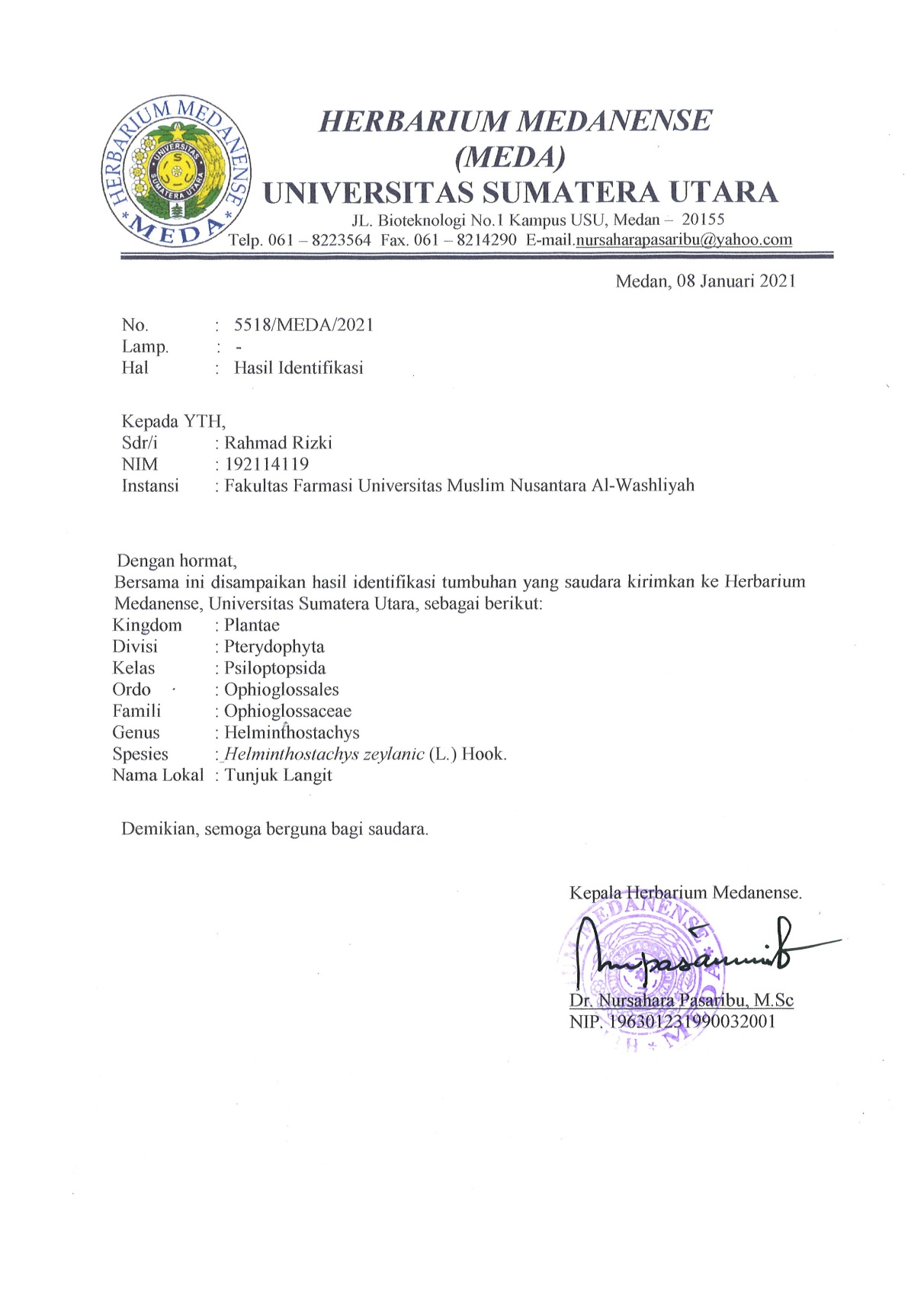
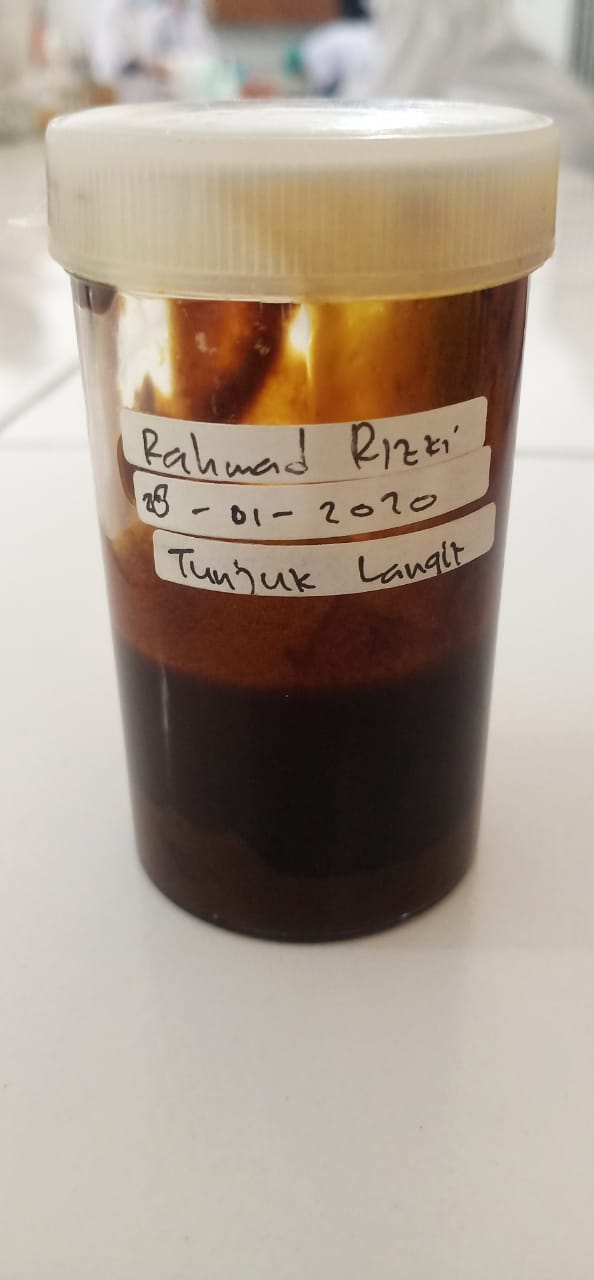
**Lampiran 1.** Hasil Identifikasi Tanaman Herba Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook)



**Lampiran 2.** Tumbuhan Herba Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook)

****

Tumbuhan Herba Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook)



Ekstrak Herba Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook)

**Lampiran 3.** Bagan Alir Pengolahan Sampel

Herba tunjuk langit

Dikeringkan pada suhu 40˚C

Ditimbang

Simplisia kering

Dihaluskan

Ditimbang

Serbuk simplisia bungkecombrang

Dimaserasi dengan etanol 96%

Ekstrak cair

Karakterisasi simplisia :

* Pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik
* Penetapan kadar air
* Penetapan kadar abu
* Penetepan kadar abu tidak larut asam
* Penetapan kadar sari larut dalam air

Dipekatkan dengan

Skrining fitokimia

* Alkaloid
* Flavonoid
* Steroid/triterpenoid
* Saponin
* Tanin
* Glikosida

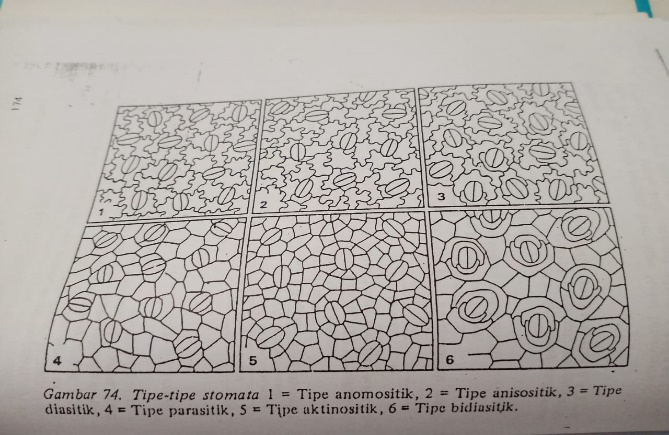
rotary evaporator

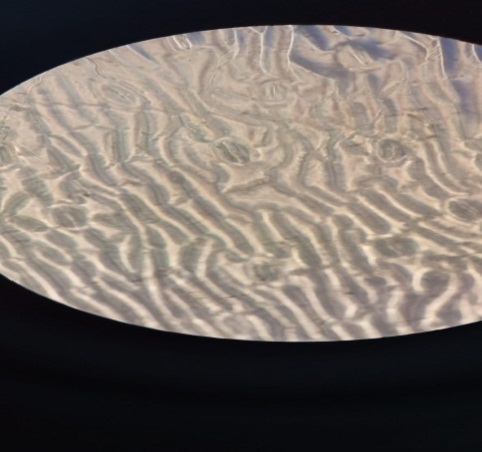
Ekstrak kental

Uji aktivitas antibakteri

Konsentrasi uji antibakteri 10%, 15%, 20%, dan 25%

**Lampiran 4 .** Mikroskopis Herba Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook

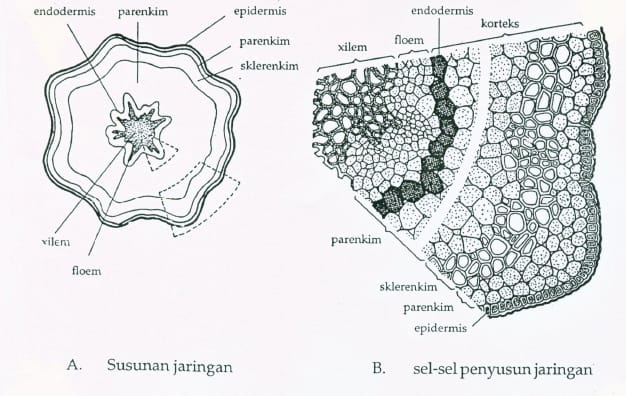
****

****

b

aa

Gambar mikroskopis stomata pada daun (Sumber : MMI edisi 1)

****

c

Gambar mikroskopis pada batang (Sumber : Marina, 2019)

Keterangan gambar:

a. stomata parasitik

b.epidermis

c.xilem dan floem

**Lampiran 5.** Makroskopis Tanaman Herba Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook)

** **

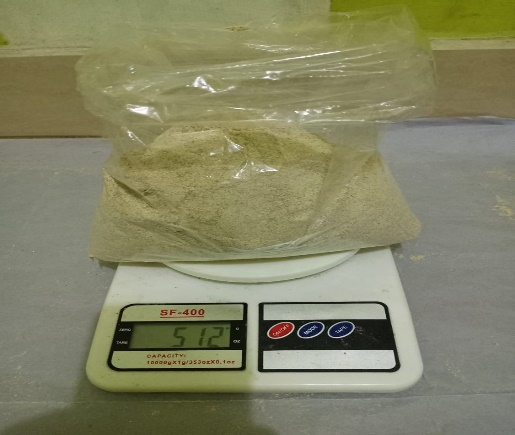
Panjang batang tunjuk langit 30 cm Panjang daun tunjuk langit 18 cm dan lebar daun 3,5 cm

** **

Panjang akar tunjuk langit 12 cm Diameter batang 1 cm

diameter akar 1 cm

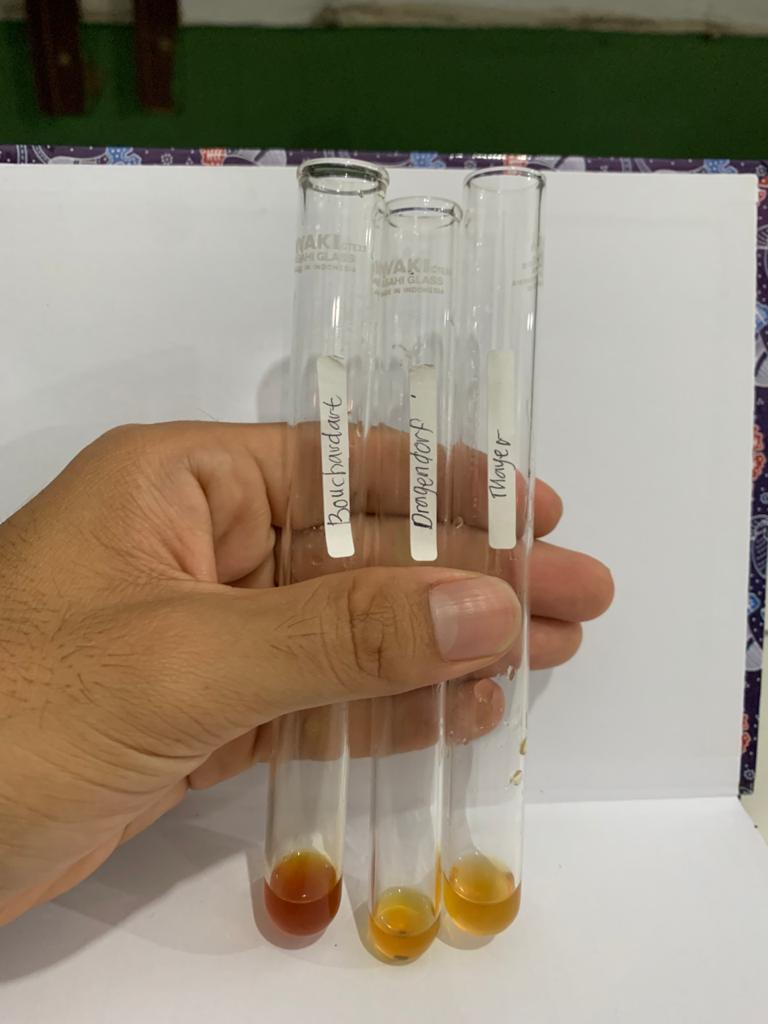
**Lampiran 6.** Dokumentasi Alur Ekstraksi Sampel Herba Tunjuk Langit(*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook)

** **

Simplisia Herba Tunjuk Langit maserasi dengan etanol 96%

penyaringan maserat proses penguapan dengan rotary pemekatan ekstrak evaporator

**Lampiran 7.** Dokumentasi Skrining Fitokimia Ekstrak Dan Simplisia Herba Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook)

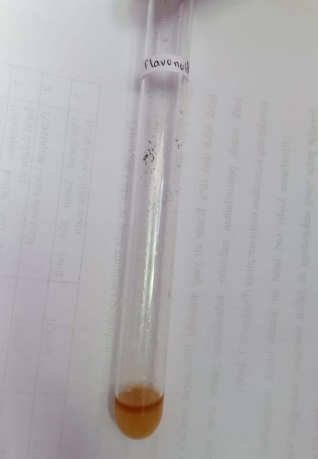
Uji alkaloid ekstrak Uji alkaloid simplisia

(+) terbentuk masing-masing (+) terbentuk masing-masing

Endapan Mayer (putih), Endapan Mayer (putih),

Dragendro (jingga), dan Dragendro (jingga), dan

Bouchardat (coklat). Bouchardat (coklat).





Uji flavonoid ekstrak Uji flavonoid simplisia

(+) terbentuk warna merah, (+) terbentuk warna merah,

Kuning jingga. Kuning jingga.

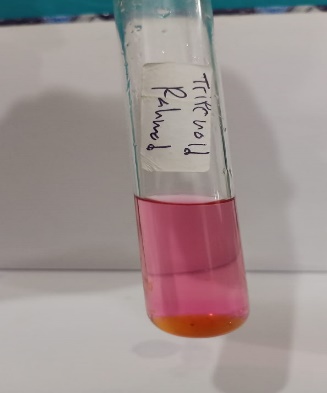
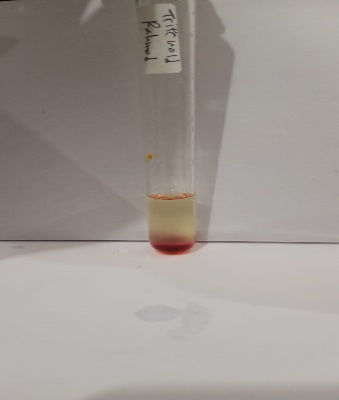


**Lampiran 7. (**Lanjutan)

Uji tanin ekstrak Uji tanin simplisia

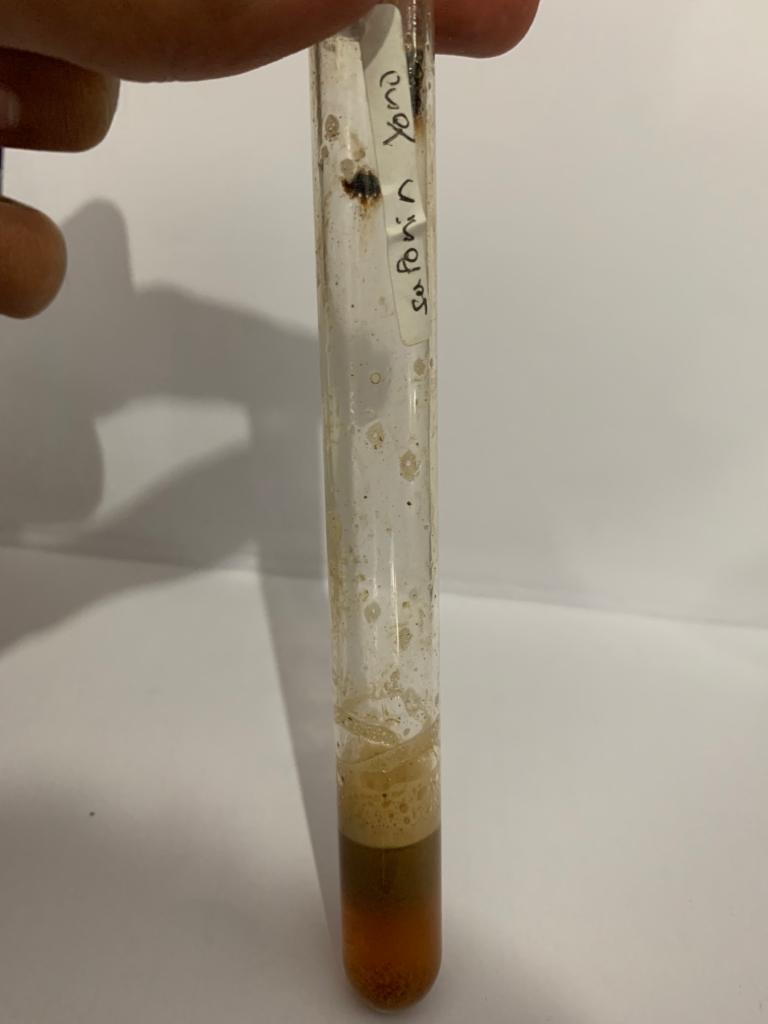
(+) terbentuk warna biru (+) terbentuk warna biru

Atau hijau kehitaman Atau hijau kehitaman

Uji triterpenoid ekstrak Uji triterpenoid simplisia

(+) terbentuk warna ungu merah (+) terbentuk warna ungu merah

Uji saponin ekstrak Uji saponin simplisia (+) terbentuk busa (+) terbentuk busa

Uji glikosida ekstrak Uji glikosida simplisia

(-) tidak terbentuk (-) tidak terbentuk

Cincin ungu Cincin ungu

**Lampiran 8**. Perhitungan Susut Pengeringan Herba Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook)

Diketahui :

Bobot tumbuhan segar = 10.000 gram

Bobot simplisia = 1200 gram

% susut pengeringan = x 100%

% susut pengeringan = x 100%

= 88,00%

**Lampiran 9**. Perhitungan Randemen Ekstrak Herba Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook)

Diketahui :

Bobot serbuk simplisia = 500 gram

Volume pelarut = 5000 ml

Bobot ekstrak = 98,594 gram

% Rendemen ekstrak = x 100 %

% Rendemen ekstrak = x 100 %

= 19,72 %

**Lampiran 10**. Perhitungan Penetapan Kadar Air Simplisia Herba Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook).

% kadar air = x 100%

Keterangan : V0 = Volume destilasi dari penjenuhan toluen

V1 = Volume destilasi air dari simplisia

1. Sampel pengulangan I

V0 = 1,8 ml

V1 = 2,1 ml

Berat simplisia = 5 gram

% kadar air = x 100% = 6,00%

1. Sampel pengulangan II

V0 = 1,8 ml

V1 = 2,1 ml

Berat simplisia = 5 gram

% kadar air = x 100% = 6,00%

1. Sampel pengulangan III

V0 = 2 ml

V1 = 2,3 ml

Berat simplisia = 5 gram

% kadar air = x 100% = 6,00%

Kadar air rata-rata = = 6,00%

**Lampiran 11**. Perhitungan Penetapan Kadar Sari Larut Air dan Kadar Sari Larut Etanol Simplisia Herba Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook)

1. Perhitungan penetapan kadar sari larut air

% kadar = x 100%

1. Pengulangan 1

Berat sampel = 5 gram

Berat cawan kosong = 31,69 gram

B1 = 31,92 gram

B2 = 31,90 gram

B3 = 31,90 gram

Brata-rata = 31,90 gram

% kadar = x 100% = 21,00%

1. Pengulangan 2

Berat sampel = 5 gram

Berat cawan kosong = 32,16 gram

B1 = 32,36 gram

B2 = 32,37 gram

B3 = 32,37 gram

Brata-rata = 32,36 gram

% kadar = x 100% = 20,00%

**Lampiran 11.** (Lanjutan)

1. Pengulangan 3

Berat sampel = 5 gram

Berat cawan kosong = 32,27 gram

B1 = 32,52 gram

B2 = 32,50 gram

B3 = 32,50 gram

Brata-rata = 32,50 gram

% kadar = x 100% = 23,00%

Kadar sari larut air rata-rata = = 21,33%

1. Perhitungan penetapan kadar sari larut etanol

% kadar = x 100%

1. Pengulangan 1

Berat sampel = 5 gram

Berat cawan kosong = 31,83 gram

B1 = 32,07 gram

B2 = 32,06 gram

B3 = 32,06 gram

Brata-rata = 32,06 gram

% kadar = x 100% = 23,00%

**Lampiran 11.** (Lanjutan)

1. Pengulangan 2

Berat sampel = 5 gram

Berat cawan kosong = 32,09 gram

B1 = 32,35 gram

B2 = 32,38 gram

B3 = 32,38 gram

Brata-rata = 32,37 gram

% kadar = x 100% = 28,00%

1. Pengulangan 3

Berat sampel = 5 gram

Berat cawan kosong = 31,90 gram

B1 = 32,14 gram

B2 = 32,17 gram

B3 = 32,17 gram

Brata-rata = 32,16 gram

% kadar = x 100% = 26,00%

kadar sari larut etanol rata-rata = x 100% = 25,67 %

**Lampiran 12.** Perhitungan Penetapan Kadar Abu Total dan Kadar Abu Tidak Larut Asam Simplisia Herba Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook).

1. Perhitungan penetapan kadar abu total

% kadar = x 100%

1. Pengulangan 1

Berat sampel = 2 gram

Berat cawan kosong = 59,81 gram

B1 = 59,88 gram

B2 = 59,91 gram

B1 = 59,91 gram

Brata-rata = 59,90 gram

% kadar = x 100% = 4,50 %

1. Pengulangan 2

Berat sampel = 2 gram

Berat cawan kosong = 60,53 gram

B1 = 60,63 gram

B2 = 60,65 gram

B1 = 60,65 gram

Brata-rata = 60,64 gram

% kadar = x 100% = 5,50%

**Lampiran 12.** (Lanjutan)

1. Pengulangan 3

Berat sampel = 2 gram

Berat cawan kosong = 60,77 gram

B1 = 60,87 gram

B2 = 60,84 gram

B1 = 60,84 gram

Brata-rata = 60,85 gram

% kadar = x 100% = 4,00 %

Kadar abut total rata-rata = = 4,67%

1. Perhitungan penetapan kadar abu tidak larut asam

% kadar = x 100%

1. Pengulangan 1

Berat sampel = 2 gram

Berat cawan kosong = 59,81 gram

B1 = 59,83 gram

B2 = 59,82 gram

B3 = 59,82 gram

Brata-rata = 59,82 gram

% kadar = x 100% = 0,50 %

**Lampiran 12.** (Lanjutan)

1. Pengulangan 2

Berat sampel = 2 gram

Berat cawan kosong = 60,53 gram

B1 = 60,53 gram

B2 = 60,56 gram

B3 = 60,56 gram

Brata-rata = 60,55 gram

% kadar = x 100% = 1,00 %

1. Pengulangan 3

Berat sampel = 2 gram

Berat cawan kosong = 60,77 gram

B1 = 60,77 gram

B2 = 60,79 gram

B3 = 60,79 gram

Brata-rata = 60,78 gram

% kadar = x 100% = 0,50 %

% kadar = x 100% = 0,67 %

**Lampiran 13.** Cara pembuatan media Muller Hinton Agar (MHA)

M1  x V1 = M2  x V2

M1  x 1000 ml = 38 g x 100 ml

M1  =

= 3,8 g

Cara kerja:

Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) ditimbang sebanyak 3,8 gramdan dilarutkan dengan aquadest sebanyak 100 ml, dididihkan hingga larut, kemudian disterilisasi dalam *autoclave* dengan suhu 121oC selama 15 menit, kemudian media MHA dikeluarkan dari *autoclave,* kemudian dituang kedalam masing-masing cawan petri dengan rata, kemudian dibiarkan hingga membeku.

**Lampiran 14.** Cara pembuatan larutan standar *Mc. Farland*

1. H2SO4 1% dibuat 10 mL dari H2SO4 97%

C1  x V1 = C2  x V2

97% x V1 = 1% x 10 ml

V1  =

= 0,1 mL

Cara kerja : H2SO4 97% dipipet sebanyak 0,1 mL dalam labu ukur 10 mL, dipaskan tanda batas dengan aquadest dan dihomogenkan.

1. Larutan BaCl2 1% dibuat dalam 10 mL

Cara kerja : BaCl2 ditimbang sebanyak 0,1 gram dalam beaker glass dan dilarutkan dengan aquadest, kemudian dipindahkan dalam labu ukur 10 mL, dipaskan sampai tanda batas dengan aquadest dan dihomogenkan.

1. Pembuatan larutan *Mc. Farland* :

Larutan H2SO4 1% dipipet sebanyak 9 mL, kemudian dicampurkan dengan larutan BaCl2 1% sebanyak 1 mL dalam tabung reaksi, kemudian dikocok hingga terbentuk larutan yang keruh, kemudian digunakan sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji.

**Lampiran 15.** Perhitungan Dan Cara Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Herba Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook)Dengan Kosentrasi 10%, 15%, 20% Dan 25%

1. Konsentrasi 25% sebanyak 10 mL

Cara kerja:

Ekstrak kental Herba Tunjuk Langit ditimbang sebanyak 2,5 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan DMSO sampai tanda batas, kocok hingga homogen.

1. Konsentrasi 20% sebanyak 10 mL

Dibuat dengan pengenceran dari konsentrasi 25%

C1 x V1 = C2  x V2

25% x V1 = 20% x 10 mL

V1 =

= 8 mL

Cara kerja:

Larutan ekstrak Herba Tunjuk Langit 25% dipipet sebanyak 8 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan DMSO sampai tanda batas, kocok hingga homogen.

**Lampiran 15.** (Lanjutan)

1. Konsentrasi 15% sebanyak 10 mL

Dibuat dengan pengenceran dari konsentrasi 20%

C1 x V1 = C2 x V2

20% x V1 = 15% x 10 ml

V1 =

= 7,5 ml

Cara kerja:

Larutan ekstrak Herba Tunjuk Langit 20% dipipet sebanyak 7,5 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, lalu ditambahkan DMSO sampai tanda batas, kocok hingga homogen.

1. Konsentrasi 10% sebanyak 10 mL

Dibuat dengan pengenceran dari konsentrasi 15%

C1 x V1 = C2 x V2

15% x V1 = 10% x 10 ml

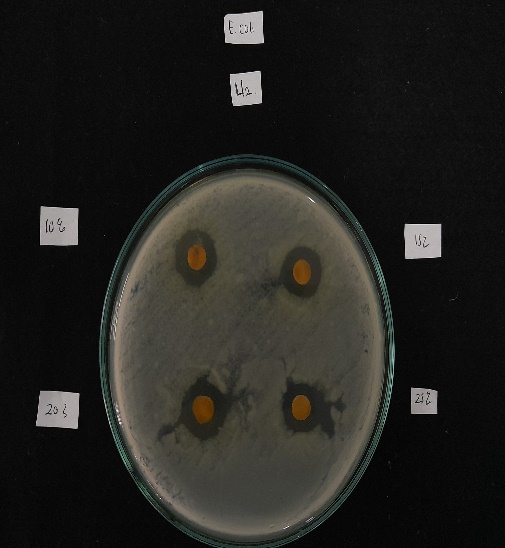
V1 =

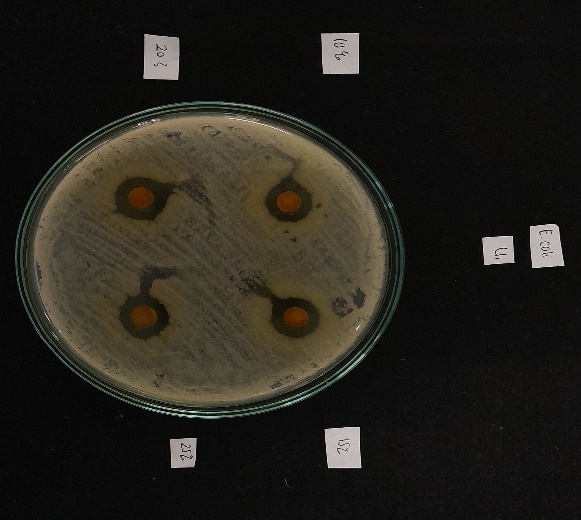
= 6,6 ml

Cara kerja:

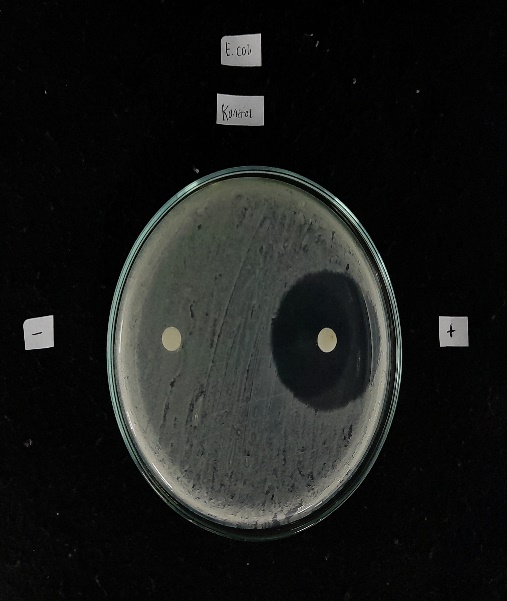
Larutan ekstrak Herba Tunjuk Langit 15% dipipet sebanyak 6,6 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, lalu ditambahkan DMSO sampai tanda batas, kocok hingga homogeny.

**Lampiran 16.** Dokumentasi Hasil Uji Zona Hambat Antibakteri





1. (b)

1. (d)

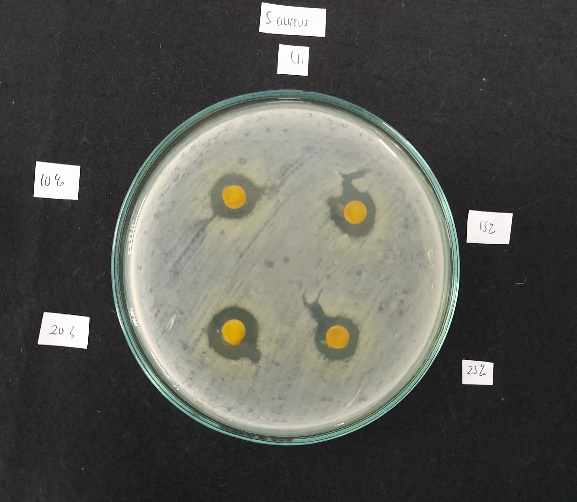
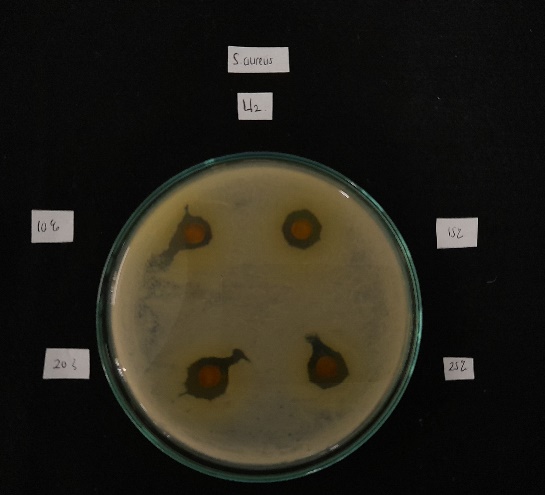
Keterangan : a. Hasil Uji Zona Hambat bakteri *Escherichia coli* pengulangan 1.

b. Hasil Uji Zona Hambat bakteri *Escherichia coli* pengulangan 2.

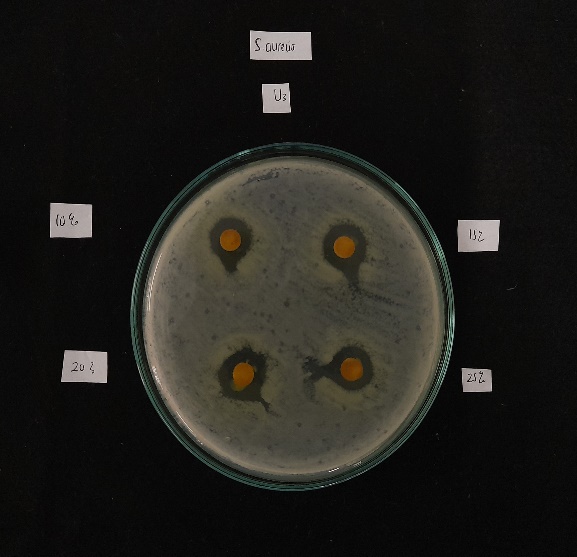
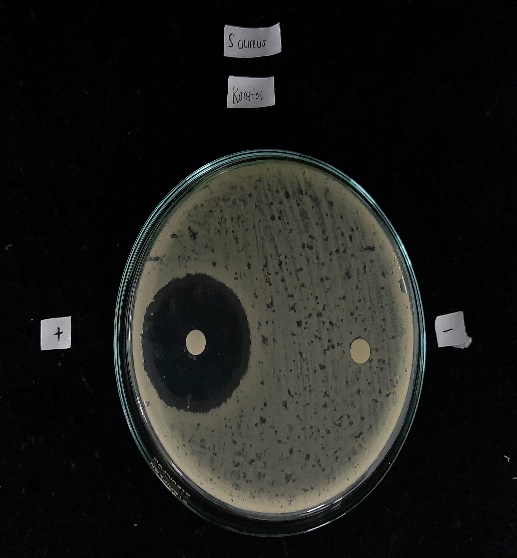
c. Hasil Uji Zona Hambat bakteri *Escherichia coli* pengulangan 3.

d. Hasil Uji Zona Hambat bakteri *Escherichia coli* pengulangan 4.

**Lampiran 16.** (Lanjutan)

** **

1. (b)

** **

(c) (d)

Keterangan : a.Hasil Uji Zona Hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pengulangan 1.

b.Hasil Uji Zona Hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pengulangan 2.

c.Hasil Uji Zona Hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pengulangan 3.

d.Hasil Uji Zona Hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pengulangan 4.

**Lampiran 17.** Hasil Uji Anova dan Uji Duncan.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Descriptives** | | | | | |
|  | | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error |
|
| *Staphylococcus aureus* | 10% | 3 | 11,767 | ,5508 | ,3180 |
| 15% | 3 | 12,967 | 1,3503 | ,7796 |
| 20% | 3 | 12,933 | ,9292 | ,5364 |
| 25% | 3 | 14,033 | 1,0786 | ,6227 |
| Kontrol + | 3 | 34,000 | ,0000 | ,0000 |
| Total | 15 | 17,140 | 8,7912 | 2,2699 |
| *Escherichia coli* | 10% | 3 | 11,867 | ,1528 | ,0882 |
| 15% | 3 | 12,667 | ,4726 | ,2728 |
| 20% | 3 | 12,767 | ,9292 | ,5364 |
| 25% | 3 | 13,500 | ,5196 | ,3000 |
| Kontrol + | 3 | 31,000 | ,0000 | ,0000 |
| Total | 15 | 16,360 | 7,6088 | 1,9646 |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | 95% Confidence  Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
| Lower  Bound | Upper  Bound |
| *Staphylococcus aureus* | 10% | 10,399 | 13,135 | 11,4 | 12,4 |
| 15% | 9,612 | 16,321 | 11,6 | 14,3 |
| 20% | 10,625 | 15,241 | 12,3 | 14,0 |
| 25% | 11,354 | 16,713 | 12,8 | 14,8 |
| Kontrol + | 34,000 | 34,000 | 34,0 | 34,0 |
| Total | 12,272 | 22,008 | 11,4 | 34,0 |
| *Escherichia coli* | 10% | 11,487 | 12,246 | 11,7 | 12,0 |
| 15% | 11,493 | 13,841 | 12,3 | 13,2 |
| 20% | 10,459 | 15,075 | 11,7 | 13,4 |
| 25% | 12,209 | 14,791 | 13,2 | 14,1 |
| Kontrol + | 31,000 | 31,000 | 31,0 | 31,0 |
| Total | 12,146 | 20,574 | 11,7 | 31,0 |

**Lampiran 18.** (Lanjutan)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Test of Homogeneity of Variances** | | | | |
|  | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
| *Staphylococcus aureus* | 2,361 | 4 | 10 | ,123 |
| *Escherichia coli* | 6,632 | 4 | 10 | ,007 |

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **ANOVA** | | | | | | |
|  | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| *Staphylococcus aureus* | Between Groups | 1073,689 | 4 | 268,422 | 323,141 | ,000 |
| Within Groups | 8,307 | 10 | ,831 |  |  |
| Total | 1081,996 | 14 |  |  |  |
| *Escherichia coli* | Between Groups | 807,756 | 4 | 201,939 | 731,663 | ,000 |
| Within Groups | 2,760 | 10 | ,276 |  |  |
| Total | 810,516 | 14 |  |  |  |

**Homogeneous Subsets**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| ***Staphylococcus aureus*** | | | | |
| Duncana | | | | |
| Sampel | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
| 1 | 2 | 3 |
| 10% | 3 | 11,767 |  |  |
| 15% | 3 | 12,933 | 12,933 |  |
| 20% | 3 | 12,967 | 12,967 |  |
| 25% | 3 |  | 14,033 |  |
| Kontrol + | 3 |  |  | 34,000 |
| Sig. |  | ,154 | ,188 | 1,000 |
| Means for groups in homogeneous subsets are displayed. | | | | |
| a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. | | | | |

**Lampiran 19**. (Lanjutan)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| ***Escherichia coli*** | | | | |
| Duncana | | | | |
| Sampel | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
| 1 | 2 | 3 |
| 10% | 3 | 11,867 |  |  |
| 15% | 3 | 12,667 | 12,667 |  |
| 20% | 3 | 12,767 | 12,767 |  |
| 25% | 3 |  | 13,500 |  |
| Kontrol + | 3 |  |  | 31,000 |
| Sig. |  | ,073 | ,093 | 1,000 |
| Means for groups in homogeneous subsets are displayed. | | | | |
| a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. | | | | |