam jangka waktu tertentu kemudian dilakukan penanaman untuk selanjutnya dihitung jumlah (koloni) bakteri yang hidup. Untuk memperoleh MBC, pada masing-masing tabung yang tidak

memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri (jernih) dari pengujian MIC dilakukan subkultur kedalam agar (Russel, 1997).

Untuk mempermudah perhitungan koloni, campuran kuman-substrat anti bakteri (dari tabung MIC) diencerkan kembali hingga tiap mililiter bahan mengandung 30 sampai 300 bakteri (Russel, 1997). Tidak ada ketentuan baku tentang seberapa banyak jumlah bakteri yang harus terbunuh sehingga suatu konsentrasi zat antibakteri dikatakan memiliki nilai MBC. Ada yang menyebukan bakteri tersebut harus terbunuh 99,9 %, sumber lain menyatakan untuk uji obat tradisional lebih dari 10 % bakteri dapat terbunuh sudah dianggap memiliki aktivitas daya antibakteri. Dalam penelitian ini MBC ditetapkan jika 75 % atau lebih bakteri terbunuh.

Dikenal beberapa metode untuk menetapkan potensi antibakteri, diantaranya metode dilusi, difusi, turbidimetri, penghambatan pH, enzimatik, *radioimmuno assay* dan metode kimiawi. Dibidang mikrobiologi ada dua cara yang sering digunakan yaitu metode difusi dan metode dilusi baik cair maupun padat.

Prinsip cara difusi dengan cakram adalah meletakkan cakram antibiotik pada media solid (padat) yang sudah diinokulasi dengan kultur murni bakteri.hasilnya dinilai berdasarkan ukuran zona hambat disekeliling Piringan antibiotik dan dinyatakan dengan hasil sensitif, intermediate, dan resisten. Cara ini sederhana, murah dan sudah distandarisasi untuk kebanyakan bakteri, namun hanya memberi hasil kualitatif dan tidak dapat diterapkan pada bakteri yang tumbuh lambat (Larson & Ramsey, 1992).
Pada metode difusi ada beberapa cara yaitu :

1. Cara Kirby Bauwer

   Kapas lidi steril dicelupkan dalam suspensi bakteri dengan konsentrasi 10^8CFU / ml kemudian ditekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak terlalu basah. Kemudian kapas lidi dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Pada permukaan media diletakkan kertas cakram atau disk yang mengandung larutan antibakteri dan dinikubasikan selam 18-24 jam pada suhu 37^0C.

2. Cara sumuran

   Pada agar yang telah diolesi dengan bakteri dibuat sumuran dengan garis terngah tertentu dan kedalam sumuran diberi larutan antibakteri kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37^0C.

3. Cara Pour plate

   Suspensi bakteri dengan konsentrasi 10^8 CFU / mi diambil satu massa ose dan dimasukkan dalam 4 ml agar base 5% yang mempunyai temperatur 50^0C. setelah suspensi bakteri dibuat homogen dituang pada media dan dibiarkan membeku. Kemudian diatasnya diletakkan disk dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37^0C.

Pembacaan hasil dapat dilakukan dengan cara mengukur :

(a). Zona radikal yaitu suatu daerah disekitar disk dimana sama sekali tidak ada pertumbuhan bakteri.

(b). Zona iradikal yaitu suatu daerah disekitar disk yang pertumbuhannya bakteri dihambat tetapi tidak dimatikan.

Cara dilusi ada dua macam yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Pada prinsipnya dilusi cair maupun padat adalah sama, yaitu bahan yang akan diujikan diencerkan secara serial sehingga diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair masing-masing konsentrasi ditambah suspensi bakteri pada media cair, sedangkan pada dilusi padat setiap konsentrasi bahan dicampur dengan media agar padat, dan ditanami bakteri. Konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai kadar hambat minimum / *minimal inhibitory concentration* (MIC) (Jorgensen, 1995).

Kadar bunuh minimal / *minimal bacteriosid concentration* (MBC) ditemukan dengan cara mengsubkultur tabung dilusi yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri pada media agar darah. Bakteri akan dikatakan sensitif jika kadar hambat minimum obat tidak lebih dari seperempat konsentrasi serum yang dicapai Uji kepekaan bakteri metode dilusi memberikan hasil kategorial (sensitif, intermediate, resisten) dan hasil kuantitatif berupa kadar hambat minimum obat serta kadar bunuh minimum (Larson & Ramsey, 1992).

B. KETERANGAN EMPIRIS

Penelitian ini bersifat eksploratif, yaitu untuk memperoleh bukti bahwa tanaman bunga pagoda *Clerodendrum japonicum.* Dapat digunakan sebagai obat untuk penyakit tuberkulosis seperti yang telah digunakan oleh masyarakat secara turun menurun.

BAB III
METODE PENELITIAN

A. Bahan dan alat.

1. Bahan yang digunakan

a. Bahan yang digunakan adalah daun dari tanaman bunga pagoda (*Clerodendrum japonicum*) yang di ambil dari daerah Salam, Magelang dan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang di isolasi dari pasien TB paru BLK Yogyakarta.

b. Larutan penyari yang digunakan yaitu Petroloum Eter (PE) 96% (teknis) dan etanol 70 % (teknis).

c. Bahan uji mikrobiologi. Bahan yang digunakan berupa aquadest steril, NaCl 0,9 %, INH, Ethambutol, dan DMSO 100 % (E. merck).

d. Media yang digunakan yaitu Media Louwerstain – Jensen yang mengandung larutan souton dan telur.

g Larutan suplemen Albumin/ OADC (Oleat Albumin desktrosa agar) yang berisi Bovine Albumin dan larutan oleat.

h. Larutan cat BTA dengan pengecatan metode Zielh Neelsen (ZN)

2. Alat yang digunakan

a) Alat pembuat serbuk. Alat yang digunakan adalah blender (Nasional) dan pengayak nomor 20.

b) Alat untuk penyarian. Alat yang digunakan antara lain seperangkat alat maserasi. Alat yang digunakan adalah: toples atau wadah untuk maserasi, penangas air, evaporator, cawan porselen, corong, kertas saring, pengaduk.

c) Alat uji mikrobiologi. Alat yang digunakan adalah petri disk, ose, lampu spiritus, tabung reaksi (pyrex), mikropipet (finn), autoklaf, inkubator (memmert), plat kromatogram, blue tip, dan yellow tip.

B. Cara penelitian

1. Determinasi tumbuhan.

Determinasi tanaman bunga pagoda (*Clerodendrum japonicum*) yang dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia dengan menggunakan buku Flora of Java.

2. Penyiapan serbuk tumbuhan.

Daun yang akan diserbuk dipisahkan dari bagian lain dari tumbuhan dan dibersihkan dari debu dan kotoran yang menempel dengan air bersih yang mengalir. Kemudian ditiriskan dan diangin-anginkan dan dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutupi dengan kain berwarna hitam untuk menjaga agar sinar matahari tidak merusak enzim atau komponen tumbuhan lain yang dapat rusak oleh cahaya matahari. Daun yang kering tadi lalu disimpan pada lemari pengering pada suhu 40^0 C selama dua hari. Bahan yang kering kemudian dihaluskan dengan cara diblender, ayak dengan pengayak nomor 20, serbuk halus yang diperoleh masukkan dalam wadah tertutup rapat dan simpan.

3. Penyarian serbuk.

Penyarian dilakukan dengan cara maserasi bertingkat menggunakan dua pelarut yaitu PE dan etanol 70 %. Serbuk dari daun tanaman bunga pagoda sebanyak 100 gram disari dengan menggunakan Petroleum Eter (PE) sebanyak 2 X 250 ml kemudian disaring dan endapan yang berupa serbuk daun tumbuhan bunga pagoda dikeringkan kemudian setelah kering di sari dengan menggunakan etanol 70 % sebanyak 2 X 250 ml dengan menggunakan metode maserasi.

Hasil penyarian yang berupa ekstrak dari PE dan etanol 70 % ini di keringkan pada penangas air hingga terbentuk massa yang kental dan masukkan dalam eksikator , didiamkan beberapa hari sampai didapat ekstrak kering.

Ekstrak kering dilarutkan dengan DMSO dan dibuat dalam konsentrasi 2,5 % b/v, 5 % b/v, 10 % b/v, 20 % b/v dan, lalu masukkan dalam flakon steril. Setelah dilakukan variasi kadar kemudian diujikan pada bakteri *M. tuberculosis* Dari uji mikrobiologi tersebut dapat kita lihat ekstrak yang mempunyai aktivitas antibakteri terbaik, lalu ekstrak tersebut dipartisi dengan menggunakan alat sentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm dan menggunakan larutan penyari N- Heksan dan

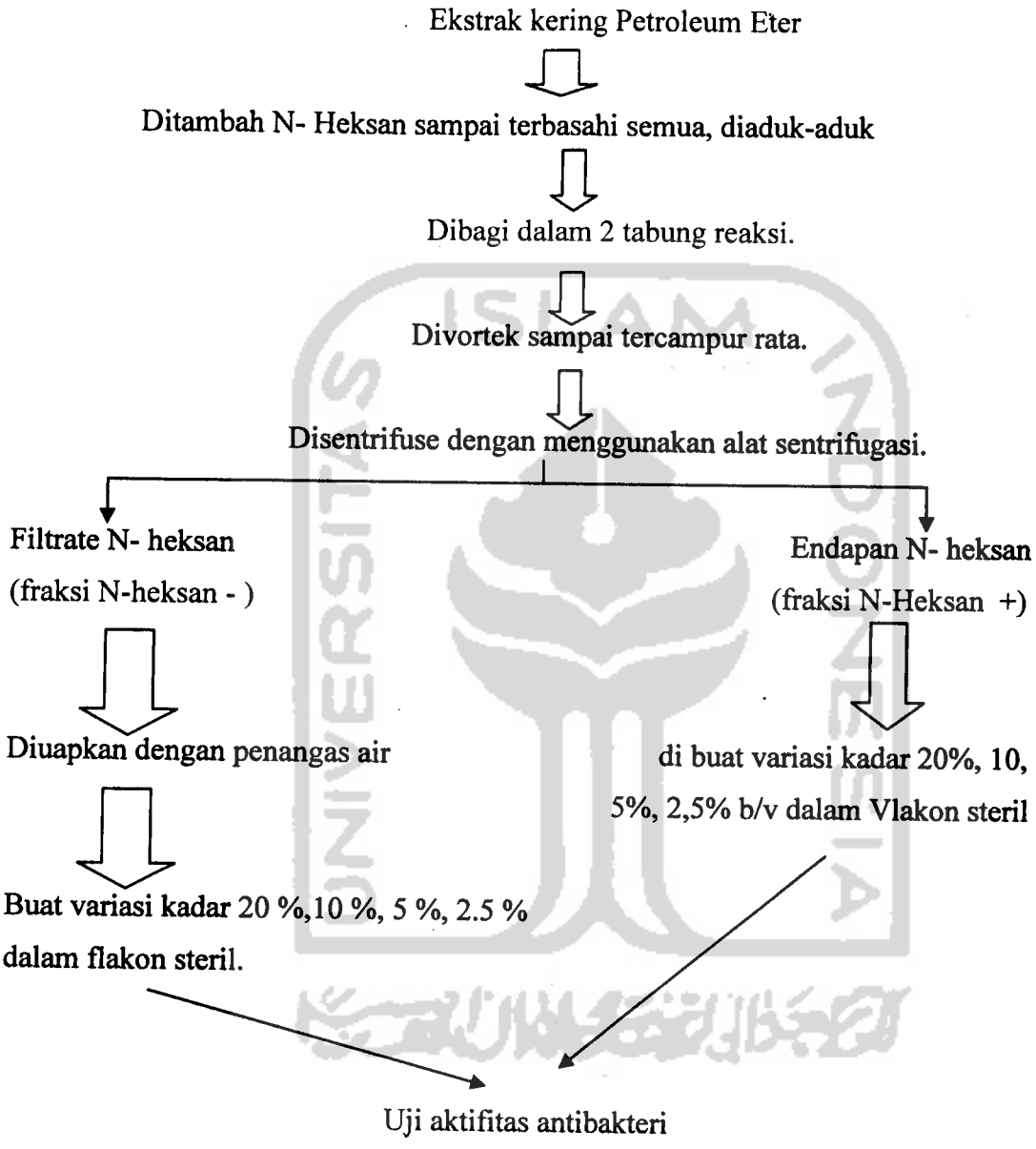
Etanol 70% atau methanol 70%. Proses partisi dengan cara sentrifugasi ini dilakukan secara berulang-ulang sampai didapat filtrat yang bening. Pada proses partisi ini akan diperoleh fraksi n-heksan yang larut n-heksan (filtratnya) dan fraksi n-heksan yang tidak larut n-heksan (endapannya), kemudian kedua fraksi dibuat dalam konsentrasi 2,5 %, 5 %, 10 %, 20 % b/v dengan menggunakan pelarut DMSO dan masukkan dalam flakon steril lalu diujikan mikrobiologi.Untuk lebih jelasnya dapat kita lihat skema ekstraksi di bawah ini:



Gambar 1: Skema Ekstraksi

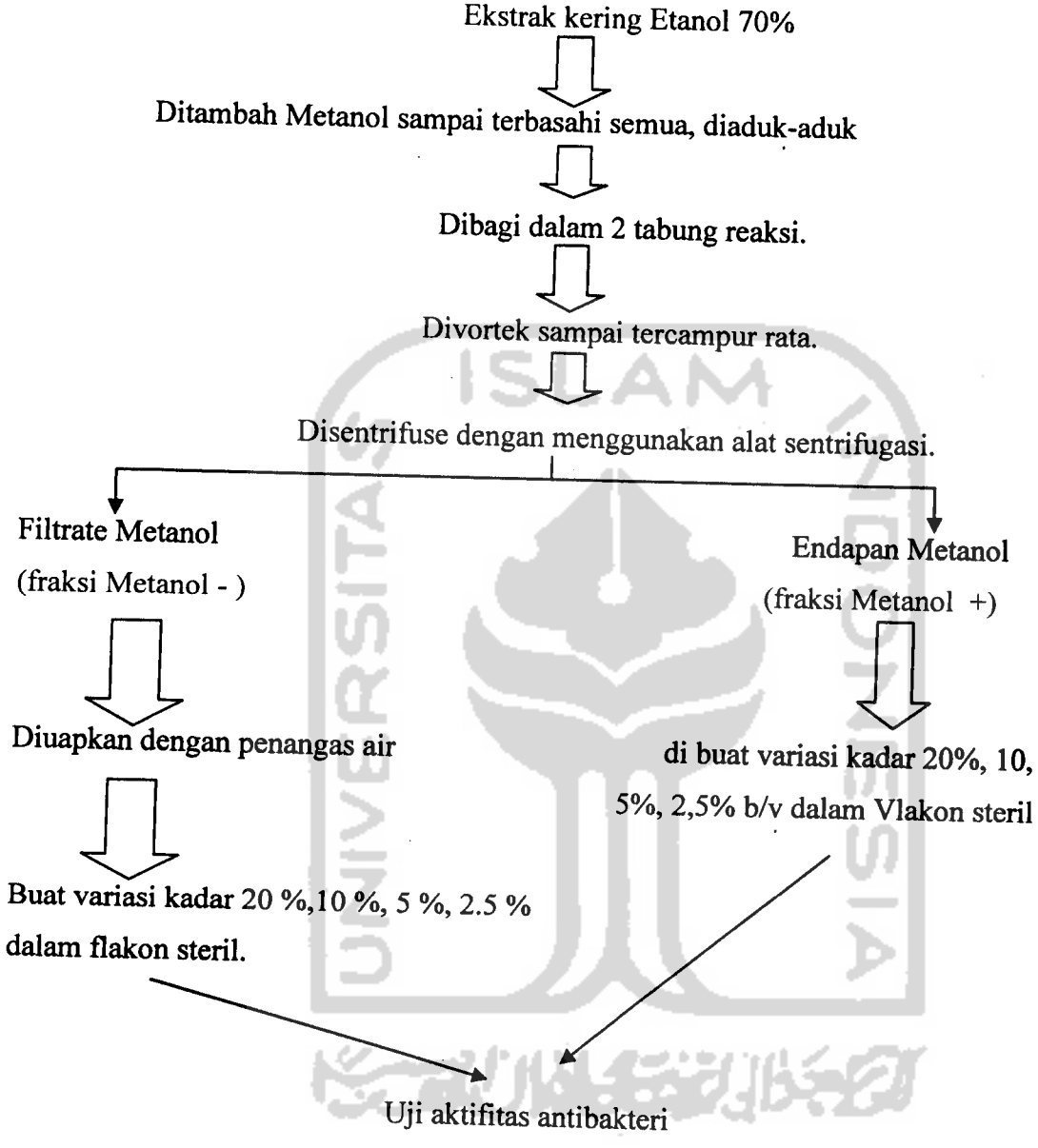
Untuk lebih jelasnya dapat kita lihat skema partisi dibawah ini:

Untuk ekstrak PE



Gambar 2: skema partisi ekstrak PE

Untuk ekstrak Etanol 70%



Gambar 3: Skema Partisi ekstrak etanol 70%

4. Pengujian ekstrak terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis.*

Pengujian sensitivitas antibakteri ekstrak daun bunga pagoda terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dilakukan menggunkan metode tidak langsung dengan cara-cara sebagai berikut :

a. Pembuatan media Louwerstain Jensen

Di buat larutan sauton dengan melarutkan garam-garam mineral pada Aquadest dengan dipanaskan pada suhu 56^0C. kemudian ditambah tepung kentang sebanyak 5 gram, dicampur dan tetapkan pH sekitar 7,2 dan dilakukan sterilisasi dengan autoclave 121^0C selama 15 menit, setelah seterilisasi dibiarkan temperatur turun sampai 50-56^0C.

Sementara itu telur ayam dicuci bersih dan disterilkan dengan Cara telur dibersihkan dengan air sabun, bilas dengan air sampai bersih. Kemudian rendam telur dalam cairan alkohol 70% selam 2 jam, cuci dengan aquadest steril dan rendam lagi sebelum dipakai dengan alkohol 96% selama ¼ jam.Kemudian dipecah dan telur dimasukkan kedalam labu Florence (vol 1L) yang berisi gelas mutiara, gojog hingga larut. Larutan telur yang diperlukan adalah 1000 ml.

Campur larutan telur dan larutan sauton secara aseptik, saring dengan kain kassa steril. Filtrat tempatkan pada tabung. Tutup dengan kertas minyak dan disterilisasikan secara bertingkat dengan cara :

Hari I : 45^0 C selama 30 menit
65^0 C selama 30 menit
80^0 C selama 60 menit
Hari II: 80^0 C selama 60 menit
Hari III: 80^0 C selama 60 menit

Setelah itu didinginkan dan letakkan pada bangku khusus supaya diperoleh media agar miring.

b. Pembuatan larutan Twen Albumin / suplemen OADC

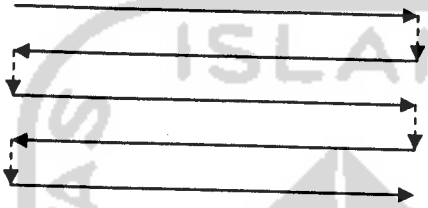
50 gram Bovine Albumin fraksi V dalam dilarutkan dalam 900 ml saline (0,85%), kemudian ditambah dengan 30 ml sodium oleat yang dibuat dari NaOH 20N 30 ml dan Asam Oleat 0,6 ml, atur pH dengan NaOH 4% sampai

didapat pH 7 kemudian dipanasakan dalam water bath 56^0C selama 1 jam, ditambah dengan larutan dekstrosa 50% dan katalase 0,02ml. setelah itu di sterilisasi dengan membrane filter dengan membrane steril (0,45 mikron).

c. Pengujian anti bakteri dari ekstrak PE dan Etanol 70% beserta fraksinasinya dari daun bunga pagoda.

Sterilisasi alat-alat yang digunakan seperti erlemeyer, tabung reaksi, ose dan alat-alat gelas lainnya yang diperlukan dalam pengujian antibakteri dalam autoclave 121^0C selam 15 menit.Dibuat stok bakteri dengan cara ambil satu ose bakteri kemudian digoreskan pada media agar tabung LJ dan inkubasikan seperti pada pemeriksaan pada pengujian. Pengujian antibakteri dengan cara. Diambil bakteri dari stok yang ditanam pada media bebas obat. Kemudian dipindahkan pada tabung *screw cap* yang mengandung 6-9 butir plastik atau gelas yang steril dalam medium suplemen tween albumin (Oleat Albumin Desktrosa Agar). Homogenisasi dengan mikser dan biarkan partikel mengendap dan buang supernatant, kemudian ditambah dengan aquadest steril atau air garam fisiologis 0,85% steril sampai kekeruhan mencapai standar Brown III. Dilusikan dengan pengenceran 10^{-2} dan 10^{-4} kemudian di inokulasi 0,05 ml setiap kuadran pada media yang telah mengandung seri kadar obat , media dan kontrol dalam media agar miring dalam tabung *screw cap*. Inkubasikan pada 5-10% CO_2, pada temperatur 35-37^0C. Tabung *screw cap* di longgarkan tutupnya dan dikencangkan setelah minggu pertama inkubasi. dibaca kultur setiap satu minggu sekali, kebanyakan koloni dari *Mycobacterium tuberculosis* baru teramati setelah minggu ke2 dan ke 3. Dibuat laporan pada akhir minggu ke 6 walaupun beberapa obat menunjukkan aktivitasnya dalam kurang dari minggu ke 4. dan hasil kultur jangan disimpulkan negatif sampai akhir minggu ke 4 dan ke 6 karena beberapa strain yang resisten membutuhkan 5-6 minggu dalam bentuk koloni mikroskopis (pada kontrol). Laporkan pertumbuhan bakteri pada medium obat dan kontrol dengan pembuatan slide preparat dan pengecatan BTA metode *Zielh Nelseen* dengan cara slide preparat digenangi dengan karbol fuchsin dari cat BTA kemudian panasi bagian bawah preparat dengan api spritus, cuci pada air

mengalir kemudian dekolorisasi dengan alkohol asam sampai warna seluntur mungkin selama ± 2 menit, cuci dan tiriskan pada air mengalir. Kemudian genangi dengan cat penutup dan keringkan pada udara atau pemanasan perlahan. Periksa dibawah mikroskop perbesaran lensa okuler 10 X dan obyektif 100 X dicari Basil Tahan Asam (BTA) yang berbentuk batang berwarna merah paling sedikit 100 lapang pandang atau dalam waktu kurang dari 10 menit, dengan cara menggeserkan sediaan menurut arah sebagai berikut :



Dilaporkan hasil pembacaan slide preparat pengecatan BTA menggunakan skala (IUATLD) *The International Union Against Tuberculosis and Lung Disease* sebagai berikut :

Tidak ditemukan bakteri BTA pada 100 lapang pandang = Negatif
Ditemukan 1-9 BTA/100 lapang pandang = + + (+1)
Ditemukan 10-90 BTA/100 lapang pandan = + + (+2)
Ditemukan 20-40 BTA/10 lapang pandang = + + + (+3)
Ditemukan lebih dari 40 BTA/10 lapang pandang = + + + + (+4)

5. Penyiapan medium obat sebagai kontrol positif

Semua medium sebaiknya disimpan dalam kontainer steril berwarna gelap, medium yang mengandung obat seperti tersebut dapat disimpan pada temperatur kamar untuk 2 minggu tanpa kehilangan potensi obat. Dalam almari pendingin obat-obat ini stabil dalam medium LJ selama 2 bulan, tetapi karena medium mengalami dehidrasi maka disiapkan untuk satu bulan saja. Harus diperhitungkan juga bahwa almari pendingin sedapat mungkin bisa bebas kontaminasi.

6. Penyiapan larutan isoniazid (larutan INH)

   INH 500 mg dilarutkan dalam 10 ml aquades steril sehingga diperoleh larutan Isoniazid 50.000 mcg / ml, disterilkan dan filtrasi dengan filter Millipore,1 ml larutan INH di tambah dengan 9 ml aquadest steril sehingga diperoleh larutan 5000 µg per ml, di ambil lagi 1 ml dan ditambah dengan 9 ml aquadest sampai diperoleh kadar 500 µg /ml, ambil lagi 1 ml dan diencerkan sampai 10 ml dengan aquadest steril sampai diperoleh konsentrasi 50 µg/ml, 0,1 ml larutan konsentrasi 50 µg/ml tersebut di campur kedalam medium dasar 20 ml sehingga dapat diperoleh konsentrasi obat dalam medium 0,25 µg per ml medium.

C. Analisa Hasil

1. Determinasi pohon Tanaman bunga pagoda dilakukan dengan buku acuan "Flora of Java" (Bachuizen van den brink,1965).
2. Data ditampilkan dalam bentuk tabel hubungan konsentrasi ekstrak daun bunga pagoda dengan presentase resisten terhadap *M. tuberculosis* dan hubungan konsentrasi ekstrak dengan hasil pembacaan slide preparat pengecatan BTA dengan skala IUATLD (The International Union Against Tuberculosis and Lung Disease)
3. Hasil dari sensitifitas anti bakteri dari ekstrak PE dan Etanol 70 % beserta fraksinasinya dari daun tumbuhan bunga pagoda dibaca secara mikroskopis dengan dibuat slide preparat pengecatan BTA dan hitung jumlah bakteri Basil Tahan Asam untuk *slide* tiap-tiap sample ekstrak dari masing-masing kadar dan lakukan pembacaan hasil dengan menggunakan skala IUATLD.

4. Hitung jumlah bakteri yang resisten terhadap antibakteri atau dari masing-masing ekstrak dalam berbagai konsentrasi dari tumbuhan bunga pagoda dengan rumus :

$$\frac{\text{Jumlah bakteri pada medium obat}}{\text{Jumlah bakteri pada medium kontrol}} \text{ X 100 = \% resisten}$$

5. Analisis hasil yang digunakan pada uji aktifitas antibakteri adalah dengan one way anava dengan taraf kepercayaan 95 % dan dilanjutkan uji tukey dan NPar Test untuk mengetahui perbedaan dari keseluruhan hasil uji antibakteri.

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA PERPUSTAKAAN

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman Bunga Pagoda

Determinasi terhadap tanaman bunga pagoda yang akan diteliti berfungsi untuk memastikan bahwa daun dari tanaman bunga pagoda yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari tanaman bunga pagoda (*Clerodendrum japonicum),* sehingga dapat dicegah kesalahan akibat kekeliruan dalam mengenali tanaman tersebut. Adapun urutan determinasinya adalah sebagai berikut :

1b – 2b – 4b – 6b – 7b – 9 b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14b – 16a – 84a – 85b – 86b – 239 (golongan 10) – golongan daun tunggal , terletak berhadap-hadapan. 239b – 243b – 244a – 245b – 246b – 247b (verbenaceae) 1a – 2b – 3a – (clerodendrum) 1b *Clerodendrum japonicum.*

B. Penyiapan Bahan

Daun bunga pagoda di ambil dari dusun Jumoyo, Salam, Magelang Tengah pada bulan September 2004. Daun dari tanaman bunga pagoda di ambil dari tanaman dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran pada permukaan daun. Air yang masih tersisa pada permukaan daun dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam untuk menghindari kontak langsung dengan sinar matahari. Daun bunga pagoda kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40^0 C selama dua hari. Kelebihan dari pengeringan menggunakan oven adalah terhindar dari dari kerusakan pada bagian luar daun dan mencegah rusaknya zat aktif dan mencegah penguapan yang terjadi pada zat aktif yang mudah menguap. Penguapan dihentikan jika kadar air kira-kira tinggal 10 %, hal ini ditandai dengan daun yang renyah dan mudah dihancurkan.

Pengeringan bertujuan untuk menghentikan proses enzimatik dan menghindari tumbuhnya mikroorganisme. Daun tanaman bunga pagoda yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender kering, kemudian diayak agar diperoleh serbuk daun yang mempunyai ukuran partikel yang kecil, untuk memudahkan kontak dengan penyari.

C. Penyarian simplisia

Penyarian simplisia dilakukan dengan metode maserasi . Keuntungan metode maserasi yaitu penyarian yang dilakukan dapat menghindari rusaknya senyawa yang tidak tahan panas yang terkandung dalam tanaman akibat perlakuan pemanasan. Penyarian simplisia diawali dengan ekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut petroleum eter, yang bertujuan untuk menghilangkan senyawa dengan polaritas yang rendah atau nonpolar (lipid dan terpenoid). Serbuk daun bunga pagoda ditimbang 100 gram, kemudian dimaserasi menggunakan pelarut petroloum eter. Serbuk yang akan diekstraksi dimasukkan dalam botol kaca / gelas kimia kemudian ditambah dengan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi sampai merendam serbuk, Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan zat aktif di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari.

Setelah maserasi menggunakan petroleum eter maka diperoleh ekstrak petroleum eter yang kemudian diuapkan menggunakan evaporator pada suhu 55 ^{0} C dengan kecepatan 90 rpm. Diperoleh ekstrak kental yang kemudian disimpan dan dikeringkan dengan eksikator.

Ampas dari penyarian dengan petroleum eter, diekstraksi lagi menggunakan pelarut etanol 70 %. Etanol 70 % merupakan pelarut umum dan bersifat semipolar yang dapat menarik sebagian besar senyawa semipolar yang terkandung dalam serbuk daun tanaman bunga pagoda. Selain itu, etanol juga dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif. Kapang dan jamur sulit tumbuh dalam etanol 20 % keatas. Ekstrak etanol juga dipekatkan dengan evaporator pada suhu 78^{0} C dengan kecepatan 90 rpm sampai semua pelarutnya menguap dan menjadi ekstrak kental dan kemudian dimasukkan juga kedalam eksikator untuk memperoleh ekstrak kering. Setelah didapat ekstrak petroleum

eter dan ekstrak etanol yang kering lalu diujikan ke uji mikrobiologi dengan menggunakan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. .

Hasil ekstraksi dipartisi secara sentrifugasi dengan menggunakan n-neksan dan Etanol . n-heksan merupakan pelarut umum dan bersifat polar yang dapat menarik sebagian besar senyawa polar yang terkandung dalam ekstrak etanol. Setelah disentrifugasi dengan menggunakan alat sentrifugal dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit maka akan didapatkan larutan filtratnya dan endapannya. Dari larutan filtratnya lalu diuapkan diatas penangas air hingga didapatkan ekstrak yang tidak tercium lagi bau n-heksan. Setelah itu ekstrak itu dan endapan yang didapat diujikan ke uji mikrobiologi dengan kadar 20 %, 10%, 5 %, 2,5 % b/v pada bakteri *Mycobacterium tuberculosis.*

Hasil ekstraksi berupa ekstrak kering yang diperoleh dari masing-masing penyari pada proses maserasi dan proses sentrifugasi terlihat pada tabel.

Tabel 1. Bobot ekstrak kering masing-masing penyari dari 100 gram serbuk daun bunga pagoda .

Nama Penyari	Bobot kering ekstrak(g)	Rendemen (%)
Petroleum Eter	15,5 gr	15,5 %
Etanol	8,7 gr	8,7 %

Tabel II. Bobot ekstrak kering masing-masing penyari dari 5 gr ekstrak n-heksan dan ekstrak Etanol 70% daun bunga pagoda

Nama Penyari	Bobot kering ekstrak(g)	Rendemen (%)
Filtrat n-heksan dari PE	1,2 gr	24%
Endapan n-heksan dari PE	2,3 gr	46%
Filtrat Me OH dari etanol	1,8 gr	36%
Endapan Me OH dari etanol	2,6gr	52%

Keterangan:

Rendemen yang diperoleh dari : $\frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100\ \%$

D. Hasil Uji Aktivitas Antimikrobia

Metode yang dipilih adalah metode yang dipakai adalah metode dilusi padat dan penghitungan angka kuman seperti pada pengujian koefisien phenol. Dimana bahan atau seri kadar dari ekstrak yang akan diuji dicampur dengan media Louwerstain-jensen dalam tabung *scraw cap* kemudian disterilisasi sesuai cara sterilisasi untuk media tersebut kemudian di tambah dengan bakteri TBC yang telah di standarisasikan menggunakan standard Brown III dan di inkubasi 35-27^{0}c

Seri kadar yang dibuat adalah kadar 20 %, 10 %, 5 % dan 2,5 % b/v. Seri kadar yang dibuat dengan melarutkan ekstrak kering daun bunga pagoda dalam DMSO (Dimetil Sulfoksida). Kemudian seri kadar dari setiap larutan ekstrak yang diuji yaitu kadar 20 %, 10 %, 5 % dan 2,5 % b/v, kontrol positif dan kontrol negatif masing-masing 0,05 ml tetes campur dengan 10 ml dalam tabung *scraw*, media kemudian di sterilisasi secara bertahap sesuai metode sterilisasi untuk media Louwerstain-Jensen dan diinokulasi dengan *M. tuberculosis* yang telah distandarisasi dengan standart Brown III dan di inkubasi pada 37^{0}C .

Uji aktivitas antibakteri ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas dari ekstrak yang telah didapat terhadap *M. tuberculosis.* untuk mengetahui kadar terkecil dari ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan ketiga mikrobia tersebut, serta membandingkannya dengan larutan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yang digunakan adalah INH 500 mg dan Ethambutol 500 mg sedangkan kontrol negatif adalah DMSO 100%.

Kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut ekstrak karena jika pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak memiliki aktivitas antimikrobia maka akan sulit ditentukan apakah yang menghambat pertumbuhan mikrobia tersebut adalah larutan uji atau pelarutnya. INH dan Ethanbutol digunakan sebagai pembanding karena merupakan salah satu golongan antibiotik yang digunakan dalam pengobatan penyakit TBC yang disebabkan bakteri *M. tuberculosis.* Kontrol positif dimaksudkan untuk memastikan bahwa bakteri *M. tuberculosis* dapat dihambat oleh antibakteri yang sudah diketahui aktifitasnya.

kemudian NaCl fisiologis yang telah melarutkan bakteri pada permukaan media tabung *screw* di teteskan pada kaca obyek dan dibuat sediaan preparat. Sediaan preparat difiksasi untuk merekatkan bakteri pada kaca obyak dan dilakukan pengecatan terhadap bakteri menggunakan pengecatan BTA metode *Zielh Neelsen*. Hasil pengecatan dilihat dibawah mikroskop dan jumlah bakteri tahan asam yang berwarna merah dihitung, jika jumlah bakteri belum bisa terhitung larutan NaCl fisiologis yang mengandung bakteri TBC dapat diencerkan dahulu dengan NaCl fisiologis baru dibuat sediaan slide preparat di lakukan pengecatan dan hasil dibaca pada skala IUATLD. Kemudian hasil uji mikrobiologi dihitung secara statistik menggunakan analisis anava satu arah dengan taraf kepercayaan 95 %. Dari data statistik yang diperoleh, tidak semua data terdistribusi normal. Untuk data yang terdistribusi normal dilanjutkan dengan uji anova dua arah dengan taraf kepercayaan 95 % dan signifikasi 50 %. Hasil uji statistik akan menunjukkan perbedaan bermakna atau signifikasi lebih kecil dari 0,05. Apabila dalam uji anova terdapat perbedaan bermakna maka dilanjutkan ke uji Tukey HSD. untuk data yang mempunyai signifikasi lebih besar dari 0,05.

Pada pengujian ekstrak petroloum eter dan fraksi larut dalam n-heksan (n-heksan-) dan Fraksi tidak larut dalam n-heksan (n-heksan +) pada konsentrasi 20% b/v, 10% b/v, 5% b/v, dan 2,5 % b/v di peroleh kadar akhir ekstrak per ml medium dasar yaitu :1 µg/ ml, 0,5 µg/ ml, 0,25 µg/ ml, 0,125 µg/ ml medium. Pada kontrol positif menggunakan INH 500 mg dan Ethambutol 500 mg didapatkan kadar akhir obat 0, 25 µg / ml medium dasar.

Tabel III. Data hasil uji aktivitas antimikrobia ekstrak etanol dan ekstrak petroleum eter daun bunga pagoda pada bakteri *M. tuberculosis* pada pembacaan skala IUATLD

Ekstrak	Konsentrasi (µg)			
	1	0,5	025	0,125
Petroleum Eter	4 +	4+	4 +	4 +
PE fraksi larut n-heksan	4 +	4+	4 +	4 +
PE fraksi tidak larut n-heksan	3 +	4+	4 +	4 +
Etanol 70%	2 +	2 +	3 +	4 +
Etanol 70% fraksi larut Me OH	1 +	2 +.	2 +	3 +
Etanol 70% fraksi tidak larut Me OH	2 +	2 +	3 +	3 +

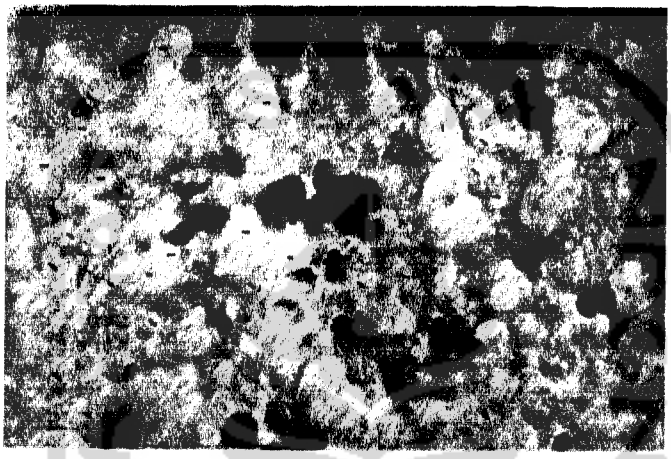
Skala IUATLD sebagai berikut :

- Tidak ditemukan bakteri BTA pada 100 lapang pandang = Negatif
- Ditemukan 1-9 BTA/100 lapang pandang = + + (+1)
- Ditemukan 10-90 BTA/100 lapang pandan = + + (+2)
- Ditemukan 20-40 BTA/10 lapang pandang = + + + (+3)
- Ditemukan lebih dari 40 BTA/10 lapang pandang = + + + + (+4)

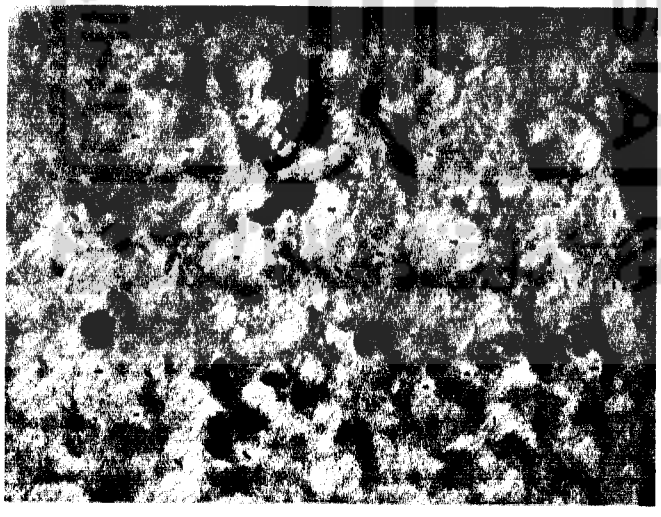
Dari hasil pengecatan BTA dihitung jumlah basil tahan asam, jika hasil pengecatan belum bisa terhitung maka NaCl fisiologis yang mengandung bakteri tuberkulosis di encerkan dengan NaCl fisiologis steril kemudian di buat sediaan preparat dan dilakukan pengecatan BTA, begitu seterusnya sampai diperoleh jumlah basil tahan asam yang mudah dihitung dan tidak lebih dari ± 50 Basil per lapang pandang untuk sediaan yang menunjukkan positif 4 (++++) pada skala IUATLD.

a. Hasil uji sensitivitas anti bakteri tuberkulosis dari ekstrak petroleum eter beserta fraksinasinya.

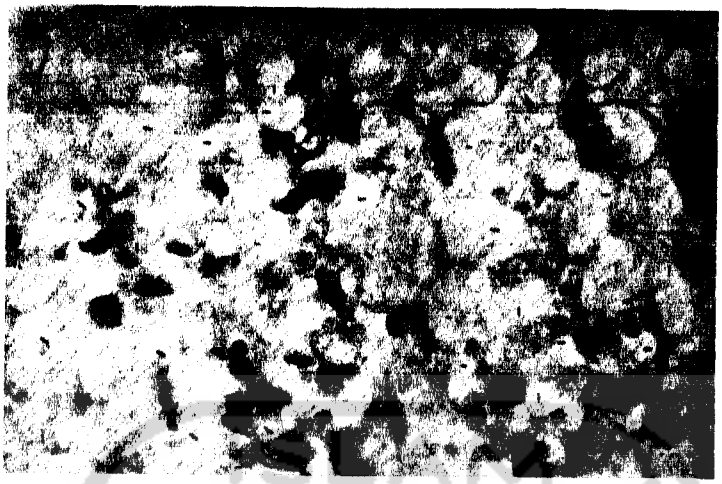
Dari hasil uji sensitivitas anti bakteri dengan melihat hasil pengecatan BTA diperoleh hasil. Untuk ekstrak PE fraksinasi larut dalam n-heksan di peroleh hasil jumlah bakteri tahan asam untuk kadar 1 µg, 0,5 µg, 0,25 µg, 0,125 µg adalah positif 4 (++++) menurut skala IUATLD



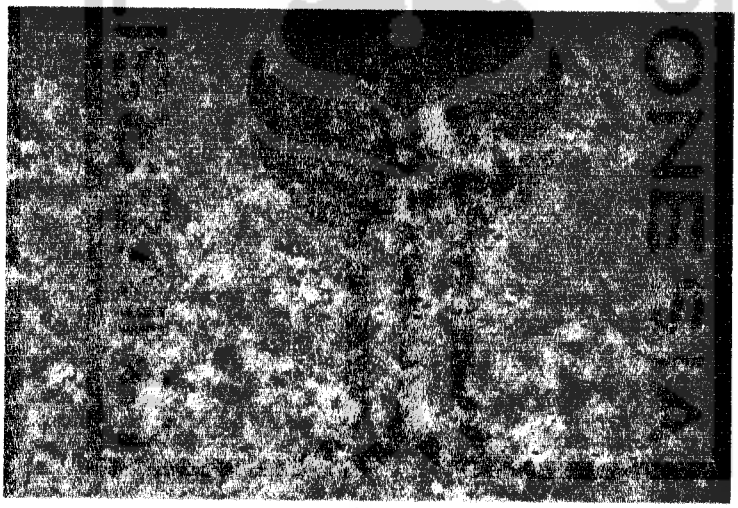
Gambar 1. foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 4 (++++) aktivitas antibakteri ekstrak PE terhadap bakteri *M. tuberculosis.*



Gambar 2. foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 4 (++++)aktivitas antibakteri ekstrak PE fraksi larut n-heksan terhadap bakteri *M. tuberculosis.*



Gambar 3. foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 3 (+++)aktivitas antibakteri ekstrak PE fraksi tidak larut n -heksan terhadap bakteri *M. tuberculosis.*



Gambar4. foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 4 (++++)aktivitas antibakteri ekstrak PE fraksi tidak larut n-heksan terhadap bakteri *M. tuberculosis.*

Pada penghitungan jumlah bakteri tuberkulosis yang dapat dibunuh setelah dilakukan pembuatan preparat dan pengecatan tahan asam diperoleh hasil untuk ekstrak petreoloum eter kadar 1 µg, 0,5 µg, 0,25 µg, 0,125 diperoleh hasil positif 4 (++++) pada skala IUATLD karena diperoleh hasil jumlah bakteri lebih dari 40 batang bakteri BTA perlapang pandang.

pada skala IUATLD karena diperoleh hasil jumlah bakteri lebih dari 40 batang bakteri BTA perlapang pandang.

Dari ekstrak Petroleum eter dan fraksi larut dalam n-heksan (n-heksan -) dan Fraksi tidak larut dalam n-heksan (n-heksan +) didapatkan hasil positif 4 (++++) pada pembacaan skala IUATLD karena dari penghitungan jumlah bakteri diperoleh lebih dari 50 batang bakteri per satu lapang pandang, kecuali pada ekstrak Petroleum Eter fraksi tidak larut pada n-heksan diperoleh hasil positif 3 (+++).

Pada pengujian ekstrak petroleum eter dan fraksinasi larut dalam n- heksan dan fraksi tidak larut dalam n- heksan setelah jumlah basil tahan asam dihitung dalam sepuluh lapang pandang dan dihitung menggunakan rumus persentase resistensi memberikan hasil persen resistensi, yaitu nilai/ persentase dari jumlah bakteri yang resisten terhadap ekstrak PE dan fraksinasinya. Setelah dihitung persen resistensi didapatkan hasil :

Tabel IV. Persen resistensi ekstrak petroleum eter, Fraksi larut dalam n-heksan dan fraksi tidak larut n-neksan

Ekstrak PE	X_1	X_2	X_3	Rata-rata ± SD
1µg	94,44	92,52	88,29	91,73 ± 3,17
0,5 µg	97,63	89,49	93,23	93,45 ± 4,07
0,25 µg	103,00	109,61	96,58	103,06 ± 6,52
0,125 µg	110,70	112,20	95,72	106,21 ± 9,11

Ekstrak PE larut n-heksan	X_1	X_2	X_3	Rata-rata ± SD
1µg	93,16	104,60	100,85	99,54 ± 5,85
0,5 µg	97,64	105,12	98,07	97,86 ± 0,30
0,25 µg	90,60	107,26	99,14	98,93 ± 11,78
0,125 µg	92,30	106,89	105,98	101,72 ± 8,17

Ekstrak PE tidak larut n- heksan	X_1	X_2	X_3	Rata-rata ± SD
1µg	70,08	77,78	75,56	74,49 ± 3,96
0,5 µg	89,10	106,41	103,63	99,71 ±,9,30
0,25 µg	90,81	101,06	98,29	96,72 ± 5,30
0,125 µg	111,32	104,05	106,91	107,43 ± 3,66

Keterangan : X_1, X_2, X_3 = Replikasi Uji sensitivitas anti bakteri tuberkulosis

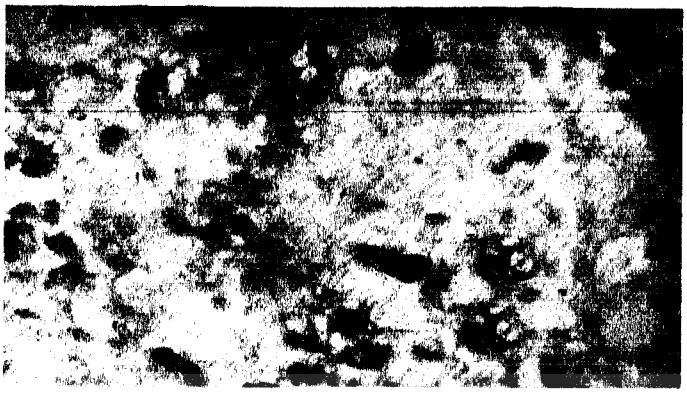
Hasil uji pada ekstrak petroleum eter, petroleum eter fraksi larut dalam n-heksan dan Fraksi petroleum eter fraksi tidak larut n-heksan memberikan hasil resistensi lebih dari 90,81% pada petroleum eter fraksi tidak larut n-heksan pada konsentrasi tertinggi yaitu 1µg, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak PE beserta fraksinya tidak memberikan aktifitas antibakteri karena persentase resistensi bakteri diatas 90% sehingga lebih dari 90% bakteri TBC resisten terhadap ekstrak PE dan fraksinasinya, hal ini dapat terjadi dikarenakan Petroleum Eter hanya digunakan untuk menghilangkan senyawa yang memiliki polaritas rendah sehingga tidak mempunyai aktivitas antibakteri. Hasil uji ekstrak petroleum eter fraksi larut n-heksan untuk kadar 1µg diperoleh hasil penghitungan jumlah bakteri pada skala IUATLD positif 3 (+++) sedang untuk kadar 0,5 µg, 0,25 µg, dan 0,125 µg diperoleh hasil positif 4 (++++) pada skala IUATLD.

Ekstrak PE fraksi tidak larut n-heksan memberikan hasil persentase resistensi 74, 49% pada kadar 1µg, hal ini menunjukkan untuk ekstrak PE fraksi tidak larut n-heksan memberikan hasil sensitif terhadap bakteri tuberkulosis pada kadar 1µg karena memberikan hasil persentase resistensi dibawah 90%, sehingga ekstrak PE fraksi tidak larut n-heksan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri tuberkulosis walaupun hanya sedikit karena persentase resistensinya di atas 50%. Ekstrak PE fraksi tidak larut n-heksan secara keseluruhannya memberikan hasil sensitif pada kadar 1µg dan 0,5 µg berupa sensitif interemediate karena nilai sensitifitas lebih dari 10%, sedang untuk kadar 5% dan 2,5 memeberikan hasil resisten karena persentase resistensi di atas 90%.

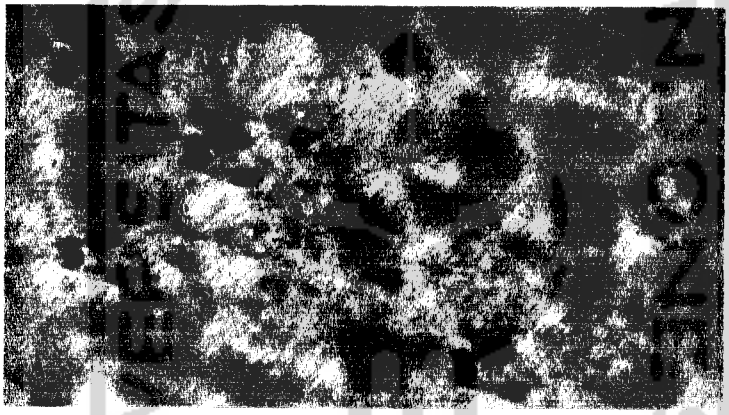
b. Hasil uji sensitivitas anti bakteri tuberkulosis dari ekstrak etanol 70% beserta fraksinasinya.

Pada pengujian ekstrak etanol 70% dan fraksi larut dalam metanol dan fraksi tidak larut metanol pada konsentrasi 20% b/v, 10% b/v, 5% b/v, dan 2,5 % b/v di peroleh kadar akhir ekstrak per ml medium dasar yaitu : 1 µg/ ml; 0,5 µg/ ml; 50 µg/ml; 0,25 µg/ ml dan 0,125 µg/ ml medium basal. Sedangkan untuk kontrol positif diperoleh kadar akhir 0, 25 µg / ml medium dasar.

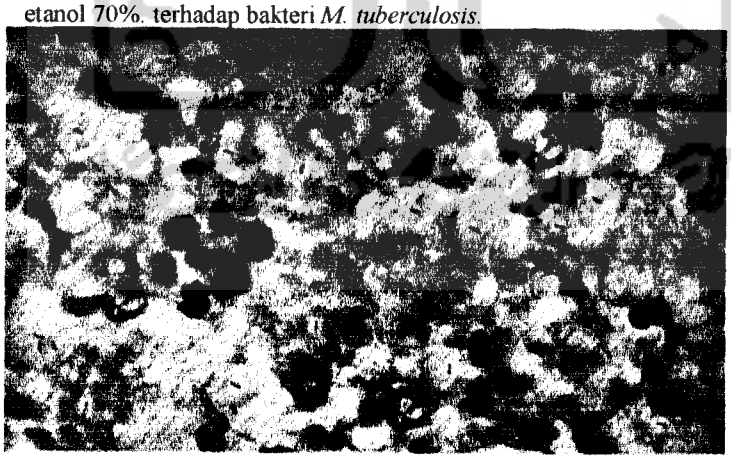
Dari hasil uji sensitivitas anti bakteri dengan melihat hasil pengecatan BTA diperoleh hasil : ekstrak etanol 70% pada kadar 0,5 µg memberikan hasil positif 2 (++) pada pembacaan jumlah bakteri BTA pada skala IUALTD, hasil untuk ekstrak etanol 70% pada kadar 0,25 µg didapatkan hasil jumlah bakteri BTA pada skala IUATLD adalah positif 3 (+++), untuk ekstrak etanol 70% dengan kadar 0,125 µg diperoleh hasil pembacaan skala IUATLD yaitu positif 4 (++++), untuk pengujian ekstrak etanol fraksi tidak larut metanol diperoleh hasil pada kadar 1 µg diperoleh hasil positif 1 (+), hasil pada pengujian ekstrak etanol 70% fraksi laut dalam metanol untuk konsentrasi 0,5 µg dan 0,25 µg memberikan hasil positif 2 (++), hasil pengujian ekstrak etanol 70% fraksi larut dalam metanol pada konsentrasi 0,125 µg pada pembacaan skala IUATLD memberikan hasil positif 3(+++), pengujian ekstrak etanol 70% fraksi tidak larut dalam metanol menberikan hasil untuk konsentrasi 1 µg dan konsentrasi 0,5 µg adalah positif 2 (++), sedang pada konsentrasi 0,25 µg dan konsentrasi 0,125 µg memberikan hasil positif 3 (+++) pada pembacaan dalam skala.



Gambar 5. foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 2 (++)aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70%. terhadap bakteri *M. tuberculosis*.



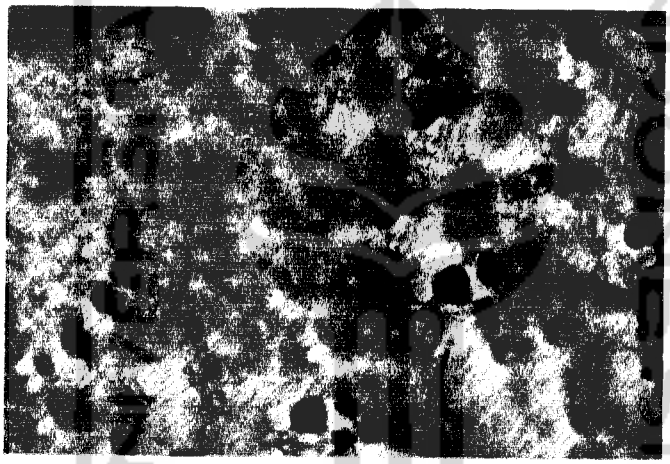
Gambar 6. foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 2 (++)aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70%. terhadap bakteri *M. tuberculosis*.



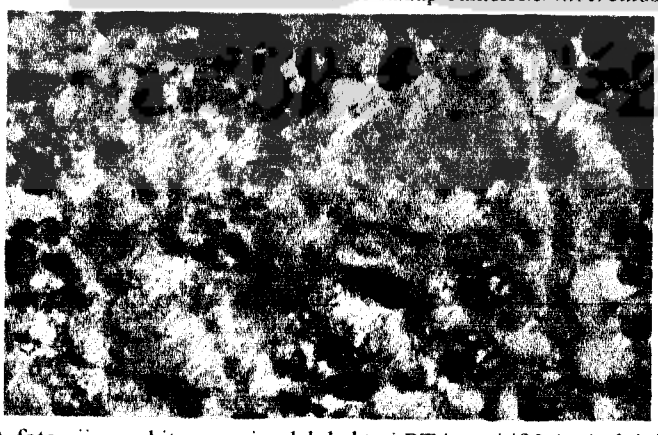
Gambar 7. foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 3 (+++)aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70%. terhadap bakteri *M. tuberculosis*.



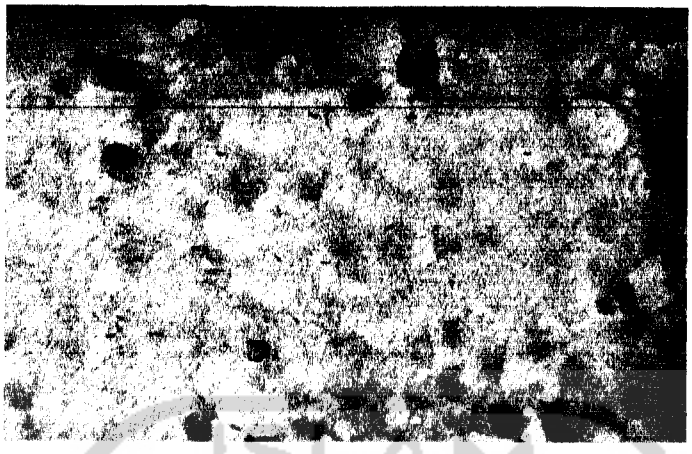
Gambar 8. foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 4 (++++) aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70%. terhadap bakteri *M. tuberculosis*.



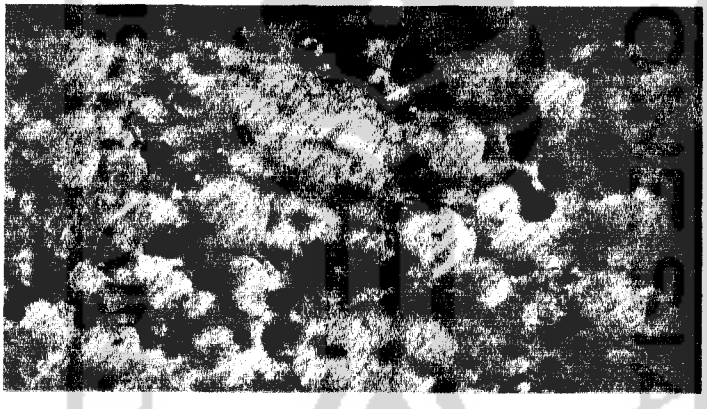
Gambar 9. foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 1 (+) aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% fraksi larut metanol terhadap bakteri *M. tuberculosis*.



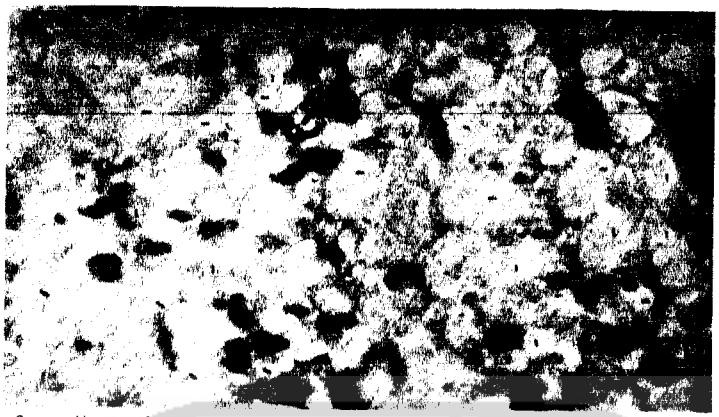
Gambar 10. foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 2 (++) aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% fraksi larut metanol terhadap bakteri *M. tuberculosis*



Gambar 11. foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 3 (+++) aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% fraksi larut metanol terhadap bakteri *M. tuberculosis*



Gambar 12. foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 2 (++) aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% fraksi tidak larut metanol terhadap bakteri *M. tuberculosis*



Gambar 13. foto uji penghitungan jumlah bakteri BTA positif 3 (+++) aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% fraksi tidak larut metanol terhadap bakteri *M. tuberculosi*

Pengujian ekstrak etanol 70%, fraksi larut dalam metanol dan fraksi tidak larut dalam metanol , dengan penghitungan persentase resistensi dapat diperoleh persentasi resisten terhadap *M. tuberculosis.*setelah jumlah basil tahan asam dihitung dalam sepuluh lapang pandang dan dihitung menggunakan rumus persentase resistensi memberikan hasil persentase resistensi sebagai berikut :

Tabel V. Persen resistensi ekstrak etanol 70%, fraksi larut dalam metanol dan fraksi tidak larut dalam metanol

Ekstrak etanol 70%	X_1	X_2	X_3	Rata-rata ± SD
1 µg	20,72	19,07	15,38	18,39 ±2,73
0,5 µg	21,79	19,44	13,67	18,30 ±4,18
0,25 µg	50,00	70,29	61,32	60,54 ±10,17
0,125 µg	101,71	91,23	96,58	96,51 ±5,24

Ekstrak etanol 70% fraksi tidak larut metanol	X_1	X_2	X_3	Rata-rata ± SD
1 µg	13,07	16,06	19,65	16,23 ± 3,32
0,5 µg	17,94	19,66	18,27	18,66 ± 0,90
0,25 µg	53,20	54,04	57,14	54,80 ± 2,07
0,125 µg	54,05	58,55	57,26	56,62 ± 2,32

Ekstrak etanol 70% fraksi larut metanol	X_1	X_2	X_3	Rata-rata ± SD
1 µg	2,99	2,56	2,35	2,63 ±0,33
0,5 µg	19,44	17,73	15,60	17,59 ±1,92
0,25 µg	37,18	41,88	39,10	39,39 ±2,36
0,125 µg	54,70	69,65	58,76	61,04 ±7,73

Tabel VI. Persentase resistensi kontrol positif INH dan Ethambutol.

Kontrol positif	X_1	X_2	X_3	Rerata ± SD
INH	1,92	1,49	1,92	1,77 ± 0,25
ethambutol	2,35	1,92	1,71	1,99 ± 0,33

Keterangan ; X_1,X_2,X_3 = Replikasi uji sensitivitas anti bakteri

Dari hasil penghitungan persentase resistensi dari ekstrak dari etanol 70% , ekstrak etanol 70% yang larut dalam fraksinasi metanol maupun fraksi etanol 70% yang tidak larut dalam metanol dapat diperoleh hasil untuk fraksi etanol untuk kadar 0,25 µg menghambat 50% pertumbuhan dari bakteri tuberkulosis, sedang kadar 0,5 µg dapat menghambat 21,79% dan kadar 1 µg menghambat 20,72%. Walaupun pada kadar diatas 5% memberikan gambaran penghambatan lebih dari 50% pertumbuhan bakteri tuberkulosis tetapi tidak memberikan hasil positif menghambat pertumbuhan bakteri tuberkulosis karena dalam perhitungan sebuah anti bakteri tuberkulosis dapat dianggap

positif menghambat pertumbuhan bakteri bila telah menghambat 90% atau lebih dari pertumbuhan bakteri tersebut, karena dalam penelitian ini di tetapkan bahwa MBC adalah 90% atau lebih. Jadi dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa untuk etanol 70% diperoleh hasil MBC intermediate yaitu membunuh sebagian dari jumlah koloni bakteri, hasil hambatan yang diperoleh mungkin karena dalam ektrak etanol masih bercampur fraksi yang larut dalam metanol dan yang tidak larut dalam metanol sehingga mengganggu aktivitas dari MBC ekstrak tersebut karena tidak diperoleh ekstrak yang mengandung anti tuberkulosis saja.

Untuk ekstrak etanol 70% fraksi larut dalam metanol diperoleh hasil ekstrak tersebut mampu membunuh bakteri tahan asam lebih dari 90 % atau persentase resistensi dari bakteri adalah 2,56% yaitu pada konsentrasi 1 µg, hal ini menunjukkan pada konsentrasi tersebut mampu membunuh atau menghambat dari pertumbuhan bakteri. Sedang untuk kadar 0,5 µg memberikan hasil persentase resistensi sebesar 17,33%, untuk kadar 0,25 µg diperoleh hasil 37,17 dan untuk kadar 0,125 µg diperoleh hasil hambatan atau persentasi resistensi dari ekstrak lebih dari 50% yaitu 58,76%. Untuk kadar 0,5 µg sampai 0,125 µg memberikan hasil sensitif intermediate dan Kadar 1 µg dianggap memberikan hasil baik karena dapat memberikan persentase resistensi 2,56% walaupun hasil ini jika dibandingkan dengan kontrol positif masih jauh karena walaupun kontrol positif memberikan hasil yang hampir sama yaitu untuk INH persentase resistensinya adalah 1,92 % dan untuk Ethambutol adalah 2,35 %. Tetapi karena konsentrasi dari kontrol positif lebih kecil yaitu 500 mg dan konsentrasi akhir kontrol positif dalam 1 ml medium akhir adalah 0,25 µg / ml medium dasar sedang pada ekstrak adalah 20 % atau 20 gr per 100 ml atau 1 µg /ml medium dasar sehingga hasil yang diperoleh terlalu jauh dari hsail kontrol positif. Untuk kadar 10 % dan 5 % memberikan hasil dibawah 50 % tetapi unyuk kadar 2,5 % memberikan hasil diatas 50 %. Hasil pada ekstrak ini memberikan hasil lebih baik dari semua ekstrak dan fraksinasinya mungkin dikarenakan senyawa yang mengandung anti tuberkulosis terdapat dalam etanol 70% fraksinasi larut dalam metanol, mungkin karena senyawa yang mengandung anti tuberkulosis memiliki sifat polar sehingga tidak larut dalam pengekstraksi non polar dan larut dalam pengekstraksi polar sehingga senyawa tersebut larut dalam etanol 70% bukan pada petroleum eter dan karena fraksinasi larut dalam

metanol memiliki rantai lebih panjang dan sifat lebih polar dibandingkan dengan fkraksi tidak larut dalam metanol maupun ekstrak etanol 70 % tersebut maka senyawa anti bakteri tuberkulosis lebih banyak terdapat pada etanol 70% fraksi larut dalam metanol hal ini terbukti dengan hasil persentase resistensinya.

Dari ekstrak etanol 70% fraksi tidak larut metanol diperoleh hasil yang hampir sama dengan fraksi etanol 70% yaitu diperoleh MBC inter mediate karena tidak diperoleh persentase resistensi di atas 90% , tetapi hasil yang diperoleh lebih baik dari ekstrak etanol 70% yaitu diperoleh hasil persentasi resistensi diatas 50 % untuk semua kadar dari ekstrak metanol 70% fraksi tidak larut metanol ini yaitu diperoleh persentasi resistensi untuk 1 µg didapat persentasi resistensi 13,03%, untuk 0,5 µg diperoleh 17,95%, untuk 0,25 µg diperoleh 53,20, dan untuk kadar 0,125 µg diperoleh persentasi resistensi sebesar 54,70%. Hal ini menunjukkan bahwa untuk ekstrak etanol 70% di peroleh hasil persentase resistensi dibawah 55% untuk semua kadar , hal ini mungkin disebabkan oleh kandungan senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut yaitu senyawa yang lebih polar dibandingkan dengan etanol 70% sehingga lebih mudah untuk masuk kedalam sel bakteri dan merusak struktur sel bakteri tersebut sehingga lebih banyak jumlah bakteri yang dapat dibunuh oleh ekstrak etanol fraksi tidak larut metanol tersebut, dibandingkan dengan ekstrak PE ataupun ekstrak PE baik yang larut maupun yang tidak larut dalam n- heksan yang merupakan senyawa senyawa polar, sehingga senyawa polar tersebut kurang bisa berinteraksi denga sel bakteri sehingga walaupun ada persentase resistensi tetapi sangat besar persentasenya atau bahkan seluruh koloni resisten terhadap ekstrak-ekstrak tersebut.

Konsentrasi untuk kontrol positif digunakan 500 mg karena dalam kehidupan sehari-hari untuk pengobatan TBC digunakan INH 500mg dan Ethambutol 500 mg sehingga sebagai kontrol positif untuk pembanding digunakan konsentrasi 500 mg. Konsentrasi ini setara dengan konsentrasi ekstrak pada kadar 5 % atau 0,25 µg/ ml medium basal

Setelah dilakukan uji penghitungan persentase resistensi dan dibuat tabel dari semua persentase resistensi masing-masing seri kadar dapat diperoleh hasil akhir dari rata-rata persentase resistensi ± SD sebagai berikut

Tabel VII. Rata-rata persentasi resistensi ± SD ekstrak PE beserta fraksinasinya dan ekstrak etanol 70% beserta fraksinasinya

Ekstrak	Konsentrasi			
	1 µg	0,5 µg	0,25 µg	0,125 µg
Petroleum eter	91,73 ± 3,17	93,45 ± 4,07	103,06 ± 6,52	106,21 ± 9,11
Petroleum eter fraksi larut n-heksan	99,54 ± 5,85	97,86 ± 0,30	98,93 ± 11,78	107,72 ± 8,17
Petroleum eter fraksi tidak larut n-heksan	74, 49 ± 3,96	99,71 ± 9,30	96,72 ± 5,30	107,43 ± 3,66
Etanol 70%	18,39 ± 2,73	18,30 ± 4,18	60,54 ± 10,17	96,51 ± 5,24
Etanol 70% fraksi larut methanol	2,63 ± 0,33	17,59 ± 1,92	39,39 ± 2,36	61,04 ± 7,73
Etanol 70% fraksi tidak larut methanol	16,23 ± 3,32	18,66 ± 0,90	54,80 ± 2,07	56,62 ± 2,32
INH	1,77 ± 0,25			
Ethambutol	1,99 ± 0,33			

Setelah dilakukan uji secara statistik dengan uji Anava satu arah dengan membandingkan antara macam-macam ekstrak dengan kadar atau persentase dari masing masing ekstrak dan dilanjutkan keuji statistik anava dua arah untuk melihat hubungan antara macam ekstrak dengan frakasinasinya. diperoleh perbedaan bermakna

Setelah dilakukan uji secara statistik dengan uji Anava dua arah dengan membendingkan antara macam-macam ekstrak dengan kadar dan persentase di peroleh dari hasil output yaitu diperoleh nilai Asymp.Sig (2 0.197> 0.05 maka H diterima atau data sampel berasal dan populasi berdistribusi normal dengan nilai signifikasi 5% atau 0,05. Uji Homogenitas Vaniansi untuk mengetahui apakah 'varians dan perlakuan (treatmen) dalam hal mi konsentrasi dan kadar. Diperoleh kesimpulan didapat nilai Sig Based on mean 0.000 <0.05 sehingga H ditolak artinya terdapat varians perlakuan (konsentrasi) yang tidak homogen. Karena variansi data tidak homogen maka selanjutnya dilakukan transformasi data agar variansi keempat perakuan (konsentrasi) homogen. Melalui beberapa percobaan transformasi didapat sebuah transformasi

kedalam bentuk kuadrat. didapat nilai Sig Based on mean 0.220sehingga H o diterima artiriya variansi keempat perlakuan (konsentrasi) telah homogen.

Dan output diatas diperoleh nilai Sig Based on Mean 0.00 1 <0.05 maka H ditolak artinya terdapat varians perlakuan (kadar) yang tidak Homogen. Karena vaniansi data tidak homogen maka selanjutnya dilakukan transformasi supay vaniansi homogen. Dilakukan transformasi data kedalam bentuk kuadrat dan diperoleh nilai Sig Based on Mean 0.072, maka H diterima artinya varians keenam perlakuan (kadar) Homogen.

Setelah kedua asumsi dalam analisis variansi dipenuhi selanjutnya dilakukan uji ANAVA. Dan uji ANAVA dapat diperoleh dengan tingkat sigrnfikansi 5% atau 0.05 Dan ouput diatas untuk penlakuan konsentrasi nilai sig = 0.002 untuk perlakuan kadar = 0.000 keduanya memiliki nilai signifikansi dibawah 0.05 atau < 0.05 sehingga Ho ditolak artinya rata-rata perlakuan (konsentrasi dan kadar) ada yang tidak sama atau ada efek perlakuan konsentrasi dan kadar.Berikutnya untuk mengetahui sejauh mana tingkat perbedaan rata-rata pada perlakuan tersebut digunakan analisis Multiple comparison dengan metode tukey Dan output diatas, untuk mengetahui tingkat perbedaan konsentrasi dapat dilihat pada kolom Mean difference apabila terdapat tanda bintang maka ada perbedaan antara kedua konsentrasi. Misalnya konsentrasi 1µg dengan konsentrasi 0,125 µg itu berbeda secara nyata.

Untuk lebih jelasnya dapat digambarkan melalui ouput lanjutan dan metode tukey yaitu Homogeneous subset

dan output diperoleh sebuah informasi bahwa:

konsentrasi 1 µg sama dengan 0,5 µg sama dengan 0,25 µg tetapi berbeda secara nyata dengan konsentrasi 0,125 µg. Konsentrasi 0,5 µg sama dengan 1 µg sama dengan 0,25 µg tetapi berbeda secara nyata dengan kons 0,125 µg. Konsentrasi 0,25 µg sama dengan 1 µg sama dengan 0,5 µg sama dengan 0,125 µg. Konsentrasi 0,125 µg memiliki nilai yang kecil dan sama dengan konsentrasi 0,25 µg akan tetapi berbeda secara nyata dengan 0,5 µg dan 1 µg.

Dan Faktor kadar dapat diperoleh untuk mengetahui tingkat perbedaan konsentrasi dapat dilihat pada kolom Mean difference apabila terdapat tanda bintang maka ada perbedaan antara kedua kadar. Misalnya ekstrak PE dengan Ekstrak Etanol 70%

menujukkan perbedaan yang cukup nyata. Untuk lebih jelasnya dapat digambarkan melalui output lanjutan dan metode tukey yaitu:

1) Kadar Ekstrak Etanol 70% fraksi larut Ekstrak Etanol 70% fraksi tidak larut methanol dan Ekstrak Etanol 70 % memiliki rata-rata yang sama karena berada dalam satu subset 1.
2) Kadar Ekstrak PE tidak larut n-heksan, Ekstrak PE dan Ekstrak PE larut n-heksan memiliki rata-rata yang sama karena dalam subset 2.
3) Subset I dan subset 2 menggambarkan perbedaan rata-rata.
4) Subset 2 memiliki rata-rata yang lebih besar dan subset I

Dari uji Anova dapat disimpulkan untuk anova satu arah dengan membandingkan konsentrasi dengan ekstrak tidak ada perbedaan bermakna dan untuk anova dua arah dengan membandingkan ekstrak etanol dengan ekstrak PE dan dengan konsentrasi diperoleh ada perbedaan bermakna antar perlakuan ekstraksi dan kadar.

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

1. Ekstrak etanol dari daun tanaman bunga pagoda (*Clorodendrum japonicum*) memiliki sensitivitas paling besar dibanding dengan ekstrak petroleum eter.
2. Ekstrak etanolik yang paling tinggi nilai sensitifitasnya adalah pada fraksi larut dalam metanol.
3. Semakin kecil nilai resistensinya maka nila sensitivitasnya akan semakin besar.

B. Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa golongan apa yang memiliki aktifitas antibakteri *Mycobakterium tuberculosis* dari daun tanaman bunga pagoda (*Clerodendrum japonicum).*
2. Hendaknya dilakukan remaserasi kemudian difraksinasi, atau dengan cara perkolasi sehingga diperoleh ekstrak dengan kandungan kimia yang maksimum.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, hal 1-16, Depkes RI, Jakarta.

Anonim, 1987, *Bakteriologi Klinik*, hal 48-53, Pusdiknakes, Depkes RI, Jakarta

Anonim, 1994, *Farmakope edisi III*, hal 57-79 Departermen Kesehatan RI.

Anonim, 1997, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, hal 32-27 Litbangkes Depkes RI Jakarta.

Anonim, 2000, *Acuan Sediaan Herbal*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 11 – 12.

Backer, C. A., and Bakhuizen van den Brink, R. C. B., 1965, *Flora of Java (Spermatophyte only)*, volume I, hal4-5, 78-84, 176-181, N. V. P.,Noordhooff-Groningen- Netherland,

Buchanan, R. E., dan N. E. Gibbon, 1975, *Bergey's Manual of determative Bacteriology*, 8th ed, hal 372-386, The williams and Wilkins Company, Baltimore, London,

Budiman, 1996, *Micobacterium klinik*, hal 16-27, Widya medika, Jakarta.

Claus, E.P., Tyler,V.E., and bradi, L.R., 1961, *Pharmacognosy*. hal 129-130, 143-144, 168-175, 4th edition, Lea and Febinger, Philadelphia.

Cowan, M.M., 1999, *Plant Product As Antimicrobial Agents*, hal 569-571, America Society for Microbiology, USA.

Dalimartha, 2000, *Atlas tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid II, hal 21-23, Pustaka Kartini, jakarta.

Harbone, J.B., 1987, *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro, hal 6-7, 21-24, 29-34, 72-76, 102-103, 127, 151, ITB Bandung.

Jawetz, E., Melnik, dan J. Adelberg's, E. A., 1991, *Mikrobiologi Kedokteran*, Ed. 20, hal 211, 234, 238 dan 627, diterjemahkan oleh Edi Nugrohon dan RF Maulany, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

Kartasapoetra, G. 1992, *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*, hal 27, Cetakan kedua, Penerbit PT Rineka Cipta, Jakarta.

Kelly, M. T., Brener and H.J shadomi, 1985, *Manual of Clinical Microbiology,* 4th ed, hal 50 (3): 403-4, American Sosiety for Microbiology, Whasington D.C, USA.

Pelezar, M.J. Chan E.C., *Dasar-dasar Microbiology,* Buku II, hal 452-456, edisi I, UI Press. Jakarta.

Russel, A.D., W.B. Hugo, 1977, *Pharmaucetical Microbiology,* hal 61 (1): 8-12, Black Well Scientific Publication, Oxford, USA.

Sastroamidjojo,s. 1988, *Obat Asli Indonesia,* edisi IV, hal 8-12, PT. Dian Rakyat.

Sanjaya, M., *Isolasi dan Identifikasi Mycobacterium tuberculosis,* hal 20-32, Wijaya Medika, jakarta.

Salle, A.J., 1961, *Fundamental principles of Bakteriology*, Fifth Edition, 718-719, 738-739, Mc. Graw Hill CompanyInc., New York.

Steenis, C. G. G. J., Bloenbergen, S., and Eyma ,P.J., 1975, *Flora untuk Sekolah di Indonesia*, hal 315-316 diterjemahkan oleh Surjowinoto,M, Wirjahardja, S., Adisewojo, S. S, Wibisono, Partodidjojo,M. Wirjahardja, S., PT Pradnya Paramita, Jakarta.

Setiabudy, R., dan Gan, V. H. S., 1995, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 571.

Tjokronegoro dan Bazit, 1992, *Semiloka penelitian obat Tradisional,* hal 3-5, FKUI, Jakarta.

Wijaya Kusuma dalimartha,S., Wirian, A. S., 1993, *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia,* hal 9, jilid II, Pustaka Kartini, Jakarta.

LAMPIRAN

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JURUSAN FARMASI FMIPA UII
BAGIAN BIOLOGI FARMASI

Alamat : Jl.Kaliurang Km 14,4 Yogyakarta
Telpon : (0274) 895920 Ext. 3033

SURAT KETERANGAN
Nomor:22/ UII/Jur Far/ det/VIII/2005

Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi FMIPA UII menerangkan bahwa:

Nama : Hartono
NIM : 00613084
Pada Tanggal : 4 Agustus 2005

Telah mendeterminasi 1 (satu) species tanaman dengan bimbingan Dra. Iyok Budiarti, di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII.

Tanaman tersebut: *Clerodendrum javanicum* (pagoda)

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan semestinya.

Yogyakarta, 8 Agustus 2005
Bagian Biologi Farmasi
Kepala

Asih Triastuti, S.F., Apt
NIP. 03.469/MP

DAFTAR LAMPIRAN

Hasil uji Anova satu arah ekstrak etanol 70 %

Oneway

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
data	Between Groups	687.680	2	343.840	.402	.680
	Within Groups	7692.600	9	854.733		
	Total	8380.280	11			
kadar	Between Groups	.000	2	.000	.000	1.000
	Within Groups	15.000	9	1.667		
	Total	15.000	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I) ekstrak	(J) ekstrak	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
data	Tukey HSD	ekstrak etanol	ekstrak etanol larut metanol	18.27500	20.67285	.663	-39.4437	75.9937
			ekstrak etanol tdk larut metanol	11.85750	20.67285	.837	-45.8612	69.5762
		ekstrak etanol larut metanol	ekstrak etanol	-18.27500	20.67285	.663	-75.9937	39.4437
			ekstrak etanol tdk larut metanol	-6.41750	20.67285	.949	-64.1362	51.3012
		ekstrak etanol tdk larut metanol	ekstrak etanol	-11.85750	20.67285	.837	-69.5762	45.8612
			ekstrak etanol larut metanol	6.41750	20.67285	.949	-51.3012	64.1362
	LSD	ekstrak etanol	ekstrak etanol larut metanol	18.27500	20.67285	.400	-28.4902	65.0402
			ekstrak etanol tdk larut metanol	11.85750	20.67285	.580	-34.9077	58.6227
		ekstrak etanol larut metanol	ekstrak etanol	-18.27500	20.67285	.400	-65.0402	28.4902
			ekstrak etanol tdk larut metanol	-6.41750	20.67285	.763	-53.1827	40.3477
		ekstrak etanol tdk larut metanol	ekstrak etanol	-11.85750	20.67285	.580	-58.6227	34.9077
			ekstrak etanol larut metanol	6.41750	20.67285	.763	-40.3477	53.1827
kadar	Tukey HSD	ekstrak etanol	ekstrak etanol larut metanol	.000	.913	1.000	-2.55	2.55
			ekstrak etanol tdk larut metanol	.000	.913	1.000	-2.55	2.55
		ekstrak etanol larut metanol	ekstrak etanol	.000	.913	1.000	-2.55	2.55
			ekstrak etanol tdk larut metanol	.000	.913	1.000	-2.55	2.55
		ekstrak etanol tdk larut metanol	ekstrak etanol	.000	.913	1.000	-2.55	2.55
			ekstrak etanol larut metanol	.000	.913	1.000	-2.55	2.55
	LSD	ekstrak etanol	ekstrak etanol larut metanol	.000	.913	1.000	-2.07	2.07
			ekstrak etanol tdk larut metanol	.000	.913	1.000	-2.07	2.07
		ekstrak etanol larut metanol	ekstrak etanol	.000	.913	1.000	-2.07	2.07
			ekstrak etanol tdk larut metanol	.000	.913	1.000	-2.07	2.07
		ekstrak etanol tdk larut metanol	ekstrak etanol	.000	.913	1.000	-2.07	2.07
			ekstrak etanol larut metanol	.000	.913	1.000	-2.07	2.07

Homogeneous Subsets

data

	ekstrak	N	Subset for alpha = .05
			1
Tukey HSD[a]	ekstrak etanol larut metanol	4	30.1600
	ekstrak etanol tdk larut metanol	4	36.5775
	ekstrak etanol	4	48.4350
	Sig.		.663

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

kadar

	ekstrak	N	Subset for alpha = .05
			1
Tukey HSD[a]	ekstrak etanol	4	2.50
	ekstrak etanol larut metanol	4	2.50
	ekstrak etanol tdk larut metanol	4	2.50
	Sig.		1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000

Hasil uji Anova satu arah ekstrak PE

Oneway

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
data	Between Groups	81.555	2	40.778	.549	.596
	Within Groups	668.353	9	74.261		
	Total	749.908	11			
kadar	Between Groups	.000	2	.000	.000	1.000
	Within Groups	15.000	9	1.667		
	Total	15.000	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Va		(I) ekstrak	(J) ekstrak	Mean Difference (I-J)	Std. Erro	Sig.	95% Confidence Interv Lower Boun	Upper Boun
data	Tukey H	pekstrak PE	ekstrak PE larut n	-.90000	.09350	.988	-17.9131	16.1131
			ekstrak PE tdk lar n-heksan	5.02500	.09350	.698	-11.9881	22.0381
		ekstrak PE larut n	pekstrak PE	.90000	.09350	.988	-16.1131	17.9131
			ekstrak PE tdk lar n-heksan	5.92500	.09350	.611	-11.0881	22.9381
		ekstrak PE tdk lar n-heksan	pekstrak PE	5.02500	.09350	.698	-22.0381	11.9881
			ekstrak PE larut n	5.92500	.09350	.611	-22.9381	11.0881
	LSD	pekstrak PE	ekstrak PE larut n	-.90000	.09350	.886	-14.6845	12.8845
			ekstrak PE tdk lar n-heksan	5.02500	.09350	.431	-8.7595	18.8095
		ekstrak PE larut n	pekstrak PE	.90000	.09350	.886	-12.8845	14.6845
			ekstrak PE tdk lar n-heksan	5.92500	.09350	.356	-7.8595	19.7095
		ekstrak PE tdk lar n-heksan	pekstrak PE	5.02500	.09350	.431	-18.8095	8.7595
			ekstrak PE larut n	5.92500	.09350	.356	-19.7095	7.8595
kadar	Tukey H	pekstrak PE	ekstrak PE larut n	.000	.913	1.000	-2.55	2.55
			ekstrak PE tdk lar n-heksan	.000	.913	1.000	-2.55	2.55
		ekstrak PE larut n	pekstrak PE	.000	.913	1.000	-2.55	2.55
			ekstrak PE tdk lar n-heksan	.000	.913	1.000	-2.55	2.55
		ekstrak PE tdk lar n-heksan	pekstrak PE	.000	.913	1.000	-2.55	2.55
			ekstrak PE larut n	.000	.913	1.000	-2.55	2.55
	LSD	pekstrak PE	ekstrak PE larut n	.000	.913	1.000	-2.07	2.07
			ekstrak PE tdk lar n-heksan	.000	.913	1.000	-2.07	2.07
		ekstrak PE larut n	pekstrak PE	.000	.913	1.000	-2.07	2.07
			ekstrak PE tdk lar n-heksan	.000	.913	1.000	-2.07	2.07
		ekstrak PE tdk lar n-heksan	pekstrak PE	.000	.913	1.000	-2.07	2.07
			ekstrak PE larut n	.000	.913	1.000	-2.07	2.07

Homogeneous Subsets

data

	ekstrak	N	Subset for alpha = .05
			1
Tukey HSD[a]	ekstrak PE tdk larut n-heksan	4	93.5875
	pekstrak PE	4	98.6125
	ekstrak PE larut n-heksan	4	99.5125
	Sig.		.611

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

kadar

	ekstrak	N	Subset for alpha = .05
			1
Tukey HSD[a]	pekstrak PE	4	2.50
	ekstrak PE larut n-heksan	4	2.50
	ekstrak PE tdk larut n-heksan	4	2.50
	Sig.		1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Hasil uji sample T test

T-Test

One-Sample Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
data	12	97.2375	8.25672	2.38351
ekstrak	12	2.00	.853	.246
kadar	12	2.50	1.168	.337

One-Sample Test

	Test Value = 0					
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
data	40.796	11	.000	97.23750	91.9914	102.4836
ekstrak	8.124	11	.000	2.000	1.46	2.54
kadar	7.416	11	.000	2.500	1.76	3.24

Hasil uji Anova dua arah

Tabel Persiapan Analisis Variansi

Konsentrasi	20%	10%	5%	2.50%
Ekstrak PE	91.73	93.45	103.06	106.21
Ekstrak PE tdk larut N-Heksan	74.47	99.71	96.72	107.43
Ekstrak PE larut N-Heksan	99.54	97.86	98.93	101.72
Ekstrak Etanol 70%	18.39	18.30	60.54	96.51
Ekstrak Etanol 70% fraksi larut metanol	2.63	17.59	39.39	61.04
Ekstrak Etanol 70% fraksi tidak larut metanol	16.23	18.66	54.80	56.62

Dalam melakukan analisis variansi ada beberapa asumsi yang perlu diperhatikan yaitu :

1. Data berasal dari populasi berdistribusi normal.
2. Variansi dari treatmen (perlakuan) dalam hal ini konsentrasi dan kadar adalah homogen.

1. Uji Asumsi Normalitas

NPar ests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		DATA2
N		24
Normal Parameters[a,b]	Mean	5879.9395
	Std. Deviation	4357.3496
Most Extreme Differences	Absolute	.220
	Positive	.148
	Negative	-.220
Kolmogorov-Smirnov Z		1.076
Asymp. Sig. (2-tailed)		.197

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hipotesis

- H_0 : Data sampel berasal dari populasi berdistribusi normal
- H_1 : Data sampel tidak berasal dari populasi berdistribusi normal
- Tingkat signifikansi 5% atau 0.05

- Statistik uji Kolmogorov-Smirnov
- Pengambilan keputusan

  Apabila nilai Sig (2-tailed) ≥ 0.05 maka H_0 diterima .
- Kesimpulan

  Dari output diatas diperoleh nilai Asymp.Sig (2-tailed) = 0.197 > 0.05 maka H_0 diterima atau data sampel berasal dari populasi berdistribusi normal.

2. Uji Homogenitas Variansi

Tujuan dari uji homogenitas adalah untuk mengetahui apakah varians dari perlakuan (treatmen) dalam hal ini konsentrasi dan kadar.

A. Analisis Homogenitas (uji kesamaan variansi) faktor konsentrasi

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
DATA	Based on Mean	10.543	3	20	.000
	Based on Median	5.549	3	20	.006
	Based on Median and with adjusted df	5.549	3	10.431	.016
	Based on trimmed mean	10.192	3	20	.000

Hipotesis

- H_0 : Varians keempat perlakuan (konsentrasi) homogen
- H_1 : Terdapat varians perlakuan (konsentrasi) yang tidak homogen
- Tingkat signifikansi 5% atau 0.05
- Statistik uji levene test
- Pengambilan keputusan

  Apabila nilai Sig ≥ 0.05 maka Ho diterima
- Kesimpulan

  Dari output diatas didapat nilai Sig Based on mean = 0.000 < 0.05 sehingga H_0 ditolak artinya terdapat varians perlakuan (konsentrasi) yang tidak homogen.

Karena variansi data tidak homogen maka selanjutnya dilakukan transformasi data agar variansi keempat perakuan (konsentrasi) homogen. Melalui beberapa percobaan transformasi didapat sebuah transformasi kedalam bentuk kuadrat. Dari transformasi tersebut selanjutnya diperoleh output untuk uji homogenitas sebagai berikut :

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
DATA2	Based on Mean	1.603	3	20	.220
	Based on Median	.994	3	20	.416
	Based on Median and with adjusted df	.994	3	10.229	.434
	Based on trimmed mean	1.583	3	20	.225

Hipotesis

- H_0 : Varians keempat perlakuan (konsentrasi) homogen
- H_1 : Terdapat varians perlakuan (konsentrasi) yang tidak homogen
- Tingkat signifikansi 5% atau 0.05
- Statistik uji *Levene test*
- Pengambilan keputusan

  Apabila nilai Sig $\geq$ 0.05 maka Ho diterima
- Kesimpulan

  Dari output diatas didapat nilai Sig *Based on mean* = 0.220$\geq$ 0.05 sehingga H_0 diterima artinya variansi keempat perlakuan (konsentrasi) telah homogen.

B. Analisis Homogenitas (uji kesamaan variansi) untuk faktor kadar

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
DATA	Based on Mean	6.774	5	18	.001
	Based on Median	4.965	5	18	.005
	Based on Median and with adjusted df	4.965	5	7.129	.028
	Based on trimmed mean	6.680	5	18	.001

Hipotesis

- H_0 : Varians keenam perlakuan (kadar) homogen.
- H_1 : Terdapat variansi perlakuan (kadar) yang tidak homogen.
- Tingkat signifikansi 5% atau 0.05
- Statistik uji levene test
- Pengambilan keputusan

  Apabila nilai Sig ≥ 0.05 maka Ho diterima
- Kesimpulan

  Dari output diatas diperoleh nilai Sig *Based on Mean* = 0.001 < 0.05 maka H_0 ditolak artinya terdapat varians perlakuan (kadar) yang tidak Homogen.

  Karena variansi data tidak homogen maka selanjutnya dilakukan transformasi supaya variansi homogen. Dilakukan transformasi data kedalam bentuk kuadrat.

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
DATA2	Based on Mean	2.461	5	18	.072
	Based on Median	1.656	5	18	.196
	Based on Median and with adjusted df	1.656	5	6.192	.274
	Based on trimmed mean	2.399	5	18	.078

Hipotesis

- H_0 : Varians keenam perlakuan (kadar) homogen
- H_1 : Terdapat varians perlakuan (kadar) yang tidak homogen
- Tingkat signifikansi 5% atau 0.05
- Statistik uji levene test
- Pengambilan keputusan , Apabila nilai Sig ≥ 0.05 maka H_0 diterima
- Kesimpulan

  Dari output diatas diperoleh nilai Sig *Based on Mean* = 0.072 ≥ 0.05 maka H_0 diterima artinya varians keenam perlakuan (kadar) Homogen.

Setelah kedua asumsi dalam analisis variansi dipenuhi selanjutnya dilakukan **ANAVA**

3 . Analisis Variansi 2 arah

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: DATA2

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	400889616[a]	8	50111202.02	20.996	.000
Intercept	829768563	1	829768563.4	347.671	.000
KONS	60038788.9	3	20012929.62	8.385	.002
KADAR	340850827	5	68170165.47	28.563	.000
Error	35799739.5	15	2386649.302		
Total	1266457919	24			
Corrected Total	436689356	23			

a. R Squared = .918 (Adjusted R Squared = .874)

- Hipotesis
- H_0 : rata-rata perlakuan (kadar dan konsentrasi) sama
- H_1 : rata-rata perlakuan (kadar dan konsentrasi) ada yang tidak sama
- Tingkat signifikansi 5% atau 0.05
- Pengambilan keputusan
- Ho diterima apabila nilai Sig $\geq$ 0.05
- Kesimpulan

Dari ouput diatas untuk perlakuan konsentrasi nilai sig = 0.002 untuk perlakuan kadar = 0.000 keduanya memiliki nilai signifikansi dibawah 0.05 atau < 0.05 sehingga Ho ditolak artinya rata-rata perlakuan (konsentrasi dan kadar) ada yang tidak sama atau ada efek perlakuan konsentrasi dan kadar.

Berikutnya untuk mengetahui sejauh mana tingkat perbedaan rata-rata pada perlakuan tersebut digunakan analisis *Multiple comparison* dengan metode tukey

4. Analisis Multyple Comparison

A. Faktor Konsentrasi

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DATA2

Tukey HSD

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
20%	10%	-794.5254	891.9360	.810	-3365.2529	1776.2020
	5%	-2251.0106	891.9360	.096	-4821.7380	319.7169
	2,5%	-4156.2844*	891.9360	.002	-6727.0118	-1585.5569
10%	20%	794.5254	891.9360	.810	-1776.2020	3365.2529
	5%	-1456.4851	891.9360	.391	-4027.2126	1114.2423
	2,5%	-3361.7589*	891.9360	.009	-5932.4864	-791.0315
5%	20%	2251.0106	891.9360	.096	-319.7169	4821.7380
	10%	1456.4851	891.9360	.391	-1114.2423	4027.2126
	2,5%	-1905.2738	891.9360	.187	-4476.0013	665.4536
2,5%	20%	4156.2844*	891.9360	.002	1585.5569	6727.0118
	10%	3361.7589*	891.9360	.009	791.0315	5932.4864
	5%	1905.2738	891.9360	.187	-665.4536	4476.0013

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Dari output diatas, untuk mengetahui tingkat perbedaan konsentrasi dapat dilihat pada kolom *Mean difference* apabila terdapat tanda bintang maka ada perbedaan antara kedua konsentrasi. Misalnya kons 20% dengan kons 2.5% itu berbeda secara nyata.

Untuk lebih jelasnya dapat digambarkan melalui ouput lanjutan dari metode tukey yaitu *Homogeneous subset*

DATA2

Tukey HSD [a,b]

Konsentrasi	N	Subset 1	Subset 2
20%	6	4079.4846	
10%	6	4874.0100	
5%	6	6330.4951	6330.4951
2,5%	6		8235.7689
Sig.		.096	.187

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 2386649.302.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

b. Alpha = .05.

dari output diatas diperoleh sebuah informasi bahwa :

kons 20% sama dengan 10% sama dengan 5% tetapi berbeda secara nyata dengan kons 2.5%.

kons 10% sama dengan 20% sama dengan 5% tetapi berbeda secara nyata dengan kons 2.5%.

kons 5% sama dengan 20% sama dengan 10% sama dengan 2.5%.

kons 2.5% memiliki nilai yang kecil dan sama dengan kons 5% akan tetapi berbeda secara nyata dengan 10% dan 20%

B. Faktor kadar

Dari output diatas untuk mengetahui tingkat perbedaan konsentrasi dapat dilihat pada kolom *Mean difference* apabila terdapat tanda bintang maka ada perbedaan antara kedua kadar.

Misalnya ekstrak PE dengan Ekstrak Etanol 70% menujukkan perbedaan yang cukup nyata.

Untuk lebih jelasnya dapat digambarkan melalui ouput lanjutan dari metode tukey yaitu :

DATA2

Tukey HSD [a,b]

Kadar	N	Subset 1	Subset 2
Ekstrak Etanol 70% fraksi larut metanol	4	1398.4447	
Ekstrak Etanol 70% fraksi tidak larut metanol	4	1705.1182	
Ekstrak Etanol 70%	4	3413.0885	
Ekstrak PE tdk larut N-Heksan	4		9095.9571
Ekstrak PE	4		9762.3058
Ekstrak PE larut N-Heksan	4		9904.7236
Sig.		.469	.973

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = 2386649.302.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

b. Alpha = .05.

Dari output homogeneus tersebut

- Kadar Ekstrak Etanol 70% fraksi larut metanol, Ekstrak Etanol 70% fraksi tidak larut methanol dan Ekstrak Etanol 70 % memiliki rata-rata yang sama karena berada dalam satu subset 1.
- Kadar Ekstrak PE tidak larut N-Heksan, Ekstrak PE dan Ekstrak PE larut N-Heksan memiliki rata-rata yang sama karena dalam subset 2.
- Subset 1 dan subset 2 menggambarkan perbedaan rata-rata.
- Subset 2 memiliki rata-rata yang lebih besar dari subset 1



Komposisi Media dan cat BTA untuk uji tuberkulosis

Media yang digunakan yaitu Media Louwerstain – Jensen dengan komposisi

Larutan Souton :

- Aspargin 3,6 gram
- Gliserol 12 ml
- Kalium bifosfat (KH_2PO_4) 2,4 gram
- Magnesium sulfat ($MgSO_4$) 0,24 gram
- Magnesium sitrat 0,6 gram
- Potato streach 0,5 gram
- Malachite green 0,5 gram
- Aquades sampai volume 1640 ml

Telur ayam / telur bebek berumur kurang dari 7 hari yang telah di sterilkan sebanyak 1000 ml

Larutan cat BTA dengan pengecatan metode Zhield Neelsen (ZN) dengan komposisi reagen :

1) Karbol fuchsin
   - Larutan fucksin basik dalam alcohol dengan cara : siapkan 3,0 gram fuchsin basic dalam 100 ml etil alcohol 96% 10.0 ml
   - larutan fenol % 90 ml
     (dibuat dari 5,0g fenol dicairkan dalam 100 ml H_2O_2 hangat)
2) Alkohol asam
   - Etil Alkohol (95%) 97,0 ml
   - HCl 0,3 gr
3) Larutan cat penutup
   - Methilen biru klorida 0,3 gr
   - Aquadest 100 ml

Larutan suplemen Albumin/ OADC (Oleat Albumin desktrosa agar) yang berisi Bovine Albumin dan larutan oleat.

1) Bovine Albumin fraksi V 50 gram
2) Larutan sodium oleat :
   - NaOH 20N 30 ml
   - Asam Oleat 0,6 ml



Daftar perhitungan

Daftar perhitungan jumlah ekstrak per ml medium basal

Kadar 20 % = 20 gr/ 100ml = 2 gr / 10 ml = 200 mg/ ml atau 200.000 mcg / ml

= 1ml 200.000 mcg/ml larutkan dalam 10 ml aquadest steril sampai diperoleh kadar 20.000 mcg /ml

= 1ml 20. 000 mcl/ml dilarutkan dalam 9 ml aquadest steril sampai diperoleh kadar 2000 mcg/ml

= 1ml 2000 mcg/ml dilarutkan dalam 9 ml aquadest steril sampai diperoleh kadar 200 mcg/ml

= dari kadar 200 mcg /ml diambil sebanyak 0,1 ml dilarutkan dalam 20 ml medium basal sehingga dapat diperoleh kadar akhir 1 mcg/ ml medium.

Kadar 10 % = 10 gr/ 100ml = 1 gr / 10 ml = 100 mg/ ml atau 100.000 mcg / ml

= 1ml 100.000 mcg/ml larutkan dalam 10 ml aquadest steril sampai diperoleh kadar 10.000 mcg /ml

= 1ml 10. 000 mcl/ml dilarutkan dalam 9 ml aquadest steril sampai diperoleh kadar 1000 mcg/ml

= 1ml 1000 mcg/ml dilarutkan dalam 9 ml aquadest steril sampai diperoleh kadar 100 mcg/ml

= dari kadar 100 mcg /ml diambil sebanyak 0,1 ml dilarutkan dalam 20 ml medium basal sehingga dapat diperoleh kadar akhir 0,5 mcg/ ml medium.

Kadar 5 % = 5 gr/ 100ml = 0.5 gr / 10 ml = 50 mg/ ml atau 50.000 mcg / ml

= 1ml 50.000 mcg/ml larutkan dalam 10 ml aquadest steril sampai diperoleh kadar 5.000 mcg /ml

= 1ml 5000 mcl/ml dilarutkan dalam 9 ml aquadest steril sampai diperoleh kadar 500 mcg/ml

= 1ml 500 mcg/ml dilarutkan dalam 9 ml aquadest steril sampai diperoleh kadar 50 mcg/ml

= dari kadar 50 mcg /ml diambil sebanyak 0,1 ml dilarutkan dalam 20 ml medium basal sehingga dapat diperoleh kadar akhir 0,25 mcg/ ml medium.

Kadar 2,5 % = 2,5 gr/ 100ml = 0,25 gr / 10 ml = 25 mg/ ml atau 25.000 mcg / ml

= 1ml 25.000 mcg/ml larutkan dalam 10 ml aquadest steril sampai diperoleh kadar 2500 mcg /ml

= 1ml 2500 mcl/ml dilarutkan dalam 9 ml aquadest steril sampai diperoleh kadar 250 mcg/ml

= 1ml 250 mcg/ml dilarutkan dalam9 ml aquadest steril sampai diperoleh kadar 25 mcg/ml

= dari kadar 25 mcg /ml diambil sebanyak 0,1 ml dilarutkan dalam 20 ml medium basal sehingga dapat diperoleh kadar akhir 0,125 mcg/ ml medium.

Pada kontrol positif menggunakan INH 500 Mg dan Ethambutol 500 Mg didapatkan kadar akhir obat per mili medium dasar yaitu :

= 500 Mg obat dilarutkan dalam 10 ml aquadest sehingga diperoleh kadar 500 mg/10 ml = 50 mg/ml, kemudian diencerkan dengan aquadest 10 ml sehingga diperoleh kadar 5 mg/ ml

= dari 5 mg obat dilarutkan dalam 10 ml aquadest sehingga dapat diperoleh kadar 0,5 mg / ml = 500 mcg /ml

= dari 500 mcg obat diencerkan dalam 10 ml aquadest sampai diperoleh kadar 50 mcg obat / ml

= dari 0,005 mg obat atau 50 mcg obat diambil sebanyak 0,1 dilarutkan dalam 20 medium dasar sampai diperoleh kadar akhir 0, 25 / ml medium dasar.

daftar perhitungan Persentase Resistensi

Perhitungan tabel 1.

Ekstrak PE

Kadar 20 % = $\frac{442}{468}$ X 100 = 94,49 %

Kadar 10% = $\frac{458}{468}$ X 100 = 97,63%

Kadar 5% = $\frac{458}{468}$ X 100 = 103,63%

Kadar 2,5 %= $\frac{458}{468}$ X 100 = 110,70%

Ekstrak PE fraksi larut N-Heksan

Kadar 20 % = $\frac{436}{468}$ X 100 = 93,16 %

Kadar 10% = $\frac{457}{468}$ X 100 = 97,54%

Kadar 5% = $\frac{424}{468}$ X 100 = 90,60%

Kadar 2,5 %= $\frac{432}{468}$ X 100 = 92,30%

Ekstrak PE fraksi tidak larut N-Heksan

Kadar 20 % = $\frac{328}{468}$ X 100 = 70,88 %

Kadar 10% = $\frac{417}{468}$ X 100 = 89,11%

Kadar 5% = $\frac{425}{468}$ X 100 = 90,81%

Kadar 2,5 %= $\frac{521}{468}$ X 100 = 111,32%

perhitungan tabel 2.

Ekstrak PE

Kadar 20% = 92,52%

Kadar 10% = 89,49 %

Kadar 5% = 109, 61 %

Kadar 2,5% = 112,20 %

Ekstrak PE fraksi larut dalam N-Heksan.

Kadar 20% = 104,60 %

Kadar 10% = 105,12 %

Kadar 5% = 107,26 %

Kadar 2,5% = 106, 86 %

Ekstrak PE fraksi tidak larut dalam N-Heksan.

Kadar 20% = 77,78 %

Kadar 10% = 106,81 %

Kadar 5% = 101, 06 %

Kadar 2,5% = 104,05 %

perhitungan tabel 3.

Ekstrak PE

Kadar 20% = 88,24 %

Kadar 10% = 93,23 %

Kadar 5% = 96,58 %

Kadar 2,5% = 95,72 %

Ekstrak PE fraksi larut dalam N-Heksan.

Kadar 20% = 100,85 %

Kadar 10% = 98, 07 %

Kadar 5% = 99,14 %

Kadar 2,5% = 105, 98 %

Ekstrak PE fraksi tidak larut dalam N-Heksan.

Kadar 20% = 75,56 %

Kadar 10% = 103, 63 %

Kadar 5% = 98,39 %

Kadar 2,5% = 106, 91 %

Ekstrak Etanol 70%

Perhitungan tabel 1

Kadar 20 % = $\frac{97}{468}$ X 100 = 20,72 %

Kadar 10%= $\frac{102}{468}$ X 100 = 21,79%

Kadar 5%= $\frac{234}{468}$ X 100 = 50,00%

Kadar 2,5 %= $\frac{476}{468}$ X 100 = 101,71%

Ekstrak Etanol 70% fraksi larut dalam Metanol

Kadar 20 % = $\frac{14}{468}$ X 100 = 2,99%

Kadar 10%= $\frac{91}{468}$ X 100 = 19,44%

Kadar 5%= $\frac{104}{468}$ X 100 = 22,20%

Kadar 2,5 %= $\frac{253}{468}$ X 100 = 54,05%

Kadar 20 % = $\frac{61}{468}$ X 100 = 13,03%

Kadar 10%= $\frac{84}{468}$ X 100 = 17,95%

Kadar 5%= $\frac{249}{468}$ X 100 = 53,20%

Kadar 2,5 %= $\frac{256}{468}$ X 100 = 54,70%

Perhitungan tabel 2

Ekstrak Etanol 70%

Kadar 20% = 19,07

Kadar 10% = 19,44

Kadar 5% = 70,29

Kadar 2,5% = 91,23

Ekstrak Etanol 70% fraksi larut dalam Metanol.

Kadar 20% = 2,56

Kadar 10% = 17,73

Kadar 5% = 41,88

Kadar 2,5% = 91,23

Ekstrak Etanol 70% fraksi tidak laut dalam Metanol.

Kadar 20% = 16,02

Kadar 10% = 19,66

Kadar 5% = 54,05

Kadar 2,5% = 58,55

perhitungan tabel 3.

Ekstrak Etanol 70%

Kadar 20% = 15,38

Kadar 10% = 13,67

Kadar 5% = 61,32

Kadar 2,5% = 91,23

Ekstrak Etanol 70% fraksi tidak laut dalam Metanol.

Kadar 20% = 2,32

Kadar 10% = 15,60

Kadar 5% = 39,10

Kadar 2,5% = 58,76

Ekstrak Etanol 70% fraksi laut dalam Metanol.

Kadar 20% = 19,65

Kadar 10% = 18,37

Kadar 5% = 57,14

Kadar 2,5% = 57,24

Untuk kontrol positif menggunakan INH 500 mg dan Ethambutol 500 mg setalah dilakukan penghitungan jumlah bakteri tahan asam dan penghitungan persentase resistensi diperoleh hasil :

INH_1 = 1,92

INH_2 = 1,49

INH_3 = 1,92

$Ethambutol_1$ = 2,35

$Ethambutol_2$ = 1,92

$Ethambutol_3$ = 1,71

DAFTAR TABEL

DAFTAR TABEL

Tabel Data hasil uji aktivitas antimikrobia ekstrak etanol dan ekstrak petroleum eter daun bunga pagoda pada bakteri *M.tuberculosis.*pada pemeriksaan jumlah basil tahan asam per 10 lapang pandang dibawah mikroskop perbesaran 100 X

Ekstrak	Konsentrasi			
	20	10	5	2,5
Petreloum Eter	442	458	485	517
PE fraksi larut N-Heksan	436	457	424	432
PE fraksi tidak larut N-Heksan	328	417	425	521
Etanol 70%	97	102	234	476
Etanol 70% fraksi larut Me OH	14	91	174	256
Etanol 70% fraksi tidak larut MeOH	61	84	249	253

Ekstrak	Konsentrasi			
	20	10	5	2,5
Petreloum Eter	433	421	513	528
PE fraksi larut N-Heksan	487	492	502	547
PE fraksi tidak larut N-Heksan	364	498	473	484
Etanol 70%	89	91	329	427
Etanol 70% fraksi larut Me OH	12	83	196	326
Etanol 70% fraksi tidak larut Me OH	75	92	253	318

Ekstrak	Konsentrasi			
	20	10	5	2,5
Petreloum Eter	413	436	452	448
PE fraksi larut N-Heksan	472	459	464	496
PE fraksi tidak larut N-Heksan	354	485	460	498
Etanol 70%	72	64	287	452
Etanol 70% fraksi larut Me OH	11	79	183	275
Etanol 70% fraksi tidak larut Me OH	92	86	127	268

Kontrol positif	X_1	X_2	X_2
INH 500 mg	9	7	9
Ethambutol 500 mg	11	9	8

Kontrol negatif : 468 batang BTA/ 10 LP

DAFTAR GAMBAR



gambar tanaman Bunga pagoda (*Clerodendrum japonicum)*



gambar daun dan bunga tanaman Bunga Pagoda (*Clerodendrum japonicum)*