

LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram alir pengujian

a. Proses ekstraksi

Preparasi sampel

1. Sampel buah kapulaga jawa dan kapulaga sabrang dicuci bersih
2. Di tiriskan hingga kering
3. Sampel dimasukkan kedalam oven selama 2 jam dengan suhu 100 °C
4. Sampel dihaluskan menggunakan grinder
5. Sampel ditimbang, kapulaga jawa sebanyak 100 gram dan kapulaga sabrang sebanyak 50 gram
6. Cawan kosong ditimbang untuk mengetahui bobot tetap
7. Sampel yang sudah ditimbang dimasukkan kedalam toples maserasi
8. Ditambahkan pelarut etanol 95% sebanyak 250 ml untuk sampel kapulaga jawa dan sebanyak 125 ml untuk kapulaga sabrang
9. Didiamkan selama 24 jam dengan dilakukan sesekali pengadukan dalam 6 jam pertama
10. Ditambahkan pelarut etanol 95 % sebanyak 125 ml untuk sampel kapulaga jawa dan sebanyak 62 ml kapulaga sabrang
11. Sampel kembali didiamkan selama 24 jam dengan dilakukan sesekali pengadukan dalam 6 jam pertama
12. Ditambahkan pelarut etanol 95 % sebanyak 125 ml untuk sampel kapulaga jawa dan 63 ml sampel sabrang
13. Sampel disaring dan diambil filtrat
14. Filtrat dipekatkan menggunakan rotary evaporator dan jika dirasa kurang pekat dipekatkan lagi menggunakan waterbath
15. Sampel dan cawan ditimbang untuk mengetahui bobot ekstrak

Hasil

b. Pembuatan media dan sterilisasi alat bahan

Sterilisasi alat

1. Alat gelas dibungkus menggunakan aluminium foil
2. Dipanaskan ke dalam oven selama 1 jam dengan suhu 170 °C

Pembuatan media NA dan MHA

1. Ditimbang sebanyak 2,3 gram untuk media NA dan 3,8 gram untuk media MHA
2. Dimasukkan kedalam Erlenmeyer
3. Ditambahkan aquades sebanyak 100 ml
4. Dipanaskan diatas hotplate sampai mendidih
5. Disterilkan menggunakan autoclave dengan suhu 121 °C selama 15 menit
6. Ditunggu sampai hangat kuku-kuku
7. Dituang ke dalam cawan petri sekitar 15 ml

Pembuatan media NB dan TSB

1. Ditimbang sebanyak 0,8 gram media NB dan 3 gram untuk media TSB
2. Dimasukkan kedalam Erlenmeyer
3. Ditambahkan aquades sebanyak 100 ml
4. Dipanaskan diatas hotplate sampai mendidih
5. Disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit
6. Ditunggu sampai hangat kuku-kuku
7. Dipipet sebanyak 5 ml untuk media NB dan 1 ml untuk media TSB
8. Dimasukkan kedalam tabung reaksi

Sterilisasi media

1. Media dibungkus menggunakan aluminium foil dan bagian atas alat gelas yang terbuka ditutup dengan kapas
2. Disiapkan autoklaf dan dicek airnya apakah sudah berada pada bagian bawah wadah tabung autoklaf
3. Media dimasukkan kedalam autoklaf dan dikunci dengan me menyambung lubang baut dan mengencangkannya secara bersamaan
4. Autoklaf dinyalakan dengan mencolokan kabel pada stop kontak
5. Suhnya 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit
6. Ditunggu selama 2 menit sampai uap keluar (bunyi mendesis) dan ditutup klep pengaman
7. Jika sudah tercapai, colokan dicabut dari stop kontak dan ditunggu hingga tekanan turun menjadi 0,05 atm
8. Klep pengaman dibuka untuk mengurangi panas
9. Media dikeluarkan dari autoklaf

Hasil

c. Inokulasi bakteri

Inokulasi bakteri E Coli

1. Diambil 1 ose steril ke dalam strain *E coli*
2. Dichelupkan ke dalam media NB
3. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C
4. Diambil 1 ose biakan kedalam media NB
5. Digoreskan di media NA yang berada dicawan petri
6. Di inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C

Hasil

d. Pengujian KHM

Pembuatan suspensi

1. Diambil 1 ose koloni bakteri *E coli*
2. Diencerkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi NaCl 5 ml
3. Dihomogenkan dan diukur dengan Mc Farland 0,5 ($0,3 \times 10^6$ CFU/mL)

Pengenceran ekstrak buah kapulaga jawa dan kapulaga sabrang

1. Diambil 2,5 ml ekstrak buah kapulaga jawa dan kapulaga sabrang
2. Dimasukkan didalam tabung reaksi dan ditambahkan akuades steril sebanyak 5 ml
3. Dihomogenkan menggunakan vortex untuk kosentrasi 40%
4. Diambil 2,5 ml dari tabung reaksi kosentrasi 40%
5. Ditambahkan aquades sebanyak 2,5 ml untuk kosentrasi 20%
6. Dilakukan pengulangan untuk kosentrasi 10%; 5%; 2,5%; 1,25%; 0,256%

Pembuatan kontrol positif

1. 1 kapsul amoxicillin 500 mg
2. Dilarutkan dengan akuades steril sebanyak 5 ml
3. Diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam beaker glass
4. Ditambahkan aquades steril sebanyak 10 ml
5. Tabung reaksi yang berisi 1 ml media TSB ditambahkan 1 ml amoxicillin

Pembuatan kontrol negatif

1. Pada tabung reaksi diisi dengan 1 ml media TSB
2. Ditambahkan 0,1 ml suspensi bakteri *E coli*

Pengujian KHM

1. LAF disterilkan terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%
2. Bunsen dinyalakan dan ose disterilkan
3. Tabung reaksi yang sudah berisi 1 ml media TSB ditambahkan ekstrak buah kapulaga jawa dan kapulaga sabrang masing-masing sebanyak 1 ml
4. Ditambahkan suspensi bakteri masing-masing 0,1 ml dan dilakukan 3 kali replikasi
5. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C
6. Dilakukan pengamatan dan dilanjutkan pengujian KBM

Hasil

e. Pengujian KBM

Pengujian KBM

1. Dari tabung reaksi yang terdapat pertumbuhan koloni diambil replikasi 1 dan 2
2. Diambil 1 ose dari replikasi 1 dan 2
3. Digoreskan ke dalam cawan petri yang berisi media MHA
4. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C
5. Dilakukan pengamatan

Hasil

Lampiran 2. Perhitungan

1. Perhitungan rendemen
 - Buah kapulaga jawa memakai perbandingan (1:5) yang artinya 100 gram buah : 500 ml pelarut
 - Hari pertama = 250 ml
 - Hari kedua = 125 ml
 - Hari ketiga = 125 ml
 - Berat cawan kosong = 98,3110 gram
 - Berat cawan + ekstrak = 102,6326 gram

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Bobot rendemen}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

$$= \frac{102,6326 \text{ gram} - 98,3110 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 4,3216\%$$

- Buah kapulaga sabrang memakai perbandingan (1:5) yang artinya 50 gram buah :
250 ml pelarut
- Hari pertama = 125 ml
- Hari kedua = 62 ml
- Hari ketiga = 63 ml
- Berat cawan kosong = 126,3235 gram
- Berat cawan +ekstrak = 130,8898 gram

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Bobot rendemen}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

$$= \frac{130,8898 \text{ gram} - 126,3235 \text{ gram}}{50 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 9,1326\%$$

2. Perhitungan pembuatan media

- Media NA

Diket : V1 = 1000 ml

W1 = 23 gram

V2 = 100 ml

W2 ?

$$\frac{V1}{W1} = \frac{V2}{W2}$$

$$\frac{1000 \text{ ml}}{23 \text{ gram}} = \frac{100 \text{ ml}}{W2}$$

$$W2 = \frac{100 \times 23}{1000}$$

$$W2 = 2,3 \text{ gram}$$

- Media NB

Diket : V1 = 1000 ml

W2 = 8 gram

V2 = 100 ml

W2 ?

$$\frac{V1}{W1} = \frac{V2}{W2}$$

$$\frac{1000 \text{ ml}}{8 \text{ gram}} = \frac{100 \text{ ml}}{W2}$$

$$W2 = \frac{100 \times 8}{1000}$$

$$W2 = 0,8 \text{ gram}$$

- Media MHA

Diket : V1 = 1000 ml

W2 = 38 gram

V2 = 100 ml

W2 ?

$$\frac{1000 \text{ ml}}{38 \text{ gram}} = \frac{100 \text{ ml}}{W2}$$

$$W2 = \frac{100 \times 38}{1000}$$

$$W2 = 3,8 \text{ gram}$$

- Media TSB

Diket : V1 = 1000 ml

W2 = 30 gram

V1 = 100 ml

W2 ?

$$\frac{1000 \text{ ml}}{30 \text{ gram}} = \frac{100 \text{ ml}}{W2}$$

$$W2 = \frac{100 \times 30}{1000}$$

$$W2 = 3 \text{ gram}$$

3. Perhitungan pengenceran

- konsentrasi 40%

$$40\% = \frac{\text{gram}}{\text{volume}} \times 100\%$$

$$40\% = \frac{4 \text{ gram}}{\text{voulme}} \times 100\%$$

$$40 = 400$$

$$\text{Volume} = \frac{400}{40}$$

$$= 10 \text{ ml}$$

- Konsentrasi 2,5%




$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$








$$5 \times V1 = 2,5 \times 5$$








$$= 2,5 \text{ ml}$$








- Konsentrasi 20%
 $M1 \times V1 = M2 \times V2$
 $40 \times V1 = 20 \times 5$
 $= 2,5 \text{ ml}$
- Konsentrasi 10%
 $M1 \times V1 = M2 \times V2$
 $20 \times V1 = 10 \times 5$
 $= 2,5 \text{ ml}$
- Konsentrasi 5%
 $M1 \times V1 = M2 \times V2$
 $10 \times V1 = 5 \times 5$
 $= 2,5 \text{ ml}$
- Konsentrasi 1,25%
 $M1 \times V1 = M2 \times V2$
 $2,5 \times V1 = 1,25 \times 5$
 $= 2,5 \text{ ml}$
- Konsentrasi 0,256%
 $M1 \times V1 = M2 \times V2$
 $1,25 \times V1 = 0,256 \times 5$
 $= 2,5 \text{ ml}$






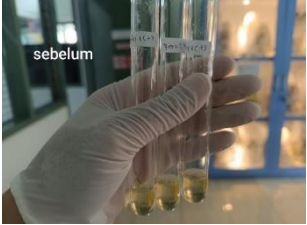

Lampiran 3. Gambar





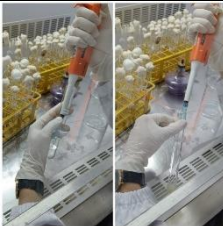


No	Gambar	Keterangan
1		Sampel buah kapulaga jawa
2		Sampel buah kapulaga sabrang
3		Penimbangan cawan kosong buah kapulaga jawa








4		Penimbangan cawan kosong buah kapulaga sabrang
5		Sampel di grinder dijadikan serbuk
6		Penyaringan hasil ekstraksi filtrat buah kapulaga jawa dan buah kapulaga sabrang
7		Pemekatan menggunakan rotary evaporator
8		Pemekatan menggunakan waterbath
9		Penimbangan ekstrak buah kapulaga jawa + cawan
10		Penimbangan ekstrak buah kapulaga sabrang + cawan








11		Hasil ekstrak buah kapulaga jawa
12		Hasil ekstrak buah kapulaga sabrang
13		Sterilisasi alat
14		Penimbangan media MHA
15		Penimbangan media TSB
16		Penimbangan media NA
17		Penimbangan media NB



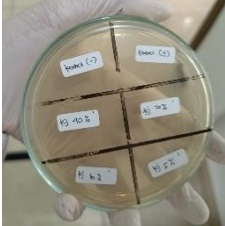
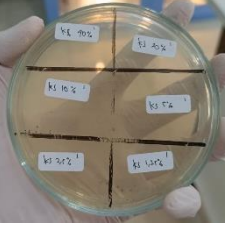
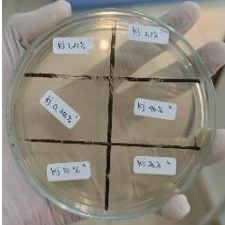
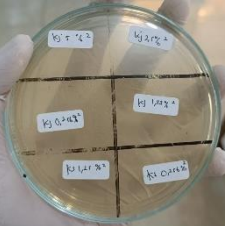
18		Pembuatan media
19		Sterilisasi media
20		Penuangan media NA pada cawan petri
21		Penuangan media NB pada tabung reaksi
22		Penuangan media MHA pada cawan petri
23		Penuangan media TSB pada tabung reaksi
24		Strain bakteri Escherichia coli

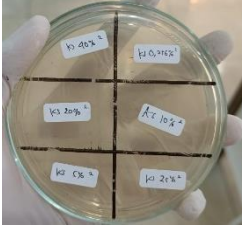

25		Inokulasi bakteri Escherichia coli pada media NB
26		Pengkayaan bakteri Escherichia coli pada media NA
27		hasil inokulasi bakteri Escherichia coli
28		Pembuatan suspensi bakteri
29		Pembuatan kontrol positif amoxicillin
30		Kontrol positif (+)
31		Kontrol negatif (-)

32		Vortex sampel konsentrasi 40% supaya homogen
33		Pengenceran konsentrasi 40 %; 20%; 10%; 5%; 2,5%; 1,25%; 0,256% ekstrak buah kapulaga jawa
34		Pengenceran konsentrasi 40 %; 20%; 10%; 5%; 2,5%; 1,25%; 0,256% ekstrak buah kapulaga sabrang
35		Uji KHM penambahan ekstrak sesuai konsentrasi pada masing-masing tabung reaksi
36		Uji KHM penambahan suspensi bakteri <i>Escherichia coli</i> pada masing-masing tabung reaksi
37		Proses inkubasi selama 24 jam
38		Hasil kontrol positif (+) pengujian KHM setelah diinkubasi selama 24 jam

39		<p>Hasil kontrol negatif (-) pengujian KHM setelah diinkubasi selama 24 jam</p>
40		<p>Uji KHM konsentrasi 40% pada ekstrak buah kapulaga jawa</p>
41		<p>Uji KHM konsentrasi 20% pada ekstrak buah kapulaga jawa</p>
42		<p>Uji KHM konsentrasi 10% pada ekstrak buah kapulaga jawa</p>
43		<p>Uji KHM konsentrasi 5% pada ekstrak buah kapulaga jawa</p>
44		<p>Uji KHM konsentrasi 2,5% pada ekstrak buah kapulaga jawa</p>
45		<p>Uji KHM konsentrasi 1,25% pada ekstrak buah kapulaga jawa</p>

46		Uji KHM konsentrasi 0,256% pada ekstrak buah kapulaga jawa
47		Uji KHM konsentrasi 40% pada ekstrak buah kapulaga sabrang
48		Uji KHM konsentrasi 20% pada ekstrak buah kapulaga sabrang
49		Uji KHM konsentrasi 10% pada ekstrak buah kapulaga sabrang
50		Uji KHM konsentrasi 5% pada ekstrak buah kapulaga sabrang
51		Uji KHM konsentrasi 2,5% pada ekstrak buah kapulaga sabrang
52		Uji KHM konsentrasi 1,25% pada ekstrak buah kapulaga sabrang

53		Uji KHM kosentrasi 0,256% pada ekstrak buah kapulaga sabrang
54		Pengujian KBM
55		Hasil pengujian KBM kontrol positif (+), kontrol negatif (-), ekstrak KJ 40% ⁻¹ , ekstrak KJ 20% ⁻¹ , ekstrak KJ 10% ⁻¹ , ekstrak KJ 5% ⁻¹
56		Hasil pengujian KBM ekstrak KS 40% ⁻¹ , ekstrak KS 20% ⁻¹ , ekstrak KS 10% ⁻¹ , ekstrak KS 5% ⁻¹ , ekstrak KS 2,5% ⁻¹ , ekstrak KS 1,25% ⁻¹
57		Hasil pengujian KBM ekstrak KJ 1,25% ⁻¹ , ekstrak KJ 2,5% ⁻¹ , esktrak KJ 0,256% ⁻¹ , ekstrak KJ 40% ⁻² , esktrak KJ 20% ⁻² , ekstrak KJ 10% ⁻²
58		Hasil pengujian KBM ekstrak KJ 5% ⁻² , ekstrak KJ 2,5% ⁻² , ekstrak KJ 1,25% ⁻² , ekstrak KJ 0,256% ⁻² , ekstrak KS 1,25% ⁻² , ekstrak KS 0,256% ⁻²

59		<p>Hasil pengujian KBM ekstrak KS 40%⁻², ekstrak KS 20%⁻², ekstrak KS 10%⁻², ekstrak KS 5%⁻², ekstrak KS 2,5%⁻², ekstrak KS 0,256%⁻¹</p>
60		<p>Perbandingan suspensi dengan Mc Farland 0,5</p>