

- ANTIBACTERIAL AGENTS  
IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
- MEDICINAL PLANTS

KK  
KFA  
TKD.01/11  
Agr  
v

## TESIS

# UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL *Andrographis paniculata* Nees. TERHADAP *Helicobacter pylori*

## PENELITIAN EKSPERIMENTAL



MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

**AGRIJANTI**  
**090710007M**

**PROGRAM PASCASARJANA**  
**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**SURABAYA**  
**2009**

**TESIS**

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL  
*Andrographis paniculata* Nees. TERHADAP  
*Helicobacter pylori*  
PENELITIAN EKSPERIMENTAL**

**AGRIJANTI  
NIM. 090710007M**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2009**

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL  
*Andrographis paniculata* Nees. TERHADAP  
*Helicobacter pylori***

**TESIS**

**Untuk memperoleh Gelar Magister  
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

**Oleh**

**AGRIJANTI  
NIM. 090710007M**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2009**

**Tanggal 21 November 2009**

## LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI  
TANGGAL 21 November 2009

Oleh

Pembimbing Ketua



Dr H Eddy Bagus Wasito dr, MS, Sp MK  
NIP 19510221 197802 1 001

Pembimbing



Setio Harsono dr, MS, Sp MK  
NIP 130 610 097

Mengetahui  
Ketua Program Studi



Prof. Retno Handajani, dr, MS, Ph D  
NIP 19481012 197603 2 001





Telah diuji tanggal 21 November 2009

**PANITIA PENGUJI TESIS**

**Ketua** : Dr Aty Widyawaruyanti, Apt, Msi

**Anggota:**

1. Dr H Eddy Bagus Wasito dr, MS, Sp MK
2. Setio Harsono, dr, MS, Sp MK
3. Budiono dr, M Kes
4. Dr Wiwin Retnowati, S Si, M Kes
5. Ratna Sofaria Munir, dr, MS, AK

## UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, hanya dengan Rahmat dan izin-Nya tesis yang berjudul "Uji Aktivitas Ekstrak Etanol *Andrographis paniculata* Nees. terhadap *Helicobacter pylori*," dapat diselesaikan dengan baik.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Bapak Dr H. Eddy Bagus Wasito, dr, MS, Sp MK, selaku pembimbing ketua sekaligus dosen saya selama kuliah di Mikrobiologi, dan sebagai Ketua Minat Mikrobiologi Ilmu Kedokteran Dasar Program Pascasarjana Unair. Beliau dengan sabar dan penuh perhatian membimbing, memotivasi, memberi saran, dan meluangkan waktu mulai dari penyusunan proposal sehingga penulisan tesis ini selesai.

Terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Setio Harsono, dr, MS, Sp MK, selaku Pembimbing, Kepala Laboratorium Mikrobiologi Kedokteran Unair dan dosen saya selama kuliah yang dengan sabar serta penuh perhatian membimbing, memotivasi, memberi saran, dan meluangkan waktu mulai dari penyusunan proposal sehingga penulisan tesis ini selesai.

Terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada: Budiono dr, M.Kes, Dr Aty Widyawaruyanti, Apt, M Si, Dr Wiwin Retnowati, S Si, M Kes, Ratna Sofaria Munir, dr, MS, AK ditengah kesibukan beliau-beliau dengan sabar membimbing, memotivasi dan memasukkan saran, selama penulisan proposal hingga penulisan tesis ini.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang tulus saya sampaikan kepada :

1. Rektor Unair Prof Dr Fasich Apt, dan seluruh staf, yang telah menerima dan memberikan kesempatan kepada saya sebagai mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Unair.
2. Direktur Program Pascasarjana Unair Prof Dr Sri Hajati, SH, MS dan seluruh staf, yang telah menerima dan memberikan kesempatan kepada saya menjadi mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Unair, Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar (IKD).
3. Ketua Program Studi IKD Prof Retno Handajani dr, MS, PhD telah banyak membantu selama saya mengikuti pendidikan di Pascasarjana Unair.
4. Seluruh Dosen Minat Mikrobiologi Unair yang telah mengajar, membimbing, memotivasi saya selama mengikuti kuliah.
5. Seluruh Dosen pada Program Pascasarjana Unair, yang telah mengajar, membimbing, memotivasi saya selama mengikuti kuliah.
6. Direktur RSUD Mataram yang telah banyak membantu menyediakan fasilitas sehubungan dengan penelitian ini beserta seluruh staf Unit Riset Biomedis.
7. Direktur Poltekkes Depkes Mataram Ir Mochtar Mukarim, MSOC, M.Sc. dan Ketua Jurusan Analis Kesehatan Mataram Yunan Jiwintarum S Si, M Kes tempat saya bekerja, yang telah memberikan izin dan motivasi buat saya untuk melanjutkan studi pada Program Magister Pascasarjana Unair Surabaya.

Terima kasih yang sebesar-besarnya saya sampaikan kepada orangtua tercinta Ayahnda Sastro Sarjono (Alm.) dan Ibunda Hj Aluh Rumawati yang telah mengasuh, membimbing hingga menjadi anak yang berguna dan mendoakan keberhasilan saya. Bapak dan Ibu mertua Mukhsin dan Murtosiah yang mendoakan keberhasilan saya.

Saudara-saudaraku di Lombok Nusa Tenggara Barat dan di Gubeng yang telah banyak memotivasi dan memberi bantuan baik moril maupun materil.

Terimakasih yang tak terhingga khususnya buat suami tercinta Nur Khafid, S Pd, yang selalu bersama dalam suka maupun duka, memotivasi, membantu baik moril maupun materil, juga buat anak-anakku tersayang yang menjadi inspirasiku dan motivasiku: Beryl Aji Khafidyan, Aldo Aji Khafidyan, Naufal Aji Khafidyan, Danar Aji Khafidyan, dan Aura Bilqis Khafidyan yang penuh kesabaran, ketabahan, pengertian dan kerelaan untuk selalu saya tinggalkan mengikuti kesibukan kuliah dan penelitian hingga pendidikan saya selesai.

Kepada teman-teman seminat studi angkatan 2007 Dra Sulistiatutik, M Kes, Kuswiyanto, S Si, M Kes, dr Muhamad Ali Shodikin, M Kes, dr Cherry Siregar, M Kes, Narwati, S Si, M. Kes, Ratna Wahyuni, S Si, M Kes, atas kerjasama yang baik selama kuliah tidak akan saya lupakan selamanya.

Akhirnya saya menyampaikan permohonan maaf atas segala kesalahan dan kekhilafan selama mengikuti pendidikan pada Program Magister Unair. Semoga Allah SWT. senantiasa melimpahkan rahmat dan perlindunganNya kepada kita sekalian, Amin.

Penulis

# RINGKASAN

## UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL *Andrographis paniculata* Nees. TERHADAP *Helicobacter pylori*

Agrijanti

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*), adalah bakteri pleomorfik yang berbentuk "S" atau spiral, kurva dan berbentuk kokoid, bersifat Gram negatif yang berkolonisasi di epitel (lapisan sel di saluran cerna) permukaan dinding lambung. Panjang bakteri ini 2-9 mikron dengan lebar 0,5 mikron. *H. pylori* menyebabkan terjadinya berbagai penyakit saluran cerna bagian atas, termasuk gastritis (sakit maag) dan luka lambung maupun usus duabelas jari. Berbagai penelitian telah dilakukan termasuk cara deteksi dan eradikasi (pemberantasan) *H. pylori* yang paling efektif.

Prevalensi infeksi *H. pylori* di Indonesia yang merupakan hasil beberapa penelitian menggunakan metode seroepidemiologik pada tahun 1995 berkisar antara 36 – 41%. Di Mataram, NTB angka penderita *Helicobacter pylori* pada donor sehat tahun 2000 sebesar 53,8% dan di penderita rawat inap di bangsal penyakit dalam RSU Mataram 51,5% dan pada ibu hamil 63% (Wenny A, Soemohardjo S., Muttaqin Z., 1994).

Hasil penelitian Soewignjo dan kawan-kawan (1992) di Mataram dan Denpasar, menunjukkan sudah terjadi immunitas isolat *Helicobacter pylori* terhadap antibiotika antara lain tetrasiklin, amoksisilin, eritromisin.

Penggunaan antibiotik dalam eradikasi *H. pylori* memiliki efek yang dapat menyebabkan kuman menjadi resisten terhadap antibiotik dan adanya krisis global menyebabkan biaya pengobatan semakin mahal, sehingga diperlukan alternatif pengobatan baru untuk mengontrol pertumbuhan dan infeksi yang disebabkan oleh bakteri *H. pylori* seperti obat-obat tradisional yang potensial.

Telah diketahui khasiat tanaman *Andrographis paniculata* Nees. sebagai antimalaria, tonikum (penambah nafsu makan), *amodyne* (pemati rasa nyeri), *astringent*, diabetes, influenza, bronkitis, piles (wasir), *gonorrhoea*, hepatomegali, penyakit kulit, demam dan cacingan, bahkan berguna sebagai anti diare, anti disentri dan menyembuhkan penyakit yang menyerang sistem gastrointestinal.

Ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. secara *in vitro* mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri gram negatif seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* dan secara *in vivo* mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhi* dan *Shigella* sp. (WHO, 2007).

Cara kerja dari ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. sebagai antibakteri hingga kini belum diketahui dengan jelas. Kemungkinan aktifitas antibakteri ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. didapatkan kandungan kimia dari daun dan percabangan yang mengandung diterpen laktone benzil alkohol yang merupakan suatu turunan alkohol. Cara kerja dari benzil alkohol hampir sama dengan alkohol. Alkohol memiliki sifat pelarut lemak yang mendenaturasikan protein secara dehidrasi sehingga membran sel akan rusak dan terjadi inaktivasi enzim-enzim (Anonim<sup>1</sup>, 2003).

Berdasarkan sifat patogenik *H. pylori* dan potensi *A. paniculata* Nees. sebagai obat alternatif terhadap *H. pylori* yang sampai saat ini belum diteliti, maka

perlu dilakukan penelitian mengenai "Uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. terhadap *Helicobacter pylori*."

Ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. dibuat dengan kadar: 9.000 (A<sub>1</sub>), 8.000 (A<sub>2</sub>), 7.000 (A<sub>3</sub>), 6.000 (A<sub>4</sub>) dan 0 µG/mL (A<sub>5</sub>) dan kontrol amoksisilin 1 µG/mL dan dilakukan 5 kali pengulangan menggunakan metode dilusi tabung. Tiap-tiap kadar ditambah masing-masing 100 µL suspensi bakteri uji dengan umur biakan 48 jam, mengandung  $0,3 \times 10^9$ /mL kemudian diinkubasi kedalam *incubator* CO<sub>2</sub> *shaker* dengan suhu 36°C pada 180 rpm dan kandungan O<sub>2</sub> 5%, CO<sub>2</sub> 10% dan N<sub>2</sub> 85%. Dilakukan penghitungan jumlah bakteri hidup dengan melakukan pengamatan koloni *H. pylori* pada media BAP dan dilakukan pengecatan Gram untuk mengetahui morfologi kokoid setiap 6 jam sampai 72 jam.

Didapatkan hasil bahwa pada kadar 9.000 dan 8.000 µG/mL tidak terdapat pertumbuhan koloni *H. pylori* pada media BAP dan hasil pengecatan Gram menunjukkan tidak terdapat sel *H. pylori*. Sedangkan pada kadar 7.000 dan 6.000 µG/mL terdapat pertumbuhan dan terdapat morfologi kokoid *H. pylori* mulai dari inkubasi 6 jam dan terjadi peningkatan bentuk kokoid sampai jam ke-72 sedangkan pada kadar 0 µG/mL terdapat pertumbuhan *H. pylori* tanpa terjadinya bentuk kokoid pada jam ke-6, pada kontrol antibiotik amoksisilin bentuk kokoid terjadi pada 6 jam pertama dan menjadi 100% bentuk kokoid rata-rata pada jam ke-12.

Data diolah dengan program *statistical product and service solutions* (SPSS) versi 13.0. KHM dari ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. terhadap *H. pylori* ialah 7000 µG/mL sedangkan KBM 8.000 µG/mL. Hasil analisa data prosentase kokoid dan jumlah koloni antar perlakuan kadar ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. 7.000, 6.000, 0 µG/mL dan kontrol amoksisilin 1 µG/ml setelah diuji dengan ANOVA taraf signifikan signifikan 5% terdapat beda nyata antar perlakuan.

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. dapat menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* pada kadar 7.000 µG/mL. ekstrak etanol *Andrographis. paniculata* Nees. dapat membunuh *Helicobacter pylori* pada kadar 8.000 µG/mL. Terdapat pengaruh perlakuan berbagai kadar ekstrak etanol *Andrographis. paniculata* Nees. terhadap pertumbuhan *Helicobacter pylori*. Terdapat pengaruh perlakuan berbagai kadar ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. terhadap persentase kokoid *Helicobacter pylori*.



**ABSTRAK**  
**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL**  
***Andrographis paniculata* Nees. TERHADAP**  
***Helicobacter pylori***

**Agrijanti**

Telah dilakukan penelitian uji antimikroba ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. terhadap *Helicobacter pylori* penyebab terjadinya berbagai penyakit saluran cerna bagian atas, termasuk gastritis, luka lambung maupun usus duabelas jari.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap. Kadar ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. yang digunakan ialah 9.000, 8.000, 7.000, 6.000 dan 0  $\mu\text{G/mL}$  serta menggunakan antibiotik amoksisilin 1  $\mu\text{G/mL}$  sebagai kontrol dengan pengulangan sebanyak 5 kali. Uji antimikroba menggunakan metode dilusi tabung dengan menggunakan media pertumbuhan *Trypticase soy Broth* dilanjutkan dengan penanaman pada *Blood Agar Plate*. Pengamatan dilakukan mulai 6 jam pemaparan sampai 72 jam.

Hasil uji menunjukkan perlakuan pada kadar 9.000, 8.000  $\mu\text{G/mL}$  dan amoksisilin 1  $\mu\text{G/mL}$  tidak terdapat pertumbuhan koloni. Pada kadar 7000, 6000 dan 0  $\mu\text{G/mL}$  terdapat adanya perbedaan yang bermakna secara signifikan ( $p < 0,05$ ) antar kadar perlakuan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. terhadap pertumbuhan koloni *H. pylori*. Pada kadar 9.000, 8.000  $\mu\text{G/mL}$  tidak terdapat bentuk sel *H. pylori*, sedangkan pada perlakuan amoksisilin 1  $\mu\text{G/mL}$ , 100% morfologi *H. pylori* berbentuk kokoid pada pengamatan jam ke-24. Pada kadar 7.000, 6.000 dan 0  $\mu\text{G/mL}$  terdapat adanya perbedaan yang bermakna secara signifikan ( $p < 0,05$ ) antar kadar perlakuan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. terhadap persentase morfologi kokoid *H. pylori*. Konsentrasi bunuh minimal (KBM) dari ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. terhadap *H. pylori* ialah 8.000  $\mu\text{G/mL}$  sedangkan konsentrasi hambat minimal (KHM) ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. terhadap *H. pylori* adalah 7.000  $\mu\text{G/mL}$ .

Kata Kunci : Uji antimikroba, *Andrographis paniculata* Nees., *Helicobacter pylori*

**ABSTRACT**  
**AN ANTIMICROBA ACTIVITY TEST OF ETHANOL**  
**EXTRACT OF *Andrographis paniculata* Nees. AGAINST**  
***Helicobacter pylori***

**Agrijanti**

An antimicrobial activity test of the ethanol extract of *Andrographis paniculata* Nees. against *Helicobacter pylori*, the causative agent of various disease of upper digestive tract including gastritis, injuries of both stomach and duodenum, was conducted.

The present reseach was experimental by using a complete random design. The employed levels of the ethanol extract of *Andrographis paniculata* Nees. were 9.000, 8.000, 7.000, 6.000, and 0  $\mu\text{G}/\text{mL}$  with fivefold replicates. The antimicrobial test employed a method of tube dilution with culture medium of Trypticase soy Broth followed by inoculation into Blood Agar Plates. Observation was carried out 6 to 72 of exposure.

Result indicated that treatment at levels of 9.000 and 8.000  $\mu\text{G}/\text{mL}$  and amoxicillin of 1  $\mu\text{G}/\text{mL}$  showed a significant difference ( $p < 0.05$ ) between the levels of treatment with ethanol extract of *A. paniculata* Nees. and colony growth of *H. pylori* at the levels of 9.000 and 8.000  $\mu\text{G}/\text{mL}$  there was no *H. pylori* cell formed while treatment with amoxicillin of 1  $\mu\text{G}/\text{mL}$  showed 100% morphology of *H. pylori* in the form of coccoid at 24 hours of observation. At the levels 7.000, 6.000, and 0  $\mu\text{G}/\text{mL}$  there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) between the levels of treatment with ethanol extract of *A. paniculata* Nees. and percentage morphology of *H. pylori* coccoid. The minimal bacterial concentration (MBC) of the ethanol extract of *A. paniculata* Nees. against *H. pylori* was 8.000  $\mu\text{G}/\text{mL}$ , while the minimal inhibiting concentration (MIC) of ethanol extract of *A. paniculata* Nees. was in 7.000  $\mu\text{G}/\text{mL}$ .

Keywords: Antimicrobial test, *Andrographis paniculata* Nees., *Helicobacter pylori*



## DAFTAR ISI

	Halaman
Lembar Pengesahan .....	iv
Ucapan Terima Kasih .....	ix
Ringkasan .....	x
Abstrak.....	xi
Abstract .....	xii
Daftar Isi .....	xii
Daftar Ringkasan.....	xv
Daftar Tabel .....	xvi
Daftar Gambar .....	xvii
Daftar Lampiran .....	xix
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1 Ekstrak Etanol <i>Andrographis paniculata</i> Nees.....	7
2.2 Sambiloto ( <i>Andrographis paniculata</i> Nees).....	7
2.3 <i>Helicobacter pylori</i> .....	10
2.4 Cara penentuan aktivitas mikroba.....	18
2.5 Tinjauan tentang Antimikroba .....	20
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
3.1 Kerangka Konseptual .....	22
3.2 Kerangka Operasional Penelitian .....	24
3.3 Hipotesis Penelitian .....	26
<b>BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN .....</b>	<b>27</b>
4.1 Rancangan Penelitian .....	27
4.2 Populasi, Sampel dan Besar Sampel.....	28
4.3 Variabel Penelitian .....	29
4.4 Bahan Penelitian .....	31
4.5 Instrumen Penelitian .....	31

4.6 Lokasi dan Waktu .....	32
4.7 Prosedur Pengumpulan Data.....	32
4.8 Analisis Data .....	36
<b>BAB 5 HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN.....</b>	<b>37</b>
5.1 Hasil Penelitian .....	37
5.2 Analisis Penelitian .....	42
<b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>	<b>50</b>
<b>BAB 7 PENUTUP .....</b>	<b>58</b>
7.1 Kesimpulan .....	58
7.2 Saran .....	58
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>59</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>63</b>

**DAFTAR RINGKASAN**

ATCC	: America Type culture Collection
BAP	: <i>Blood Agar Plate</i>
DMSO	: <i>Dimetyl Sulfo Oxide</i>
DNA	: <i>Deoxy Nucleic Acid</i>
KHM	: Kadar hambat minimal
KBM	: Kadar bunuh minimal
MBC	: <i>Minimal bactericidal concentration</i>
MIC	: <i>Minimal inhibition concentration</i>
NCCLS	: <i>Then national commitee for clinical laboratory standards</i>
pH	: potensial hidrogen
PPI	: <i>Proton pump inhibitor</i>
PPP	: Penghambat pompa proton
RNA	: <i>Ribo nucleic acid</i>
TSB	: <i>Trypticase soy brooth</i>
μG	: Mikrogram

## DAFTAR GAMBAR

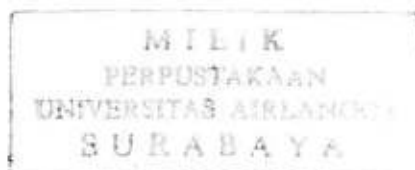
	Halaman
Gambar 2.1 : <i>Andrographis paniculata</i> Nees.....	8
Gambar 2.2 : Ilustrasi Bentuk <i>Helicobacter pylori</i> berasal biakan BAP	12
Gambar 2.3 : Proses terjadinya ulkus oleh <i>Helicobacter pylori</i> .....	14
Gambar 2.4 : Membran sel bakteri gram negatif .....	21
Gambar 3.1 : Kerangka Konseptual Penelitian .....	23
Gambar 3.2 : Kerangka Operasional.....	25
Gambar 4.1 : Bagan Rancangan Penelitian .....	27
Gambar 4.2 : Prosedur uji antimikroba metode dilusi tabung.....	35
Gambar 5.1 : Hasil pengecatan Gram perbesaran 1000 x .....	38
Gambar 5.2 : H. Pylori berbentuk kokoid pada media subkultur.....	38
Gambar 5.3 : Grafik hasil penghitungan koloni <i>H. pylori</i> .....	40
Gambar 5.4 : Grafik hasil penghitungan persentase kokoid <i>H. pylori</i> .....	41
Gambar 5.5 : Grafik kadar keasaman (pH) media TSB.....	42

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran 1 : Surat ijin melakukan penelitian dari Pascasarjana Unair	63
Lampiran 2 : Surat ijin melakukan penelitian dari RSUD Mataram....	64
Lampiran 3 : Surat ijin melakukan penelitian dari Jurusan Analis .....	65
Lampiran 4 : Surat Hasil Determinasi dari Fakultas Pertanian Unram	66
Lampiran 5 : Gambar hasil pengamatan pada media.....	67
Lampiran 6 : Gambar pembuatan ekstrak etanol <i>A. paniculata</i> Nees...	69
Lampiran 7 : Hasil penghitungan koloni dan persentase kokoid .....	70
Lampiran 8 : Hasil Analisis statistik .....	74

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.4 : <i>Mc Farland Nephelometer Standards</i> .....	31
Tabel 5.1 : Persentase kokoid dan jumlah koloni <i>H. pylori</i> dari media TSB ...	39
Tabel 5.2 : Rata-rata dan simpangan baku koloni <i>H. pylori</i> setelah pemaparan ekstrak etanol <i>A. paniculata</i> Nees.....	43
Tabel 5.3 : Uji t-test ekstrak etanol <i>A. paniculata</i> Nees.7.000 µG/mL.....	44
Tabel 5.4 : Uji t-test ekstrak etanol <i>A. paniculata</i> Nees.6.000 µG/mL .....	44
Tabel 5.5 : Uji t-test ekstrak etanol <i>A. paniculata</i> Nees 0 µG/mL.....	45
Tabel 5.6 : Rata-rata dan simpangan baku persentase kokoid <i>H. pylori</i> setelah pemaparan ekstrak etanol <i>A. paniculata</i> Nees .....	46
Tabel 5.7 : Uji t-test ekstrak etanol <i>A. paniculata</i> Nees. kadar 7.000µ G/mL.....	47
Tabel 5.8 : Uji t-test ekstrak etanol <i>A. paniculata</i> Nees. kadar 6.000 µG/mL.....	48
Tabel 5.9 : Uji t-test ekstrak etanol <i>A. paniculata</i> Nees. kadar 0 µG/mL.....	48
Tabel 5.10 : Uji t-test ekstrak etanol kadar amoksisillin 1 µG/mL.....	49



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

*Helicobacter pylori*, adalah bakteri pleomorfik yang berbentuk "S" atau spiral, kurva dan berbentuk kokoid, bersifat Gram negatif yang berkolonisasi di epitel permukaan dinding lambung. Panjang bakteri ini 2-9 mikrometer dengan lebar 0,5 mikrometer. *H. pylori* menyebabkan terjadinya berbagai penyakit saluran cerna bagian atas (termasuk gastritis, sakit maag dan luka lambung) maupun usus duabelas jari. Berbagai penelitian telah dilakukan termasuk cara deteksi dan eradikasi (pemberantasan) *H. pylori* yang paling efektif (Marshall and Warren, 1984; Rathbone and Heatley, 1989; Logan and Walker, 2002).

Data epidemiologi menunjukkan ada hubungan antara radang lambung kronis dengan transformasi maligna pada jaringan radang. *H. pylori* telah diidentifikasi sebagai faktor etiologi kanker lambung. Suatu studi epidemiologik multisenter dari "The Eurograst Group" menyimpulkan bahwa resiko terkena kanker lambung pada populasi dengan infeksi *H. pylori* 100% adalah 6 kali lipat dibanding dengan populasi tanpa infeksi *H. pylori* (Jekti, 2003).

Prevalensi infeksi *H. pylori* di Indonesia yang merupakan hasil beberapa penelitian menggunakan metode seroepidemiologik pada tahun 1995 berkisar antara 36-41% dan tahun 2000 sebesar 53,8%. Di Mataram, NTB tingginya angka penderita *Helicobacter pylori* telah dilaporkan, hasil penelitian menggunakan serum untuk mendeteksi Antibodi pada 392 orang donor sehat, 134 penderita rawat inap di bangsal penyakit dalam RSUD Mataram dan 100 orang ibu hamil di RSUD Mataram. Dari hasil penelitian tersebut didapatkan anti *Helicobacter pylori* positif 53% pada donor sehat

dan 51,5% pada penderita rawat inap di bangsal penyakit dalam RSUD Mataram dan 63% pada ibu hamil (Wenny dkk., 1994).

Hasil penelitian Soewignjo dan kawan-kawan tahun 1992 di Mataram dan Denpasar, menunjukkan sudah terjadi immunitas isolat *Helicobacter pylori* terhadap antibiotika antara lain tetrasiklin, amoksisilin, eritromisin (Soemoharjo, 2009).

Penggunaan antibiotik dalam eradikasi *H. pylori* memiliki efek yang dapat menyebabkan kuman menjadi resisten terhadap antibiotik dan adanya krisis global menyebabkan biaya pengobatan semakin mahal, oleh sebab itu diperlukan alternatif pengobatan baru untuk mengontrol pertumbuhan dan infeksi yang disebabkan oleh bakteri *H. pylori* seperti obat-obat tradisional yang potensial.

Departemen Kesehatan telah mencanangkan program pengembangan obat tradisional ke arah obat kelompok fitoterapi, sebagai pelaksanaan GBHN yang intinya menyatakan bahwa dalam rangka meningkatkan pelayanan kesehatan secara lebih luas dan merata, sekaligus memelihara dan mengembangkan warisan budaya bangsa, perlu terus dilakukan penggalian, penelitian, pengujian, dan pengembangan obat-obat tradisional (Sembiring, 2007).

Obat herbal tradisional memiliki keunggulan daripada obat biasa, karena memiliki kemampuan memperbaiki aktivitas biomolekuler tubuh dan dapat melakukan biosintesis kombinasi dari senyawa metabolit sekunder. Obat herbal tradisional dapat meningkatkan dan memperbaiki ekspresi gen dalam tubuh. Sehingga hormon dan sistem imun tubuh akan bekerja lebih optimal. Obat yang terbuat dari bahan kimia biasa tidak memberikan kesembuhan total karena hanya memperbaiki beberapa fungsi sistem tubuh. Obat herbal tradisional memiliki kemampuan memperbaiki keseluruhan sistem, karena bekerja dalam lingkup sel dan molekuler (Almatsier dan Sudiby, 2001).



*Andrographis paniculata* Nees. (sambiloto/raja pahit) berasal dari Asia, India, Cina dan Pakistan, dan mengandung andrografolida sejenis *diterpene lactone* (Rajaram *et. al.*, 2000). Khasiat tanaman *Andrographis paniculata* Nees. adalah antimalaria, tonikum (penambah nafsu makan), *anodyne* (pemati rasa nyeri), *astringent*, diabetes, influenza, bronkitis, piles (wasir), *gonorrhoea*, hepatomegali, penyakit kulit, demam dan cacingan, bahkan berguna sebagai antidiare, antidisentri, dan menyembuhkan kolera yang merupakan penyakit yang menyerang sistem gastrointestinal (Madjid, 2004).

Ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri gram negatif seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, dan *Klebsiella pneumoniae* (Zaidan *et. al.*, 2005), sedangkan secara invitro mampu menghambat pertumbuhan, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Shigella sp.* (WHO, 2007).

Efek perubahan morfologi *H. pylori* oleh beberapa antibiotik menjadi bentuk kokoid telah banyak diteliti dan disimpulkan bahwa perubahan secara in vitro juga sebagai indikasi perubahan *H. pylori* didalam mukosa lambung manusia oleh pengobatan (Jekti, 2003). Bakteri *H. pylori* merupakan bakteri Gram negatif yang susunan dinding selnya memiliki yang lebih kompleks daripada sel bakteri Gram positif dan mengandung sejumlah besar lipoprotein, lipopolisakarida, dan lemak (Schlegel, 1993). Adanya lapisan lipoprotein, lipopolisakarida, dan lemak tersebut mempengaruhi aktivitas kerja dari zat antibakteri, cara kerja dari golongan antibiotik  $\beta$  lactam memiliki sifat pelarut lemak yang mendenaturasikan protein secara dehidrasi sehingga membran sel akan rusak dan terjadi inaktivasi enzim-enzim, akibatnya terjadi perubahan struktur membran sel yaitu rusaknya struktur tubular dari

bagian-bagian inti sehingga sel menjadi kehilangan bentuk kemudian morfologi *H. pylori* berubah menjadi bentuk kokoid (O'Rourke and Bode, 2000).

Cara kerja ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. sebagai antibakteri hingga kini belum diketahui dengan jelas. Kemungkinan aktifitas antibakteri ekstrak etanol *A. paniculate* Nees. didapatkan dari kandungan kimia dari daun dan percabangan yang mengandung diterpen lakton benzil alkohol yang merupakan suatu turunan alkohol. Cara kerja dari benzil alkohol hampir sama dengan alkohol. Alkohol memiliki sifat pelarut lemak yang mendenaturasikan protein sehingga membran sel akan rusak dan terjadi inaktivasi enzim-enzim (Anonim<sup>1</sup>, 2003).

Berdasarkan potensi *A. paniculata* Nees. sebagai obat alternatif terhadap *H. pylori* yang patogen sampai saat ini belum di teliti sehingga penelitian mengenai " Uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. terhadap *Helicobacter pylori*" perlu dilakukan.

Dalam penelitian ini akan digunakan ekstrak etanol tanaman *A. paniculate* Nees. yang diperoleh dengan mengekstraksi serbuk halus dari seluruh bagian tanaman yang telah dikeringkan pada suhu kamar. Metode pengujian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah metode dilusi tabung dan untuk pertumbuhan *H. pylori*. menggunakan media *trypticase soy broth* (TSB) yang bertujuan untuk mengetahui aktifitas ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. terhadap pertumbuhan *H. pylori* sesuai dengan metode Kusters *et, al.*, 1997. Sedangkan untuk penelitian lebih lanjut dilakukan pengamatan koloni dan pengamatan secara mikroskopis untuk melihat persentase terbentuknya kokoid *H. pylori*.

Hasil penelitian bermanfaat sebagai informasi kesehatan tentang obat alternatif yang berasal dari sumber daya alam untuk penanggulangan infeksi oleh *H. pylori* dan memanfaatkan *Andrographis paniculata* Nees.

## 1.2 Rumusan Masalah

Penelitian ini dirancang untuk menjawab masalah-masalah sebagai berikut.

1. Apakah ada pengaruh ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. terhadap pertumbuhan koloni dan pembentukan kokoid *Helicobacter pylori* ?
2. Pada konsentrasi berapakah ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* ?
3. Pada konsentrasi berapakah ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. membunuh *Helicobacter pylori* ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan koloni dan persentase kokoid *Helicobacter pylori*.

### 1.3.2 Tujuan khusus

1. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. yang menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. yang membunuh *Helicobacter pylori*.
3. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. terhadap jumlah koloni *Helicobacter pylori*.
4. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. terhadap jumlah persentase kokoid *Helicobacter pylori*.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Memperoleh informasi ilmiah bahwa ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. mampu membunuh *Helicobacter pylori* sehingga potensial sebagai pengobatan alternatif.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees.

Pembuatan ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. menggunakan seluruh bagian tanaman kemudian dicuci dengan menggunakan air dan dikeringkan pada temperatur ruangan, selanjutnya 1 kilogram bahan yang sudah kering kemudian dihaluskan. Sebanyak 500 Gram serbuk dan ditambahkan 500 mL etanol 96% dicampur merata dan diendapkan pada suhu ruangan selama 24 jam. Bagian atas dipisahkan kemudian disaring menggunakan kertas saring *Whatman* no.1, kemudian hasil saringan dikumpulkan pada *conical flask* dan didiamkan selama 2 hari sampai benar-benar terekstraksi. Cairan dikeringkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Ekstrak yang terbentuk dikumpulkan dan disimpan pada temperatur ruangan dan apabila akan digunakan dilarutkan dengan DMSO 10% (Zaidan *et. al.*, 2005).

#### 2.2 Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.)

##### 2.2.1 Taksonomi

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisio	: Spermatophyta
Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Asteridae
Ordo	: Scrophulariales
Famili	: Acanthaceae
Genus	: <i>Andrographis</i>
Spesies	: <i>Andrographis paniculata</i> Nees. (Santa, 1996)



Gambar 2.1 *Andrographis paniculata* Nees.

### 2.2.2 Lokasi geografis, morfologi, persyaratan tumbuh dan nama lokal

Sambiloto tumbuh liar di tempat terbuka, seperti di kebun, tepi sungai, tanah kosong yang agak lembab, atau di pekarangan. Tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian 700 meter di atas permukaan laut. Terna semusim, tinggi 50-90 cm, batang disertai banyak cabang berbentuk segi empat (kwadrangularis) dengan nodus yang membesar. Daun tunggal, bertangkai pendek, letak berhadapan bersilang, bentuk lanset, pangkal runcing, ujung meruncing, tepi rata, permukaan atas hijau tua, bagian bawah hijau muda, panjang 2-8 cm, lebar 1-3 cm. Perbungaan rasemosa yang bercabang membentuk malai, keluar dari ujung batang atau ketiak daun. Bunga berbibir berbentuk tabung; kecil-kecil, warnanya putih bernoda ungu. Buah kapsul berbentuk jorong, panjang sekitar 1,5 cm, lebar 0,5 cm, pangkal dan ujung tajam, bila masak akan pecah membujur menjadi 4 keping. Biji gepeng, kecil-kecil, warnanya coklat muda. Perbanyakkan dengan biji atau setek batang (Santa, 1996).

Syarat tumbuh pada ketinggian 1-700 m di atas permukaan laut. Curah hujan tahunan 2.000 mm-3.000 mm/tahun yaitu suatu keadaan hujan dengan curah hujan tinggi (di atas 100 mm/bulan) selama 4-7 bulan, dan curah hujan rendah (di bawah 60 mm/bulan). Suhu udara 25°C-32°C. Kelembapan dan penyinaran sedang. Memerlukan tekstur tanah yang berpasir dengan drainase baik, dengan kedalaman air tanah 200 cm-300 cm dari permukaan tanah. Kedalaman perakaran di atas 25 cm

dari permukaan tanah (pH) 5,5–6. Nama lokal Ki oray, ki peurat, takilo (Sunda), bidara, sadilata, sambilata, takila (Jawa), pepaitan (Sumatra), Chuan xin lian, yi jian xi, lan he lian (China), xuyen tam lien, cong cong (Vietnam), kirata, mahatitka (India/Pakistan), creat, green chiretta, halviva, kariyat (Inggris). Bagian yang digunakan ialah seluruh bagian tanaman. Dipanen sewaktu tumbuhan ini mulai berbunga. Setelah dicuci, dipotong-potong seperlunya lalu dikeringkan (Anonim<sup>1</sup>, 2003).

### 2.2.3 Komposisi, sifat kimia, dan efek farmakologis

Herba ini rasanya pahit, dingin, masuk meridian paru, lambung, usus besar, dan usus kecil. Kandungan kimia dari daun dan percabangan mengandung lakton yang terdiri dari deoksiandrografolida, andrografolida (zat pahit), neoandrografolida, 14-deoksi-11-12-didehidroandrografolida, dan homoandrografolida. Juga terdapat flavonoid, alkana, keton, aldehid, mineral (kalium, kalsium, natrium), asam kersik, dan damar. Flavoid diisolasi terbanyak dari akar, yaitu polimetoksisflavon, andrografin, panikulin, mono-0- metil, dan apigenin-7, 4-dimetileter (Anonim<sup>1</sup>, 2003).

Zat aktif andrografolida terbukti berkhasiat sebagai hepatoprotektor dan sangat efektif untuk pengobatan penyakit infeksi. Herba ini berkhasiat bakteriostatik pada *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Shigella dysenteriae*, dan *Escherichia coli* (Chang and Bur, 1965).

Dari berbagai laporan penelitian, bioaktivitas andrografolida mempunyai berbagai efek farmakologi, antara lain sebagai imunomodulator yaitu menstimulasi produksi antibodi dan penurunan reaksi alergi (Widyawaruyanti, 1999; Puri *et al.*, 1993; Hariati, 1991; Madjid, 2004). Selain itu senyawa andrografolida mempunyai efek sitotoksitas pada kultur sel rabdomiosarkoma (Dwiputro, 2000; Madjid, 2004).



Senyawa andrografolida dan diterpen lainnya dari *A. paniculata* Nees. menunjukkan aktivitas yang potensial sebagai *differentiation inducing* sel terhadap sel myeloid tikus (Matsuda *et. al.*, 1994).

#### 2.2.4 Hasil penelitian ekstrak *Andrographis paniculata* Nees. terhadap bakteri patogen

Menurut Sahalan *et. al.*, (2007) bahwa *minimum inhibitory concentration* (MIC) dari ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees.. terhadap beberapa bakteri gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 3,13 mG/mL, *Escherichia coli* sebesar 1,56 mG/mL, *Klebsiella pneumoniae* sebesar 12,5 mG/mL, sedangkan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 6,25 mG/mL, *Escherichia coli* sebesar 3,31 mG/mL, *Klebsiella pneumoniae* sebesar 25 mG/mL.

Pada ekstrak air dari *Andrographis paniculata* Nees. mampu menghambat *E. coli* dengan MIC 2 $\mu$ G/disc (Zaidan *et. al.*, 2006).

### 2.3 *Helicobacter pylori*

#### 2.3.1 Taksonomi *Helicobacter pylori*

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Epsilon Proteobacteria
Order	: Campylobacterales
Family	: Helicobacteraceae
Genus	: <i>Helicobacter</i>
Spesies	: <i>Helicobacter pylori</i>

(Marshall and Warren, 1984; Holt *et. al.*, 1994).



### 2.3.2 Sejarah

Nobel fisiologi atau kedokteran tahun 2005 dianugerahkan kepada dua warga Australia, J. Robin Warren dan Barry J. Marshall karena pada tahun 1982, Warren, pada Royal Perth Hospital, Australia, mengamati koloni bakteri di bagian bawah lambung (antrum) yang ternyata pada 50% pasien, dengan peradangan pada bagian lendir lambung selalu dijumpai adanya koloni *H. pylori*. Kemudian, Warren bersama-sama dengan Marshall yang ahli klinis meneliti lebih lanjut temuan itu dengan mempelajari biopsi 100 pasien. Marshall berhasil membiakkan bakteri yang hampir ditemukan pada semua pasien radang lambung, tukak duabelas jari, atau tukak lambung. Bakteri ini kemudian dikenal sebagai *Helicobacter pylori*.

Dogma utama penyebab penyakit tukak lambung dan usus duabelas jari yang dipercaya selama ini adalah ketegangan dan gaya hidup. Namun, kini dogma itu runtuh dan tak dapat dipungkiri lagi bahwa *Helicobacter pylori* adalah bakteri penyebab lebih dari 90 persen luka usus duabelas jari dan 80 persen tukak lambung. Bakteri patogen ini menginfeksi tubuh seseorang melalui oral, dan sangat sering ditularkan dari ibu ke bayi tanpa ada penampakan gejala (asimptomatik). Sekali bersarang, *Helicobacter pylori* dapat bertahan di perut selama hidup seseorang. Namun, sekitar 10-15% individu terinfeksi, kadang-kadang akan mengalami penyakit tukak lambung atau usus duabelas jari. Kebanyakan luka, lebih umum berlangsung di usus duabelas jari ketimbang di lambung (Marshall and Warren, 1984; Rathbone *et al.*, 1989; Logan and Walker, 2001; Jekti, 2003 ).

### 2.3.3 Karakteristik *Helicobacter pylori*

Sampai saat ini terdapat 20 species dari Genus *Helicobacter*, sedangkan spesies yang ditemukan pada mukosa lambung manusia adalah *Helicobacter pylori*. Bakteri ini bersifat Gram negatif, dengan ukuran panjang rata-rata 2,9 mikrometer

dilapisi pembungkus (mantel) yang tipis, dengan diameter 0,8 mikrometer mempunyai 4–5 buah flagella dengan bulbus di ujung, panjang flagella 3–5 mikron dengan diameter 30–35 nm. *Helicobacter pylori* berbentuk heliks, motil dan bersifat mikroaerofilik. Bakteri ini bersifat pleomorfik karena dapat berbentuk “S” atau spiral, kurva dan bentuk kokoid. Gambaran bentuk bakteri dapat dilihat pada gambar 2.2 (Marshall and Warren, 1984; Holt *et al.*, 1994; Jekti, 2003).



Gambar 2.2 Bentuk *Helicobacter pylori* pada sediaan dengan pengecatan Gram dilihat di mikroskop perbesaran 1000 x koloni diambil dari biakan BAP (blood agar plate)

Genus *Helicobacter* berbentuk batang spiral, setelah 3 hari berubah mejadi kokoid, dan diiringi dengan penurunan jumlah sel. Terjadi kontroversi bentuk kokoid apakah merupakan sel yang dapat dikultur, tidak dapat dikultur atau bentuk kuman yang mati. Sarafnejad *et al.*, (2007) mengemukakan bahwa *H. pylori* dapat berbentuk 2 macam yaitu spiral dan kokoid. Bentuk kokoid terjadi bila bakteri ini berada pada kondisi yang tidak menguntungkan seperti pH rendah, masa inkubasi yang diperpanjang, peningkatan oksigen, dan akibat pengaruh antibiotik. Bentuk bakteri ini *non culturable* dan diperkirakan bentuk kokoid adalah bentuk sel mati. *Helicobacter*

*pylori* menunjukkan reaksi positif terhadap oksidase, katalase, nitrat reduktase, dan urease, tetapi reaksi negatif terhadap glukosa, maltosa, laktosa, manitol dan sukrosa. *Helicobacter pylori* juga tidak membentuk indol dari triptopan dan tidak memproduksi H<sub>2</sub>S dari triple sugar iron (Jekti, 2003, Fche, 2007).

Penelitian Berry (1995) mengenai perubahan morfologi *H. pylori* terhadap amoksilin menghasilkan dominasi bentuk kokoid setelah inkubasi 6 jam dengan konsentrasi 0,1 µG/mL, yang pada kontrol normal baru terbentuk pada 72 jam

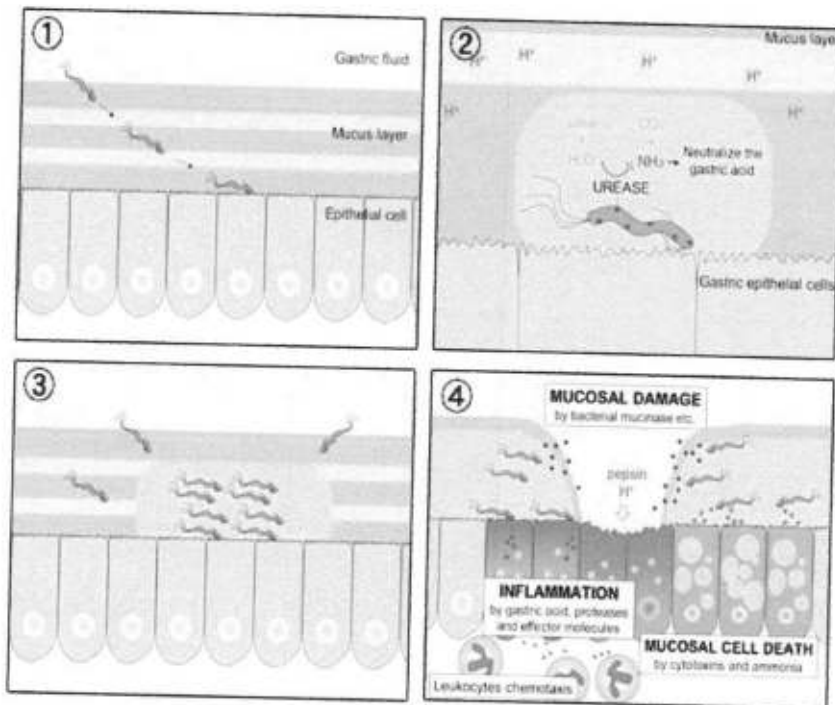
### 2.3.4 Patogenitas

*Helicobacter pylori* menempel di permukaan dalam tukak lambung melalui interaksi-interaksi antara membran bakteri lektin dan oligosakarida spesifik dari glikoprotein membran sel-sel epitel lambung. Mekanisme utama dari bakteri ini dalam menginisiasi pembentukan luka adalah melalui produksi racun VacA (Morgan and Leunk, 1989).

Racun VacA bekerja menghancurkan sel-sel tepi lambung melalui berbagai cara, melalui pengubahan fungsi endolisosom, peningkatan permeabilitas parasel, pembentukan pori dalam membran plasma, atau apoptosis (pengaktifan bunuh diri sel) (Morgan DR and RD Leunk, 1989).

Lokasi infeksi *Helicobacter pylori* di bagian bawah lambung dan mengakibatkan peradangan hebat, yang sering kali disertai dengan komplikasi pendarahan dan pembentukan lubang-lubang. Peradangan kronis pada bagian distal lambung meningkatkan produksi asam lambung dari bagian badan atas lambung yang tidak terinfeksi. Ini menambah perkembangan tukak lebih besar di usus duabelas jari. Pada beberapa individu, *Helicobacter pylori* juga menginfeksi bagian badan lambung. Bila kondisi ini sering terjadi, menghasilkan peradangan yang lebih luas yang tidak hanya mempengaruhi ulkus di daerah badan lambung tetapi juga kanker lambung.

Peradangan di lendir lambung juga merupakan faktor risiko tipe khusus tumor limfa (*lymphatic neoplasm*) di lambung, atau disebut dengan limfoma MALT (*mucosa associated lymphoid tissue*). Infeksi *Helicobacter pylori* berperan penting dalam menjaga kelangsungan tumor. Limfoma-limfoma dapat merosot saat bakteri-bakteri itu dibasmi dengan antibiotik. *Helicobacter pylori* hanya terdapat pada manusia dan telah menyesuaikan diri di lingkungan lambung. Hanya sebagian kecil individu terinfeksi berkembang menjadi penyakit lambung. Bakteri *Helicobacter pylori* sendiri sangat beragam dan galur-galuranya berbeda dalam banyak hal, seperti perekatan ke lendir lambung dan kemampuan menimbulkan peradangan. Walau pada satu individu terinfeksi, semua bakteri *Helicobacter pylori* tidak identik, dan selama jalur infeksi kronis, bakteri menyesuaikan diri terhadap perubahan kondisi-kondisi di lambung (Morgan and Leunk, 1989).



Gambar 2.3 Proses terjadinya Ulkus oleh *Helicobacter pylori* (Logan and Walker, 2001)

### 2.3.5 Pemeriksaan

Berbagai pemeriksaan penunjang dapat dilakukan untuk membuktikan infeksi *Helicobacter pylori* baik yang bersifat non-invasif maupun invasif, antara lain pemeriksaan IgG, *urea breath test* (UBTs), dan pemeriksaan bakteri antigen *H. pylori*, (Marshall and Warren, 1984), UBTs dan pemeriksaan bakteri antigen *H. pylori* pada tinja (stool antigen) merupakan jenis pemeriksaan diagnostik pilihan pada anak karena tidak invasif dan mempunyai nilai akurasi yang tinggi. Sedangkan pemeriksaan IgG pada anak mempunyai nilai akurasi yang lebih rendah. Pemeriksaan endoskopi baru dilakukan bila diduga ada kelainan organik seperti ulkus sebagai penyebab keluhan tersebut.

Teknik pembiakan kuman *H. pylori* yang bersifat mikroaerofilik tidak terlalu sulit, tetapi membutuhkan cara dan syarat-syarat khusus yang agak berbeda dengan kuman lain yaitu suasana mikroaerofilik. Yang paling sering dipakai untuk menumbuhkan kuman *H. pylori* adalah *anaerobic jar* dengan katalisator paladium. Kemudian ke dalam jar dimasukkan *Campylobacter gas kit* ditambah air. Pertumbuhan kuman *H. pylori* memerlukan suasana yang lembab. Suasana yang hampir serupa dapat dibuat menggunakan *anaerobic jar* dengan *anaerobic gas kit* tetapi tanpa katalisator paladium. Media yang paling sering dipakai adalah lempeng agar darah yang mengandung 7% darah. Karena kuman *H. pylori* tumbuh lambat, maka perlu diberikan suplemen antibiotik untuk menekan kuman kontaminan tapi tidak menekan pertumbuhan kuman *H. pylori*. Yang paling banyak dipakai adalah suplemen Skirrow yang mengandung *trimetoprim*, *vankomisin* dan *polimiksin-B*. Kuman kontaminan yang sering mengganggu dan *tetrasiklin* kebal terhadap antibiotik dalam suplemen Skirrow adalah *Pseudomonas aeruginosa* suplemen Skirrow juga dicampurkan satu antibiotik lagi yaitu *cefsulodin*, suatu derivat *cephalosporin* yang

dikhususkan untuk kuman *Pseudomonas*, selain itu biakan kuman *H. pylori* sering terganggu oleh adanya jamur maka ke dalam media ditambahkan *amphotericin B* (*Fungizone*) 5 mg/liter. Selain suplemen *Skirrow* suplemen lain yang banyak di pakai adalah suplemen *Dent* yang terdiri dari trimetoprim, vankomisin, sefsulodin dan *amphoterscin B*. (Dent *et. al.*, 1988)

### 2.3.6 Prinsip pengobatan dan terapi

Tujuan pengobatan penyakit saluran cerna yang berhubungan dengan infeksi *Helicobacter pylori* untuk menghilangkan gejala, menyembuhkan penyakit dengan cara pemberian obat penghambat sekresi asam dan eradikasi *Helicobacter pylori* dengan pemberian antibiotik. Peran obat penghambat pompap proton (PPP) atau proton pump inhibitor (PPI), tidak hanya dalam penyembuhan ulkus tetapi juga berpengaruh pada tingkat aktivitas antibiotik yang akan dipakai dalam regimen eradikasi.

Rata-rata pH di lambung adalah 1,4 dan dengan pemberian PPI dapat meningkatkan pH sekitar 3,0-4,0 selama 16 jam sehari, dan meningkatnya pH lambung ini dapat menimbulkan autolisis dari bakteri Daftar obat-obatan yang dipakai untuk eradikasi *Helicobacter pylori* berkembang dalam beberapa dekade terakhir. Didapatkan data eradikasi *Helicobacter pylori* pada pasien ulkus duodenum (tukak usus dua belas jari) selain memperbaiki/meningkatkan hasil klinis juga menghemat biaya. Target eradikasi adalah tidak adanya mikroorganisme *Helicobacter pylori* pada 4 minggu setelah pengobatan lengkap selesai (Soemoharjo, 2009)

### 2.3.7 Rekomendasi mutakhir

Menurut Jekti (2003) dan Fitch (2007) bahwa terdapat metode untuk pengobatan *H. pylori* yaitu: (a) terapi tradisional yang mengandung bismuth: regimen ini terdiri dari bismut-subsalisilat, metronidasol dan tetrasiklin selama 14 hari, dengan



tingkat eradikasi 85%. Pada tukak peptik ditambahkan obat antisekresi asam lambung untuk mempercepat hilangnya keluhan dan penyembuhan tukak.(b) *Dual therapy* terdiri dari klaritromisin ditambah dengan PPI (Omeprazol) atau ranitidin selama 14 hari, dengan tingkat eradikasi 65-80%, dan (c) Obat penghambat pompa proton (PPP) dikombinasi dengan terapi *triple*: kombinasi antara 2 macam antibiotik dengan PPP merupakan regimen yang paling efektif (sekitar 90%). Yang dipakai adalah kombinasi klaritromisin dengan amoksisilin atau metronidasol ditambah obat penghambat pompa proton (omeprazol, lansoprasol atau pantoprasol) selama 7-14 hari (Jekti, 2003; Fitch, 2007).

### 2.3.8 Efek agen antimikroba secara invitro

Efek pada ultrastruktur dari *H. pylori* yang disebabkan oleh beberapa jenis agent antimikroba yang berbeda telah ditemukan. Jenis antibiotic  $\beta$  laktam menghasilkan bentuk sel yang sperikal, sedangkan pengamatan yang lebih detail memperlihatkan formasi dinding sel "blebs" (menggembung) yang terpisah dari saluran-saluran membran, struktur *tubular*, dan bagian pelengkap luar membrane. Terjadinya perubahan morfologi tersebut karena ikatan penisilin dengan protein pada *H. pylori* yang menyebabkan terhambatnya sintesa peptidoglikan pada enzim. Berbagai postlat dari invtro menggambarkan perubahan *H. pylori* pada mukosa lambung dengan perlakuan berbagai antibiotik (O'Rourke and Bode, 2000), misalnya: cara kerja dari uji dengan monolaktam asteronam memberikan hasil yang berbeda yaitu menyebabkan terbentuknya filamen di dalam *H. pylori*, antibiotik, makrolida menyebabkan bagian tengah sel menjadi jernih dengan rusaknya ribosom, bismut sitrat menyebabkan sel menjadi terfragmentasi dan lisis. Dan perlakuan golongan pompa proton yang menggunakan ilansporasol menghasilkan bentuk sel yang memanjang.

## 2.4 Cara Penentuan Aktivitas Antimikroba

Penentuan aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan menggunakan tiga metode dilusi, difusi dan bioautografi.

Metode Penyebaran (*Diffusion method*) Metode penyebaran terdiri dari metode cakram kertas (*paper disk method*), metode cairan dalam cincin (*Ring diffusion method*), dan metode lubang (*hole plate method*). Metode cakram kertas dilakukan dengan cara menanam bakteri pada lempeng Agar yang sesuai, kemudian cakram ditetesi dengan bahan uji dan diletakkan pada permukaan Agar, atau dapat juga bahan uji dimasukkan dalam lubang Agar. Media yang berisi inokulum bakteri dari bahan uji diinkubasi pada suhu 36–37°C selama 12–24 jam. Aktivitas antibakteri dapat dilihat dengan mengukur diameter zona hambatan pertumbuhan disekitar cakram atau lubang Agar. Keuntungan metode difusi adalah jumlah sampel sedikit dan dalam satu *petri dish* dapat berisi 5–6 sampel sekaligus untuk satu jenis mikroorganisme (Nikmah, 2004; Berghe and Vlietinck, 1991; Paxton, 1991)

Metode pengenceran (*dilution method*). Metode pengenceran terdiri dari metode pengenceran Agar (*agar dilution method*), metode pengenceran tabung (*tube dilution method*), metode pengenceran mikro (*micro dilution method*). Metode ini dilakukan dengan cara: sejumlah antibiotik dipersiapkan dalam konsentrasi cair (*broth*) yang menurun melalui teknik pengenceran serial, kemudian diinokulasi dengan suspensi bakteri yang diuji. Cara pengenceran serial adalah cara mengencerkan bahan uji dengan media cair menjadi kelipatan dua secara bertahap sehingga didapatkan beberapa konsentrasi dengan kelipatan setengahnya. Selanjutnya diinokulasi dengan suspensi bakteri dan diinkubasi pada suhu 36–37°C selama 12–24 jam, kemudian diamati hambatan pertumbuhan bakteri dengan membandingkan kekeruhan atau pertumbuhan dengan kontrol media yang mengandung bakteri..



Kerentanan mikroorganisme ditentukan setelah inkubasi melalui pengamatan pertumbuhan. Pertumbuhan yang teramati pada konsentrasi obat antibakteri terendah yang merupakan pengukuran efek bakteriostatik dan umumnya disebut sebagai kadar hambat minimal (KHM) atau *minimal inhibition concentration* (MIC). Dengan menggunakan media Agar, teknik ini dapat dilanjutkan dengan penentuan bakterisidal dari antimikroba atau kadar bunuh minimal (KBM) atau *minimal bactericidal concentration* (MBC). Konsentrasi penghambatan minimal didapatkan pada tabung yang jernih pada pengenceran tertinggi. Metode ini digunakan untuk mengetahui harga kadar hambatan minimal suatu bahan antibakteri (Nikmah, 2004; Berghe and Vlietick, 1991; Paxton 1991).

Metode bioautografi (*bioautography method*) Metode ini sangat berguna untuk mengetahui senyawa baru atau senyawa yang belum diketahui aktivitas antibakterinya. Bahan uji dipindahkan kedalam cawan petri yang berisi Agar dan inokulum bakteri melalui proses difusi, yang terdiri dari metode bioautografi kontak (*contact bioautography method*), dan metode bioautography langsung (*direct bioautography method*), metode bioautography pencelupan (*immersion method*).

Bioautografi kontak menggunakan prinsip difusi senyawa yang terpisah dengan kromatografi lapis tipis atau kromatografi kertas. Lempeng kromatografi diletakkan pada permukaan Agar yang telah diinokulasi bakteri. Setelah kurang lebih 30 menit lempeng dipindahkan, diinkubasi dan diamati senyawa antibakteri yang akan berdifusi pada lapisan Agar dan menghambat pertumbuhan bakteri. Pada bioautografi langsung, zona hambatan diamati secara langsung pada lempeng kromatografi yang telah disemprot suspensi bakteri dalam media cair, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai. Sedangkan pada metode bioautografi pencelupan pada media yang telah mengandung bakteri ditempelkan pada lempeng kromatografi setelah

mengeras, diinkubasi dan dilakukan pengamatan diameter hambatan (Nikmah, 2004; Berghe and Paxton 1991).

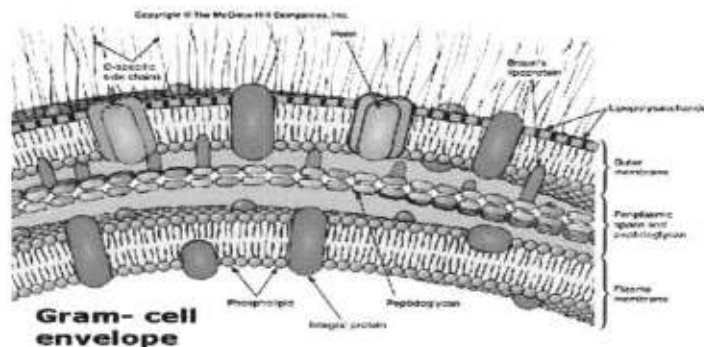
## 2.5 Tinjauan tentang Antimikroba

Antimikroba harus memiliki sifat toksisitas selektif, sebagai fungsi reseptor yang spesifik yang dibutuhkan untuk melekatnya obat atau karena hambatan biokimia yang terjadi bagi organisme namun tidak bagi inang (Ganiswarna *et,al.*, 1995).

Syarat-syarat antibakteri adalah sebagai berikut : (a) Mempunyai kemampuan untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang luas (*broad spectrum antibiotic*), (b) tidak menimbulkan terjadinya resistensi dari mikroorganisme patogen, (c) tidak menimbulkan efek samping (*side effect*) yang buruk pada tubuh, seperti reaksi alergi, kerusakan syaraf, iritasi lambung, dan sebagainya, (d) tidak mengganggu keseimbangan flora normal tubuh seperti flora usus atau flora kulit (Jawetz *et, al.*, 2005).

Mekanisme aksi obat antimikroba dikelompokkan menjadi kelompok utama, yaitu : (a) penghambatan terhadap sintesis dinding sel. Dinding sel berisi polimer mukopeptida kompleks (peptidoglikan) yang secara kimia berisi polisakarida dan rantai polipeptida yang tinggi. Polisakarida berisi gula amino N-asetilglukosamin dan asam asetilmuramik. (Jawetz, *et, al.*, 2005). Semua obat  $\beta$ -laktam menghambat sintesis dinding sel bakteri karena obat ini aktif melawan pertumbuhan bakteri. Mula-mula obat ini menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan membentuk ikatan pada reseptor sel (protein pengikat penisilin/*protein binding penicillin/PBP*), setelah obat  $\beta$ -laktam melekat pada satu atau beberapa reseptor, reaksi transpeptidasi (meliputi hilangnya D-alanin dari pentapeptida) dihambat dan sintesis peptidoglikan dihentikan. Langkah selanjutnya meliputi perpindahan atau inaktivasi inhibitor enzim otolitik pada dinding sel. Aktivasi enzim litik ini menimbulkan lisis jika lingkungan isotonik,

sedangkan dalam lingkungan hipertonik yang sangat ekstrim bakteri berubah menjadi protoplas atau seropalas, yang hanya ditutupi membran sel yang fragil, (b) penghambatan terhadap fungsi membran sel menyebabkan perusakan fungsi integritas dari membran sitoplasma menyebabkan keluarnya makromolekul dan ion sel, sehingga sel akan mati. Kemoterapi selektif adalah agen yang mudah merusak membran sel sitoplasma, contoh dari mekanisme ini adalah polimiksin pada Gram negatif (Jawetz, *et al.*, 2005), (c) penghambatan terhadap sintesis protein. Tetrasiklin, kloramfenikol, aminoglikosida, eritromisin, dan linkomisin merupakan antibiotik yang dapat menghambat sintesis protein (Jawetz, *et al.*, 2005). Mekanisme kerjanya yaitu menghalangi terikatnya RNA pada tempat spesifik ribosom, selama pemanjangan rantai peptida (Pelzar and Chan, 1988), (d) penghambatan terhadap sintesis asam nukleat. Obat-obat yang menghambat sintesis asam nukleat adalah rimfamin, quinolon, pirometamim, sulfonamid, dan trimetroprim dengan mekanisme sebagai berikut: menghambat pertumbuhan bakteri dengan ikatan yang sangat kuat pada enzim DNA dependent RNA polimerase bakteri, sehingga akan menghambat sintesis RNA bakteri (Jawetz, *et al.*, 2005).



Gambar 2.5 Membran sel bakteri Gram negatif  
(Baron *et al.*, 1994)

## BAB 3

### KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

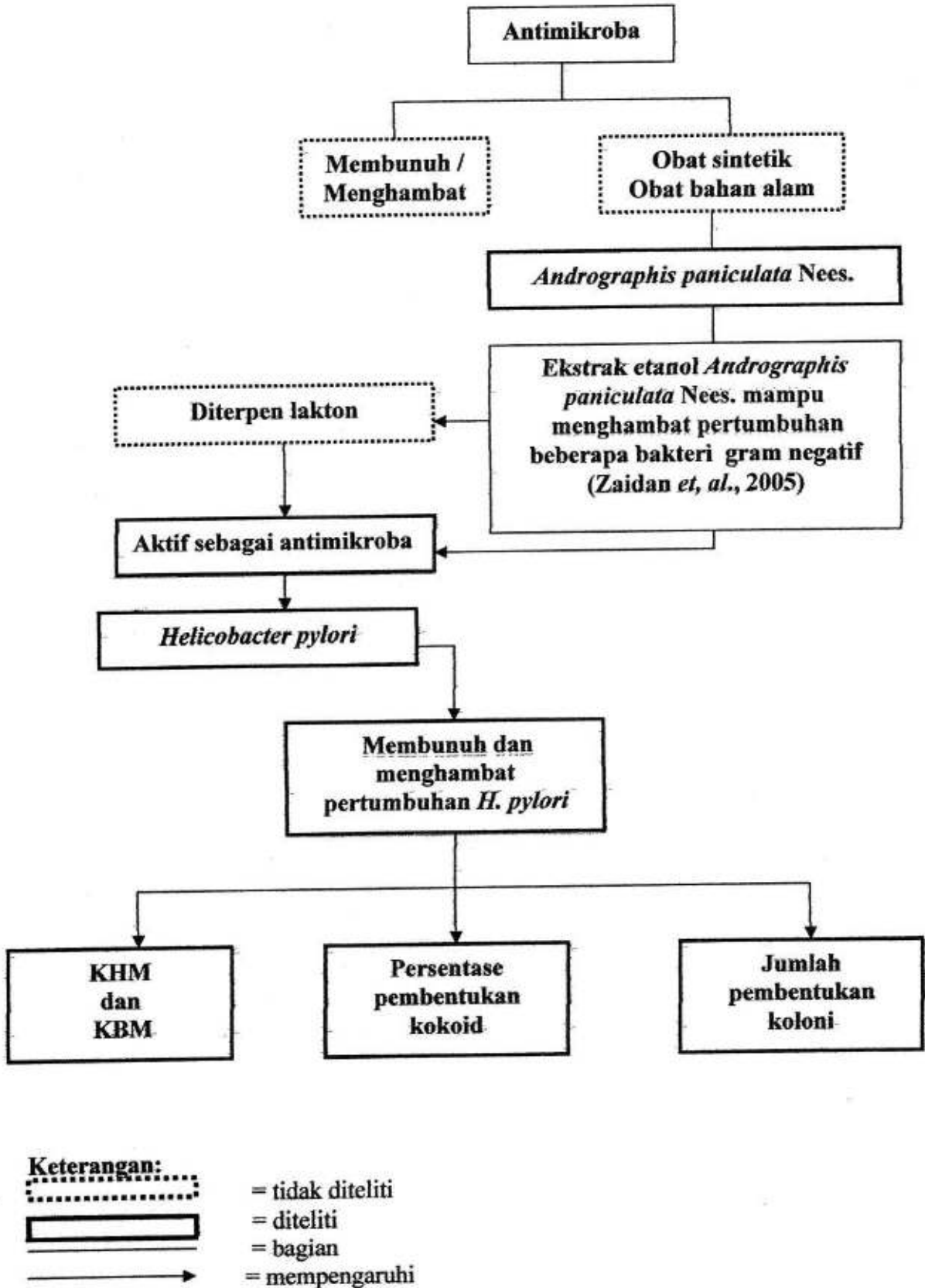
#### 3.1 Kerangka Konseptual

Ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri gram negatif seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* (Sahalan *et al.*, 2007) dan sangat efektif untuk pengobatan infeksi (Chang and Bur, 1965).

Daun dan percabangan mengandung diterpen laktone alkohol. Efek farmakologis dan beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa herba ini berkhasiat bakteriostatik pada *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Shigella dysenteriae*, dan *Escherichia coli*. (Chang and Bur, 1965).

*H. pylori* dapat berbentuk 2 macam yaitu spiral dan kokoid yang terjadi bila bakteri ini berada pada kondisi yang tidak menguntungkan seperti pH rendah, masa inkubasi yang diperpanjang, peningkatan oksigen, dan akibat pengaruh antibiotik. Bentuk bakteri ini biasanya tidak tumbuh pada media konvensional dan bentuk kokoid adalah bentuk sel mati atau dalam keadaan mempertahankan diri (Jekti, 2003).

Efek perubahan morfologi *H. pylori* oleh beberapa antibiotik menjadi bentuk kokoid telah banyak diteliti dan disimpulkan bahwa perubahan secara *in vitro* juga sebagai indikasi perubahan *H. pylori* didalam mukosa lambung manusia oleh pengobatan (Dent *et al.*, 1988).



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

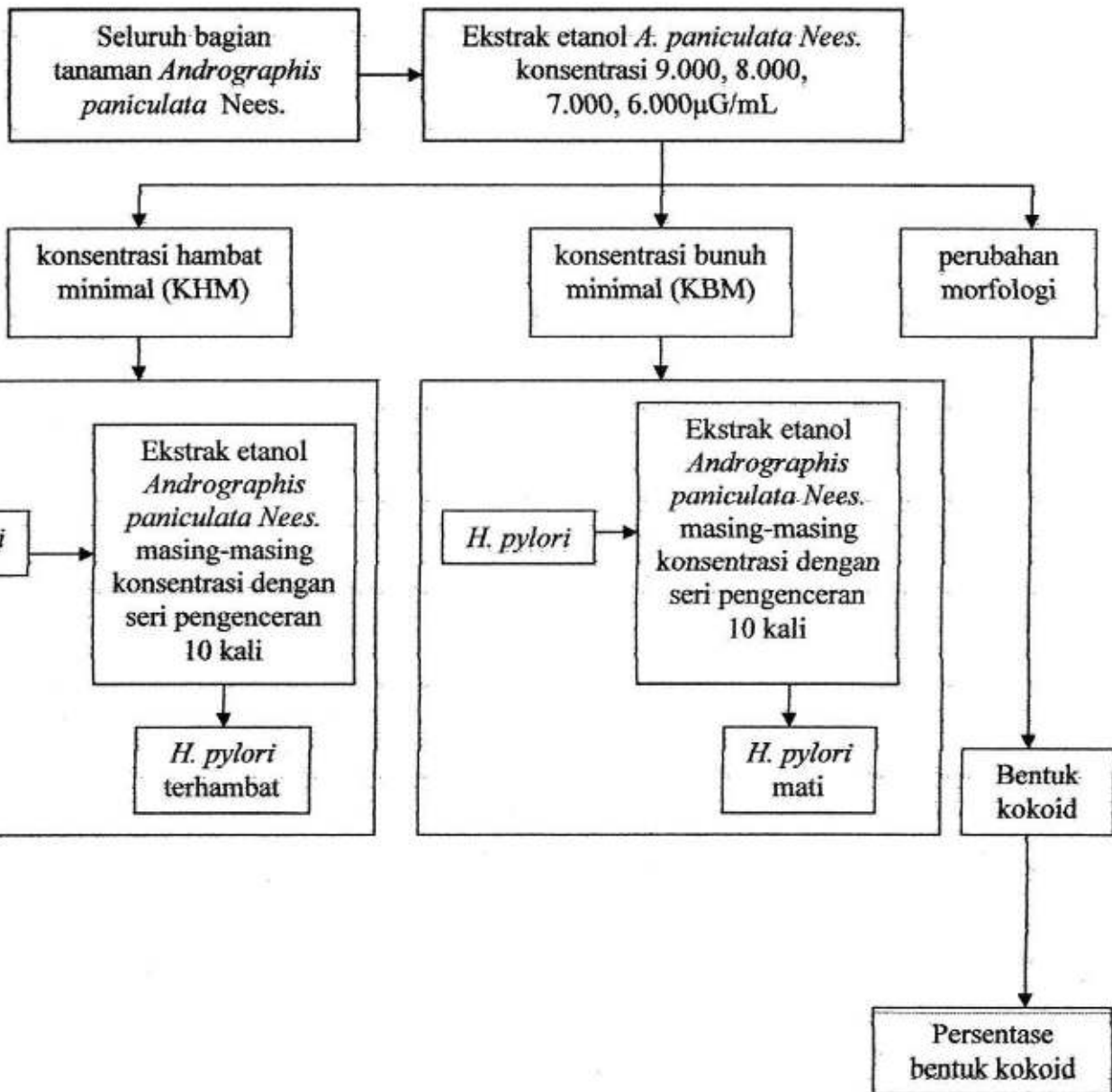
### 3.2 Kerangka Operasional Penelitian

Ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. secara invitro mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* dan *Shigella sp.*(WHO, 2009).

Cara kerja dari ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. sebagai antibakteri hingga kini belum diketahui dengan jelas. Kemungkinan aktifitas antibakteri ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. didapatkan dari kandungan kimia dari daun dan percabangannya yang mengandung diterpen lakton benzil alkohol yang merupakan suatu turunan alkohol. Cara kerja dari benzil alkohol hampir sama dengan alkohol. Alkohol memiliki sifat pelarut lemak yang mendenaturasikan protein secara dehidrasi sehingga membran sel akan rusak dan terjadi inaktivasi enzim-enzim (Anonim<sup>2</sup>, 2003).

Berdasarkan potensi *A. paniculate* Nees. sebagai obat alternatif terhadap *H. pylori* yang bersifat pogen sampai saat ini belum diteliti sehingga dilaku yang kan penelitian tentang "Uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. terhadap *Helicobacter pylori*"

Sedangkan untuk penelitian lebih lanjut dilakukan pengamatan koloni dan pengamatan secara mikroskopis untuk melihat persentase terbentuknya kokoid *H. pylori*.



Gambar 3.2 Kerangka operasional penelitian

### 3.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah dan kajian teori, maka ditentukan hipotesis penelitian sebagai berikut :

1. Ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. dapat menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori*.
2. Ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. dapat membunuh *Helicobacter pylori*.
3. Ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. dapat mempengaruhi persentase pembentukan kokoid *Helicobacter pylori*.
4. Ekstrak etanol *Andrographis paniculatae* Nees. dapat mempengaruhi jumlah pembentukan koloni *Helicobacter pylori*.

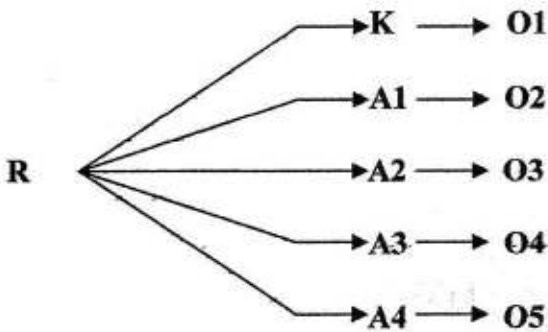


## BAB 4

## MATERI DAN METODE PENELITIAN

## 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true experiment design* dengan menggunakan *completely randomized design* dengan pola *the post test – only control group design* dengan perlakuan penambahan ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. dengan 4 macam konsentrasi. Rancangan tersebut dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 4.1 Bagan Rancangan Penelitian

## Keterangan Gambar:

- R : Ekstrak etanol *Andrographis paiculata* Nees.
- A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub> dan A<sub>4</sub> : Tingkat pengenceran ekstrak etanol *Andrographis paiculata* Nees. 9000 (A<sub>1</sub>), 8000 (A<sub>2</sub>), 7000 (A<sub>3</sub>), 6000 (A<sub>4</sub>), 0 (A<sub>5</sub>)  $\mu$ G/ml.
- K : Kontrol pertumbuhan ialah biakan cair *H. pylori* ditambah amoksisilin 1  $\mu$ G/mL.
- O : Hasil pengamatan, kontrol (O<sub>1</sub>) perlakuan (O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, O<sub>4</sub>, O<sub>5</sub>) setelah inkubasi setiap 6 jam

## 4.2 Populasi, Sampel dan Besar Sampel

### 4.2.1 Populasi

Populasi dari penelitian ini adalah kuman *Helicobacter pylori* ATCC 5640 yang berasal dari koleksi Unit Riset Biomedis Instalasi Litbang RSUP NTB.

### 4.2.2 Sampel penelitian

Ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. dipetik di kebun percontohan tanaman obat keluarga kelurahan Cakra Barat Kota Madya Mataram dan telah dideterminasi di Laboratorium Budidaya dan Konservasi Hutan Herbarium Mataramense oleh I Gde Mertha M.Si. Ekstraksi dilakukan di laboratorium Kimia Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Mataram dan dibuat 5 jenis konsentrasi: 9.000 ( $A_1$ ), 8.000 ( $A_2$ ), 7.000 ( $A_3$ ), 6.000 ( $A_4$ ), 0 ( $A_5$ )  $\mu\text{G/mL}$  dengan pelarut media TSB.

### 4.2.3 Besar sampel

Untuk besar sampel ( $n$ ) rumus yang digunakan ialah ( $t \times r$ ), ( $t$ ) ialah jumlah perlakuan konsentrasi *Andrographis paniculata* Nees. yaitu 5 jenis konsentrasi. Jumlah replikasi ( $r$ ) dicari terlebih dahulu dengan rumus  $(t-1)(r-1) \geq 15$  (Hanafiah, 1995).

$$(5-1)(r-1) \geq 15 \longrightarrow 5r \geq 15 \longrightarrow r \geq 15 : 5 \quad r = 3$$

$$n = t \times r \longrightarrow n = 5 \times 3 \quad n = 15$$

Keterangan :

- t : jumlah perlakuan konsentrasi *Andrographis paniculata* Nees.
- r : replikasi
- n : besar sampel
- 15 : angka 15 diperoleh dari tabel

#### 4.2.4 Teknik pengambilan sampel

Ekstrak Etanol *Andrographis paniculata* Nees. dibuat larutan induk dengan kandungan 10.000 µG/ml-1µG/mL, konsentrasi dibuat dengan cara pengenceran berseri dengan menggunakan media TSB *vitox*. Kemudian tiap-tiap tabung ditambah biakan cair *H. pylori* yang berumur 2 x 24 jam dengan kekeruhan  $0,3 \times 10^9$  /mL. Kemudian diinkubasi Suhu inkubasi pada suhu 37°C, dengan kadar 10% CO<sub>2</sub>, 18% O<sub>2</sub> dan 72% N<sub>2</sub> serta pH 6,9-8,0. Semua tabung kemudian diamati, tabung jernih dengan konsentrasi terendah dimana tidak terdapat pertumbuhan koloni ketika disubkultur pada media BAP setelah diinkubasi selama 2 x 24 jam merupakan konsentrasi bunuh maksimal (KBM). Tabung jernih dengan konsentrasi terkecil yang masih terdapat pertumbuhan pertumbuhan koloni ketika disubkultur pada media BAP merupakan konsentrasi hambat minimal (KHM).

Untuk memperoleh data morfologi kokoid dilakukan pengamatan dengan mikroskop dengan pembesaran 1000 kali dari hasil pengecatan Gram pada media yang mengandung TSB setiap 6 jam sekali sampai fase kematian yaitu 72 jam setelah inkubasi, pengamatan dilakukan pada tabung KHM, dibawah KHM dan kontrol positif serta kontrol antibiotik amoksisilin.

### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Variabel bebas

Yang menjadi variabel bebas pada perlakuan ini konsentrasi (µG/mL) ekstrak etanol *A. paniculata* Nees.

#### 4.3.2 Variabel terikat

Yang menjadi variabel terikat pada perlakuan ini ialah persentase jumlah kokoid dan koloni *H. pylori* yang berbentuk setelah mengalami perlakuan uji antimikroba ekstrak etanol *A. paniculata* Nees.

### 4.3.3 Variabel kendali

Dalam hal ini yang menjadi variabel kendali adalah:

1. Biakan *H. pylori*.
2. Jenis medium padat maupun cair yang mengandung darah atau serum domba.
3. Suhu inkubasi 37°C, kadar oksigen, karbondioksida dan nitrogen (10% CO<sub>2</sub>, 18% O<sub>2</sub> dan 72% N<sub>2</sub>) serta pH 6,9 – 8,0.
4. Jumlah inokulum diambil koloni dari media TSB *plate Agar* dibuat suspensi dengan kekeruhan setara dengan tabung standar Mc Farland's No. 4 (0,3 x10<sup>9</sup> bacteria mL). Dari suspensi tersebut dipindahkan 100 µL ke 2,9 mL TSB yang berisi 10% (v/v) serum domba dan suplemen selektif untuk *H. pylori* untuk stok perbenihan.

### 4.3.4 Definisi operasional

1. Kuman *Helicobacter pylori* adalah kuman penghuni epitel mukosa lambung, berbentuk spiral, Gram negatif, bersifat pleomorfik dan mikroaerofilik berukuran 2-4 µm x 0,5– 1,0 µm.
2. Uji aktivitas antimikroba adalah penentuan aktivitas ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. didalam menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* dengan menggunakan metode dilusi tabung.
3. Persentase bentuk kokoid ialah bentuk kokoid *H. pylori* setelah perlakuan ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. dibuat pulasan dan dicat dengan pengecatan Gram dilihat dengan mikroskop perbesaran 1000 kali kemudian dihitung didalam 100 sel *H. pylori*. Penghitungan dilakukan pada 10 lapangan pandang sebanyak 3 kali kemudian hasilnya dirata-ratakan.

#### 4.4 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees., bakteri *Helicobacter pylori*, medium TSB Agar darah, untuk membuat medium diperlukan *brain heart infusion*, agar, darah domba yang difibrinasi, *dent suplement* dan *Vitox*, medium cair dengan serum domba 10% bahannya sama dengan medium TSB, Agar darah tanpa penambahan agar dan vitox, *dent suplemen* merupakan gabungan beberapa bahan antibiotik vancomycin, trimethoprim, cefsulodin dan polymixin B yang berfungsi untuk menekan pertumbuhan kuman lain atau fungsi pada pertumbuhan *H. pylori*, pengencer bakteri uji NaCl 0,95% (*Saline*), Aquades, *Mc Farland Nephelometer Standards*.

Tabel 4.4 Bahan dan Perkiraan jumlah bakteri dari *Mc Farland Nephelometer Standards*.

Tabung	Asam sulfat (mL)	Barium klorida (mL)	Perkiraan jumlah bakteri
0,5	9,95	0,05	150 juta/mL
1	9,9	0,1	300 juta/mL
2	9,8	0,2	600 juta/mL
3	9,7	0,3	900 juta/mL
4	9,6	0,4	1200 juta/mL
5	9,5	0,5	1500 juta/mL
6	9,4	0,6	1800 juta/mL
7	9,3	0,7	2100 juta/mL
8	9,2	0,8	2400 juta/mL
9	9,1	0,9	2700 juta/mL
10	9,0	1,0	3000 juta/mL

#### 4.5 Instrumen Penelitian

Dalam penelitian menggunakan beberapa macam instrumen, antara lain *Autoclave* SS-245 (Tommy, Japan), *oven* MEMMERT (USA), *drying Oven* - OVEN (GE-171 32 liter), Inkubator CO<sub>2</sub> dengan *shaker* NBS model Innova (USA), *Laminar flow* (Forma Scientific Model 11117-USA), mikroskop *binokuler Biomed* (Leitz-Portugal), *rotary evaporator* ( R114 Buchi), cawan petri Ø 9 cm, pipet dan mikropipet, timbangan analitik, *erlenmeyer*, jarum ose, dan gelas kimia (Pirex).

## **4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian**

### **4.6.1 Lokasi penelitian**

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Unit Riset Biomedis Instalasi Litbang RSUP NTB. Dan lokasi pembuatan ekstrak etanol ialah Laboratorium Kimia Akademi Analis Kesehatan Mataram Poltekkes Mataram.

### **4.6.2 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan September sampai Oktober 2009.

## **4.7 Prosedur Pengambilan Data**

### **4.7.1 Pembuatan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees.**

Pembuatan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees, menggunakan seluruh bagian tanaman kemudian dicuci dengan menggunakan air dan dikeringkan pada temperatur ruangan, 1 kilogram bahan yang sudah kering kemudian dihaluskan. Serbuk harus ditimbang sebanyak 500 Gram dan ditambah 500 mL etanol 96% kemudian dihomogenkan dan diendapkan pada suhu ruangan selama 24 jam. Bagian atas dipisahkan kemudian disaring menggunakan kertas saring Whattman no.1, kemudian hasil saringan dikumpulkan dan didamkan selama 2 hari sampai benar-benar terekstraksi. Selanjutnya dikeringkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Ekstrak yang terbentuk dikumpulkan dan disimpan pada suhu ruangan dan apabila akan digunakan dilarutkan dengan DMSO 10% (Sahalan *et, al* 2007).

#### **4.7.1.1 Uji bebas residu etanol terhadap ekstrak etanol *A. paniculata* Nees.**

##### **Dengan menggunakan metode mikrodifusi**

Prinsip pemeriksaan didalam tempat kedap alkohol. Sampel akan menguap dan bereaksi dengan kalium bikromat dalam suasana asam sehingga terjadi perubahan warna. (Anonim<sup>1</sup>, 2002 ). Sampel ditempatkan dibagian tengah cawan Conway sampai tertutup dasarnya, ditambahkan beberapa mL kalium bikromat disekitar

tempat sampel tersebut. Cawan ditutup rapat dan diinkubasi pada suhu 30° C selama 1 jam. Warna kalium bikromat akan berubah dari kuning menjadi hijau selanjutnya biru apabila terdapat kandungan alkohol.

#### 4.7.1.2 Pembuatan stok ekstrak etanol *A. paniculata* Nees.

Pembuatan stok ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. Dilakukan dengan menimbang ekstrak sesuai dengan perhitungan kemudian dilarutkan dengan sedikit DMSO 10% dan engan media TSB hangat dengan metode aseptik. Dibuat konsentrasi stok 10.000 µG/mL untuk uji pendahuluan, dan untuk pemeriksaan uji 9.000 µG/mL, 8.000 µG/mL, 7.000 µG/mL, dan 6.000 µG/mL, untuk penelitian.

Pemilihan kadar uji pendahuluan 10.000 µG/mL berdasarkan hasil penelitian *minimum inhibitory concentration* (MIC) dari *Andrographis paniculata* Nees. terhadap beberapa bakteri gram negatif ialah *Pseudomonas aeruginosa* 3,13 mG/mL, *Escherichia coli* 1,56 mG/mL, *Klebsiella pneumoniae* 12,5 mG/mL. Sedangkan *minimum bactericidal concentration* (MBC) *Pseudomonas aeruginosa* 6,25 mG/mL, *Escherichia coli* 3,31 mG/mL, *Klebsiella pneumoniae* 25 mG/mL (Sahalan *et. al.*, 2007). Dan kadar ekstrak etanol *A. paniculata* Nees untuk uji selanjutnya 9.000, 8.000 7000, dan 6.000 µG/mL berdasarkan pemeriksaan uji pendahuluan.

#### 4.7.1.3 Pembuatan stok biakan *H. pylori*

Pengujian dilakukan pada media *tripticase soy brooth* yang ditambahkan suplemen vitox dan serum domba untuk memacu pertumbuhan *H. pylori*. Bakteri diinokulasi dari biakan BAP vitox kemudian dikultur pada media TSB sampai kekeruhan setara kekeruhan 1 unit Mc Farland Nephelometer Standar atau diperkirakan setara dengan jumlah bakteri sebanyak  $0,3 \times 10^9$  sel/mL, dan dijadikan sebagai stok (Jekti, 2003)

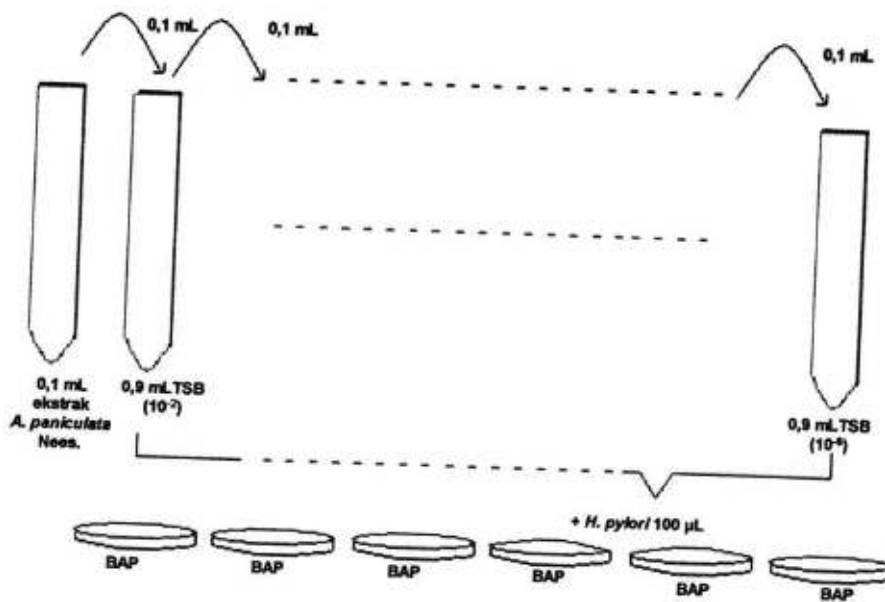


Dilakukan pemeriksaan morfologi pada stok biakan agar tidak terdapat bentuk kokoid, apabila ada bentuk kokoid maka dilakukan peremajaan kembali kedalam media TSB yang baru dari biakan TSB stok. Prinsip yang harus diperhatikan dalam uji antimikroba terhadap *H. pylori* adalah keharusan menggunakan kuman *H. pylori* yang baru ditumbuhkan paling lama 2–3 hari yang berbentuk spiral (Soemoharjo, 2009).

#### **4.7.2 Uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. terhadap penghambatan dan perubah Morfologi kokoid *Helicobacter pylori***

Selain mencari KHM dan KBM dilakukan penghitungan persentase kokoid yang terbentuk. Penghitungan dilakukan dengan mengambil sampel dari media perlakuan TSB dan dioleskan pada gelas benda kemudian dicat Gram dihitung sebanyak 3 lapangan pandang hasilnya dirata-rata. Kriteria cara pembacaan bentuk kokoid untuk mengetahui persentase bentuk kokoid yang terbentuk pada KHM *H. pylori* terhadap ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. menurut Jekti 2007.

Adapun jalannya penelitian ialah sebagai berikut: menambahkan 0,9 mL media TSB pada beberapa tabung reaksi kemudian dimasukkan ekstrak *A. paniculata* Nees. sebanyak 1 mL pada tabung pertama (pengenceran  $10^{-1}$ ). Selanjutnya dibuat seri pengenceran sampai  $10^{-6}$ . kemudian ditambahkan biakan cair *H. pylori* 0% kokoid masing-masing sebanyak 100 $\mu$ L, diinkubasi 37°C diinkubator CO<sub>2</sub> kadar CO<sub>2</sub> 5%, O<sub>2</sub> 10%, N<sub>2</sub> 89% dan agitasi 180 rpm kemudian dilakukan pengecatan Gram untuk penghitungan persentase bentuk kokoid pada 6, 12, 18, 24, 30, 42, 48, 54, 60, 66, 72 jam. Sebagai kontrol digunakan kontrol media, kontrol sterilitas ekstrak, dan kontrol antibiotik 1  $\mu$ G/mL.



Gambar 4.2 Prosedur uji antimikroba metode dilusi tabung

#### 4.8 Analisis Data

Nilai KHM dan KBM *H. pylori* terhadap ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. dianalisis secara deskriptif sedangkan jumlah koloni dan persentase bentuk kokoid antara kontrol normal, kontrol antibiotik, dibawah KHM dan KHM *Helicobacter pylori* terhadap ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. Perhitungan dalam penelitian ini akan menggunakan program Excel dan SPSS for windows. Sebelum menganalisis data terlebih dahulu dihitung variabel penelitian dengan rumus yang telah ditetapkan. Setelah variabel-variabel tersebut diketahui, maka analisis data dapat dilakukan. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisa varian (sidik ragam) satu jalur (*one way ANOVA*) dengan tingkat kepercayaan 5% ( $\alpha = 0.05$ ). Jika diperoleh hasil mempunyai efek yang berbeda nyata (signifikan) antar perlakuan selanjutnya akan dilakukan uji lanjut menggunakan *LSD* (*least significant difference*) untuk mengetahui perlakuan mana yang aktivitas antibakterinya berbeda nyata atau lebih kuat.

5% ( $\alpha = 0.05$ ). Jika diperoleh hasil mempunyai efek yang berbeda nyata (signifikan) antar perlakuan selanjutnya akan dilakukan uji lanjut menggunakan *LSD (least significant difference)* untuk mengetahui perlakuan mana yang aktivitas antibakterinya berbeda nyata atau lebih kuat.

## BAB 5

### HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN

#### 5.1. Hasil Penelitian

##### 5.1.1 Hasil Ekstraksi *Andrographis paniculata* Nees.

Pada penelitian ini 350 Gram *A. paniculata* Nees. kering digiling menghasilkan 300 Gram serbuk. Serbuk *A. paniculata* Nees. digunakan untuk proses ekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1.000 mL, menghasilkan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. pekat berkisar 76.50 selanjutnya dilakukan uji kandungan residu etanol dengan metode mikrodifusi, hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak *A. paniculata* Nees. negatif mengandung residu etanol.

##### 5.1.2 Hasil Uji Antimikroba Ekstrak Etanol *Andrographis paniculata* Nees.

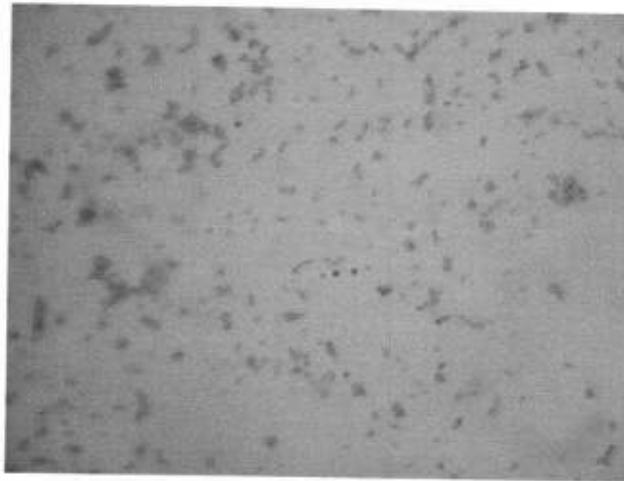
###### terhadap *H. pylori*

Kadar ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. dengan konsentrasi 1-10.000  $\mu\text{G/mL}$  yang digunakan sebagai uji pendahuluan pertama terhadap bakteri *H. pylori*, yang telah ditumbuhkan pada media TSB dipindahkan ke media BAP. Ternyata hasil subkultur di media BAP pada konsentrasi 10.000  $\mu\text{G/mL}$  tidak terdapat pertumbuhan koloni sedangkan pada konsentrasi 1.000  $\mu\text{G/mL}$ , 100  $\mu\text{G/mL}$ , 10  $\mu\text{G/mL}$ , 1  $\mu\text{G/mL}$  dan 0  $\mu\text{G/mL}$  terdapat pertumbuhan koloni.

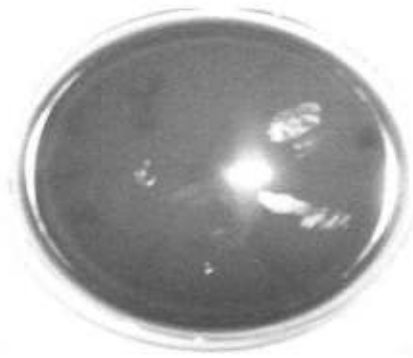
Berdasarkan hasil uji pendahuluan pertama maka dilakukan uji pendahuluan kedua dengan ekstrak etanol *Andrographis paniculate* Nees. konsentrasi 10.000  $\mu\text{G/mL}$ , 5.000  $\mu\text{G/mL}$ , 2.500  $\mu\text{G/mL}$ , 1250  $\mu\text{G/mL}$  serta kontrol tanpa mengandung ekstrak (0  $\mu\text{G/mL}$ ). Ternyata pada konsentrasi 10.000  $\mu\text{G/mL}$  tidak terdapat pertumbuhan bakteri sedangkan dan pada konsentrasi 5.000  $\mu\text{G/mL}$  terdapat pertumbuhan bakteri pada semua pengulangan. Maka ditetapkan konsentrasi ekstrak

etanol *A. paniculate* Nees. yang akan diuji aktifitas antimikroba terhadap bakteri *H. pylori* adalah antara 10.000  $\mu\text{G/mL}$  sampai dengan 5.000  $\mu\text{G/mL}$  yaitu konsentrasi 9.000, 8.000, 7.000, 6.000  $\mu\text{G/mL}$  , kontrol tanpa mengandung ekstrak (0  $\mu\text{G/mL}$ ) serta antibiotik Amoksisilin dengan kadar 1  $\mu\text{G/mL}$ .

Selanjutnya *H. pylori* ditumbuh pada TSB yang mengandung DMSO 10%. Dan disubkultur pada media BAP. Dilakukan pengecatan Gram dan penghitungan koloni *H. pylori* setiap 6 jam inkubasi, dan hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 5.1.



Gambar 5.1 Hasil pengecatan Gram pembesaran 1000 kali



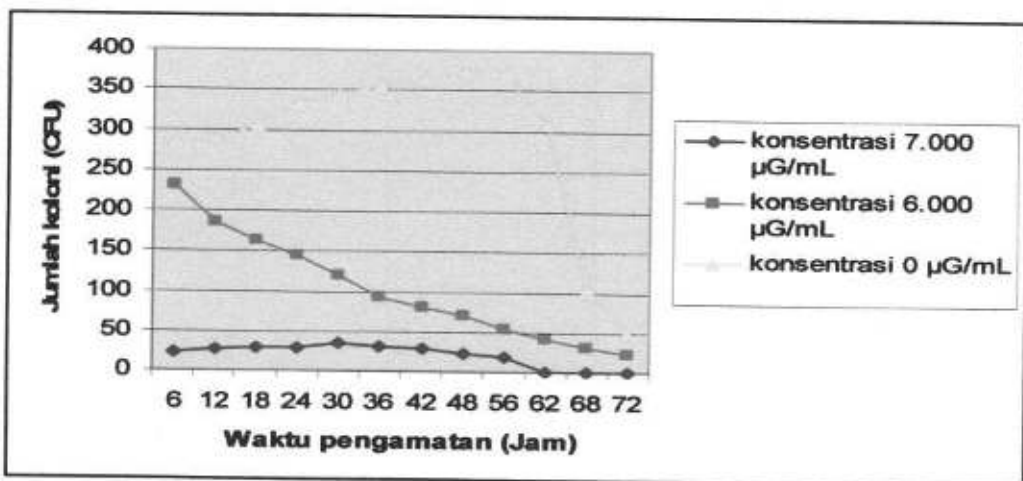
Gambar 5.2 *H. pylori* berbentuk kokoid pada media subkultur BAP

Tabel 5.1 Pensepatan kokoid dan jumlah koloni *H.pylori* dari TSB setelah perlakuan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees dan amoksisilin inkubasi 37°C kadar CO<sub>2</sub> 5%, O<sub>2</sub> 10% N<sub>2</sub> 89%.

Jam ke	Ekstrak etanol <i>Andrographis paniculate</i> Nees.																	
	9000			8000			7000			6000			0			1		
	cfu /mL rerata x 10 <sup>9</sup> (cfu x mL)	kokoid rerata (%)	cfu / mL rerata x 10 <sup>9</sup> (cfu x mL)	kokoid rerata (%)	cfu/mL rerata x 10 <sup>9</sup> (cfu x mL)	kokoid rerata (%)	cfu/mL rerata x 10 <sup>9</sup> (cfu x mL)	kokoid rerata (%)	cfu/mL rerata x 10 <sup>9</sup> (cfu x mL)	kokoid rerata (%)	cfu/mL rerata x 10 <sup>9</sup> (cfu x mL)	kokoid rerata (%)	cfu/mL rerata x 10 <sup>9</sup> (cfu x mL)	kokoid rerata (%)	cfu/mL rerata x 10 <sup>9</sup> (cfu x mL)	kokoid rerata (%)		
6	0	-	0	-	23	21.2	231	17	281.8	1.6	0	75.6	0	0	0	75.6		
12	0	-	0	-	27.6	22.6	186.2	21.6	288	3.4	0	78.8	0	0	0	78.8		
18	0	-	0	-	28.4	26.6	163.4	23.2	304.6	5.2	0	89	0	0	0	89		
24	0	-	0	-	29.6	26.6	143.8	23.8	331.6	6.6	0	95	0	0	0	95		
30	0	-	0	-	34.8	43	119.8	27.2	343.4	8	0	100	0	0	0	100		
36	0	-	0	-	31.4	44.4	93.8	31.6	355.4	9.8	0	100	0	0	0	100		
42	0	-	0	-	23.8	49.6	80.2	36.2	342.8	11.2	0	100	0	0	0	100		
48	0	-	0	-	22	52.4	69.2	47.4	372.4	19	0	100	0	0	0	100		
56	0	-	0	-	18.4	71	53.6	53.4	370.8	22.2	0	100	0	0	0	100		
62	0	-	0	-	0	84.2	42.2	59.2	306.2	32.6	0	100	0	0	0	100		
68	0	-	0	-	0	90.6	31.6	64.2	105.2	38.8	0	100	0	0	0	100		
72	0	-	0	-	0	94.2	22.8	71.4	49.8	44.2	0	100	0	0	0	100		

Keterangan (-) = tidak terdapat bentuk sel batang maupun kokoid

Pada subkultur di media BAP ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. kadar 9.000 dan 8.000  $\mu\text{G/mL}$  tidak terdapat pertumbuhan koloni di setiap 6 jam penanaman. Pada kadar ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. konsentrasi 7.000  $\mu\text{G/mL}$  terdapat pertumbuhan koloni yang lebih sedikit dari 6.000  $\mu\text{G/mL}$  Pada konsentrasi 7.000  $\mu\text{G/mL}$  terjadi peningkatan pertumbuhan koloni dari jam ke-12 sampai ke-36 yang selanjutnya terjadi penurunan pertumbuhan pada pemaparan jam ke-42 sampai jam ke-56 kemudian pada pemaparan jam ke-62 tidak terdapat pertumbuhan koloni. Sedangkan pada ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. Konsentrasi 6.000  $\mu\text{G/mL}$  terjadi penurunan pertumbuhan mulai dari jam ke-12 sampai jam ke-72 tetapi pertumbuhan koloni masih ada sampai waktu pengamatan 72 jam. Pada ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. konsentrasi 0  $\mu\text{G/mL}$  terjadi peningkatan pertumbuhan koloni mulai dari jam ke-6 sampai jam ke-48 kemudian menurun mulai dari jam ke-56 sampai jam ke-72. Pada kandungan amoksisilin 1  $\mu\text{G/mL}$  tidak terdapat pertumbuhan mulai dari 6 jam pengamatan.

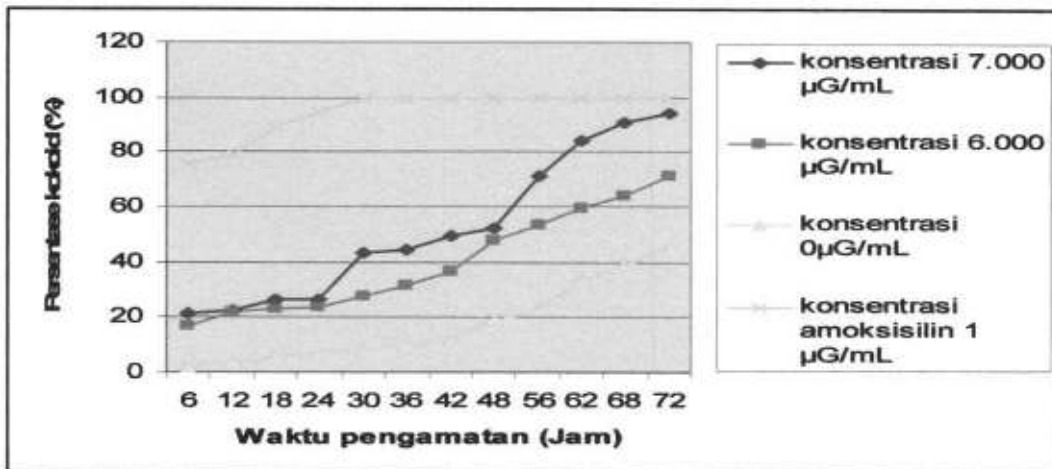


Gambar 5.3 Grafik hasil penghitungan koloni *H. pylori* perlakuan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees.

Penghitungan morfologi kokoid *H. pylori* tidak dilakukan pada konsentrasi ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. 9.000 dan 8.000  $\mu\text{G/mL}$  karena pada pengamatan mikroskopis tidak terdapat bentuk bakteri *H. pylori* baik kokoid maupun batang.

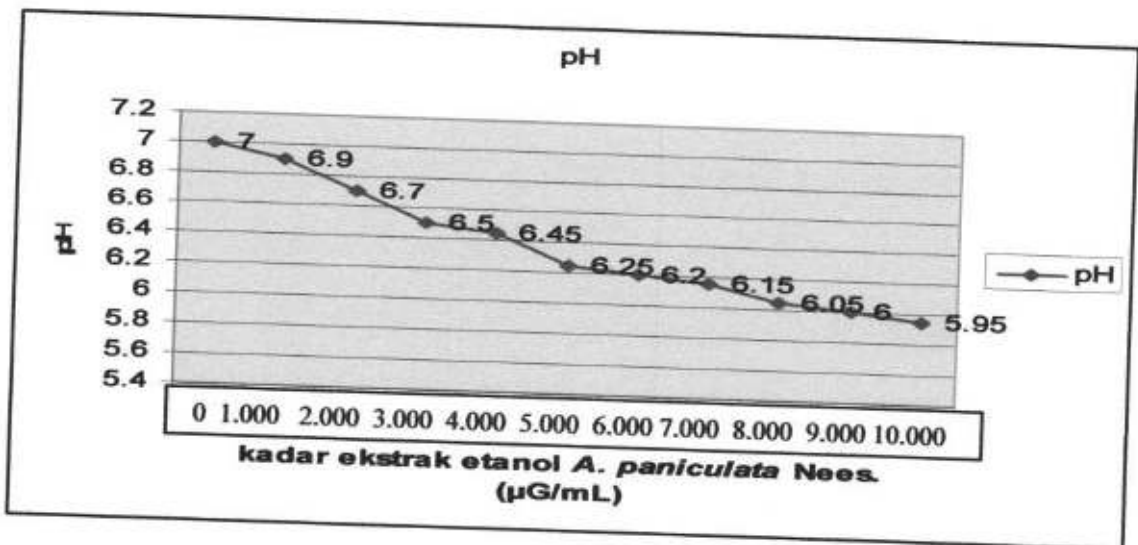


Maka penghitungan dilakukan pada *A. paniculata* Nees. konsentrasi 7.000, 6.000, 0  $\mu\text{G/mL}$  dan amoksisilin 1  $\mu\text{G/mL}$ . Pada konsentrasi 7.000  $\mu\text{G/mL}$  terjadi peningkatan bentuk kokoid dari 6 jam inkubasi sampai 64 jam inkubasi, dan pada jam ke-54 sebagian besar berbentuk kokoid. Pada ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. konsentrasi 6.000  $\mu\text{G/mL}$  terjadi peningkatan bentuk kokoid mulai dari inkubasi jam ke-6 sampai jam ke-66 sebagian sebagian besar morfologi menjadi kokoid. Pada *A. paniculata* Nees. berkonsentrasi 0  $\mu\text{G/mL}$  terjadi peningkatan kokoid sampai jam ke-72 bentuk kokoid menjadi 49.8%. Sedangkan pada konsentrasi amoksisilin pada jam ke-6 sebagian besar morfologi menjadi berbentuk kokoid dan 100% berbentuk kokoid pada jam ke-30.



Gambar 5.4 Grafik hasil penghitungan prosentase kokoid *H. pylori* setelah perlakuan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees.

Pada penelitian ini diukur keasaman (pH) ekstrak etanol berbagai konsentrasi *A. paniculata* Nees. pada media TSB. Hasil pengukuran menggunakan pH meter menunjukkan pH ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. 5,40, pH media TSB adalah 7, sedangkan pH media TSB yang mengandung ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. menunjukkan pH yang lebih rendah daripada media TSB tanpa ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. yang terlihat seperti pada Gambar 5.5



Gambar 5.5 Grafik hasil pengukuran keasaman (pH) ekstrak etanol berbagai konsentrasi *A. paniculata* Nees. pada media TSB

## 5.2 Analisis Hasil Penelitian

### 5.2.1 Nilai konsentrasi hambat minimal dan konsentrasi bunuh minimal ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. terhadap pertumbuhan *H. pylori*

Dari uji antimikroba ekstrak etanol ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. terhadap *H. pylori* setelah diinkubasi selama 48 jam dan setelah disubkultur pada media BAP didapatkan KBM pada konsentrasi 8.000 µG/mL karena pada konsentrasi 8.000 µG/mL merupakan tabung jernih dengan kadar terendah yang tidak terdapat pertumbuhan *H. pylori* sedangkan KHM ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. terhadap *H. pylori* ialah pada konsentrasi 7.000 µG/mL karena pada kadar 7.000 µG/mL merupakan tabung jernih dengan kadar terendah dari ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. yang masih terdapat pertumbuhan *H. pylori* sebesar 24 cfu/mL.

### 5.2.2 Analisis penghitungan koloni dan persentase kokoid *H. pylori* pada perlakuan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. 7000 µG/mL, 6000 µG/mL dan 0 µG/mL

Data hasil penelitian uji antimikroba ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. kadar 7.000, 6.000, 0 µG/mL terhadap pertumbuhan koloni *H. pylori* dengan interval waktu pengamatan 6 jam dianalisis dengan analisis varian satu arah, data hasil analisis

penelitian dapat dilihat pada Tabel 5.2. Tampak pada Tabel 5.2 hasil analisis statistik varian satu arah menunjukkan bahwa uji antimikroba ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. kadar 7.000, 6.000, dan 0  $\mu\text{G/mL}$  menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna terhadap pertumbuhan *H. pylori* ( $p < 0.001$ ).

Tabel 5.2 Rata-rata dan simpangan baku jumlah koloni *H. pylori* setelah pemaparan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. kadar 7.000, 6.000, 0  $\mu\text{G/mL}$  dengan interval waktu 6 jam

Waktu pengamatan Jam ke-	Kadar Ekstrak etanol <i>A. paniculate</i> Nees terhadap koloni <i>H. pylori</i> ( $\mu\text{G/mL}$ )			Harga p
	7.000	6.000	0	
6	33.0 $\pm$ 2,9 <sup>a</sup>	203.0 $\pm$ 27,8 <sup>b</sup>	281.8 $\pm$ 14.7 <sup>c</sup>	0.000
12	29.6 $\pm$ 3,3 <sup>a</sup>	186.0 $\pm$ 32,6 <sup>b</sup>	288.0 $\pm$ 15.2 <sup>c</sup>	0.000
18	28.4 $\pm$ 2,7 <sup>a</sup>	163.4 $\pm$ 11,0 <sup>b</sup>	304.0 $\pm$ 10.4 <sup>c</sup>	0.000
24	26.6 $\pm$ 3,2 <sup>a</sup>	143.8 $\pm$ 24,5 <sup>b</sup>	313.0 $\pm$ 9.3 <sup>c</sup>	0.000
30	34.0 $\pm$ 5,8 <sup>a</sup>	117.8 $\pm$ 30,4 <sup>b</sup>	343.0 $\pm$ 14.7 <sup>c</sup>	0.000
36	31.4 $\pm$ 4,6 <sup>a</sup>	93.8 $\pm$ 19,2 <sup>b</sup>	357.4 $\pm$ 2.4 <sup>c</sup>	0.000
42	278.0 $\pm$ 4,7 <sup>a</sup>	80.2 $\pm$ 11,5 <sup>b</sup>	362.8 $\pm$ 5.9 <sup>c</sup>	0.000
48	24.0 $\pm$ 2,9 <sup>a</sup>	69.2 $\pm$ 7,9 <sup>b</sup>	372.4 $\pm$ 12.0 <sup>c</sup>	0.000
54	18.4 $\pm$ 2,4 <sup>a</sup>	53.6 $\pm$ 5,9 <sup>b</sup>	370.8 $\pm$ 7.1 <sup>c</sup>	0.000
60	0.0 <sup>a</sup>	42.4 $\pm$ 5,3 <sup>b</sup>	306.2 $\pm$ 49.6 <sup>c</sup>	0.000
66	0.0 <sup>a</sup>	31.6 $\pm$ 3,6 <sup>b</sup>	105.2 $\pm$ 12.4 <sup>c</sup>	0.000
72	0.0 <sup>a</sup>	22.8 $\pm$ 6,2 <sup>b</sup>	49.8 $\pm$ 8.7 <sup>c</sup>	0.000

Keterangan

- a, b, c :Tanda huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna.  
p : probabilitas

Hasil analisis statistik dilanjutkan dengan uji t-test dua arah antar waktu pengamatan pada masing-masing konsentrasi ekstrak *A. paniculata* Nees.konsentrasi 7.000, 6.000, dan 0  $\mu\text{G/mL}$  terhadap pertumbuhan koloni *H. pylori*. Hasil uji t-test pada pengamatan pada perlakuan uji antimikroba *H. pylori* dengan ekstrak *A. paniculata* Nees. konsentrasi 7.000  $\mu\text{G/mL}$  menunjukkan bahwa pada jam ke-12 dengan jam ke- 6, jam ke- 36 dengan jam ke- 30, jam ke- 42 dengan jam ke-36 dan jam ke-60 dengan jam k-54 menunjukkan perbedaan bermakna ( $p < 0.05$ ), sedangkan pada pengamatan antar jam ke-24 dengan jam ke-12, jam ke-30 dengan jam ke-8, jam ke-48 dengan jam ke-42 dan jam ke-54 dengan jam ke-48 menunjukkan perbedaan jumlah koloni yang bermakna ( $p > 0,05$ ).

Tabel 5.3 Uji t-test antar jam pengamatan pada perlakuan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. 7.000  $\mu\text{G}/\text{mL}$  terhadap pertumbuhan koloni *H. pylori*

Waktu pengamatan	Rata-rata $\bar{x} \pm \text{SD}$	Selisih	Harga p
Jam 12 – jam ke 6	31.30 $\pm$ 1.52	-3.40	0.007*
Jam 24 – jam ke 12	28.10 $\pm$ 3.74	-3.00	0.147
Jam 30 – jam ke 18	31.60 $\pm$ 6.88	6.40	0.106
Jam 36 – jam ke 30	32.90 $\pm$ 1.14	-3.40	0.039*
Jam 42 – jam ke 36	29.10 $\pm$ 1.14	-3.60	0.002*
Jam 48 – jam ke 42	28.40 $\pm$ 4.71	-3.80	0.146
Jam 54 – jam ke 48	21.20 $\pm$ 5.27	-5.60	0.076
Jam 60 – jam ke 54	9.20 $\pm$ 2.40	-18.40	0.000*

Keterangan:

p = 0.05

\* = bermakna

Hasil uji t-test pada perlakuan uji antimikroba ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. kadar 6.000  $\mu\text{G}/\text{mL}$  pada pada jam ke-12 dengan jam ke-6, jam ke-36 dengan jam ke-30, jam ke-48 dengan jam ke-42 dan jam ke-54 dengan jam ke-48 menunjukkan perbedaan jumlah koloni yang bermakna ( $p > 0.05$ ), sedangkan pada jam ke 24 dengan jam ke 12, jam ke 30 dengan jam ke 18, jam ke 42 dengan jam ke 36, jam ke 60 dengan jam ke 54, jam ke 6 dengan jam ke 60 dan jam ke 72 dengan jam ke 66 menunjukkan perbedaan jumlah koloni yang cukup bermakna karena ( $p < 0,05$ .)

Tabel 5.4 Uji t-test antar jam pengamatan pada perlakuan 6.000  $\mu\text{G}/\text{mL}$  ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. terhadap pertumbuhan koloni *H. pylori*

Waktu pengamatan	Rata-rata $\bar{x} \pm \text{SD}$	Selisih	Harga p
Jam 12 – jam ke 6	194.70 $\pm$ 19.17	-17.00	0.120
Jam 24 – jam ke 12	165.00 $\pm$ 11.59	-42.40	0.010*
Jam 30 – jam ke 18	140.60 $\pm$ 16.29	-45.60	0.030*
Jam 36 – jam ke 30	105.80 $\pm$ 18.81	-24.00	0.460
Jam 42 – jam ke 36	87.00 $\pm$ 9.07	-13.60	0.030*
Jam 48 – jam ke 42	74.70 $\pm$ 5.79	-11.00	0.150
Jam 54 – jam ke 48	61.40 $\pm$ 8.38	-15.60	0.080
Jam 60 – jam ke 54	95.80 $\pm$ 4.72	-11.40	0.000*
Jam 66 – jam ke 60	52.90 $\pm$ 2.07	-10.60	0.000*
Jam 72 – jam ke 66	54.40 $\pm$ 4.82	-8.80	0.000*

Keterangan:

p = 0.05

\* = bermakna

Hasil uji t-test pada pengamatan pada perlakuan uji antimikroba *H. pylori* dengan ekstrak *A. paniculata* Nees. kadar 0  $\mu\text{G}/\text{mL}$  pada jam k-12 dengan jam ke-6, jam ke-34 dengan jam ke-12, jam ke-30 dengan jam ke-18, jam ke-42 dengan jam ke-36, jam ke-60 dengan jam ke-54, jam ke-66 dengan jam ke-60 dan jam ke-72 dengan jam ke-66 menunjukkan perbedaan jumlah koloni yang cukup bermakna karena ( $p < 0.05$ ), sedangkan pada jam ke-36 dengan jam k-30, jam ke-48 dengan jam ke-42 dan jam ke-54 dengan jam ke-48 menunjukkan perbedaan jumlah koloni bermakna karena ( $p > 0.05$ ).

Tabel 5.5 Uji t-test antara jam pengamatan pada perlakuan 0  $\mu\text{G}/\text{mL}$  ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. terhadap pertumbuhan koloni *H. pylori*

Waktu pengamatan	Rata-rata $\bar{x} \pm \text{SD}$	Selisih	Harga p
Jam 12 – jam ke 6	284.50 $\pm$ 3.03	6.20	0.010*
Jam 24 – jam ke 12	300.70 $\pm$ 12.26	25.40	0.010*
Jam 30 – jam ke 18	324.00 $\pm$ 12.95	38.80	0.033*
Jam 36 – jam ke 30	350.40 $\pm$ 12.82	14.00	0.071
Jam 42 – jam ke 36	359.90 $\pm$ 3.78	5.40	0.033*
Jam 48 – jam ke 42	367.60 $\pm$ 11.13	9.60	0.126
Jam 54 – jam ke 48	338.50 $\pm$ 9.76	-1.60	0.733
Jam 60 – jam ke 54	186.50 $\pm$ 46.93	-64.60	0.037*
Jam 66 – jam ke 60	205.70 $\pm$ 48.77	-201.00	0.010*
Jam 72 – jam ke 66	77.50 $\pm$ 14.50	-55.40	0.010*

Keterangan:

p = 0,05

\* = bermakna

Data hasil penelitian uji antimikroba ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. kadar 7.000, 6.000, 0  $\mu\text{G}/\text{mL}$  dan amoksisilin 1  $\mu\text{G}/\text{mL}$  terhadap persentase kokoid *H. pylori* dengan interval waktu pengamatan setiap 6 jam dianalisis dengan analisis varian satu arah. Hasil analisis dapat dilihat pada tabel berikut dibawah ini. Tampak Tabel 5.6 uji antimikroba ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. kadar 7.000, 6.000, 0  $\mu\text{G}/\text{mL}$  terhadap persentase kokoid *H. pylori* dengan interval waktu pengamatan setiap 6 jam, hasil analisa statistik dengan analisis variann satu arah menunjukkan bahwa uji antimikroba ekstrak etanol *A. paniculate* Nees. kadar 7.000, 6.000, 0



$\mu\text{G/mL}$  dan amoxicillin  $1 \mu\text{G/mL}$  terhadap persentase kokoid *H. pylori* secara keseluruhan menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna terhadap persentase kokoid ( $p < 0.01$ ).

Tabel 5.6 Rata-rata dan simpangan baku persentase kokoid *H. pylori* setelah pemaparan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. kadar 7.000, 6000, 0  $\mu\text{G/mL}$  dan amoksisilin  $1 \mu\text{G/mL}$  interval waktu pengamatan setiap 6 jam

Waktu pengamatan	Kadar Ekstrak etanol <i>A. paniculata</i> Nees / Amoksisilin terhadap persentase kokoid <i>H. p</i>				Harga p.
	7000	6000	0	1	
6	21,2±3,7 <sup>a</sup>	17,0±1,8 <sup>b</sup>	1,6±2,1 <sup>b</sup>	75,6±3,8 <sup>c</sup>	0.000
12	22,6±2,7 <sup>a</sup>	21,6±2,4 <sup>b</sup>	3,4±1,6 <sup>b</sup>	78,8±2,8 <sup>c</sup>	0.000
18	26,6±3,2 <sup>a</sup>	23,2±2,4 <sup>b</sup>	5,2±1,1 <sup>b</sup>	89,0±1,6 <sup>c</sup>	0.000
24	26,6±3,2 <sup>a</sup>	23,8±1,9 <sup>b</sup>	6,6±1,1 <sup>b</sup>	95,0±3,8 <sup>c</sup>	0.000
30	43,0±3,8 <sup>a</sup>	27,2±3,1 <sup>b</sup>	8,0±1,6 <sup>b</sup>	100,0±0,0 <sup>c</sup>	0.000
36	44,4±3,4 <sup>a</sup>	31,6±2,6 <sup>b</sup>	9,8±2,0 <sup>b</sup>	100,0±0,0 <sup>c</sup>	0.000
42	49,6±3,9 <sup>a</sup>	36,2±2,8 <sup>b</sup>	11,2±1,8 <sup>b</sup>	100,0±0,0 <sup>c</sup>	0.000
48	52,4±3,8 <sup>a</sup>	47,4±4,5 <sup>b</sup>	19,0±3,16 <sup>b</sup>	100,0±0,0 <sup>c</sup>	0.000
54	71,0±2,5 <sup>a</sup>	53,4±3,6 <sup>b</sup>	22,2±2,4 <sup>b</sup>	100,0±0,0 <sup>c</sup>	0.000
60	84,2±4,3 <sup>a</sup>	59,2±2,4 <sup>b</sup>	32,6±3,0 <sup>b</sup>	100,0±0,0 <sup>c</sup>	0.000
66	90,6±2,9 <sup>a</sup>	64,2±3,5 <sup>b</sup>	38,8±3,4 <sup>b</sup>	100,0±0,0 <sup>c</sup>	0.000
72	94,2±2,8 <sup>a</sup>	71,4±2,3 <sup>b</sup>	44,2±2,9 <sup>b</sup>	100,0±0,0 <sup>c</sup>	0.000

Keterangan

a, b, c :Tanda huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna.

p : probabilitas

Hasil analisis statistik selanjutnya dengan uji t pada setiap kadar perlakuan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. disetiap interval waktu pengamatan setiap 6 jam sekali terhadap persentase kokoid *H. pylori* dapat dilihat pada tabel berikut: Hasil uji t-test pada pengamatan pada perlakuan uji antimikroba *H. pylori* dengan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. kadar  $7.000 \mu\text{G/mL}$  pada waktu pengamatan pada jam ke- 12 dengan jam ke-6, jam ke-36 dengan jam ke-30, dan jam ke-72 dengan jam ke-66 menunjukkan perbedaan persentase kokoid yang tidak bermakna ( $p > 0.05$ ). Sedangkan pada pengamatan jam ke-24 dengan jam ke-12, jam ke-30 dengan jam ke-18, jam ke-42 dengan jam ke-36, jam ke-54 dengan jam ke-48, jam ke-60 dengan

jam ke-54 dan jam ke-66 dengan jam ke-60 menunjukkan perbedaan persentase kokoid yang bermakna ( $p < 0.05$ ).

Tabel 5.7 Uji t-test kadar ekstrak etanol *A. paniculata* Nees kadar 7.000  $\mu\text{G/mL}$  terhadap persentase kokoid dengan interval waktu pengamatan 6 jam koloni *H. pylori*

Waktu pengamatan	Rata-rata $\bar{x} \pm \text{SD}$	Selisih	Harga p
Jam 12 – jam ke 6	22.10 $\pm$ 1.52	1.40	0.644
Jam 24 – jam ke 12	24.60 $\pm$ 3.74	4.00	0.016*
Jam 30 – jam ke 18	34.80 $\pm$ 6.40	16.40	0.003*
Jam 36 – jam ke 30	43.70 $\pm$ 2.50	1.40	0.676
Jam 42 – jam ke 36	47.00 $\pm$ -1.140	5.20	0.011*
Jam 48 – jam ke 42	52.00 $\pm$ -4.71	2.80	0.366
Jam 54 – jam ke 48	62.70 $\pm$ -5.27	18.60	0.001*
Jam 60 – jam ke 54	77.60 $\pm$ 2.40	13.20	0.003*
Jam 66 – jam ke 60	46.90 $\pm$ 2.40	6.40	0.041*
Jam 72 – jam ke 66	92.90 $\pm$ 2.40	3.60	0.141

Keterangan:

$p = 0,05$

\* = bermakna

Hasil uji t-test pada pengamatan pada perlakuan uji antimikroba *H. pylori* dengan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. kadar 6.000  $\mu\text{G/mL}$  pada waktu pengamatan jam ke-12 dengan jam ke-6, jam ke-36 dengan jam ke-30, jam ke-42 dengan jam ke-36, jam ke-48 dengan jam ke-42, jam ke-54 dengan jam ke-48, jam ke-60 dengan jam ke-54 dan jam ke-72 dengan jam ke-66 menunjukkan perbedaan persentase kokoid bermakna ( $p < 0.05$ ). Sedangkan pada pengamatan jam ke-24 dengan jam ke-12, jam ke-30 dengan jam ke-18, dan jam ke-66 dengan jam ke-60 menunjukkan perbedaan persentase kokoid yang tidak bermakna ( $p < 0.05$ ).



Tabel 5.8 uji t-test kadar ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. kadar 6000  $\mu\text{G/mL}$  terhadap persentase kokoid dengan interval waktu pengamatan 6 jam. koloni *H. pylori*

Waktu pengamatan	Rata-rata $\bar{x} \pm \text{SD}$	Selisih	Harga P
Jam 12 – jam ke 6	19.30 $\pm$ 6.27	4.60	0.048*
Jam 24 – jam ke 12	22.70 $\pm$ 2.24	2.20	0.189
Jam 30 – jam ke 18	25.20 $\pm$ 5.77	4.00	0.109
Jam 36 – jam ke 30	29.40 $\pm$ 6.95	4.40	0.049*
Jam 42 – jam ke 36	33.90 $\pm$ 2.59	4.60	0.008*
Jam 48 – jam ke 42	41.80 $\pm$ 6.14	11.20	0.009*
Jam 54 – jam ke 48	50.40 $\pm$ 4.72	6.00	0.010*
Jam 60 – jam ke 54	56.30 $\pm$ 4.49	5.80	0.028*
Jam 66 – jam ke 60	61.70 $\pm$ 4.82	5.00	0.051
Jam 72 – jam ke 66	67.80 $\pm$ 4.39	7.20	0.032*

Keterangan:

P = 0,05

\* = bermakna

Hasil uji t-test pada pengamatan pada perlakuan uji antimikroba *H. pylori* dengan ekstrak *A. paniculata* Nees. kadar 0  $\mu\text{G/mL}$  pada waktu pengamatan jam ke-12 dengan jam ke-6, jam ke-24 dengan jam ke-12, jam ke-30 dengan jam ke-18, jam ke-48 dengan jam ke-42 jam ke-60 dengan jam ke-54 jam ke-66 dengan jam ke-60 dan jam ke72 dengan jam ke-66 menunjukkan perbedaan persentase kokoid bermakna ( $p < 0.05$ ). Sedangkan pada pengamatan jam ke-36 dengan jam ke-30, jam ke 42 dengan jam ke 36, dan jam ke 54 dengan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna.

Tabel 5.9 uji t-test kadar ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. kadar 0  $\mu\text{G/mL}$  terhadap persentase kokoid *H. pyloi* dengan interval waktu pengamatan 6 jam.

Waktu pengamatan	Rata-rata $\bar{x} \pm \text{SD}$	Selisih	Harga P
Jam 12 – jam ke 6	2.59 $\pm$ 0.45	1.80	0.001*
Jam 24 – jam ke 12	5.00 $\pm$ 0.84	3.20	0.001*
Jam 30 – jam ke 18	6.60 $\pm$ 0.84	2.80	0.002*
Jam 36 – jam ke 30	8.90 $\pm$ 1.79	1.80	0.088
Jam 42 – jam ke 36	10.50 $\pm$ 1.95	1.40	0.184
Jam 48 – jam ke 42	15.10 $\pm$ 3.35	7.80	0.006*
Jam 54 – jam ke 48	20.60 $\pm$ 3.57	3.20	0.115
Jam 60 – jam ke 54	27.00 $\pm$ 3.85	10.40	0.004*
Jam 66 – jam ke 60	35.70 $\pm$ 2.50	6.20	0.005*
Jam 72 – jam ke 66	41.10 $\pm$ 2.51	5.40	0.009*

Keterangan: P = 0,05

\* = bermakna

Hasil uji t-test pada pengamatan pada perlakuan uji antimikroba *H. pylori* dengan ekstrak *A. paniculata* Nees. kadar 0  $\mu\text{G/mL}$  pada waktu pengamatan jam ke-12 dengan jam ke-6, jam ke 24 dengan jam ke 12, dan jam ke 30 dengan jam ke 18 jam ke 48 menunjukkan perbedaan persentase kokoid bermakna karena  $p < 0.05$ . Sedangkan pada pengamatan mulai dari jam ke 36 sampai jam ke 72 tidak dapat dilakukan uji t karena hasilnya menunjukkan 100% bentuk kokoid *H. pylori*.

Tabel 5.10 uji t-test kadar ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. kadar 1  $\mu\text{G/mL}$  Amoxicillin terhadap persentase kokoid *H. pylori* dengan interval waktu pengamatan 6 jam.

Waktu pengamatan	Rata-rata $\bar{x} \pm \text{SD}$	Selisih	Harga P
Jam 12 – jam ke 6	77.20 $\pm$ 1.92	3.20	0.020*
Jam 24 – jam ke 12	86.90 $\pm$ 4.43	16.20	0.001*
Jam 30 – jam ke 18	94.50 $\pm$ 1.58	11.00	0.000*

Keterangan:

P = 0,05

\* = bermakna

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Pada penelitian ini proses ekstraksi *Andrographis paniculata* Nees, menggunakan cara maserasi, sesuai pendapat Dey and Harborne (1991) bahwa metode ekstraksi secara maserasi ataupun perkolasi dapat digunakan untuk memperoleh ekstrak tanaman yang diduga mengandung bahan antimikroba. Etanol dipilih sebagai pelarut proses ekstraksi dalam penelitian ini karena hampir semua senyawa tanaman yang punya aktifitas antimikroba merupakan senyawa aromatik atau terlarut dalam senyawa organik yang dapat terlarutkan melalui ekstraksi awal menggunakan etanol atau metanol (Cowan, 1999), selain itu juga sesuai dengan metode yang digunakan dalam farmakognosi bahan tanaman, yang menyatakan bahwa alkohol merupakan pelarut umum bagi banyak senyawa dalam tanaman (Evans, 2002). Penggunaan pelarut etanol dalam pembuatan ekstrak daun pada penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi semua senyawa yang berbobot molekul rendah (Harborne, 1987).

Konsentrasi etanol yang digunakan dalam penelitian ini adalah 96%, tujuannya selain untuk melarutkan senyawa-senyawa yang ada di dalam serbuk *A. paniculata* Nees, juga untuk mendapatkan ekstrak yang kandungannya sedikit sehingga lebih mudah diuapkan pada suhu rendah untuk mendapatkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat dapat diperoleh dengan cara menguapkan pelarut dalam keadaan vakum / *in vacuo* pada suhu rendah agar tidak merusak bahan yang tidak tahan panas / *thermolabile* (Dey and Harborne, 1991).

Dipilihnya medium TSB untuk perbenihan dalam penelitian ini karena merupakan medium cair untuk kultivasi mikroorganisme dalam varietas luas, dan telah direkomendasikan oleh *NCCLS (The National Commitee for Clinical Laboratory Standasds)* untuk uji kerentanan bakteri dengan metode Kirby-Bauer serta medium pilihan untuk uji sterilitas (Murray *et. al.*, 2003).

Ekstraksi serbuk *A. paniculata* Nees. menghasilkan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. pekat dengan rendemen (berat ekstrak pekat / berat serbuk x 100%) masing-masing adalah 20,6 %. Hasil ekstraksi ini menunjukkan bahwa metode ekstraksi yang dilakukan dalam penelitian ini menghasilkan ekstrak pekat hampir sama dengan penelitian Sahalan dkk. yang memperoleh rendemen ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. (Zaidan *et. al.*, 2005).

Bahan ekstrak *A. paniculata* Nees. yang akan diuji aktifitas antimikrobanya pada penelitian ini tidak disterilisasi terlebih dahulu karena sterilisasi menggunakan autoklaf dapat merusak bahan yang tidak tahan panas dan sterilisasi menggunakan membran filter juga memiliki kelemahan yaitu mengurangi jumlah bahan antimikroba yang terserap oleh bahan membran filter, sedangkan sterilisasi yang dianjurkan adalah menggunakan radiasi sinar gama (Dey *and* Hardbone, 1991). Sebelum penanaman bakteri *H. pylori* pada media TSB yang mengandung ekstrak etanol *A. paniculata* Nees., terlebih dahulu dilakukan uji sterilitas terhadap media TSB yang mengandung ekstrak. Uji sterilitas media TSB yang mengandung ekstrak *A. paniculata* Nees. menunjukkan hasil yang steril sehingga dipastikan tidak ada bakteri yang berasal dari bahan ekstrak. Keasaman (pH) ekstrak dan media TSB yang mengandung ekstrak berbagai konsentrasi perlu diperiksa sebelum dilakukan uji antimikroba. Hal ini diperlukan karena bakteri mungkin tidak dapat tumbuh bila ekstrak terlalu asam atau terlalu basa (Dey *et. al.*, 1991). Hasil pemeriksan keasaman menunjukkan pH ekstrak

*A. paniculata* Nees. lebih rendah. Pada media TSB yang mengandung ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. dengan pH lebih rendah sampai pH ternyata terdapat pertumbuhan bakteri *H. pylori* pada semua konsentrasi dan semua pengulangan (tabel 5.1). Hal ini menunjukkan pH ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. yang lebih rendah tidak berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *H. pylori*. Keadaan ini dapat terjadi karena media TSB yang mengandung ekstrak *A. paniculata* Nees. memiliki pH mendekati rentang keasaman lingkungan yang sesuai bagi pertumbuhan bakteri *H. pylori*, yaitu antara pH 4 – 7.0 (Marshall and Warren, 1991).

Kemudian dapat disimpulkan bahwa tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media TSB yang mengandung ekstrak *A. paniculata* Nees. 10.000 µg/mL, 9.000 µg/mL, 8.000 µg/m bukan karena faktor peningkatan keasamannya, tapi disebabkan oleh bahan yang memiliki aktifitas antimikroba terhadap bakteri *H. pylori* di dalam ekstrak *A. paniculata* Nees.

Uji aktifitas antimikroba ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. terhadap bakteri *H. pylori* dalam penelitian ini dilakukan secara dilusi tabung tripticase soy broth merupakan metode yang tepat untuk digunakan menguji aktifitas antimikroba suatu ekstrak tanaman karena organisme mikroaerofilik yang membutuhkan CO<sub>2</sub> lebih mudah berkembang biak pada media cair selain suplemen Skirrow (Dent *et, al.*, 1988). Selain itu kelebihan metode dilusi tabung cair adalah apabila bahan ekstrak tanaman yang diuji mengandung minyak esensial, bahan yang non polar dan bahan antimikroba yang tidak dapat berdifusi maka masih dapat diuji menggunakan metode ini (Dey *et, al.*, 1991).

Berdasarkan hasil uji antimikroba secara dilusi tabung, ekstrak etanol *A. paniculate* Nees. sampai konsentrasi 7.000 µg/mL dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri *H. pylori*, sehingga ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. memiliki KHM

7.000  $\mu\text{G}/\text{mL}$ , terhadap bakteri *H. pylori*. Pada pengamatan persentase kokoid pada jam ke-60, 66, dan 72 masih terdapat bentuk batang akan tetapi tidak terdapat pertumbuhan koloni karena sifat khas bakteri *H. pylori* yang membentuk koloni apabila jumlah yang ditanam cukup banyak (Logan and Walker, 2002).

Sedangkan pada konsentrasi 6.000  $\mu\text{G}/\text{mL}$  masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *H. pylori* tetapi dibandingkan dengan konsentrasi 7.000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  daya hambatnya mengalami penurunan. Konsentrasi suatu agen antimikroba dapat mempengaruhi potensinya, karena penurunan konsentrasi antimikroba akan menurunkan potensi, sehingga penurunan sebanyak setengahnya dapat meningkatkan waktu yang diperlukan sebanyak 64 kali lipat untuk membasmi bakteri (Joklik et al., 1988).

Penelitian Yuan-Chuen dan Tung-Liang Hang 2004, dari 50 jenis ekstrak etanol tanaman obat yang berasal dari Taiwan, maka hanya lima jenis yang bereaksi sensitif terhadap beberapa strain ATCC *H. pylori* yaitu *Anisomeles indica* (L.) O. Kuntze (AIOK), *Alpina speciosa* (Wendl.) K. Schum. (ASKS), *Bidens pilosa* L.var. *minor* (Blume.) Sherff, *Paederia scandens* (Lour.) Merr. (PSM) dan *Phambago zeylanica* L. (PZL) yang memiliki KHM : PSM memiliki KHM terendah yaitu berkisar 0.64 - 5.12  $\text{mG}/\text{mL}^{-1}$ , sedangkan PZL memiliki KHM berkisar 0.64 - 10.24  $\text{mG}/\text{mL}^{-1}$  dan AIOK, BMDC dan ASKS memiliki kisaran KHM 1.28 - 5.12  $\text{mG}/\text{mL}^{-1}$ . Nilai KHM ekstrak etanol *A. paniculata* Nees 7.000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  atau 7  $\text{mG}/\text{mL}^{-1}$  merupakan termasuk kisaran KHM sedang apabila dibandingkan dengan hasil penelitian tersebut.

Nilai KHM 7.000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sudah jauh di atas ambang batas untuk menentukan apakah potensi antimikroba ekstrak yang berasal dari suatu bahan alam layak dikembangkan untuk digunakan sebagai agen antimikroba. Suatu ekstrak bahan alam dinyatakan layak untuk dikembangkan sebagai agen antimikroba bila mampu



menghambat pertumbuhan bakteri (KHM) pada konsentrasi 10–500 µg/ml (Nascimento *et al.*, 2000).

Penelitian Kusters *et al.*, 1997 menghasilkan KHM *H. pylori* terhadap kanamisin monosulfat 100µG/mL, kloramfenikol 20µG/mL, Rifamin 150µG/mL, Tetrasiklin hidroklorid 15µG/mL, amoksisilin 1µG/mL dan menyebabkan terbentuknya 100% morfologi kokoid *H.pylori* dalam waktu 6 jam. Selain itu untuk menentukan adanya bahan antiinfeksi (antibakteri, antifungi, antivirus dan antiparasit) yang potensial dari suatu bahan alam, Cos *et al.*, merekomendasikan agar dalam percobaan uji antiinfeksi secara *invitro* menggunakan konsentrasi kurang dari 100 µg/mL untuk ekstrak tanaman dan di bawah 25µM untuk isolat senyawa murni, hal ini untuk menghindari hasil positif palsu.

Menurut Nascimento *et al.*, 2000, suatu ekstrak bahan alam dinyatakan layak untuk dikembangkan sebagai agen antimikroba bila mampu menghambat pertumbuhan bakteri (KHM) pada konsentrasi 10–500 µg/ml (Nascimento *et al.*, 2000).

Untuk menentukan adanya bahan antiinfeksi (antibakteri, antifungi, antivirus dan antiparasit) yang potensial dari suatu bahan alam, Cos *et al.*, 2006 merekomendasikan dalam percobaan uji antiinfeksi secara *invitro* menggunakan konsentrasi kurang dari 100 µg/mL untuk ekstrak tanaman dan di bawah 25µM untuk isolat senyawa murni, hal ini untuk menghindari hasil positif palsu.

Sifat aktifitas antimikroba ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. diketahui dengan melalui pengamatan perubahan morfologi *H. pylori* dengan mikroskop pembesaran 1000 kali. Hasil pemeriksaan mikroskopis menunjukkan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. konsentrasi 9.000 µg/ml dan 8.000 µg/ml merusak sel *H. pylori* yang dibuktikan dengan tidak ditemukannya bentuk sel *H. pylori*.



Penurunan jumlah bakteri *H. pylori* yang dipapar ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. dapat disimpulkan sebagai efek hambatan kecepatan pertumbuhan / pembelahan (*doubling time*) oleh senyawa aktif yang ada di dalam ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. terhadap bakteri *H. pylori*. Pada penelitian ini sampai konsentrasi 7.000 µg/mL (KHM) aktifitas ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. bersifat bakteristatik, yang ditandai dengan sel bakteri tetap utuh, tidak mengalami kerusakan permanen atau lisis tetapi terjadi perubahan sel menjadi bentuk kokoid perlapangan pandang yang menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan bakteri, hal ini sesuai dengan definisi Baron *et al* 1994. sedangkan bentuk kokoid kecil merupakan bentuk "pertahanan" (Goodwin,1993)

Ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. Yang ditingkatkan konsentrasinya sampai 8.000 µg/mL ternyata mampu membunuh bakteri *H. pylori*. Pemeriksaan mikroskopis menunjukkan tidak ada sel bakteri *H. pylori* yang utuh pada semua lapangan pandang, dan tidak ada pertumbuhan pada media BAP subkultur dari TSB setelah diinkubasi 6 jam, maka disimpulkan bahwa pada konsentrasi 8.000 µg/mL aktifitas antimikroba ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. bersifat bakterisidal, hal ini sesuai dengan definisi bakterisidal menurut (Baron *et. al.*,1994).

Hasil pemeriksaan mikroskopis pada penelitian menunjukkan adanya peningkatan prosentase bentuk kokoid bakteri *H. pylori* perlapangan pandang seiring dengan lama waktu inkubasi. Adanya bentuk kokoid terbukti bahwa pemberian amoksisilin dapat mengubah semua bentuk spiral menjadi bentuk kokoid pada inkubasi 6 jam (Kusters *et. al.*,1997). Sedangkan terbukti bahwa bentuk kokoid sulit untuk dikultur dan tidak menunjukkan aktifitas enzimatis urease sehingga semua diagnostik yang berdasar urease hasilnya negatif (Jekti, 2003). Perubahan *H. pylori* menjadi bentuk kokoid ini sesuai dengan penelitian *H. pylori* yang dipapar

amoksisilin pada penelitian Kuster *et al.*, (1997) bahwa mekanisme senyawa aktif yang ada dalam ekstrak *A. paniculata* Nees. akan merusak lapisan peptidoglikan dinding sel bakteri *H. pylori* seperti mekanisme kerja amoksisilin, sehingga terjadi perubahan bentuk sel yang sama yaitu dari bentuk batang menjadi kokoid.

Menurut Sarafnejad *et al.* 2007, mengemukakan bahwa *Helicobakteri pylori* dapat berbentuk 2 macam yaitu spiral dan kokoid. Bentuk kokoid terjadi bila bakteri ini berada pada kondisi yang tidak menguntungkan seperti pH rendah, masa inkubasi yang diperpanjang, peningkatan oksigen, dan akibat pengaruh antibiotik. Bentuk bakteri ini "non culturable" dan diperkirakan bentuk kokoid adalah bentuk sel mati..

Berdasarkan hasil uji antimikroba secara dilusi tabung diperoleh KHM ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. sebesar 7.000 µg/mL dan KBM ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. 8.000 µg/mL serta berdasarkan hasil pemeriksaan mikroskopis menunjukkan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. bersifat bakteriostatik pada konsentrasi 7.000 µg/ml namun bersifat bakterisidal pada konsentrasi 8.000 µg/mL, semuanya menunjukkan potensi aktifitas antimikroba ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. tetapi nilai KBM di atas juga menunjukkan potensi antimikroba ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. lemah terhadap bakteri *H. pylori*. Sehingga ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. bila digunakan sebagai agen terapi infeksi bakteri *H. pylori* perlu dosis besar untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri *H. pylori*.

Pada penelitian ini tidak dilakukan proses pemurnian, identifikasi dan kuantifikasi senyawa aktif yang memiliki aktifitas antimikroba di dalam ekstrak serta tidak pula diketahui mekanisme pasti dan target sarannya pada bakteri *H. pylori*. Meskipun demikian dari penelitian ini dapat diketahui adanya aktifitas antimikroba yang lemah dan sifat aktifitas antimikroba ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. terhadap bakteri *H. pylori* serta dugaan mekanisme kerjanya pada lapisan peptidoglikan dinding sel

bakteri. Adanya aktifitas antimikroba yang lemah merupakan hasil interaksi antara faktor senyawa aktif yang ada di dalam ekstrak etanol daun *A. paniculata* Nees. dengan faktor bakteri *H. pylori*. Faktor senyawa aktif dalam ekstrak etanol *A. paniculata* Nees. yaitu kandungan kimia dari daun dan percabangan mengandung laktone yang terdiri dari deoksiandrografolid, andrografolid (zat pahit), neoandrografolid, 14-deoksi-11-12-didehidroandrografolid, dan homoandrografolid. Juga terdapat flavonoid, alkane, keton, aldehyd, mineral (kalium, kalsium, natrium), asam kersik, dan damar. Flavotioid diisolasi terbanyak dari akar, yaitu polimetoksilflavon, androgravin, pan.ikulin, mono-0- metilwithin, dan apigenin-7, 4-dimetileter. (Anonim<sup>1</sup>, 2003). Kandungan kimia dari daun dan percabangan mengandung laktone melalui mekanisme penghambat proton (Chang and Bur, 1965). Bakteri *H. pylori* yang termasuk bakteri Gram negatif punya dinding sel yang lebih kompleks dibandingkan bakteri Gram positif. Struktur dinding sel yang kompleks menyebabkan permeabilitas dinding sel bakteri *H. pylori* rendah terhadap bahan antimikroba, terutama terjadi karena adanya membran luar (*outer membrane*) yang bersifat hidrofobik menjadi penghalang (*barrier*) penetrasi bahan antimikroba, mengurangi penetrasi molekul hidrofilik kecil dan menghalangi molekul yang lebih besar (Lambert, 2002).

Interaksi faktor senyawa aktif dengan faktor bakteri *H. pylori* di atas perlu diteliti lebih lanjut agar dapat diketahui senyawa mana yang paling aktif sebagai antimikroba, berapa kuantitasnya dan bagaimana mekanisme kerja terhadap target sel bakteri *H. pylori*.

## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1. Kesimpulan

1. Ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. dapat menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* pada konsentrasi 7.000 µg/mL.
2. Ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. dapat membunuh *Helicobacter pylori* pada konsentrasi 8.000 µg/mL.
3. Terdapat pengaruh perlakuan berbagai kadar ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. terhadap pertumbuhan *Helicobacter pylori*.
4. Terdapat pengaruh perlakuan berbagai kadar ekstrak etanol *Andrographis paniculata* Nees. terhadap persentase kokoid *Helicobacter pylori*.

#### 7.2. Saran

1. Disarankan untuk perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas anti *H. pylori* dari *A. paniculata* Nees. dengan menggunakan berbagai macam pelarut dengan polaritas berbeda sehingga dapat diketahui polaritas mana dari tanaman ini yang mempunyai aktivitas paling tinggi yang nantinya dapat dilanjutkan pula dengan mengisolasi kandungan kimia yang berkhasiat aktif sebagai anti *H. pylori*.
2. Untuk menentukan adanya antibakteri yang potensial dari suatu bahan alam, Cos et, al., 2006, merekomendasikan untuk menghindari hasil positif palsu dalam percobaan uji antiinfeksi secara *invitro* menggunakan konsentrasi kurang dari 100 µg/mL untuk ekstrak tanaman.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim<sup>1</sup>, 2006 **Mengupas Kehebatan obat Tradisional, Seminar Herbal**, [online] <http://www.itb.ac.id/news/trackback/1152> [Mar 3, 2009].
- Anonim<sup>2</sup>, **Pemeriksaan Alkohol Pelatihan Pemeriksaan NAPZA bagi petugas Laboratorium Rumah sakit di BLK Yogyakarta Tgl. 5 - 6 Agustus 2002.**
- Ahmad Zorin Sahalan, Nazahiyah Sulaiman, Nihayah Muhamed, Kaswandi MD, Ambia, Hing Hian Lian, 2007. **Antibacterial activity of *Andrographis Paniculata* and *Euphorbia hirta* Methanol Extract**. 5 (2):1-8. J. Sain Kesehatan Malaysia.
- Almatsier M., dan Sudibyo R. B., 1996 **Peran Dokter dalam Pemanfaatan Obat Tradisional pada Pelayanan Kesehatan. Makalah disampaikan pada Kongres Nasional Obat Tradisional Indonesia**, diterbitkan Dexa Media (Majalah Kedokteran dan Farmasi) No2 Vol. 14, Surabaya, p 71.
- Baron, EJ., Peterson, LR., Finegold, SM., 1994. **Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology**, Mosby Inc, St.Louis.
- Berghe, D.A., Vlietinck, AJ, 1991. **Screening Methods for Antibacterial and Antiviral Agent Higer Plant Method in Plant Biochemistry**, Vol. 6, London Harchourt Brace Javanovich Publisher. p.47 – 58.
- Brooks, GF., Butel, JS., Ornston, LN., editors. 2007. **Jawetz, Melnick & Adelberg Medical Microbiologi 24<sup>th</sup> edition**, McGraw-Hill Companies.
- Cost, P., Vlietinck, AJ., Berghe, DV., Maes, L., 2006. **Anti Infective Potential of Natural Products: How to Develop a Stronger in vitro Pro of Concept**, Journal of Ethnopharmacology 106: p.290-302
- Chang HM and Bur PPH, 1965. **Pharmacology and Aplication of Chines Materia Medica**, Vol.2, World Scientific Publishing Co.Ptd.Ltd Hongkong, p18-924.
- Cowan, MM., 1999. **Plants Product as Antimicrobial Agents, Clinical Microbiology Review**, Vol 12. No. 4 p 564-582.
- Dent JC, Mc Nulty CAM, 1988. **Culture of *H. pylor* Clinical Microbiologi Infection Disease**. 7 p 555-568.
- Dey, PM., and Harborne, JB., 1991. **Methods in Plant Biochemistry**, Volume 6 Assay for Bioactivity, Academic Press, London.
- Dwiputro A.Y., 2000. **Uji Sitotoksisitas Andrografolida dan ekstrak Etanol Herba Sambiloto pada kultur sel Rabdomiosarkoma dengan Metode Pewarnaan MTT**. Skripsi, FF Unair, Surabaya.



- Fiche, 2007. **De diagnostic *Helicobacter pylori*** [on line] [http://www-microbes-edu-org-professional-diag-imghel-macro\\_jpg,htm](http://www-microbes-edu-org-professional-diag-imghel-macro_jpg,htm). [Jan 12, 2009]
- Yan-Chen Wang and Tung-Lang Huang **Screening of anti-*Helicobacter pylori* herbs deriving from Taiwanese folk medicinal plants** FEMS Immunologi and Medical Microbiologi 43 (2005) 295 – 300.
- Godwin CS., Mendall MM., 1997. Northfend TC ***Helicobacter pylori* infection** Lancet 347:265:9.
- Hariati Y., 1991. **Uji Aktivitas Imunomodulator daun Sambiloto Terhadap Sistem Fagositosis Mencit**. Skripsi, FF Unair, Surabaya.
- Harborne, J. B. 1987. **Metode Fitokimia**. Jilid II. Penerbit ITB. Bandung. p 4 – 5.
- Hold JG, Krieg, Sneath, PH, Staley JT, Williams S.T, 1994. **Bergey's manual of Determinative bacteriology**. Ninth edition, Baltimore-Maryland USA: Williams & Wilkins. p 194 – 195.
- Jawetz, E, J. L. Melnick and E. A. Adelberg. 2005. **Mikrobiologi Kedokteran**. Edisi 22. Buku Kedokteran. EGC. Jakarta. p 159 – 160.
- Jekti DSD, 2003. **Pengaruh Aerobiosis dan Antibiotik terhadap karakteristik daya tahan, virulensi dan ultrastruktur bentuk kokoid *Helicobacter pylori***. Disertasi], Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Joklik, K., Willet, HP., Amos, DB., Wifert, CM., 1988. **Zinsser Microbiology 19<sup>th</sup> edition**, Appleton & Lange.
- Kusters *et al* 1997 **Cocoid Forms of *Helicobacter pylori* Are the Morphologic Manifestation of cell death Infection and Immunity**, p 3672-3679 american Society for Microbiology.
- Logan RPH, and Walker M.M, 2002. **A B C of the upper gastro intestinal tract: Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection**. BMJ.323. p 920-922.
- Madjid Nikmah, 2004 **Aktivitas *Andrographolida* isolate dari *Andrographis paniculata* Nees Terhadap Bakteri *Enteroinvasive Escherechia coli* (EIEC) In vitro**. Tesis Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya. p 23 -27.
- Malaty HM, Graham DY, 1994. **Importance of childhood socioeconomic status on the current prevalence of *Helicobacter pylori* infection**. Gut.35. p 742 – 245.
- Marshal BJ, and JR Warren, 1984. **United curved bacilli in the stomach of patiens with gastritis and peptic ulceration**. Lancet. 1: p 1311 – 1315.
- Marshall BJ, Warren JR 1984, **Unidentified curved bacilli in the stomach**

- of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1 (8390): 1311-5. doi:10.1016/S0140-6736(84)91816-6. PMID 6145023.
- Matsuda T., Kuroyanagi M, Sugiyama S, Umehara K, Ueno A, Nishi K, 1994. **Cell Differentiation Inducing Diterpens From *A. paniculata* Nees.** In Chemical and Pharmaceutical, Buletin, Vol. 42 No. 6, Pharmaceutical Society of Tokyo, p 1216-1225.
- Morgan DR and RD Leunk, 1989. **Pathogenesis of infection by *Campylobacter pylori*.** In Blaser MJ (Ed): *Campylobacter pylori* in gastritis and peptic ulcer disease. I gaku Shoin, New York. p 115 - 134.
- Murray P.R., Baron E.J James H.J., Michael A.P., and Robert H.Y., 2003 **Manual of Clinical Microbiology. 8<sup>th</sup> edition**, Vol.1 American Society for Microbiology (ASM) Press, Washington, p.379,656,659
- Nascimento, GGF., Locatelli, J., Freitas, P.C., 2000. **Antibacterial Activity of Plant Extracts and Phytochemicals on Antibiotic Resistant Bacteria, Braz. J. Microbiol.** vol.31 no.4.
- Ni Made Mertaniasih, Marijam Purwanta, Justinus F. Palilingan, Aty Widyawaruyanti, 2006. **Efek Anti Mikroba Andrografolida isolate dari Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) Terhadap *Mycobacterium tuberculosis*** Media IDI.htm Vol. 31 No 1 2006
- Jani O'Rourke and Gunter Bode, 2000 **Morphology and Ultrastructure *H. pylori*.** <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=hp&part=A551>. [online] [Akses 25 Juli 2009]
- Paxton DJ, 1991 **Assay for Antifungal Activity. In method in Plant Biochemistry** Vol.6 London, Harchourt race Javanovich Publisher P 33-46.
- Pelczar, MA, and CS. Chan, 1988 **Dasar-Dasar Mikrobiologi.** Alih Bahasa Ratna dkk, Penerbit Universitas Indonesia Press, Jakarta. p. 718-720 810-811
- Poeloengan Masniari, Choirul, Komala Iyep, Salamah Siti, MN Susan, 2006 **Aktivitas antimikroba dan fitokimia beberapa tanaman obat**, Abstr. Balai Penelitian Veteriner Fakultas Farmasi Universitas Jakarta dan Fakultas Peternakan IPB Bogor. Agst 17 2006,
- Puri A, Saxena R., Saxena RP., Saxena KC., Srivasta V., Tandon JS., 1993. **Immuno Stimulant Agent from *A. paniculata* Nees.** *J. Natural Product*, Vol. 3No. 4. p 193-198.
- Radjaram A., Ulja, Hadi S, Hafid.F., 2000. **Dispersi Solida Andrografolida Untuk Rancangan Dasar Formulasi Ekstrak Kering Terstandar Herba *A. paniculata*.** Nees Lemlit Unair, Surabaya, p 2, 18, 19.
- Rathbone B.J, Heatley RV, 1989. **Immunology of *C. pylori* infection in blaser MJ**



- ED) *Campylobacter pylori* In gastritis and peptic ulcer. New York: I gaku zhojn, p 135 – 146.
- Santa, I G P., 1996 **Studi Taksonomi Sambiloto *A. paniculata* Nees. warna Tumbuhan Obat Indonesia** Vol. 3 No. 1 hal 14.
- Saxena s, 1998. **Chemistry and Pharmacology of Andrographis spesies. Published in Indian Drugs 35 Andrographolide; Andrographis Phitochemistry of *A. paniculata* Nees.** [on line] w.geocities .co/andrographis/phytochemistry.htm [Mar 3, 2009].
- Schlegel, G. Hans. 1993. Seventh Edition. **General Microbiology Cambridge University**
- Soewignjo S, Wenny A., Muttaqin Z., 1993. **Penelitian epidemiologi infeksi *Helicobacter pylori* di Mataram.** DEXA Medica. 3 (6): p 9 – 12
- Soemoharjo Soewinjo, 2009, ***Helicobacter pylori* dan penyakit Gastroduodenal** Mataram Biomedical Scientists.
- Sembiring Soffiana Bagem, 2007. **Perkembangan Tekhnologi Tanaman Rempah Dan Obat Teknologi Penyiapan Simplisia Terstandar Tanaman Obat Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Edisi Khusus No.1** 2007. p 20 -35
- Wenny A, Soewignjo. S, Muttaqin Z., 1994. **Karyawan Rumah Sakit Sebagai Kelompok Resiko Tinggi Infeksi *Helicobacter pylori*.** Jurnal RSU Mataram 6. p 13 – 21.
- Widyawaruyanti A, 1999. **Aktivitas Imunomodulato Senyawa-senyawa Diterpenoid dari *A. paniculata* Nees. Terhadap Fungsi Sitotoksik Limfosit T- Sitotoksik (CD8+) Mencit.** [Thesis ] Fakultas Farmasi Unair, Surabaya.
- Widyawaruyanti Aty, 2003. **Uji aktivitas antimalaria isolat fraksi petroleum Eter herba Sambiloto in vitro.** [on line] ResearchReport dari JIPTUNAIR . / file:///C:/Documents and Settings/microsoft/My Documents/jiptunair-gdl-res-2003-widyawaruyanti2c-789 - sambiloto - ADLN Digital Collections - GDL 4\_0.htm. [Mar 4, 2009].
- WHO, 2007 **Andrographolide: WHO of Andrographolide 95%** [on line]. <http://www.wamai.com/category/botext/andrograph.htm> [Feb.15, 2009].
- Zaidan *e tal*, 2005. **In vitro screening of five local medicinal plants for antibacterial activity using disc diffusion method.** Tropical Biomedicine p.22(2):165-170



# UNIVERSITAS AIRLANGGA

## FAKULTAS KEDOKTERAN

Kampus A Jln. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60131 Telp.(031) -5020251, 5030252-3 Faks.(031) -5022472  
Website:<http://www.fk.unair.ac.id> e-mail : [info@fk.unair.ac.id](mailto:info@fk.unair.ac.id)

: 738/H3.1.1/PPd.17/2009

18 Maret 2009

: Ijin penelitian

Kepada Yth,  
Direktur  
Rumah Sakit Umum  
Mataram

Sehubungan dengan rencana penelitian tesis mahasiswa Program Studi Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga :

Nama	: Agrijanti
NIM.	: 090710007M
Program Studi	: Ilmu Kedokteran Dasar
Minat Studi	: Mikrobiologi Kedokteran
Judul penelitian	: Uji aktivitas antimikroba senyawa andrografolida dari ekstrak andrographis paniculate ness terhadap helicobacter pylori

dengan ini saya mohon bantuan Saudara untuk memberikan ijin bagi mahasiswa tersebut untuk penelitian di Instansi yang dimaksud.

Demikian atas bantuan Saudara, saya sampaikan terima kasih.



Dekan,

Prof. Dr. Muhammad Amin, dr.,Sp.P(K)  
NIP. : 130517186



**PEMERINTAH PROPINSI NUSA TENGGARA BARAT**  
**RUMAH SAKIT UMUM PROVINSI**  
Jln. Pejanggalik No. 6 Tlp. (0370)623876.Fax.(0370)621345 Mataram

Nomor : 423.6/1319 /RSUProv.NTB  
Lampiran :  
Perihal : **Ijin Penelitian**

Mataram, 6 Mei 2009

Kepada Yth,  
Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Airlangga  
di-  
**Surabaya**

Sehubungan dengan surat Saudara Nomor 738/H3.1.1/PPd.17/2009, tanggal 18 Maret 2009, perihal Ijin penelitian, dengan ini kami sampaikan bahwa Mahasiswa :

Nama : Agrijanti  
NIM : 090710007M  
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antimikroba Senyawa Andrografolida dari Ekstrak *Andrographis Paniculate* Ness terhadap *Helicobacter Pylori*.

Pada prinsipnya kami dapat menyetujui sepanjang mematuhi ketentuan dan tata tertib yang berlaku di Rumah Sakit Umum Provinsi NTB

Untuk dimaklumi, bahwa hasil penelitian 1 (satu) rangkap diserahkan kepada pihak RSU Provinsi NTB

Demikian untuk maklum, atas perhatiannya disampaikan terima kasih.

An, Direktur RSU Provinsi  
Wakil Pendidikan & Penelitian

**Drs. H. Lulus Marzuki, M.Kes**  
Pejabat Tingkat I  
NIP.195709011980081002



DEPARTEMEN KESEHATAN RI  
POLITEKNIK KESEHATAN MATARAM  
JURUSAN ANALIS KESEHATAN

Jln. PRABURANGKASARI DASAN CERMEN CAKRANEGARA  
TELP ( 0370 ) 622143, FAX ( 0370 ) 641937



Nomor : DI.02.02.5.355B  
Lampiran : -  
Hal : Ijin Pemakaian Lab.

18 Agustus 2009

Yth. Sdr. Agrijanti

di-

Tempat

Dengan hormat,

Menunjuk surat saudara tertanggal 15 Agustus 2009 perihal mohon ijin pemakaian fasilitas laboratorium untuk keperluan penyelesaian tugas akhir (tesis) yang berjudul " Uji aktivitas antimikroba Ekstrak Etanol *Andrographis paniculata* Nees terhadap p pertumbuhan dan presentase jumlah kokoid *Helicobacter pylori*", bersama ini kami sampaikan bahwa kami mengizinkan saudara menggunakan fasilitas laboratorium dengan ketentuan mematuhi peraturan yang berlaku di Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Depkes Mataram.

Demikian dan terima kasih.



Yunan Jwintarum, S.Si., M.Kes

HP 08130102 199203 1 0 J1



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL  
UNIVERSITAS MATARAM FAKULTAS PERTANIAN  
LABORATORIUM BUDIDAYA DAN KONSERVASI HUTAN  
HERBARIUM MATARAMENSE (MR)  
MATARAM, INDONESIA  
Jl. Majapahit No. 62 Mataram 83127**

## **SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirim ke Herbarium Mataramense, Laboratorium Budidaya dan Konservasi Hutan, Fakultas Pertanian-Universitas Mataram oleh:

Nama/Hp. : Agrijanti / 081703309917  
Jur./Fak./PT. : Analis Kesehatan Poltekkes Mataram

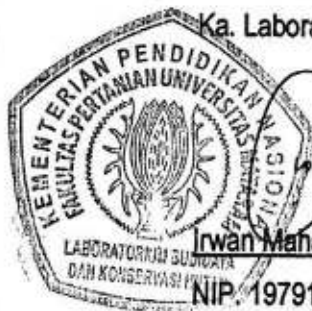
Maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut:

1. *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Ness. (Acanthaceae).

Demikian mudah-mudahan bermanfaat.

Mataram, 10 Februari 2010

Ka. Laboratorium,

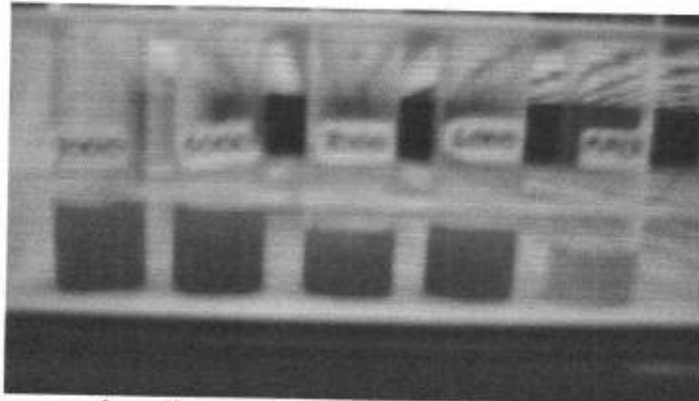


Irwan Mahakam Lesmono Aji, S.Hut., M.For.Sc.

NIP. 19791119 200312 01 001

**Determined by Drs. I Gde Mertha, M.Si.**

Lampiran 5. Gambar hasil pengamatan pada media Uji antimokroba



Perlakuan pemaparan pada media TSB inkubasi kadar CO<sub>2</sub> 5%, O<sub>2</sub> 10% N<sub>2</sub> 89%. Dilakukan pengamatan mikroskopis dan pengamatan setiap 6 jam.



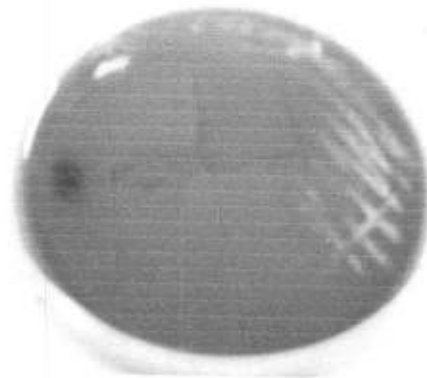
0% kokoid pada media TSB inkubasi 37°C kadar CO<sub>2</sub> 5%, O<sub>2</sub> 10% N<sub>2</sub> 89%. Inkubasi 48 jam kadar 0µG/mL



Sub kultur pada media BAP dari media TSB kadar 0µG/mL inkubasi 48 jam kadar CO<sub>2</sub> 5%, O<sub>2</sub> 10% N<sub>2</sub> 89%. Koloni 372.4 CFU



24% kokoid pada media TSB pemaparan 7000 µG/mL inkubasi 48 jam kadar CO<sub>2</sub> 5% O<sub>2</sub> 10% N<sub>2</sub> 89%.



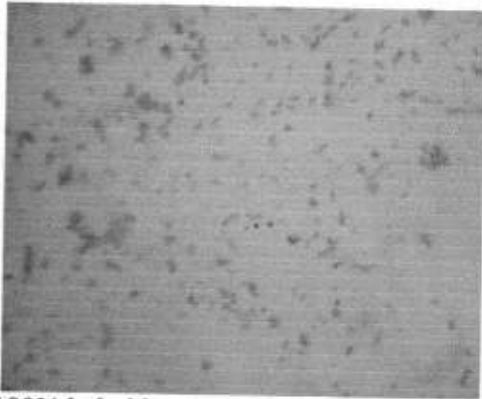
Subkultur pada media BAP dari media TSB 7000 µG/mL inkubasi 48 jam kadar CO<sub>2</sub> 5% O<sub>2</sub> 10% N<sub>2</sub> 89%.



47,4% kokoid pada media TSB pemaparan 6000  $\mu\text{G}/\text{mL}$  inkubasi 48 jam kadar  $\text{CO}_2$  5%  $\text{O}_2$  10%  $\text{N}_2$  89%.



Subkultur pada media BAP dari media TSB 6000  $\mu\text{G}/\text{mL}$  inkubasi 48 jam kadar  $\text{CO}_2$  5%  $\text{O}_2$  10%  $\text{N}_2$  89%.



100% kokoid pada media TSB pemaparan 1 amoksilin  $\mu\text{G}/\text{mL}$  inkubasi 48 jam kadar  $\text{CO}_2$  5% 6000  $\mu\text{G}/\text{mL}$  inkubasi 48 jam



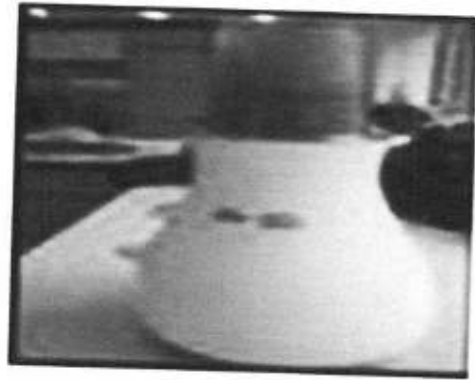
Subkultur pada media BAP dari media TSB 1 amoksilin  $\mu\text{G}/\text{mL}$  inkubasi 48 jam kadar  $\text{CO}_2$  5% 6000  $\mu\text{G}/\text{mL}$  inkubasi 48 jam



Lampiran 6. Pembuatan ekstrak etanol *A. paniculata* Nees.



Sambiloto dikeringkan



Dihaluskan jadi serbuk



Disaring



Direndam 2 hari dengan etanol 96%



Dikeringkan dengan rotary evaporator



Pengukuran pH ekstrak pada media TSB

Lampiran 7. Hasil penghitungan koloni dan persentase kokoid.

**1. Hasil penghitungan koloni**

Hasil penghitungan koloni *H. pylori* setelah uji antimikroba dengan ekstrak etanol *A. paniculate* Nees 9000  $\mu\text{G/mL}$ .

Waktu inkubasi	Jumlah koloni <i>H. pylori</i> (Cfu)/ replikasi						total	Rata-rata
	1	2	3	4	5			
6	0	0	0	0	0	0	0	
12	0	0	0	0	0	0	0	
18	0	0	0	0	0	0	0	
24	0	0	0	0	0	0	0	
30	0	0	0	0	0	0	0	
36	0	0	0	0	0	0	0	
42	0	0	0	0	0	0	0	
48	0	0	0	0	0	0	0	
54	0	0	0	0	0	0	0	
60	0	0	0	0	0	0	0	
66	0	0	0	0	0	0	0	
72	0	0	0	0	0	0	0	

Hasil penghitungan koloni *H. pylori* setelah uji antimikroba dengan ekstrak etanol 8000  $\mu\text{G/mL}$ .

Waktu inkubasi	Jumlah koloni <i>H. pylori</i> (Cfu)/ replikasi						total	Rata-rata
	1	2	3	4	5			
6	0	0	0	0	0	0	0	
12	0	0	0	0	0	0	0	
18	0	0	0	0	0	0	0	
24	0	0	0	0	0	0	0	
30	0	0	0	0	0	0	0	
36	0	0	0	0	0	0	0	
42	0	0	0	0	0	0	0	
48	0	0	0	0	0	0	0	
54	0	0	0	0	0	0	0	
60	0	0	0	0	0	0	0	
66	0	0	0	0	0	0	0	
72	0	0	0	0	0	0	0	

Hasil penghitungan koloni *H. pylori* setelah uji antimikroba dengan ekstrak etanol 7000  $\mu\text{G/mL}$ .

Waktu inkubasi	Jumlah koloni <i>H. pylori</i> (Cfu)/ replikasi						total	Rata-rata
	1	2	3	4	5			
6	35	27	32	30	31	154	23	
12	32	33	31	26	26	178	27.6	
18	32	30	28	25	27	142	28.4	
24	30	27	25	22	29	133	29.6	
30	28	40	41	35	30	174	34.8	
36	27	38	34	30	28	157	31.4	
42	25	35	30	26	23	169	23.8	
48	25	23	28	24	20	120	22	
54	17	20	15	19	21	92	18.4	
60	0	0	0	0	0	0	0	
66	0	0	0	0	0	0	0	
72	0	0	0	0	0	0	0	

Hasil penghitungan koloni *H. pylori* setelah uji antimikroba dengan ekstrak etanol 6000  $\mu\text{G/mL}$

Waktu inkubasi	Jumlah koloni <i>H. pylori</i> (Cfu)/ replikasi						total	Rata-rata
	1	2	3	4	5			
6	221	206	207	226	156	1155	231	
12	227	203	177	185	139	931	186.2	
18	195	177	156	160	129	817.5	163.4	
24	178	159	129	136	117	719	143.8	
30	167	127	93	102	100	599	119.8	
36	125	81	77	98	88	469	93.8	
42	98	78	69	84	72	401	80.2	
48	79	69	57	72	69	346	69.2	
54	51	61	48	59	49	268	53.6	
60	47	44	37	47	36	211	42.2	
66	36	32	29	34	27	158	31.6	
72	22	30	19	28	15	104	22.8	

Hasil penghitungan koloni *H. pylori* setelah uji antimikroba dengan ekstrak etanol 0  $\mu\text{G/mL}$

Waktu inkubasi	Jumlah koloni <i>H. pylori</i> (Cfu)/ replikasi						total	Rata-rata
	1	2	3	4	5			
6	278	265	277	305	284	1040	281.8	
12	281	270	284	310	295	1440	288	
18	291	307	299	319	307	1524	304.6	
24	301	311	320	325	310	1658	331.6	
30	328	327	355	357	350	171.7	343.4	
36	356	355	360	360	356	1777	355.4	
42	360	359	371	367	357	1614	342.8	
48	389	363	380	370	360	1867	372.4	
54	370	367	382	372	363	1870	370.8	
60	321	297	303	374	236	1531	306.2	
66	105	92	94	120	115	526	105.2	
72	37	49	57	59	47	249	49.8	

Hasil penghitungan koloni *H. pylori* setelah uji antimikroba dengan Amoksilin 1  $\mu\text{G/mL}$

Waktu inkubasi	Jumlah koloni <i>H. pylori</i> (Cfu)/ replikasi						total	Rata-rata
	1	2	3	4	5			
6	0	0	0	0	0	0	0	
12	0	0	0	0	0	0	0	
18	0	0	0	0	0	0	0	
24	0	0	0	0	0	0	0	
30	0	0	0	0	0	0	0	
36	0	0	0	0	0	0	0	
42	0	0	0	0	0	0	0	
48	0	0	0	0	0	0	0	
54	0	0	0	0	0	0	0	
60	0	0	0	0	0	0	0	
66	0	0	0	0	0	0	0	
72	0	0	0	0	0	0	0	

## 2. Hasil penghitungan persentase kokoid

Hasil penghitungan persentase kokoid *H. pylori* setelah uji antimikroba dengan ekstrak etanol *A. paniculate* Nees 9000 µG/mL

Waktu inkubasi	Jumlah koloni <i>H. pylori</i> (Cfu)/ replikasi					total	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
6	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0
36	0	0	0	0	0	0	0
42	0	0	0	0	0	0	0
48	0	0	0	0	0	0	0
54	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0
66	0	0	0	0	0	0	0
72	0	0	0	0	0	0	0

Hasil penghitungan persentase kokoid *H. pylori* setelah uji antimikroba dengan ekstrak etanol 8000 µG/mL

Waktu inkubasi	Jumlah koloni <i>H. pylori</i> (Cfu)/ replikasi					total	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
6	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0
36	0	0	0	0	0	0	0
42	0	0	0	0	0	0	0
48	0	0	0	0	0	0	0
54	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0
66	0	0	0	0	0	0	0
72	0	0	0	0	0	0	0

Hasil penghitungan prosentase kokoid *H. pylori* setelah uji antimikroba dengan ekstrak etanol 7000 µG/mL

Waktu inkubasi	Jumlah koloni <i>H. pylori</i> (Cfu)/ replikasi					total	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
6	21	12	22	4	5	106	21.2
12	23	26	21	27	17	113	22.6
18	28	31	23	19	24	133	26.6
24	30	22	35	22	27	133	26.6
30	42	44	45	47	29	215	43
36	46	45	44	39	32	222	44.4
42	49	41	52	45	48	248	49.6
48	50	49	56	57	50	262	52.4
54	70	69	69	72	75	355	71
60	81	79	88	88	84	421	84.2
66	90	89	83	87	94	453	90.6
72	95	96	93	93	90	471	94.2

Hasil penghitungan prosentase kokoid *H. pylori* setelah uji antimikroba dengan ekstrak etanol 6000  $\mu\text{G}/\text{mL}$

Waktu inkubasi	Jumlah koloni <i>H. pylori</i> (Cfu)/ replikasi						total	Rata-rata
	1	2	3	4	5			
6	19	17	15	18	16	85	17	
12	20	19	23	21	25	108	21.6	
18	22	20	25	26	23	116	23.2	
24	23	24	21	26	25	119	23.8	
30	27	28	22	29	30	136	27.2	
36	29	29	33	33	35	158	31.6	
42	37	32	35	38	39	181	36.2	
48	49	47	49	40	52	237	47.4	
54	55	49	56	50	57	267	53.4	
60	58	56	59	62	61	296	59.2	
66	62	66	64	69	60	321	64.2	
72	69	70	72	71	75	357	71.4	

Hasil penghitungan prosentase kokoid *H. pylori* setelah uji antimikroba dengan ekstrak etanol 0  $\mu\text{G}/\text{mL}$

Waktu inkubasi	Jumlah koloni <i>H. pylori</i> (Cfu)/ replikasi						total	Rata-rata
	1	2	3	4	5			
6	0	1	0	5	2	8	1.6	
12	2	3	2	6	4	17	3.4	
18	4	5	5	7	5	26	5.2	
24	5	7	6	8	7	23	6.6	
30	6	7	8	10	9	40	8	
36	8	10	8	10	13	49	9.8	
42	10	10	10	14	12	56	11.2	
48	15	17	23	19	21	95	19	
54	19	24	22	25	21	111	22.2	
60	29	32	34	31	37	163	32.6	
66	33	40	42	39	40	194	38.8	
72	42	46	47	41	45	221	44.2	

Hasil penghitungan prosentase kokoid *H. pylori* setelah uji antimikroba dengan Amoksilin 1 $\mu\text{G}/\text{mL}$

Waktu inkubasi	Jumlah koloni <i>H. pylori</i> (Cfu)/ replikasi						total	Rata-rata
	1	2	3	4	5			
6	78	69	76	77	78	378	75.6	
12	82	75	77	79	81	394	78.8	
18	90	87	89	88	91	445	89	
24	95	97	93	90	100	475	95	
30	100	100	100	100	100	100	100	
36	100	100	100	100	100	100	100	
42	100	100	100	100	100	100	100	
48	100	100	100	100	100	100	100	
54	100	100	100	100	100	100	100	
60	100	100	100	100	100	100	100	
66	100	100	100	100	100	100	100	
72	100	100	100	100	100	100	100	



Post Hoc Tests  
Oneway

Descriptives

jamke12	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					ekstrak etanol 7000 µG/mL	5		
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	186.2000	32.63740	14.59589	145.6753	226.7247	139.00	227.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	288.0000	15.18223	6.78970	269.1488	306.8512	270.00	310.00
Total	15	167.9333	111.69376	28.83920	106.0794	229.7873	26.00	310.00

ANOVA

jamke12	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	169428.9	2	84714.467	194.448	.000
Within Groups	5228.000	12	435.667		
Total	174656.9	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke12

LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	-156.60000*	13.20101	.000	-185.3625	-127.8375
	ekstrak etanol 0µG/mL	-258.40000*	13.20101	.000	-287.1625	-229.6375
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	156.60000*	13.20101	.000	127.8375	185.3625
	ekstrak etanol 0µG/mL	-101.80000*	13.20101	.000	-130.5625	-73.0375
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	258.40000*	13.20101	.000	229.6375	287.1625
	ekstrak etanol 6000µG/mL	101.80000*	13.20101	.000	73.0375	130.5625

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

Oneway

Descriptives

jamke18	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					ekstrak etanol 7000 µG/mL	5		
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	163.4000	24.66374	11.02996	132.7759	194.0241	129.00	195.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	304.6000	10.43072	4.66476	291.6485	317.5515	291.00	319.00
Total	15	165.4667	117.60884	30.36647	100.3371	230.5963	25.00	319.00

**ANOVA**

jamke18

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	190748.1	2	95374.067	394.978	.000
Within Groups	2897.600	12	241.467		
Total	193645.7	14			

**Post Hoc Tests**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: jamke18  
LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	-135.00000*	9.82785	.000	-156.4130	-113.5870
	ekstrak etanol 0µG/mL	-276.20000*	9.82785	.000	-297.6130	-254.7870
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	135.00000*	9.82785	.000	113.5870	156.4130
	ekstrak etanol 0µG/mL	-141.20000*	9.82785	.000	-162.6130	-119.7870
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	276.20000*	9.82785	.000	254.7870	297.6130
	ekstrak etanol 6000µG/mL	141.20000*	9.82785	.000	119.7870	162.6130

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

**Oneway**

**Descriptives**

jamke24

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	26.8000	3.20938	1.43527	22.8151	30.5849	22.00	30.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	143.8000	24.48877	10.95171	113.3932	174.2068	117.00	178.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	313.4000	9.34345	4.17852	301.7986	325.0014	301.00	325.00
Total	15	161.2667	122.68221	31.67641	93.3275	229.2058	22.00	325.00

**ANOVA**

jamke24

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	207923.7	2	103961.867	447.276	.000
Within Groups	2789.200	12	232.433		
Total	210712.9	14			



Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke24  
LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	-117.20000*	9.64227	.000	-138.2087	-96.1913
	ekstrak etanol 0µG/mL	-286.80000*	9.64227	.000	-307.8087	-265.7913
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	117.20000*	9.64227	.000	96.1913	138.2087
	ekstrak etanol 0µG/mL	-169.60000*	9.64227	.000	-190.6087	-148.5913
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	286.80000*	9.64227	.000	265.7913	307.8087
	ekstrak etanol 6000µG/mL	169.60000*	9.64227	.000	148.5913	190.6087

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

Oneway

Descriptives

jamke30

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	34.8000	5.80517	2.59615	27.5919	42.0081	28.00	41.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	117.8000	30.35951	13.57719	80.1037	155.4963	93.00	167.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	343.4000	14.74110	6.59242	325.0965	361.7035	327.00	357.00
Total	15	165.3333	136.20398	35.16772	89.9061	240.7606	28.00	357.00

ANOVA

jamke30

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	255030.5	2	127515.267	326.209	.000
Within Groups	4690.800	12	390.900		
Total	259721.3	14			

**Post Hoc Tests**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: jamke30  
LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	-83.00000*	12.50440	.000	-110.2447	-55.7553
	ekstrak etanol 0µG/mL	-308.60000*	12.50440	.000	-335.8447	-281.3553
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	83.00000*	12.50440	.000	55.7553	110.2447
	ekstrak etanol 0µG/mL	-225.60000*	12.50440	.000	-252.8447	-198.3553
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	308.60000*	12.50440	.000	281.3553	335.8447
	ekstrak etanol 6000µG/mL	225.60000*	12.50440	.000	198.3553	252.8447

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

**Oneway**

**Descriptives**

jamke36

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	31.4000	4.56070	2.03961	25.7371	37.0629	27.00	38.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	93.8000	19.17551	8.57555	69.9905	117.6095	77.00	125.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	357.4000	2.40832	1.07703	354.4097	360.3903	355.00	360.00
Total	15	160.8667	146.62921	37.85950	79.6661	242.0672	27.00	360.00

**ANOVA**

jamke36

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	299424.5	2	149712.267	1139.074	.000
Within Groups	1577.200	12	131.433		
Total	301001.7	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke36

LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	-62.40000*	7.25075	.000	-78.1980	-46.6020
	ekstrak etanol 0µG/mL	-326.00000*	7.25075	.000	-341.7980	-310.2020
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	62.40000*	7.25075	.000	46.6020	78.1980
	ekstrak etanol 0µG/mL	-263.60000*	7.25075	.000	-279.3980	-247.8020
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	326.00000*	7.25075	.000	310.2020	341.7980
	ekstrak etanol 6000µG/mL	263.60000*	7.25075	.000	247.8020	279.3980

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

Oneway

Descriptives

jamke42

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	27.8000	4.76445	2.13073	21.8842	33.7158	23.00	35.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	80.2000	11.49783	5.14198	65.9236	94.4764	69.00	98.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	362.8000	5.93296	2.65330	355.4333	370.1667	357.00	371.00
Total	15	156.9333	152.47551	39.36901	72.4952	241.3715	23.00	371.00

ANOVA

jamke42

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	324722.5	2	162361.267	2562.250	.000
Within Groups	760.400	12	63.367		
Total	325482.9	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke42

LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	-52.40000*	5.03455	.000	-63.3693	-41.4307
	ekstrak etanol 0µG/mL	-335.00000*	5.03455	.000	-345.9693	-324.0307
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	52.40000*	5.03455	.000	41.4307	63.3693
	ekstrak etanol 0µG/mL	-282.60000*	5.03455	.000	-293.5693	-271.6307
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	335.00000*	5.03455	.000	324.0307	345.9693
	ekstrak etanol 6000µG/mL	282.60000*	5.03455	.000	271.6307	293.5693

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

Oneway

Descriptives

jamke48

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	24.0000	2.91548	1.30384	20.3800	27.6200	20.00	28.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	89.2000	7.94984	3.55528	59.3290	79.0710	57.00	79.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	372.4000	12.05404	5.39073	357.4329	387.3671	360.00	389.00
Total	15	155.2000	160.31095	41.39211	66.4228	243.9772	20.00	389.00

ANOVA

jamke48

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	358926.4	2	179463.200	2481.058	.000
Within Groups	868.000	12	72.333		
Total	359794.4	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke48

LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	-45.20000*	5.37897	.000	-56.9198	-33.4802
	ekstrak etanol 0µG/mL	-348.40000*	5.37897	.000	-360.1198	-336.6802
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	45.20000*	5.37897	.000	33.4802	56.9198
	ekstrak etanol 0µG/mL	-303.20000*	5.37897	.000	-314.9198	-291.4802
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	348.40000*	5.37897	.000	336.6802	360.1198
	ekstrak etanol 6000µG/mL	303.20000*	5.37897	.000	291.4802	314.9198

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

Oneway

Descriptives

jamke54

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	18.4000	2.40832	1.07703	15.4097	21.3903	15.00	21.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	53.6000	5.98331	2.67582	46.1707	61.0293	48.00	61.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	370.8000	7.12039	3.18434	361.9589	379.6411	363.00	382.00
Total	15	147.6000	164.12182	42.37607	56.7124	238.4876	15.00	382.00

ANOVA

jamke54

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	376734.4	2	188367.200	6122.444	.000
Within Groups	369.200	12	30.767		
Total	377103.6	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke54

LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	-35.20000*	3.50809	.000	-42.8435	-27.5565
	ekstrak etanol 0µG/mL	-352.40000*	3.50809	.000	-360.0435	-344.7565
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	35.20000*	3.50809	.000	27.5565	42.8435
	ekstrak etanol 0µG/mL	-317.20000*	3.50809	.000	-324.8435	-309.5565
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	352.40000*	3.50809	.000	344.7565	360.0435
	ekstrak etanol 6000µG/mL	317.20000*	3.50809	.000	309.5565	324.8435

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

Oneway

Descriptives

jamke60

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	42.2000	5.35724	2.39583	35.5481	48.8519	36.00	47.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	306.2000	49.59636	22.17972	244.6192	367.7808	236.00	374.00
Total	15	116.1333	142.76498	36.96176	37.0727	195.1939	.00	374.00

**ANOVA**

jamke60

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	275392.1	2	137696.067	166.006	.000
Within Groups	9953.600	12	829.467		
Total	285345.7	14			

**Post Hoc Tests**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: jamke60

LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	-42.20000*	18.21501	.039	-81.8871	-2.5129
	ekstrak etanol 0µG/mL	-306.20000*	18.21501	.000	-345.8871	-266.5129
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	42.20000*	18.21501	.039	2.5129	81.8871
	ekstrak etanol 0µG/mL	-264.00000*	18.21501	.000	-303.6871	-224.3129
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	306.20000*	18.21501	.000	266.5129	345.8871
	ekstrak etanol 6000µG/mL	264.00000*	18.21501	.000	224.3129	303.6871

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

**Oneway**

**Descriptives**

jamke66

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	31.6000	3.64692	1.63095	27.0718	36.1282	27.00	36.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	105.2000	12.39758	5.54437	89.8084	120.5936	82.00	120.00
Total	15	45.6000	46.14078	11.91350	20.0481	71.1519	.00	120.00

**ANOVA**

jamke66

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	29137.800	2	14568.800	261.715	.000
Within Groups	668.000	12	55.667		
Total	29805.600	14			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke66

LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	-31.60000*	4.71876	.000	-41.8813	-21.3187
	ekstrak etanol 0µG/mL	-105.20000*	4.71876	.000	-115.4813	-94.9187
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	31.60000*	4.71876	.000	21.3187	41.8813
	ekstrak etanol 0µG/mL	-73.60000*	4.71876	.000	-83.8813	-63.3187
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	105.20000*	4.71876	.000	94.9187	115.4813
	ekstrak etanol 6000µG/mL	73.60000*	4.71876	.000	63.3187	83.8813

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

Oneway

Descriptives

jamke72

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	22.8000	6.22083	2.78209	15.0757	30.5243	15.00	30.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	49.8000	8.78635	3.92938	38.8903	60.7097	37.00	59.00
Total	15	24.2000	21.84098	5.63932	12.1049	36.2951	.00	59.00

ANOVA

jamke72

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6214.800	2	3107.400	80.433	.000
Within Groups	463.600	12	38.633		
Total	6678.400	14			



Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke72

LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	-22.80000*	3.93107	.000	-31.3651	-14.2349
	ekstrak etanol 0µG/mL	-49.80000*	3.93107	.000	-58.3651	-41.2349
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	22.80000*	3.93107	.000	14.2349	31.3651
	ekstrak etanol 0µG/mL	-27.00000*	3.93107	.000	-35.5651	-18.4349
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	49.80000*	3.93107	.000	41.2349	58.3651
	ekstrak etanol 6000µG/mL	27.00000*	3.93107	.000	18.4349	35.5651

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

ekstrak etanol 7000 µG/mL

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	jamke12	29.6000	5	3.36155	1.50333
	jamke6	33.0000	5	2.91548	1.30384
Pair 2	jamke24	26.6000	5	3.20936	1.43527
	jamke12	29.6000	5	3.36155	1.50333
Pair 3	jamke30	34.8000	5	5.80517	2.59615
	jamke18	28.4000	5	2.70185	1.20830
Pair 4	jamke36	31.4000	5	4.56070	2.03961
	jamke30	34.8000	5	5.80517	2.59615
Pair 5	jamke42	27.8000	5	4.76445	2.13073
	jamke36	31.4000	5	4.56070	2.03961
Pair 6	jamke48	24.0000	5	2.91548	1.30384
	jamke42	27.8000	5	4.76445	2.13073
Pair 7	jamke54	18.4000	5	2.40832	1.07703
	jamke48	24.0000	5	2.91548	1.30384
Pair 8	jamke60	.0000	5	.00000	.00000
	jamke54	18.4000	5	2.40832	1.07703
Pair 9	jamke66	.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
	jamke60	.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
Pair 10	jamke72	.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
	jamke66	.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000

a. The correlation and t cannot be computed because the standard error of the difference is 0.

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	jamke12 - jamke6	-3.40000	1.51658	.67823	-5.28308	-1.51692	-5.013	4	.007
Pair 2	jamke24 - jamke12	-3.00000	3.74166	1.67332	-7.64588	1.64588	-1.793	4	.147
Pair 3	jamke30 - jamke18	6.40000	6.87750	3.07571	-2.13954	14.93954	2.081	4	.106
Pair 4	jamke36 - jamke30	-3.40000	2.50998	1.12250	-6.51655	-.28345	-3.029	4	.039
Pair 5	jamke42 - jamke36	-3.80000	1.14018	.50990	-5.01571	-2.18429	-7.060	4	.002
Pair 6	jamke48 - jamke42	-3.80000	4.71169	2.10713	-9.65033	2.05033	-1.803	4	.146
Pair 7	jamke54 - jamke48	-5.60000	5.27257	2.35797	-12.14876	.94676	-2.375	4	.076
Pair 8	jamke60 - jamke54	-18.40000	2.40832	1.07703	-21.39032	-15.40968	-17.084	4	.000

ekstrak etanol 6000 µg/mL

T-Test

Paired Samples Statistics

Pair		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	jamke12	186.2000	5	32.63740	14.59589
	jamke6	203.2000	5	27.77949	12.42337
Pair 2	jamke24	143.8000	5	24.48877	10.95171
	jamke12	186.2000	5	32.63740	14.59589
Pair 3	jamke30	117.8000	5	30.35951	13.57719
	jamke18	163.4000	5	24.66374	11.02996
Pair 4	jamke36	93.8000	5	19.17551	8.57555
	jamke30	117.8000	5	30.35951	13.57719
Pair 5	jamke42	80.2000	5	11.49783	5.14198
	jamke36	93.8000	5	19.17551	8.57555
Pair 6	jamke48	69.2000	5	7.94984	3.55528
	jamke42	80.2000	5	11.49783	5.14198
Pair 7	jamke54	53.6000	5	5.98331	2.67582
	jamke48	69.2000	5	7.94984	3.55528
Pair 8	jamke60	42.2000	5	5.35724	2.39583
	jamke54	53.6000	5	5.98331	2.67582
Pair 9	jamke66	31.6000	5	3.64692	1.63095
	jamke60	42.2000	5	5.35724	2.39583
Pair 10	jamke72	22.8000	5	6.22093	2.78209
	jamke66	31.6000	5	3.64692	1.63095

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	jamke12 - jamke6	-17.00000	19.17029	8.57321	-40.80306	6.80306	-1.983	4	.118
Pair 2	jamke24 - jamke12	-42.40000	11.58879	5.18266	-56.78938	-28.01062	-8.181	4	.001
Pair 3	jamke30 - jamke18	-45.60000	16.28803	7.28423	-65.82426	-25.37574	-6.260	4	.003
Pair 4	jamke36 - jamke30	-24.00000	18.81489	8.41427	-47.36177	-.63823	-2.852	4	.046
Pair 5	jamke42 - jamke36	-13.60000	9.07193	4.05709	-24.86429	-2.33571	-3.352	4	.029
Pair 6	jamke48 - jamke42	-11.00000	5.76792	2.58844	-18.18665	-3.81335	-4.250	4	.013
Pair 7	jamke54 - jamke48	-15.80000	8.38451	3.74967	-26.01074	-5.18926	-4.160	4	.014
Pair 8	jamke60 - jamke54	-11.40000	4.72229	2.11187	-17.26349	-5.53651	-5.398	4	.006
Pair 9	jamke66 - jamke60	-10.60000	2.07364	.92736	-13.17477	-8.02523	-11.430	4	.000
Pair 10	jamke72 - jamke66	-8.80000	4.81664	2.15407	-14.78065	-2.81935	-4.085	4	.015

ekstrak etanol 0µG/mL

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	jamke12 - jamke6	288.0000	5	15.18223	6.78970
Pair 2	jamke24 - jamke12	313.4000	5	14.68673	6.56810
Pair 3	jamke30 - jamke18	288.0000	5	9.34345	4.17852
Pair 4	jamke36 - jamke30	343.4000	5	15.18223	6.78970
Pair 5	jamke42 - jamke36	304.6000	5	14.74110	6.59242
Pair 6	jamke48 - jamke42	357.4000	5	10.43072	4.66476
Pair 7	jamke54 - jamke48	343.4000	5	2.40832	1.07703
Pair 8	jamke60 - jamke54	362.8000	5	14.74110	6.59242
Pair 9	jamke66 - jamke60	370.8000	5	5.93296	2.65330
Pair 10	jamke72 - jamke66	357.4000	5	2.40832	1.07703
		372.4000	5	12.05404	5.39073
		362.8000	5	5.93296	2.65330
		370.8000	5	7.12039	3.18434
		372.4000	5	12.05404	5.39073
		306.2000	5	49.59536	22.17972
		370.8000	5	7.12039	3.18434
		105.2000	5	12.39758	5.54437
		306.2000	5	49.59536	22.17972
		49.8000	5	8.78635	3.92938
		105.2000	5	12.39758	5.54437

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	jamke12 - jamke6	6.20000	3.03315	1.35647	2.43385	9.96615	4.571	4	.010
Pair 2	jamke24 - jamke12	25.40000	12.25969	5.48270	10.17758	40.62242	4.633	4	.010
Pair 3	jamke30 - jamke18	38.80000	12.94990	5.79137	22.72057	54.87943	6.700	4	.003
Pair 4	jamke36 - jamke30	14.00000	12.82576	5.73585	-1.92528	29.92528	2.441	4	.071
Pair 5	jamke42 - jamke36	5.40000	3.78153	1.69115	.70461	10.09539	3.193	4	.033
Pair 6	jamke48 - jamke42	9.80000	11.12654	4.97594	-4.21543	23.41543	1.929	4	.128
Pair 7	jamke54 - jamke48	-1.60000	9.78217	4.36578	-13.72134	10.52134	-.366	4	.733
Pair 8	jamke60 - jamke54	-64.60000	46.92867	20.96714	-122.870	-6.33036	-3.078	4	.037
Pair 9	jamke66 - jamke60	-201.000	48.78987	21.81055	-261.556	-140.444	-9.216	4	.001
Pair 10	jamke72 - jamke66	-55.40000	14.50172	6.48537	-73.40827	-37.39373	-8.542	4	.001

2. Lampiran Hasil Analisis Statistik Persentase kokoid

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		jamke6	jamke12	jamke18	jamke24	jamke30	jamke36
N		20	20	20	20	20	20
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	28.8500	31.6000	36.0000	38.0000	44.5500	46.4500
	Std. Deviation	28.81570	29.12478	32.54794	34.75629	35.30092	34.23368
Most Extreme Differences	Absolute	.294	.326	.311	.341	.222	.232
	Positive	.294	.326	.311	.341	.222	.232
	Negative	-.168	-.182	-.191	-.183	-.192	-.191
Kolmogorov-Smirnov Z		1.315	1.459	1.391	1.525	.994	1.037
Asymp. Sig. (2-tailed)		.063	.028	.042	.019	.276	.232

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		jamke42	jamke348	jamke54	jamke60	jamke66	jamke72
N		20	20	20	20	20	20
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	49.2500	54.7000	61.6500	69.0000	73.4000	77.4500
	Std. Deviation	33.30540	30.00368	29.03224	26.35786	24.66064	22.63550
Most Extreme Differences	Absolute	.186	.219	.157	.148	.209	.210
	Positive	.181	.219	.147	.138	.149	.161
	Negative	-.186	-.184	-.157	-.148	-.209	-.210
Kolmogorov-Smirnov Z		.833	.981	.701	.661	.936	.941
Asymp. Sig. (2-tailed)		.492	.290	.710	.775	.345	.339

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

jamke6	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					ekstrak etanol 7000 µG/mL	5		
ekstrak etanol 8000µG/mL	5	17.0000	1.58114	.70711	15.0368	18.9632	15.00	19.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	1.6000	2.07364	.92736	-.9748	4.1748	.00	5.00
amoxicillin 1µG/mL	5	75.6000	3.78153	1.69115	70.9046	80.2954	69.00	78.00
Total	20	28.8500	28.81570	6.44339	15.3638	42.3362	.00	78.00

ANOVA

jamke6	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15635.350	3	5211.783	590.570	.000
Within Groups	141.200	16	8.825		
Total	15776.550	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke6  
LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	4.20000*	1.87883	.040	.2171	8.1829
	ekstrak etanol 0µG/mL	19.60000*	1.87883	.000	15.6171	23.5829
	amoxicillin 1µG/mL	-54.40000*	1.87883	.000	-58.3829	-50.4171
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-4.20000*	1.87883	.040	-8.1829	-.2171
	ekstrak etanol 0µG/mL	15.40000*	1.87883	.000	11.4171	19.3829
	amoxicillin 1µG/mL	-58.60000*	1.87883	.000	-62.5829	-54.6171
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-19.60000*	1.87883	.000	-23.5829	-15.6171
	ekstrak etanol 6000µG/mL	-15.40000*	1.87883	.000	-19.3829	-11.4171
	amoxicillin 1µG/mL	-74.00000*	1.87883	.000	-77.9829	-70.0171
amoxicillin 1µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	54.40000*	1.87883	.000	50.4171	58.3829
	ekstrak etanol 6000µG/mL	58.60000*	1.87883	.000	54.6171	62.5829
	ekstrak etanol 0µG/mL	74.00000*	1.87883	.000	70.0171	77.9829

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

Oneway

Descriptives

jamke12

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	22.6000	2.70185	1.20830	19.2452	25.9548	19.00	28.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	21.6000	2.40832	1.07703	18.6097	24.5903	19.00	25.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	3.4000	1.67332	.74833	1.3223	5.4777	2.00	6.00
amoxicillin 1µG/mL	5	78.8000	2.86356	1.28062	75.2444	82.3556	75.00	82.00
Total	20	31.6000	29.12478	6.51250	17.9692	45.2308	2.00	82.00

ANOVA

jamke12

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16020.400	3	5340.133	886.329	.000
Within Groups	96.400	16	6.025		
Total	16116.800	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke12  
LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	1.00000	1.55242	.529	-2.2910	4.2910
	ekstrak etanol 0µG/mL	19.20000*	1.55242	.000	15.9090	22.4910
	amoxicillin 1µG/mL	-56.20000*	1.55242	.000	-59.4910	-52.9090
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-1.00000	1.55242	.529	-4.2910	2.2910
	ekstrak etanol 0µG/mL	18.20000*	1.55242	.000	14.9090	21.4910
	amoxicillin 1µG/mL	-57.20000*	1.55242	.000	-60.4910	-53.9090
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-19.20000*	1.55242	.000	-22.4910	-15.9090
	ekstrak etanol 6000µG/mL	-18.20000*	1.55242	.000	-21.4910	-14.9090
	amoxicillin 1µG/mL	-75.40000*	1.55242	.000	-78.6910	-72.1090
amoxicillin 1µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	56.20000*	1.55242	.000	52.9090	59.4910
	ekstrak etanol 6000µG/mL	57.20000*	1.55242	.000	53.9090	60.4910
	ekstrak etanol 0µG/mL	75.40000*	1.55242	.000	72.1090	78.6910

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

Oneway

Descriptives

jamke18

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	26.8000	3.20938	1.43527	22.6151	30.5849	23.00	31.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	23.2000	2.38747	1.06771	20.2356	26.1644	20.00	26.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	5.2000	1.09545	.48990	3.8398	6.5602	4.00	7.00
amoxicillin 1µG/mL	5	89.0000	1.58114	.70711	87.0368	90.9632	87.00	91.00
Total	20	36.0000	32.54794	7.27794	20.7671	51.2329	4.00	91.00

ANOVA

jamke18

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20049.200	3	6683.067	1356.968	.000
Within Groups	78.800	16	4.925		
Total	20128.000	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke18

LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	3.40000*	1.40357	.028	.4246	6.3754
	ekstrak etanol 0µG/mL	21.40000*	1.40357	.000	18.4246	24.3754
	amoxicillin 1µG/mL	-62.40000*	1.40357	.000	-65.3754	-59.4246
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-3.40000*	1.40357	.028	-6.3754	-.4246
	ekstrak etanol 0µG/mL	18.00000*	1.40357	.000	15.0246	20.9754
	amoxicillin 1µG/mL	-65.80000*	1.40357	.000	-68.7754	-62.8246
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-21.40000*	1.40357	.000	-24.3754	-18.4246
	ekstrak etanol 6000µG/mL	-18.00000*	1.40357	.000	-20.9754	-15.0246
	amoxicillin 1µG/mL	-83.80000*	1.40357	.000	-86.7754	-80.8246
amoxicillin 1µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	82.40000*	1.40357	.000	59.4246	65.3754
	ekstrak etanol 6000µG/mL	65.80000*	1.40357	.000	62.8246	68.7754
	ekstrak etanol 0µG/mL	83.80000*	1.40357	.000	80.8246	86.7754

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

Oneway

Descriptives

jamke24

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	26.6000	3.20936	1.43527	22.6151	30.5849	22.00	30.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	23.8000	1.92354	.86023	21.4116	26.1884	21.00	26.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	6.6000	1.14018	.50990	5.1843	8.0157	5.00	8.00
amoxicillin 1µG/mL	5	95.0000	3.80789	1.70294	90.2719	99.7281	90.00	100.00
Total	20	38.0000	34.75629	7.77174	21.7336	54.2664	5.00	100.00

ANOVA

jamke24

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22832.800	3	7610.933	1021.602	.000
Within Groups	119.200	16	7.450		
Total	22952.000	19			



Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke24  
LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 8000µG/mL	2.80000	1.72627	.124	-.8595	6.4595
	ekstrak etanol 0µG/mL	20.00000*	1.72627	.000	16.3405	23.6595
	amoxicillin 1µG/mL	-68.40000*	1.72627	.000	-72.0595	-64.7405
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-2.80000	1.72627	.124	-6.4595	.8595
	ekstrak etanol 0µG/mL	17.20000*	1.72627	.000	13.5405	20.8595
	amoxicillin 1µG/mL	-71.20000*	1.72627	.000	-74.8595	-67.5405
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-20.00000*	1.72627	.000	-23.6595	-16.3405
	ekstrak etanol 8000µG/mL	-17.20000*	1.72627	.000	-20.8595	-13.5405
	amoxicillin 1µG/mL	-88.40000*	1.72627	.000	-92.0595	-84.7405
amoxicillin 1µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	68.40000*	1.72627	.000	64.7405	72.0595
	ekstrak etanol 8000µG/mL	71.20000*	1.72627	.000	67.5405	74.8595
	ekstrak etanol 0µG/mL	88.40000*	1.72627	.000	84.7405	92.0595

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

Oneway

Descriptives

jamke30

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	43.0000	3.80789	1.70294	38.2719	47.7281	37.00	47.00
ekstrak etanol 8000µG/mL	5	27.2000	3.11448	1.39284	23.3329	31.0671	22.00	30.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	8.0000	1.58114	.70711	6.0368	9.9632	6.00	10.00
amoxicillin 1µG/mL	5	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
Total	20	44.5500	35.30092	7.89353	28.0287	61.0713	6.00	100.00

ANOVA

jamke30

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23570.150	3	7856.717	1177.036	.000
Within Groups	106.800	16	6.675		
Total	23676.950	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke30

LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	15.80000*	1.63401	.000	12.3360	19.2640
	ekstrak etanol 0µG/mL	35.00000*	1.63401	.000	31.5360	38.4640
	amoxicillin 1µG/mL	-57.00000*	1.63401	.000	-60.4640	-53.5360
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-15.80000*	1.63401	.000	-19.2640	-12.3360
	ekstrak etanol 0µG/mL	19.20000*	1.63401	.000	15.7360	22.6640
	amoxicillin 1µG/mL	-72.80000*	1.63401	.000	-76.2640	-69.3360
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-35.00000*	1.63401	.000	-38.4640	-31.5360
	ekstrak etanol 6000µG/mL	-19.20000*	1.63401	.000	-22.6640	-15.7360
	amoxicillin 1µG/mL	-92.00000*	1.63401	.000	-95.4640	-88.5360
amoxicillin 1µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	57.00000*	1.63401	.000	53.5360	60.4640
	ekstrak etanol 6000µG/mL	72.80000*	1.63401	.000	69.3360	76.2640
	ekstrak etanol 0µG/mL	92.00000*	1.63401	.000	88.5360	95.4640

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

Oneway

Descriptives

jamke36

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	44.4000	3.36155	1.50333	40.2261	48.5739	39.00	48.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	31.6000	2.60768	1.16619	28.3621	34.8379	29.00	35.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	9.8000	2.04939	.91652	7.2553	12.3447	8.00	13.00
amoxicillin 1µG/mL	5	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
Total	20	48.4500	34.23368	7.65488	30.4281	62.4719	8.00	100.00

ANOVA

jamke36

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22177.750	3	7392.583	1326.024	.000
Within Groups	89.200	16	5.575		
Total	22266.950	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke36

LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	12.80000*	1.49332	.000	9.6343	15.9657
	ekstrak etanol 0µG/mL	34.60000*	1.49332	.000	31.4343	37.7657
	amoxicillin 1µG/mL	-55.60000*	1.49332	.000	-58.7657	-52.4343
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-12.80000*	1.49332	.000	-15.9657	-9.6343
	ekstrak etanol 0µG/mL	21.80000*	1.49332	.000	18.6343	24.9657
	amoxicillin 1µG/mL	-68.40000*	1.49332	.000	-71.5657	-65.2343
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-34.80000*	1.49332	.000	-37.7657	-31.4343
	ekstrak etanol 6000µG/mL	-21.80000*	1.49332	.000	-24.9657	-18.6343
	amoxicillin 1µG/mL	-90.20000*	1.49332	.000	-93.3657	-87.0343
amoxicillin 1µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	55.60000*	1.49332	.000	52.4343	58.7657
	ekstrak etanol 6000µG/mL	68.40000*	1.49332	.000	65.2343	71.5657
	ekstrak etanol 0µG/mL	90.20000*	1.49332	.000	87.0343	93.3657

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

Oneway

Descriptives

jamke42

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	49.6000	3.97492	1.77764	44.6645	54.5355	45.00	55.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	36.2000	2.77489	1.24097	32.7545	39.6455	32.00	39.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	11.2000	1.78885	.80000	8.9788	13.4212	10.00	14.00
amoxicillin 1µG/mL	5	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
Total	20	49.2500	33.30540	7.44731	33.6626	64.8374	10.00	100.00

ANOVA

jamke42

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20968.950	3	6989.650	1047.139	.000
Within Groups	106.800	16	6.675		
Total	21075.750	19			

Post Hoc Tests

Oneway

Descriptives

jamke48

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	52.4000	3.78153	1.69115	47.7046	57.0954	49.00	57.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	47.4000	4.50555	2.01494	41.8056	52.9944	40.00	52.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	19.0000	3.16228	1.41421	15.0735	22.9265	15.00	23.00
amoxicillin 1µG/mL	5	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
Total	20	54.7000	30.00368	6.70903	40.6578	68.7422	15.00	100.00

**ANOVA**

jamke48

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16925.800	3	5641.933	506.003	.000
Within Groups	178.400	16	11.150		
Total	17104.200	19			

Post Hoc Tests

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: jamke48

LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	5.00000*	2.11187	.031	.5230	9.4770
	ekstrak etanol 0µG/mL	33.40000*	2.11187	.000	28.9230	37.8770
	amoxicillin 1µG/mL	-47.60000*	2.11187	.000	-52.0770	-43.1230
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-5.00000*	2.11187	.031	-9.4770	-5.5230
	ekstrak etanol 0µG/mL	28.40000*	2.11187	.000	23.9230	32.8770
	amoxicillin 1µG/mL	-52.60000*	2.11187	.000	-57.0770	-48.1230
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-33.40000*	2.11187	.000	-37.8770	-28.9230
	ekstrak etanol 6000µG/mL	-28.40000*	2.11187	.000	-32.8770	-23.9230
	amoxicillin 1µG/mL	-81.00000*	2.11187	.000	-85.4770	-76.5230
amoxicillin 1µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	47.60000*	2.11187	.000	43.1230	52.0770
	ekstrak etanol 6000µG/mL	52.60000*	2.11187	.000	48.1230	57.0770
	ekstrak etanol 0µG/mL	81.00000*	2.11187	.000	76.5230	85.4770

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

Oneway

**Descriptives**

jamke54

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	71.0000	2.54951	1.14018	67.8344	74.1658	69.00	75.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	53.4000	3.84692	1.63095	48.8718	57.9282	49.00	57.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	22.2000	2.38747	1.06771	19.2358	25.1644	19.00	25.00
amoxicillin 1µG/mL	5	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
Total	20	61.6500	29.03224	6.49181	48.0625	75.2375	19.00	100.00

**ANOVA**

jamke54

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15912.550	3	5304.183	832.029	.000
Within Groups	102.000	16	6.375		
Total	16014.550	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke54  
LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	17.60000*	1.59687	.000	14.2148	20.9852
	ekstrak etanol 0µG/mL	48.80000*	1.59687	.000	45.4148	52.1852
	amoxicillin 1µG/mL	-29.00000*	1.59687	.000	-32.3852	-25.6148
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-17.60000*	1.59687	.000	-20.9852	-14.2148
	ekstrak etanol 0µG/mL	31.20000*	1.59687	.000	27.8148	34.5852
	amoxicillin 1µG/mL	-46.60000*	1.59687	.000	-49.9852	-43.2148
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-48.80000*	1.59687	.000	-52.1852	-45.4148
	ekstrak etanol 6000µG/mL	-31.20000*	1.59687	.000	-34.5852	-27.8148
	amoxicillin 1µG/mL	-77.80000*	1.59687	.000	-81.1852	-74.4148
amoxicillin 1µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	29.00000*	1.59687	.000	25.6148	32.3852
	ekstrak etanol 6000µG/mL	46.60000*	1.59687	.000	43.2148	49.9852
	ekstrak etanol 0µG/mL	77.80000*	1.59687	.000	74.4148	81.1852

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

Oneway

Descriptives

jamke60

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	84.2000	4.32435	1.93391	78.8308	89.5694	79.00	89.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	59.2000	2.38747	1.06771	56.2356	62.1644	56.00	62.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	32.6000	3.04959	1.36382	28.8134	36.3866	29.00	37.00
amoxicillin 1µG/mL	5	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
Total	20	69.0000	26.35786	5.89380	56.6641	81.3359	29.00	100.00

ANOVA

jamke60

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13065.200	3	4355.067	516.922	.000
Within Groups	134.800	16	8.425		
Total	13200.000	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jamke60

LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	25.00000*	1.83576	.000	21.1084	28.8916
	ekstrak etanol 0µG/mL	51.60000*	1.83576	.000	47.7084	55.4916
	amoxicillin 1µG/mL	-15.80000*	1.83576	.000	-19.6916	-11.9084
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-25.00000*	1.83576	.000	-28.8916	-21.1084
	ekstrak etanol 0µG/mL	26.60000*	1.83576	.000	22.7084	30.4916
	amoxicillin 1µG/mL	-40.80000*	1.83576	.000	-44.6916	-36.9084
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-51.60000*	1.83576	.000	-55.4916	-47.7084
	ekstrak etanol 6000µG/mL	-26.60000*	1.83576	.000	-30.4916	-22.7084
	amoxicillin 1µG/mL	-67.40000*	1.83576	.000	-71.2916	-63.5084
amoxicillin 1µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	15.80000*	1.83576	.000	11.9084	19.6916
	ekstrak etanol 6000µG/mL	40.80000*	1.83576	.000	36.9084	44.6916
	ekstrak etanol 0µG/mL	67.40000*	1.83576	.000	63.5084	71.2916

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

Oneway

Descriptives

jamke66

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	90.6000	2.88097	1.28841	87.0228	94.1772	87.00	94.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	64.2000	3.49285	1.56205	59.8631	68.5369	60.00	69.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	38.8000	3.42053	1.52971	34.5529	43.0471	33.00	42.00
amoxicillin 1µG/mL	5	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
Total	20	73.4000	24.66064	5.51429	61.8565	84.9415	33.00	100.00

ANOVA

jamke66

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11426.000	3	3808.667	473.126	.000
Within Groups	128.800	16	8.050		
Total	11554.800	19			

Post Hoc Tests

Oneway

Descriptives

jamke72

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ekstrak etanol 7000 µG/mL	5	94.2000	2.77489	1.24097	90.7545	97.6455	90.00	97.00
ekstrak etanol 6000µG/mL	5	71.4000	2.30217	1.02956	68.5415	74.2585	69.00	75.00
ekstrak etanol 0µG/mL	5	44.2000	2.58844	1.15758	40.9880	47.4140	41.00	47.00
amoxicillin 1µG/mL	5	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
Total	20	77.4500	22.63550	5.06145	66.8563	88.0437	41.00	100.00



**ANOVA**

jamke72

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9656.150	3	3218.717	653.547	.000
Within Groups	78.800	16	4.925		
Total	9734.950	19			

**Post Hoc Tests**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: jamke72

LSD

(I) grup	(J) grup	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak etanol 7000 µG/mL	ekstrak etanol 6000µG/mL	22.80000*	1.40357	.000	19.8246	25.7754
	ekstrak etanol 0µG/mL	50.00000*	1.40357	.000	47.0246	52.9754
	amoxicillin 1µG/mL	-5.80000*	1.40357	.001	-8.7754	-2.8246
ekstrak etanol 6000µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-22.80000*	1.40357	.000	-25.7754	-19.8246
	ekstrak etanol 0µG/mL	27.20000*	1.40357	.000	24.2246	30.1754
	amoxicillin 1µG/mL	-28.60000*	1.40357	.000	-31.5754	-25.6246
ekstrak etanol 0µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	-50.00000*	1.40357	.000	-52.9754	-47.0246
	ekstrak etanol 6000µG/mL	-27.20000*	1.40357	.000	-30.1754	-24.2246
	amoxicillin 1µG/mL	-55.80000*	1.40357	.000	-58.7754	-52.8246
amoxicillin 1µG/mL	ekstrak etanol 7000 µG/mL	5.80000*	1.40357	.001	2.8246	8.7754
	ekstrak etanol 6000µG/mL	28.60000*	1.40357	.000	25.6246	31.5754
	ekstrak etanol 0µG/mL	55.80000*	1.40357	.000	52.8246	58.7754

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

ekstrak etanol 7000 µG/mL

**T-Test**

**Paired Samples Statistics**

Pair	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
1 jamke12	22.6000	5	2.70185	1.20830
1 jamke6	21.2000	5	3.76829	1.68523
2 jamke24	26.6000	5	3.20936	1.43527
2 jamke12	22.6000	5	2.70185	1.20830
3 jamke30	43.0000	5	3.80789	1.70294
3 jamke18	26.6000	5	3.20936	1.43527
4 jamke36	44.4000	5	3.36155	1.50333
4 jamke30	43.0000	5	3.80789	1.70294
5 jamke42	49.6000	5	3.97492	1.77764
5 jamke36	44.4000	5	3.36155	1.50333
6 jamke48	52.4000	5	3.78153	1.69115
6 jamke42	49.6000	5	3.97492	1.77764
7 jamke54	71.0000	5	2.54951	1.14018
7 jamke48	52.4000	5	3.78153	1.69115
8 jamke60	84.2000	5	4.32435	1.93391
8 jamke54	71.0000	5	2.54951	1.14018
9 jamke66	90.6000	5	2.88097	1.28841
9 jamke60	84.2000	5	4.32435	1.93391
10 jamke72	94.2000	5	2.77489	1.24097
10 jamke66	90.6000	5	2.88097	1.28841



Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	jamke12 - jamke6	1.40000	6.26897	2.80357	-8.38396	9.18396	.499	4	.644
Pair 2	jamke24 - jamke12	4.00000	2.23607	1.00000	1.22355	6.77645	4.000	4	.016
Pair 3	jamke30 - jamke18	16.40000	5.77062	2.58070	9.23483	23.56517	6.355	4	.003
Pair 4	jamke36 - jamke30	1.40000	6.94982	3.10805	-7.22934	10.02934	.450	4	.676
Pair 5	jamke42 - jamke36	5.20000	2.58844	1.15758	1.98603	8.41397	4.492	4	.011
Pair 6	jamke48 - jamke42	2.80000	6.14003	2.74591	-4.82386	10.42386	1.020	4	.366
Pair 7	jamke54 - jamke48	18.60000	4.72229	2.11187	12.73651	24.46349	8.807	4	.001
Pair 8	jamke60 - jamke54	13.20000	4.49444	2.00998	7.61941	18.78059	6.567	4	.003
Pair 9	jamke66 - jamke60	6.40000	4.82701	2.15870	.40648	12.39352	2.965	4	.041
Pair 10	jamke72 - jamke66	3.60000	4.39318	1.96469	-1.85485	9.05485	1.832	4	.141

ekstrak etanol 6000 µG/mL  
T-Test

Paired Samples Statistics

Pair		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	jamke12	21.6000	5	2.40832	1.07703
1	jamke6	17.0000	5	1.58114	.70711
Pair 2	jamke24	23.8000	5	1.92354	.86023
2	jamke12	21.6000	5	2.40832	1.07703
Pair 3	jamke30	27.2000	5	3.11448	1.39284
3	jamke18	23.2000	5	2.38747	1.06771
Pair 4	jamke36	31.6000	5	2.60768	1.16619
4	jamke30	27.2000	5	3.11448	1.39284
Pair 5	jamke42	36.2000	5	2.77489	1.24097
5	jamke36	31.6000	5	2.60768	1.16619
Pair 6	jamke48	47.4000	5	4.50555	2.01494
6	jamke42	36.2000	5	2.77489	1.24097
Pair 7	jamke54	53.4000	5	3.64692	1.63095
7	jamke48	47.4000	5	4.50555	2.01494
Pair 8	jamke60	59.2000	5	2.38747	1.06771
8	jamke54	53.4000	5	3.64692	1.63095
Pair 9	jamke66	64.2000	5	3.49285	1.56205
9	jamke60	59.2000	5	2.38747	1.06771
Pair 10	jamke72	71.4000	5	2.30217	1.02966
10	jamke66	64.2000	5	3.49285	1.56205

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	jamke12 - jamke6	4.60000	3.64692	1.63095	.07176	9.12824	2.820	4	.048
Pair 2	jamke24 - jamke12	2.20000	3.11448	1.39284	-1.66714	6.06714	1.580	4	.189
Pair 3	jamke30 - jamke18	4.00000	4.35890	1.94936	-1.41229	9.41229	2.052	4	.109
Pair 4	jamke36 - jamke30	4.40000	3.50714	1.56844	.04532	8.75468	2.805	4	.049
Pair 5	jamke42 - jamke36	4.60000	2.07364	.92736	2.02523	7.17477	4.960	4	.008
Pair 6	jamke48 - jamke42	11.20000	5.28308	2.35372	4.66502	17.73498	4.758	4	.009
Pair 7	jamke54 - jamke48	6.00000	2.91548	1.30384	2.37996	9.62004	4.602	4	.010
Pair 8	jamke60 - jamke54	5.80000	3.83406	1.71464	1.03939	10.56061	3.383	4	.028
Pair 9	jamke66 - jamke60	5.00000	4.06202	1.81659	-.04366	10.04366	2.752	4	.051
Pair 10	jamke72 - jamke66	7.20000	4.96991	2.22261	1.02904	13.37096	3.239	4	.032

ekstrak etanol 0µG/mL  
T-Test

Paired Samples Statistics

Pair	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
1 jamke12	3.4000	5	1.67332	.74833
1 jamke6	1.6000	5	2.07364	.92736
2 jamke24	6.6000	5	1.14018	.50990
2 jamke12	3.4000	5	1.67332	.74833
3 jamke30	8.0000	5	1.58114	.70711
3 jamke18	5.2000	5	1.09545	.48990
4 jamke36	9.8000	5	2.04939	.91652
4 jamke30	8.0000	5	1.58114	.70711
5 jamke42	11.2000	5	1.78885	.80000
5 jamke36	9.8000	5	2.04939	.91652
6 jamke48	19.0000	5	3.16228	1.41421
6 jamke42	11.2000	5	1.78885	.80000
7 jamke54	22.2000	5	2.38747	1.06771
7 jamke48	19.0000	5	3.16228	1.41421
8 jamke60	32.6000	5	3.04959	1.36382
8 jamke54	22.2000	5	2.38747	1.06771
9 jamke66	38.8000	5	3.42053	1.52971
9 jamke60	32.6000	5	3.04959	1.36382
10 jamke72	44.2000	5	2.58844	1.15758
10 jamke66	38.8000	5	3.42053	1.52971

Paired Samples Test

Pair	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
				Paired Differences				
				Lower	Upper			
Pair 1 jamke12 - jamke6	1.80000	.44721	.20000	1.24471	2.35529	9.000	4	.001
Pair 2 jamke24 - jamke12	3.20000	.83666	.37417	2.16115	4.23885	8.552	4	.001
Pair 3 jamke30 - jamke18	2.80000	.83666	.37417	1.76115	3.83885	7.483	4	.002
Pair 4 jamke36 - jamke30	1.80000	1.78885	.80000	-.42118	4.02116	2.250	4	.088
Pair 5 jamke42 - jamke36	1.40000	1.94936	.87178	-1.02045	3.82045	1.606	4	.184
Pair 6 jamke48 - jamke42	7.80000	3.34664	1.49668	3.64460	11.95540	5.212	4	.006
Pair 7 jamke54 - jamke48	3.20000	3.56371	1.59374	-1.22493	7.62493	2.008	4	.115
Pair 8 jamke60 - jamke54	10.40000	3.84708	1.72047	5.62322	15.17678	6.045	4	.004
Pair 9 jamke66 - jamke60	6.20000	2.48998	1.11355	3.10828	9.29172	5.568	4	.005
Pair 10 jamke72 - jamke66	5.40000	2.50998	1.12250	2.28345	8.51655	4.811	4	.009

**amoxicillin 1µG/mL**  
**T-Test**

**Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	jamke12	78.8000	5	2.86356	1.28062
	jamke6	75.6000	5	3.78153	1.69115
Pair 2	jamke24	95.0000	5	3.80789	1.70294
	jamke12	78.8000	5	2.86356	1.28062
Pair 3	jamke30	100.0000	5	.00000	.00000
	jamke18	89.0000	5	1.58114	.70711
Pair 4	jamke36	100.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
	jamke30	100.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
Pair 5	jamke42	100.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
	jamke36	100.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
Pair 6	jamke48	100.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
	jamke42	100.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
Pair 7	jamke54	100.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
	jamke48	100.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
Pair 8	jamke60	100.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
	jamke54	100.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
Pair 9	jamke66	100.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
	jamke60	100.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
Pair 10	jamke72	100.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000
	jamke66	100.0000 <sup>a</sup>	5	.00000	.00000

a. The correlation and t cannot be computed because the standard error of the difference is 0.

**Paired Samples Test**

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	jamke12 - jamke6	3.20000	1.92354	.86023	.81161	5.58839	3.720	4	
Pair 2	jamke24 - jamke12	16.20000	4.43847	1.98494	10.68891	21.71109	8.161	4	
Pair 3	jamke30 - jamke18	11.00000	1.58114	.70711	9.03678	12.96324	15.558	4	