

**FORMULASI KOMBINASI BIOHERBAL EKSTRAK METANOL
DAUN TAMBORA (*Ageratum Conyzoides* L), DAUN SEMBALIT
ANGIN(*Mussaenda frondosa*) DAN RIMPANG KUNYIT (*Curcuma
longa* L) TERHADAP BAKTERI *BACILLUS SUBTILIS* SEBAGAI
BAHAN PENGEMBANGAN BUKU REFERENSI TENTANG
EKSTRAKSI**

SKRIPSI

**Diajukan untuk Memenuhi sebagai Syarat Memperoleh
Gelar Sarjana Pendidikan**



Oleh:

**Emeilia Afitri
NIM: 1701140503**

**INSTITUT AGAMA ISLAM NEGRI PALANGKA RAYA
FAKULTAS TARBIYAH DAN ILMU KEGURUAN
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
PROGRAM STUDI TADRIS BIOLOGI
TAHUN 2021 M/1442H**

PERNYATAAN ORISINALITAS

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Emeilia Afitri

NIM : 1701140503

Jurusan/Prodi : Pendidikan MIPA/ Tadris Biologi

Fakultas : Tarbiyah dan Ilmu Keguruan

Menyatakan skripsi dengan judul “Formulasi Kombinasi Bioherbal Ekstrak Metanol Daun Tambora (*Ageratum Conyzoides* L), Daun Sembalit Angin (*Mussaenda frondosa*), Dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus Subtilis* Sebagai Bahan Pengembangan Buku Referensi Tentang Ekstraksi”, adalah benar karya saya sendiri. Jika kemudian hari karya ini terbukti merupakan duplikat atau plagiat, maka skripsi dan gelar saya boleh dibatalkan

Palangka Raya, 24 April 2021

Yang Membuat Pernyataan,



Emeilia Afitri
NIM. 1701140503

NOTA DINAS

**Hal : Mohon Diuji Skripsi
Sdri. Emeilia Afitri**

Palangka Raya, 27 April 2021

Kepada
Yth. **Ketua Jurusan Pendidikan
MIPA IAIN Palangka Raya**
di-
Palangka Raya

Assalamu'alaikum Wr. Wb

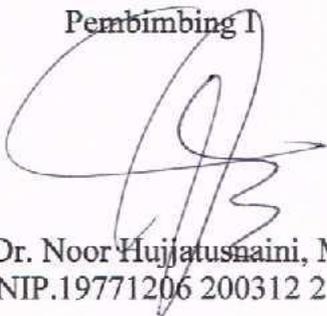
Setelah membaca, memeriksa dan diadakan perbaikan seperlunya, maka kami berpendapat bahwa skripsi :

Nama : Emeilia Afitri
NIM : 170 114 0503
Judul : Formulasi Kombinasi Bioherbal Ekstrak Metanol Daun Tambora (*Ageratum Conyzoides* L), Daun Sembalit Angin (*Mussaenda frondosa*), Dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus Subtilis* Sebagai Bahan Pengembangan Buku Referensi Tentang Ekstraksi

Sudah dapat diujikan untuk memperoleh Gelar Sarjana Pendidikan.
Demikian atas perhatiannya diucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Pembimbing I



Dr. Noor Hujjatusnaini, M.Pd
NIP.19771206 200312 2 004

Pembimbing II



Ayatuss'adah, M.Pd
NIP. 19900131 201503 2 006

PERSETUJUAN SKRIPSI

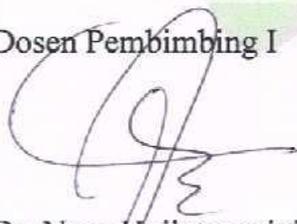
Judul : Formulasi Kombinasi Bioherbal Ekstrak Metanol Daun Tambora (*Ageratum Conyzoides* L), Daun Sembalit Angin (*Mussaenda frondosa*), Dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus Subtilis* Sebagai Bahan Pengembangan Buku Referensi Tentang Ekstraksi

Nama : Emeilia Afitri
NIM : 170 114 0503
Fakultas : Tarbiyah dan Ilmu Keguruan
Jurusan : Pendidikan MIPA
Program Studi : Tadris Biologi (TBG)
Jenjang : Strata Satu (S-I)

Setelah diteliti dan diadakan perbaikan seperlunya, dapat disetujui untuk disidangkan oleh Tim Penguji Skripsi Fakultas Tarbiyah dan Ilmu Keguruan IAIN Palangka Raya.

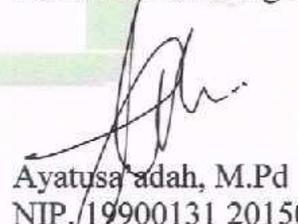
Palangka Raya, April 2021

Dosen Pembimbing I



Dr. Noor Hujjatusnaini, M.Pd
NIP. 19771206 200312 2 004

Dosen Pembimbing II



Ayatussadiyah, M.Pd
NIP. 19900131 201503 2 006

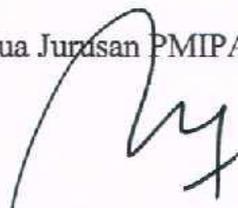
Mengetahui,

Wakil Dekan Bidang Akademik,



Dr. Nurul Wahdah, M.Pd
NIP. 19800307 200604 2 004

Ketua Jurusan PMIPA



Dr. Atin Supriatin, M.Pd
NIP. 19780424 200501 2 005

PENGESAHAN SKRIPSI

Judul : Formulasi Kombinasi Bioherbal Ekstrak Metanol Daun Tambora (*Ageratum Conyzoides* L), Daun Sembalit Angin (*Mussaenda frondosa*), Dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus Subtilis* Sebagai Bahan Pengembangan Buku Referensi Tentang Ekstraksi.

Nama : Emeilia Afitri

NIM : 1701140503

Jurusan : Pendidikan MIPA

Program Studi : Tadris Biologi

Telah diujikan dalam Sidang/Munaqosah Tim Penguji Skripsi Fakultas Tarbiah dan Ilmu Keguruan IAIN Palangka Raya Pada:

Hari : Senin

Tanggal : 17 Mei 2021/ 5 Syawal 1442 H

TIM PENGUJI

1. **Dr. Atin Supriatin, M.Pd**
(Ketua Sidang/Penguji)

2. **H. Mukhlis Rohmadi, M.Pd**
(Penguji Utama)

3. **Dr. Noor Hujjatusnaini, M.Pd**
(Penguji)

4. **Ayatusa'adah, M.Pd**
(Sekretaris/Penguji)

Mengetahui:

Dekan Fakultas Tarbiyah dan Ilmu
Keguruan IAIN Palangka Raya



Dr. Hj. Rodhatul Jennah, M.Pd

NIP. 19671003 199303 2 001

**FORMULASI KOMBINASI BIOHERBAL EKSTRAK METANOL
DAUN TAMBORA (*Ageratum Conyzoides* L), DAUN SEMBALIT
ANGIN(*Mussaenda frondosa*) DAN RIMPANG KUNYIT (*Curcuma
longa* L) TERHADAP BAKTERI *BACILLUS SUBTILIS* SEBAGAI
BAHAN PENGEMBANGAN BUKU REFERENSI TENTANG
EKSTRAKSI**

ABSTRAK

Penelitian ini berawal dari pendugaan bahwa bahan alam seperti daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit ini memiliki khasiat sebagai antibakteri. Masyarakat belum mengetahui takaran pasti dari tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh ekstrak kombinasi dari ketiga ban alam tersebut terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan menentukan formulasi kombinasi yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* serta menganalisis kelayakan buku referensi tentang ekstraksi sebagai penunjang mata kuliah mikrobiologi.

Penelitian ini terdiri dari dua tahap. Penelitian tahap satu eksperimental laboratoris teknik pengambilan data dilakukan melalui pengukuran zona hambat dan teknik analisis data menggunakan *software* SPSS 22. Penelitian tahap dua yaitu pengembangan produk berbasis hasil riset, data yang didapat dari tahap satu digunakan sebagai bahan pengembangan buku referensi, teknik pengambilan data pada tahap dua menggunakan instrument analisis kebutuhan, instrument kelayakan oleh ahli dan instrument penilaian kelayakan oleh responden dan data dianalisis menggunakan skala likert.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang kunyit berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, hal tersebut di tunjukan dengan adanya zona hambat pada kertas cakram. Formulasi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada formulasi 2:1:3 dengan komposisi dominan rimpang Kunyit sebesar 50% , hal tersebut dikarenakan rimpang kunyit memiliki senyawa kurkumin yang bermanfaat sebagai antibakteri. buku referensi tentang ekstraksi yang dikembangkan berdasarkan hasil riset dinyatakan layak digunakan dalam pembelajaran Mikrobiologi, didukung dengan nilai dari validator ahli media (Desain) sebesar 96,28 dan nilai oleh validator ahli materi sebesar 93,78.

Kata Kunci: Efektifitas Ekstraksi kombinasi, Formulasi Kombinasi, kelayakan buku referensi

**A Combination Formulation Of Bioherbal Extract Methanol Leaves Of
Tambora(*Ageratum Conyzoides* L) Daun Sembalit Angin(*Mussaenda frondosa*)
And Turmeric Rhizome(*Curcuma longa* L) Against *Bacillus Subtilis* As Material
For Developing Reference Books On Extraction**

ABSTRACT

This research originated from the assumption that natural ingredients such as Tambora leaves, Sembalit Anginleaves and Turmeric rhizome have antibacterial properties. People have not seen the exact dose of plants that have medicinal properties. The purpose of this study was to see the effect of the combination of the three natural prohibitions on the growth of *Bacillus subtilis* and determine the effective combination formulation in inhibiting the growth of *Bacillus subtilis* and to analyze the feasibility of reference books on extraction as a support for microbiology courses.

This research consists of two stages. The first stage research in experimental laboratory data collection techniques was carried out by measuring the inhibition zone and data analysis techniques using SPSS 22 software. The second stage research was product development based on research results, data obtained from stage one was used as material for developing reference books, data collection techniques at the stage two using the needs analysis instrument, the feasibility instrument by the expert and the assessment instrument by the respondent and the data were analyzed using a Likert scale.

The results showed that the extract of Tambora leaves, Sembalit Anginleaves and turmeric rhizome affected the growth of *Bacillus subtilis* bacteria, this was indicated by the presence of an inhibition zone on disc paper. The combination formulation of Tambora leaves, Sembalit Anginleaves and Turmeric rhizome is effective in inhibiting the growth of *Bacillus subtilis* bacteria in a 2: 1: 3 formulation with a dominant composition of turmeric rhizome of 50%, this is because turmeric has curcumin compounds which are useful as antibacterial. The reference book on extraction that was developed based on the results of the research was declared feasible to be used in microbiology learning, supported by the value of the media expert validator (Design) of 96.28 and the value by the material expert validator of 93.78.

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Rahmatullah Wabarakatuh

Puji syukur senantiasa penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan hidayah, taufik, rahmat, dan kekuatan, sehingga dapat diselesaikan skripsi yang berjudul **Formulasi Kombinasi Bioherbal Ekstrak Metanol Daun Tambora (*Ageratum Conyzoides* L), Daun Sembalit Angin(*Mussaenda Frondosa*) Dan Rimpang Kunyit (*Curcuma Longa* L) Terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis* Sebagai Bahan Pengembangan Buku Referensi Tentang Ekstraksi** sesuai dengan yang diharapkan.

Penulis menyadari bahwa keberhasilan penyusunan proposal skripsi ini tidak lepas dari bimbingan, motivasi serta bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati mengucapkan terima kasih kepada semua pihak atas terselesaikannya skripsi ini, yaitu kepada:

1. Rektor IAIN Palangka Raya, Bapak Dr. H. Khairil Anwar, M. Ag yang telah memberikan kesempatan dalam mengikuti pendidikan hingga selesainya penulisan ini.
2. Dekan Fakultas Tarbiyah dan Ilmu Keguruan IAIN Palangka Raya, Ibu Dr. Hj. Rodhatul Jennah, M. Pd
3. Wakil Dekan I Fakultas Tarbiyah dan Ilmu Keguruan IAIN Palangka Raya, Ibu Dr. Nurul Wahdah, M. Pd yang telah membantu dalam proses persetujuan munaqosah skripsi.
4. Ketua Jurusan Pendidikan Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Ibu Dr. Atin Supriatin, M.Pd membantu dan memberikan arahan dalam proses persetujuan dan munaqosah skripsi

5. Ketua program studi Tadris Biologi, Ibu Nanik Lestariningsih, M. Pd yang telah membantu menyelesaikan administrasi perkuliahan.
6. Ibu Dr. Noor Hujjatusnaini, M. Pd selaku Pembimbing I yang selama ini banyak memberikan bimbingan, motivasi dan arahan serta bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
7. Ibu Ayatusa'adah, M. Pd selaku Pembimbing II yang selalu memberikan bimbingan dan arahan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Semoga segala bimbingan dan pengarahan yang telah diberikan kepada penulis mendapatkan balasan dari Allah SWT dengan kebaikan yang berlipat ganda. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan adanya kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat diterima hingga tersusunnya naskah skripsi yang utuh. Amin Ya Robbal 'Alamin.

Wassalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Palangka Raya, 24 April 2021

Penulis,

Emelia Afitri
1701140503

MOTTO

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

” Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Q.s As Syuara ayat 7)



PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Ya Allah....Trimakasih atas nikmat yang Engkau berikan kepada hamba, nikmat yang sangat luar biasa banyaknya... dari nikmat sehat yang mampu meiringi langkah hamba demi terwujudnya keinginan hamba untuk melihat senyum bahagia dari orang tua hamba, yang selalu bekerja keras demi hamba dari hamba kecil hingga saat ini.....

SKRIPSI INI KU-PERSEMBAHKAN KEPADA:

1. Kedua orang tuaku yang selalu mendukung pendidikanku dari mulai TK hingga Kuliah sehingga ku dapat menjadi seorang yang menyandang gelar Sarjana Star1. Kasih sayang dan pengorbanan yang teramat besar yang tak dapat dibayar dengan apapun, terimakasih Mama.... Bapak.... Atas pengorbanan segalanya untukku.
2. Kakak ku Adi Santoso , kedua adik ku Tri Zulia Safitri dan Lutvi Adi Saputro yang selalu menyayangiku, membantuku dan selalu menjadi orang yang mendukung semua keinginan baikku.
3. Teman spesialku Jaka Lelana P.N yang selalu mendukung dan membantuku
4. Terimakasih juga untuk teman-teman sekelompok penelitian denganku yaitu Bunga Indah, Ratih widyastuti, Yunia Dwi Friska dan Ardiansyah sebagai teman yang selalu ada dikala apapun yang sudah ku anggap sebagai keluarga, terimakasih telah membantuku dalam menyelesaikan penelitian di laboratorium.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN ORISINALITAS	
NOTA DINAS	iii
PERSETUJUAN SKRIPSI	iv
PENGESAHAN SKRIPSI	v
ABSTRAK	vi
KATA PENGANTAR	viii
MOTTO	x
PERSEMBAHAN	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xxi
DAFTAR LAMPIRAN	xxii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Identifikasi Masalah.....	8
C. Batasan Masalah.....	8
D. Rumusan Masalah	9

E. Tujuan Penelitian	10
F. Manfaat Penelitian	10
G. Definisi Operasional.....	11
H. Sistematika Penulisan	12
BAB II KAJIAN PUSTAKA	14
A. Kajian Teoritis.....	14
1. Formulasi Kombinasi Bioherbal	14
2. Ekstraksi.....	15
3. Tumbuhan Berkhasiat Obat.....	17
B. Bakteri <i>Bacillus Subtilis</i>	22
C. Penelitian Relevan.....	23
D. Pengembangan Buku Referensi	24
E. Kerangka Berpikir.....	26
F. Hipotesis Penelitian.....	28
BAB III METODE PENELITIAN	28
A. Penelitian Tahap I	28
1. Jenis Penelitian.....	28
2. Racangan penelitian	28
3. Populasi dan Sampel	31
4. Variabel Penelitian	31

5. Waktu dan tempat.....	31
6. Alat dan Bahan	31
7. Prosedur Penelitian.....	32
8. Teknik Pengambilan Data	36
B. Penelitian Tahap II.....	36
1. Jenis Penelitian.....	36
2. Rancangan Penelitian	37
3. Subjek.....	37
4. Waktu dan tempat.....	37
5. Variabel Penelitian	37
6. Instrumen penelitian.....	38
7. Analisis Instrumen.....	38
8. Teknik Pengumpulan Data Penelitian	39
9. Model Pengembangan Produk	41
10. Analisis Data Penelitian	47
11. Diagram Alur Penelitian.....	47
C. Jadwal Penelitian.....	49
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	50
A. Hasil Penelitian	50

1.	Hasil Penelitian Tahap I (Eksplorasi formulasi kombinasi ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angindan rimpang Kunyit terhadap Bakteri <i>Bacillus subtilis</i>).....	50
2.	Hasil Penelitian Tahap II (Pengembangan Buku Referensi tentang ekstraksi menggunakan Model pengembangan ADDIE).....	88
B.	Pembahasan.....	103
1.	Penelitian Tahap I (Eksplorasi Formulasi Kombinasi Ekstrak Metanol (<i>Ageratum Conyzoides</i> L), Daun Sembalit Angin(<i>Mussaenda frondosa</i>) dan Rimpang Kunyit (<i>Curcuma longa</i> L) terhadap bakteri <i>Bacillus subtilis</i>).....	103
2.	Penelitian Tahap II (Pengembangan Buku Referensi tentang ekstraksi menggunakan Model pengembangan ADDIE).....	122
BAB V PENUTUP		132
A.	Simpulan.....	132
B.	Saran.....	133
DAFTAR PUSTAKA		135

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Rancangan Penelitian.....	29
Tabel 3.2	Komposisi Formulasi Bioherbal Ekstrak Daun Tambora, Daun Sembalit Angin, dan Rimpang Kunyit.....	34
Tabel 3.3	Instrumen Penilaian Validasi Isi (Materi) Buku Referensi.....	44
Tabel 3.4	Instrumen Penilaian Validasi Desain atau Tampilan.....	45
Tabel 3.5	Kriteria Validitas Data Angket Penilaian Validator	47
Tabel 3.6	Lembaran Instrumen Penilaian Kelayakan Isi (Materi).....	48
Tabel 3.7	Lembar Instrumen Penilaian Kelayakan Desain atau Tampilan.....	49
Tabel 3.5	Kriteria Validitas Data Angket Penilaian Keterbacaan Validator	50
Tabel 4.1	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus Subtilis</i> Pada 1 x 24 Jam	55
Tabel 4.2	Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus Subtilis</i> Pada 1 x24 Jam	56
Tabel 4.3	Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus Subtilis</i> Pada 1x24 Jam	57
Tabel 4.4	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus Subtilis</i> Pada 2 X 24 Jam.....	58
Tabel 4.5	Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 2x24 Jam	58
Tabel 4.6	Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 2x24 Jam	59

Tabel 4.7	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 3 X 24 Jam	60
Tabel 4.8	Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus Subtilis</i> Pada 3x24 Jam	60
Tabel 4.9	Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus Subtilis</i> Pada 3x24 Jam	61
Tabel 4.10	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Kombinasi 3:2:1	62
Tabel 2	Rekapitulasi Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i>	62
Tabel 4.12	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus Subtilis</i> Pada 1x 24 Jam	64
Tabel 4.13	Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 1x24 Jam	65
Tabel 4.14	Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 1x24 Jam	65
Tabel 4.15	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 2x 24 Jam	66
Tabel 4.16	Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 2 x 24 Jam	67
Tabel 4.17	Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 2 x 24 Jam	67

Tabel 4. 18	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 3 x 24 Jam	68
Tabel 4.19	Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 3 x 24 Jam	69
Tabel 4.20	Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 3 x 24 Jam	70
Tabel 4. 21	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Kombinasi 2:3:1	71
Tabel 4.22	Rekapitulasi Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Kombinasi 2:3:1	71
Tabel 4.23	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 1x 24 Jam	73
Tabel 4.24	Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 1 x 24 Jam	73
Tabel 4.25	Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 1 x 24 Jam	74
Tabel 4.26	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 2 x 24 Jam	75
Tabel 4.27	Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 2 x 24 Jam	76
Tabel 4.28	Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 2 x 24 Jam	76

Tabel 4.29	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 3 x 24 Jam	77
Tabel 4.30	Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 3 x 24 Jam	78
Tabel 4.31	Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 3 x 24 Jam	79
Tabel 4.32	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Kombinasi 1:2:3	80
Tabel 4.33	Rekapitulasi Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Kombinasi 1:2:3	80
Tabel 4.34	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 1 x 24 Jam	82
Tabel 4.35	Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 1 x 24 Jam	82
Tabel 4.36	Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 1 x 24 Jam	83
Tabel 4.37	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 2 x 24 Jam	84
Tabel 4.38	Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 2 x 24 Jam	85
Tabel 4.39	Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 2 x 24 Jam	84

Tabel 4.40	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 3 x 24 Jam	86
Tabel 4.41	Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 3 x 24 Jam	87
Tabel 4.42	Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Pada 3x 24 Jam	88
Tabel 4. 43	Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Kombinasi 2:1:3	89
Tabel 4. 44	Rekapitulasi Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> Kombinasi 2:1:3	89
Tabel 4.45	Data Hasil Validasi Pengembangan Buku Referensi berdasarkan Aspek Desain dan Tampilan	101
Tabel 4.46	Data Hasil Validasi Pengembangan Buku Referensi berdasarkan Aspek Kelayakan Isi atau Materi.....	102
Tabel 4.47	Uraian Penelitian Validator Ahli atas Penilaian Produk.....	103
Tabel 4.48	Data Hasil Uji Kelayakan Isi (Materi) oleh Responden.....	103
Tabel 4.49	Data Hasil Uji kelayakan Desain oleh Responden.....	104

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tumbuhan Tambora (<i>Ageratum Conyzoides</i> L).....	18
Gambar 2.2	Sembalit Angin(<i>Mussaenda frondosa</i> L)	20
Gambar.2.3	Morfologi Rimpang Kunyit (<i>Curcuma longa</i>)	22
Gambar 2.4	Alur Kerangka Berfikir	27
Gambar 3.1	Desain Penelitian	29
Gambar 3.2	Alur Penelitian Menggunakan Model Pengembangan ADDIE.....	40
Gambar 3.3	Alur Penelitian.....	52
Gambar 4. 1	Mean Square Formulasi Kombinasi 3:2:1 <i>Bacillus subtilis</i>	63
Gambar 4. 2	Mean Square Formulasi Kombinasi 2:3:1 <i>Bacillus subtilis</i>	72
Gambar 4.3	Mean Square Formula Kombinasi 1:2:3 <i>Bacillus subtilis</i>	81
Gambar 4. 4	Mean Square Formula Kombinasi 2:1:3 <i>Bacillus subtilis</i>	90
Gambar 4.5	Hasil Pemahaman Tentang Pembelajaran Mata Kuliah Mikrobiologi.....	92
Gambar 4.6	Hasil Analisis kebutuhan Buku Referensi Tentang Ekstraksi yang diharapkan	93
Gambar 4.7	Hasil Analisis Kebutuhan Fisik Buku Referensi Ekstraksi	94
Gambar 4.8	Hasil Analisis Kebutuhan Isi Buku Referensi Tentang Ekstraksi ..	95
Gambar 4.9	Desain Cover Buku Referensi	96
Gambar 4.10	Pemetaan Isi dan Desain Buku Referensi.....	98

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Kisi-Kisi Instrumen Analisis Kebutuhan Terhadap Buku Referensi Ekstraksi
- Lampiran 2. Lembar Instrumen Analisis Kebutuhan Buku Referensi Ekstraksi
- Lampiran 3. Lembar Instrumen Validasi Materi Buku Referensi Ekstraksi
- Lampiran 4. Lembar Instrumen Validasi Buku Referensi Ekstraksi
- Lampiran 5. Lembar Instrumen Penilaian Kelayakan Materi Buku Referensi Tentang Ekstraksi Oleh Responden
- Lampiran 6. Lembar Instrumen Penilaian Kelayakan Desain Buku Referensi Tentang Ekstraksi Oleh Responden
- Lampiran 7. Hasil Analisis Kebutuhan Buku Referensi Ekstraksi
- Lampiran 8. Hasil Pengamatan (Pengukuran Zona Hambat) Bakteri *Bacillus subtilis*
- Lampiran 9. Hasil Validasi Kelayakan Materi Dan Desain Buku Referensi Ekstraksi
- Lampiran 10. Hasil Penilaian Implementasi Kelayakan Materi dan Desain Buku Referensi Ekstraksi
- Lampiran 11. Rekapitulasi Data Hasil Analisa Kebutuhan Buku Referensi Ekstraksi
- Lampiran 12. Data Hasil Uji Anava dan Duncan 1%
- Lampiran 13. Data Hasil Validasi Kelayakan Buku Referensi Ekstraksi
- Lampiran 14. Data Hasil Penilaian Implementasi Kelayakan Materi dan Desain Buku Referensi
- Lampiran 15. Dokumentasi

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan Negara Kemaritim dan Negara yang dikenal sebagai Negara hutan tropis. Oleh sebab itu, Indonesia memiliki berbagai kekayaan alam, salah satunya yaitu kekayaan alam hayati. Indonesia memiliki kurang lebih 25.000 spesies tumbuhan yang berbunga, diantaranya merupakan tumbuhan yang diketahui sebagai tumbuhan obat. Ada sekitar 20.000 spesies tumbuhan obat yang biasa digunakan oleh hampir 80% suku yang ada di Indonesia, dimana penggunaan tumbuhan sebagai obat dilakukan secara tradisional (Zuhud, 2009).

Tumbuhan-tumbuhan ini memiliki khasiat sebagai obat, yang diolah secara tradisional. Tumbuhan tersebut merupakan tumbuhan pengganggu, dimana keberadaan hidupnya menyebar dan liar, dan sering kali dianggap tumbuhan yang tak memiliki manfaat. Kurangnya komunikasi dan informasi akan tumbuhan yang memiliki khasiat obat tersebut, sehingga menyebabkan ketidak tauan generasi selanjutnya. Fakta tersebut membuktikan kurangnya eksplorasi dan dokumentasi tumbuhan berkhasiat obat yang dimiliki oleh daerah tertentu, sebagai bagian dari kekayaan alam hayati.

Kekayaan alam hayati yang ada di Indonesia sebagian besar berasal dari hutan. Hutan merupakan tempat Tumbuhan-tumbuhan hidup dan berkembang biak selain tumbuhan ada pula hewan dengan berbagai spesies. Banyak spesies tumbuhan yang memiliki kandungan khasiat yang baik sebagai obat. Hal tersebut membuktikan bahwa Indonesia merupakan Negara yang kaya akan

keanekaragaman alam hayati baik, tumbuhan maupun hewannya. Tumbuhan yang diolah sebagai obat, diramu secara tradisional oleh suku-suku yang ada di Indonesia dengan cara merebus, mehaluskannya dan juga ada yang mengkombinasikannya (Siboro, 2019). Keanekaragaman hayati diterangkan dalam al-qur'an surah As-syu'ara ayat 7

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

” Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Q.s As Syuara ayat 7)

Menurut Tafsir Kementerian Agama, Allah kemudian mengajak mereka untuk belajar dari alam seluruh, agar mereka tahu bahwa hanya Allah saja yang berhak untuk disembah. *Dan apakah mereka yaitu orang musyrik itu tidak memperhatikan apa yang mereka lihat di hamparan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan tumbuh-tumbuhan yang baik dan membawa banyak sekali kemanfaatan bagi manusia. Bukankah itu pertanda atas kekuasaan Allah, dan anugerah-Nya yang tak terhingga kepada manusia* (Badan litbang dan Diklat Kementrian Agama RI, 2016).

Berdasarkan penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa bahan alam yang dimanfaatkan sebagai tanaman obat akan memiliki manfaat yang lebih optimal jika dikombinasikan dengan tanaman obat jenis lainnya. Hal ini didukung dengan hasil penelitian Fitri dan Rijai (2014) dengan judul “Aktivitas Antioksidan

Kombinasi Daun Cempedak (*Artocarpus chempedan*) dan Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L)” akan sangat berkerja pada konsentrasi 1:2 kombinasi berfungsi dengan baik, perbandingan antara bandotan (*Ageratum conyzoides* L) dengan Cempedak (*Artocarpus chempedan*). Penelitian ini di dukung juga oleh penelitian Kholifah (2018) dengan judul “Uji Aktivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) Dan Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma Zedoaria* (Berg.) Roscoe) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*” ekstrak kombinasi kedua bahan tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan konsentrasi yang berbeda. Pada bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 80% dan pada bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 40% dengan besar zona hambat yang berbeda pula.

Mengkombinasikan tumbuhan-tumbuhan yang memiliki khasiat obat dapat menambah wawasan pengetahuan dan formulasi, kombinasi tumbuhan tersebut, sehingga ditemukan konsentrasi yang paling efektif sebagai antibakteri. Tumbuhan-tumbuhan yang berkhasiat obat yang dapat dikombinasikan seperti daun Tambora (*Agertum conyzoides* L.), daun Sembalit Angin(*Mussaenda frondosa* L.) dan rimpang Kunyit (*Curcuma longa* linn), di mana dari ketiga bahan tersebut dapat diketahui kandungan dan manfaatnya (Fauzi, dkk, 2019)

Tambora yang biasa disebut dengan nama Bandotan (*Agertum conyzoides* L.), dikenal sebagai tanaman liar yang memiliki perawakan batang perdu dan bunga yang berwarna putih dan ada juga yang berwarna ungu. Pada penelitian (Hidayati dan Harjono, 2017) mengatakan bahwa “daun dan bunga Tambora (*Ageratum*

conyzoides, L.) mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri” yang dimana senyawa senyawa ini memiliki fungsi yang sangat baik bagi penyakit kulit seperti luka dan sebagai obat antibakteri . Penelitian ekstrak Daun Tambora (*Ageratum conyzoides* L.) sangat aktif bekerja melawan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dimana bakteri ini menjadi penyebab penyakit kulit seperti infeksi yang ditimbulkan dari luka pada kulit (Muhammad dan Rosdarni, 2019).

Selain Tambora, bahan alam yang diketahui dapat dimanfaatkan untuk mengatasi infeksi adalah Kunyit (*Curcuma longa* Linn). Kunyit merupakan tumbuhan yang memiliki warna kuning, yang dipengaruhi oleh kandungan senyawa kimia yang ada didalamnya. Senyawa kimia yang terkandung didalamnya seperti kurkumin, dan minyak atsiri yang berfungsi sebagai antioksidan dan antimikroba. Senyawa kurkumin yang terdapat dalam rimpang kunyit bermanfaat sebagai antibakteri baik, untuk bakteri gram positif maupun gram negatif seperti *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* (Setiyo, dkk, 2018). Rimpang kunyit bisa digunakan sebagai obat antibakteri yang dimana berfungsi sangat baik pada bakteri *Bacillus* sp, bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri *Candida albican* dan bakteri *Escherichia coli* yang dimana bakteri bakteri tersebut sebagai bakteri penyebab luka, keputihan dan diare. Tambora dan Kunyit yang digunakan sebagai tumbuhan yang memiliki manfaat sebagai tumbuhan anti bakteri dan tanaman obat tradisional (Yuliati, 2017).

Obat tradisional selain kunyit dan tambora ada juga tumbuhan yang berkasiat obat dan digunakan sebagai antibakteri yaitu Sembalit Anginbiasa disebut dengan nama lain yaitu Kingkilaban (*Mussaenda frondosa* L) yang termasuk dalam anggota *family Rubiaceae*. Tumbuhan ini merupakan jenis perdu yang memiliki ukuran batang yang cukup variatif dan umumnya hidup berasosiasi dengan tanaman yang lebih besar, atau dalam kategori pepohonan. Hal ini disebabkan oleh bentuk perlindungan tumbuhan Sembalit Angindari jenis pohon yang berasosiasi dengannya. Tanaman Kingkilaban ini memiliki kandungan kimia seperti steroid,flavonoid dan tannin (Mercury, 2016).

Flavonoid dan tannin merupakan senyawa fenolik yang disintesis oleh tumbuhan yang berkerja sebagai antioksidan. Tumbuhan Sembalit Angindapat digunakan untuk penyembuhan luka dan digunakan sebagai obat antibakteri yang dimana luka biasanya disebabkan oleh adanya bakteri *Staphylococcus aureus* selain *Staphylococcus aureus*, Sembalit Angin(*Mussaenda frondosa* L) juga memiliki korelasi yang baik terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus* (Garvitra, 2017). Pencarian data terkait cara pemanfaatan tumbuhan obat secara tradisional dalam penelitian ini dijadikan sebagai data sekunder penelitian, yang dimana akan dicari informasi (responden) di lapangan.

Semua informasi tentang pemanfaatan tumbuhan obat secara tradisional yang nantinya akan dikembangkan dan dijadikan sebagai dasar hipotesis dalam penelitian ini, yang dimana dapat dibuktikan secara ilmiah dalam beberapa taraf

perlakuan penelitian. Informasi tersebut diharapkan dapat didokumentasikan secara akademik, sehingga dapat dilestarikan sebagai bagian dari warisan budaya dan kearifan lokal Kalimantan Tengah. Berdasarkan UU No. 36 Tahun 2009, bahwa harus ada partisipasi masyarakat untuk menyebar informasi kepada masyarakat lain yang lebih luas agar menjaga keberlanjutan kehidupan manusia lainnya, penyebarluasan informasi hasil penelitian dalam dunia akademik merupakan salah satu perwujudan dari tujuan dalam UU tersebut.

Selarasnya dengan tujuan UU di atas bahwa keterlibatan dan peran serta mahasiswa dalam menyebarluaskan hasil riset untuk keberlanjutan kehidupan seiring dengan perkembangan ilmu dan teknologi, sebagai sumber belajar adalah bagian dari konsep *Education for sustainable development* (ESD) atau konsep belajar sepanjang hayat. Tujuan dari ESD yaitu untuk menginformasikan dengan tujuan agar mahasiswa menjadi lebih kreatif dan memiliki keterampilan saintifik serta sosial literasi. Berdasarkan hasil persentase analisis kebutuhan sumber belajar dalam matakuliah Mikrobiologi dilaporkan bahwa materi pembelajaran tentang ekstraksi dinilai mahasiswa relatif sulit diperoleh dan terbatas (65,00%), di mana referensi sebelumnya dianggap biasa saja dan kurang menarik bahkan cenderung membosankan, karena tidak fokus pada spesifikasi materi Ekstraksi. Oleh karena itu, mahasiswa menganggap penting dilakukan penyusunan buku referensi tentang ekstraksi berbasis hasil riset.

Berdasarkan analisis kebutuhan didapatkan hasil bahwa pengembangan materi tentang ekstraksi diharapkan mahasiswa fokus pada pengembangan metode ekstraksi (80,00%), bahan ekstraksi yang digunakan diharapkan mengarah pada

dasar formulasi kombinasi (40,00%). Buku referensi tentang ekstraksi yang singkat dan padat (75,00%). Fisik buku referensi harus menggunakan judul secara umum (75,00%), dengan desain gambar yang sederhana (65,00%), dan berwarna (75,00%) dengan menggunakan gambar berupa foto produk ekstraksi (80,00%). Posisi gambar pada buku referensi 70,00% mahasiswa menyarankan diletakkan di bagian bawah setelah judul buku, yang disesuaikan dengan kebutuhan gambar. Pada bagian belakang fisik buku diharapkan diisi dengan gambaran isi buku secara singkat (45,00%) dan gambaran isi buku (55,00%), ejaan dan tanda baca sesuai EYD (45,00%). Hasil dari analisis kebutuhan di atas menjadi dasar pengembangan buku referensi berbasis hasil riset dalam penelitian ini.

Berdasarkan latar belakang di atas menjadi pemikiran lebih lanjut untuk mengetahui lebih khusus dan menggali lebih dalam tentang manfaat kombinasi daun Tambora (*Ageratum conyzoides* L.), daun Sembelit Angin (*Mussaenda frondosa* L.) dan rimpang Kunyit (*Curcuma longa* linn) serta dapat mengetahui konsentrasi yang optimum formulasi kombinasi ekstrak tersebut terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai bahan untuk pengembangan buku referensi yang dapat digunakan sebagai informasi dasar terkait proses ekstraksi dan cara pemanfaatan tanaman herbal. Pengembangan buku referensi ini digunakan sebagai penunjang dalam pembelajaran Mikrobiologi, khususnya pada materi ekstraksi sederhana. Penggunaan, serta tata cara dalam mengolah tumbuhan yang berkhasiat obat secara ilmiah menjadi pedoman peneliti ini dengan judul “Formulasi Kombinasi Bioherbal Ekstrak Metanol Daun Tambora, Sembalit Angin Dan Rimpang Kunyit

Terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis* Sebagai Bahan Pengembangan Buku Referensi Tentang Ekstrak “. Pengembangan buku referensi ini menacu pada model pengembangan ADDIE (Sari, dkk, 2017).

B. Identifikasi Masalah

1. Minimnya pengetahuan generasi sekarang tentang tanaman yang berkhasiat obat dan cara pengolahannya.
2. Kurangnya komunikasi antara masyarakat terdahulu dengan generasi selanjutnya tentang tanaman berkhasiat obat.
3. Kurangnya dokumentasi tentang tanaman berkhasiat obat
4. Kurangnya referensi untuk proses ekstraksi
5. Belum diketahui formulasi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit angin dan rimpang Kunyit yang efektif sebagai anti bakteri *Bacillus subtilis*
6. Materi pembelajaran tentang ekstraksi relatif sulit diperoleh dan terbatas, di mana referensi sebelumnya dianggap biasa saja dan kurang menarik bahkan cenderung membosankan, karena tidak fokus pada spesifikasi materi ekstraksi.

C. Batasan Masalah

Beberapa batasan masalah yang dikemukakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penelitian yang dilakukan dibatasi pada upaya untuk mengetahui pengaruh ekstraksi daun Tambora, daun Sembalit Angindan rimpang kunyit dalam taraf konsentrasi yang optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yang di biakan dalam medium NA.
2. Ekstraksi dalam penelitian ini hanya terbatas pada proses ekstraksi sederhana.

3. Pertumbuhan mikroorganisme dibatasi pada aktivitas pertumbuhan sel mikroorganisme yang membentuk koloni dan menyebar pada permukaan medium kultur NA (Nutrien Agar).
4. Penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* ini diukur berdasarkan zona hambatnya antara Bakteri *Bacillus subtilis* dan sisi terluar dari paper disc yang mengandung formulasi kombinasi Tambora (*Ageratum conyzoides* L), daun Sembalit Angin (*Mussaenda frondosa* L), dan rimpang Kunyit (*curcuma longa*).
5. Medium kultur yang digunakan adalah medium kultur dasar yaitu NA (*Nutrien Agar*).
6. Penelitian yang dilakukan dibatasi dengan melihat kelayakan dari penggunaan buku referensi ekstraksi.

D. Rumusan Masalah

Berdasarkan batasan masalah di atas maka permasalahan dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh ekstrak kombinasi daun Tambora, daun Sembalit angin, dan rimpang Kunyit terhadap bakteri *Bacillus subtilis*?
2. Berapa formulasi kombinasi daun Tambora, daun Sambeli angin dan rimpang Kunyit yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* ?
3. Bagaimana kelayakan bahan pengembangan buku referensi tentang ekstraksi sebagai penunjang mata kuliah Mikrobiologi?

E. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak kombinasi daun tambora, daun Sembalit Angin, dan rimpang kunyit terhadap bakteri *Bacillus subtilis*.
2. Untuk menentukan formulasi kombinasi daun tambora, daun sambeli tangin dan rimpang kunyit yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.
3. Untuk menganalisis kelayakan buku referensi tentang ekstraksi sederhana sebagai penunjang matakuliah Mikrobiologi.

F. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Sebagai bahan penunjang bagi pengajar di perguruan tinggi khususnya IAIN Palangka Raya dalam penyusunan penuntun praktikum dan sebagai sumber belajar Mikrobiologi.
2. Sebagai referensi untuk mahasiswa dan peneliti berikutnya.
3. Sebagai informasi bagi masyarakat mengenai formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angin dan Rimpang Kunyit terhadap bakteri *Bacillus subtilis*.
4. Sebagai tambahan wawasan dan keterampilan untuk mahasiswa yang memprogramkan mata kuliah Mikrobiologi khusus pada materi ekstraksi.

G. Definisi Operasional

1. Formulasi kombinasi merupakan gabungan dua kata yaitu formulasi dan kombinasi, yang dimana kata formulasi memiliki arti senyawa kimia yang telah diketahui ukuran atau takarannya, sedangkan kombinasi memiliki arti menggabungkan dua bahan atau lebih. Sehingga arti dari formulasi kombinasi tersebut adalah menggabungkan dua bahan atau lebih dengan ukuran yang telah ditentukan.
2. Ekstraksi merupakan cara yang digunakan dalam proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan sejumlah pelarut sebagai pemisah. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol.
3. Daun Tambora yang digunakan dalam penelitian ini tidak dibatasi oleh usia tumbuhan, tidak pula dibatasi dengan kedudukan daun dan yang terpenting daun yang digunakan segar.
4. Daun Sembalit Anginyang dipakai dalam penelitian ini daun dari semua usia, tidak harus mengikuti kedudukan daun genap ataupun ganjil, berwarna hijau dan segar.
5. Rimpang Kunyit yang digunakan rimpang kunyit yang memiliki warna kuning, semua rimpang dapat digunakan tanpa memilih ukuran rimpang dan yang terpenting rimpang Kunyit yang digunakan adalah rimpang kunyit yang memiliki warna kuning pekat.
6. Bakteri *Bacillus subtilis* merupakan bakteri Gram positif, bersifat aerobik dan mampu membentuk endospora. *Bacillus subtilis* biasa terdapat pada tanah, air dan udara.

7. Pengembangan adalah sesuatu yang sudah ada dan masih terdapat kekurangan sehingga diinovasi kembali. Pada penelitian ini mengembangkan sebuah buku referensi tentang ekstraksi yang di mana di dalamnya terdapat metode-metode ekstraksi dan hasil dari ekstraksi ketiga bahan alam yaitu daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit. Buku referensi ini digunakan sebagai bahan penunjang mata kuliah, mata pelajaran tertentu dan bahkan sebagai bahan bacaan yang tidak terikat oleh kurikulum atau bersifat fleksibel
8. Pengembangan sebuah produk berupa buku referensi adalah pengembangan yang berdasarkan data hasil riset yang diambil pada penelitian tahap I dan diuji kelayakannya dengan menggunakan lembar instrument kelayakan isi (Materi) maupun desain.

H. Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan pada penelitian ini memiliki 3 Bab dimana dimulai dari halaman sampul (*cover*), selanjutnya ada halaman Judul, ada 3 daftar yaitu daftar isi, tabel dan gambar. Selanjutnya Bab awal yaitu Bab I Pendahuluan dimana didalam pendahuluan ini memiliki 8 sub bab yaitu : latar belakang, identifikasi masalah, batasan masalah, rumusan masalah, tujuan penelitian, manfaat penelitian, definisi operasional dan sistematika penulisan.

Bab yang ke II yaitu Bab Kajian Pustaka yang dimana di dalamnya terdapat 4 sub bab yaitu kajian teori, penelitian relevan, kerangka berfikir, dan hipotesis penelitian. Setelah Bab II ada Bab III dimana didalam bab III ini terdapat 2 tahap penelitian setiap tahapnya terdapat 9 poin yaitu jenis penelitian, rancangan penelitian, pada tahap pertama ada populasi dan sampel sedangkan

pada tahap kedua ada subjek penelitian selanjutnya ada variable penelitian, waktu dan tempat, pada tahap satu ada alat dan bahan sedangkan pada tahap dua ada instrument penelitian, tahap satu ada prosedur kerja pada tahap dua ada analisis instrument, selanjutnya pada tahap satu ada teknik pengambilan data sedangkan pada tahap dua ada yang namanya teknik pengumpulan data dan yang terakhir yaitu teknik analisis data pada tahap satu sedangkan pada tahap dua ada analisis data penelitian. Selain itu pada bab tiga juga ada diagram alur penelitian dan jadwal penelitian.

Bab IV terdiri dari dua sub bab yaitu hasil penelitian dan pembahasan dimana pada hasil penelitian terdapat dua tahap penelitian yaitu tahap pertama yang dilakukan di laboratorium Biologi Sel dan Molekul yang dimana tahap pertama ini terdapat data rekapitulasi keempat formulasi kombinasi yang setiap formulasi kombinasi terdiri dari tiga kali pengamatan, sedangkan tahap kedua yaitu dilakukan di Gedung Pendidikan Jurusan MIPA dilakukan pengembangan dengan model ADDIE di mana tahap pertama Analisi kebutuhan, Desain, *Development* (pengembangan) , Implementasi dan Evaluasi.

Selanjutnya Bab V penutup dimana bab terakhir ini terdapat dua sub bab yaitu kesimpulan dan saran. Kesimpulan yang dibuat ada 3 poin dan saran yang disarankan oleh penulis ada 3.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

A. Kajian Teoritis

1. Formulasi Kombinasi Bioherbal

Formulasi kombinasi merupakan gabungan dua kata yaitu formulasi dan kombinasi, formulasi adalah senyawa kimia yang terkandung dalam suatu bahan yang digunakan sesuai dengan ukuran yang tepat, sedangkan kombinasi merupakan penggabungan antara satu senyawa dengan senyawa lainnya (Kamus Besar Bahasa Indonesia). Formulasi yaitu jumlah kandungan kimia yang terdapat di dalam satu bahan yang telah diketahui jumlahnya, Sedangkan kombinasi merupakan penggabungan anantara satu bahan dengan bahan lainnya yang menjadikan satu kesatuan (Army, 2013). Formulasi merupakan gabungan satu bahan dengan bahan lainnya yang telah di ketahui senyawa kimia yang terkandung didalamnya serta ukurannya, kombinasi yaitu penggabungan dua bahan atau lebih yang tercampur menjadi satu (Rika, 2015).

Bahan tanaman yang diperoleh dari alam secara langsung untuk bahan pengobatan umumnya lebih dikenal dengan istilah bioherbal. Bioherbal merupakan bahan alam yang memiliki kandungan obat (fitokimia) yang diolah atau digunakan secara tradisiolnal dan yang digunakan hanya bagian bagian yang tertentu contoh seperti daun, akar, dan batang (Latifah,2019)

Berdasarkan beberapa pengertian formulasi kombinasi bioherbal di atas dapat disimpulkan bahwa formulasi kombinasi bioherbal itu adalah gabungan atau penggabungan bahan alam antara satu bahan dengan bahan

lainya yang memiliki khasiat tertentu dan yang digunakan pada bagian tumbuhan (bahan alam) tertentu seperti akar, batang dan daun. Menjadikan satu kesatuan dari gabungan beberapa bahan alam.

Masyarakat asli Kalimantan yang memiliki kebiasaan dalam meramu bahan alam yang digunakan untuk obat. Bahan alam yang digunakan sebagai obat biasanya diramu (dikombinasikan) dengan berbagai macam bahan alam lainya dengan takaran turun-temurun dari orang yang terdahulu. Oleh karena itu, perlu adanya formulasi khusus dalam menggabung bahan-bahan alam tersebut. Agar fungsi dari ramuan obat yang diolah lebih maksimal (Gunadi, 2017).

2. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan cara atau perlakuan yang digunakan dalam proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan sejumlah pelarut sebagai pemisah (Aprillah, 2016). Ekstraksi merupakan salah satu teknik pemisahan kimia untuk memisahkan atau menarik satu atau lebih komponen atau senyawa-senyawa dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai (Leba, 2017).

Ekstraksi bertujuan untuk mengeluarkan dan memisahkan senyawa yang terkandung didalam kombinasi atau biasa disebut simplisia. Secara umum ekstraksi yang permukaan bubuk simplisia bersentuhan dengan pelarut semakin luas maka akan semakin baik pula hasilnya. Begitu pula dengan bubuknya semakin halus bubuknya simplisia maka semakin baik pula simplisianya (Febriana dan Oktavia, 2019).

Banyak cara dalam melakukan ekstraksi akan tetapi, masing-masing cara tersebut memiliki kelebihan dan kekurangannya. Dalam memilih metode dilakukan dengan memperhatikan seperti sifat senyawa, pelarut yang digunakan, dan alat yang tersedia. Struktur untuk setiap senyawa, suhu dan tekanan adalah faktor yang perlu diperhatikan dalam melakukan ekstraksi. (Hanan, 2015)

Metode ekstraksi didasarkan ada atau tidaknya proses pemanasan, proses pemanasan dibagi menjadi dua yaitu ekstraksi cara dingin cara panas (Safitri, dkk, 2018). Ekstraksi cara dingin memiliki prinsip yang tidak memerlukan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung dengan tujuan agar senyawa yang dibutuhkan tidak rusak. Sedangkan ekstraksi dengan cara panas melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung dengan tujuan agar mempercepat proses ekstraksi (Rahayu, 2017). Berikut merupakan metode ekstraksi yang biasa dan umum digunakan yaitu:

a. Maserasi

Maserasi merupakan sebuah teknik ekstraksi simplisia, teknik ini dilakukan untuk bahan atau simplisia yang tidak tahan panas. Cara kerja dari teknik ini dengan merendam bahan atau simplisia di dalam pelarut tertentu selama waktu tertentu. Maserasi dapat dilakukan pada suhu ruang 20-30°C agar mencegah penguapan pelarut secara berlebihan karena faktor suhu dan melakukan pengadukan selama 15 menit agar bahan dan juga pelarut tercampur (Yennie dan Elystia, 2013).

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan suatu proses ketika simplisia yang sudah halus, diekstraksi dengan pelarut yang cocok dengan cara dilewatkan secara perlahan-lahan pada suatu kolom (Febriana dan Oktavia, 2019). Perkolasi merupakan cara ekstraksi yang menggunakan pelarut yang selalu baru dimana umumnya dilakukan pada temperature ruangan. Prinsip perkolasi yaitu menempatkan simplisia pada suatu bejana silinder, yang dimana bagian bagian bawahnya di beri sekat berpori. (Irfan, 2018).

c. Refluks

Refluks merupakan suatu metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut tersebut, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Nirwana, 2019)

d. Soxhletasi

Soxhlet ini merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang baru, biasanya dilakukan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik (Hanani, 2015).

3. Tumbuhan Berkhasiat Obat

Tumbuhan obat merupakan berbagai spesies tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa metabolit yang dapat bermanfaat sebagai obat dari suatu penyakit tertentu. Rosita et all (1990) dalam abdiyani (2008) mendefinisikan tumbuhan obat sebagai tumbuhan yang penggunaan utamanya untuk keperluan obat-obatan dan belum dibudidayakan. Berikut merupakan tiga tumbuhan yang memiliki khasiat sebagai obat:

a. Tumbuhan Tambora (*Ageratum Conyzoides* L)

Tumbuhan Tambora yang biasa disebut dengan bandotan atau babandotan dan kalau orang Kalimantan menyebutnya dengan sebutan tumbuhan empedu tanah. Tumbuhan ini memiliki batang yang tegak, bulat, bercabang dan berbulu halus diseluruh batangnya, memiliki akar tunggang, perakarannya sangat dangkal tidak kuat dan mudah sekali dicabut, akarnya berwarna putih kekuning-kuningan. Daunnya bertangkai cukup panjang, berbentuk bulat, tepi daun bergerigi, berbulu dan duduk daun berhadapan. Tumbuhan ini memiliki bunga biru muda, putih, dan keunguan(Sanny, 2019). Gambar 2.1 berikut merupakan gambar dari Daun Tambora :



Gambar 2.1 Tumbuhan Tambora (*Ageratum Conyzoides* L)
(Dokumentasi Pribadi)

Daun Tambora yang merupakan gulma yang tumbuh liar di daratan yang dimana tumbuhan ini memiliki klasifikasi sebagai berikut:

- Regnum : Plantae
- Divisi : Tracheophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Ordo : Asterales
- Family : Asteraceae
- Genus : *Ageratum* L
- Spesies : *Ageratum Conyzoides* L (Jaya :2019)

Tumbuhan Tambora baik batang atau daunnya dapat dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat. Tumbuhan tambora yang berkasiat obat ini biasa diramu oleh suku-suku yang ada di Indonesia, cara meramu tumbuhan ini pun sangat lah bermacam-macam ada yang menghaluskanya dan mencampurkannya dengan tumbuhan lainya yang berkhasiat obat juga, ada juga yang merebusnya dan diminum sebagai obat keputihan sampai mengekstraknya dan menyajikanya dalam bentuk krim untuk penyembuhan luka,sebagai obat sariawan,perut kembung dan diare (Aminingsih, Dkk, 2012).

Tumbuhan Tambora memiliki kandungan fitokimia yang cukup baik sebagai antibakteri dan antioksidasi, kandungan fitokimia yang terdapat didalam tumbuhan Tambora seperti alkaloid, fenol, flavonoid yang sangat baik untuk antibakteri. Tumbuhan Tambora sangat banyak dijumpai dikebun, pinggir jalan, pekarangan rumah, dan sekitar saluran air (Ahmad, 2015).

b. Tumbuhan Sembalit Angin(*Mussaenda frondosa* L)

Tumbuhan Sembalit Angin yang biasa disebut dengan tumbuhan Kingkilaban yang mana tumbuhan ini merupakan tumbuhan perdu yang hidup berasosiasi dengan tumbuhan yang ada disekitarnya. Tumbuhan Sembalit Angin dapat dimanfaatkan sebagai obat oleh masyarakat di Tarakan Kalimantan (Nur dan Anifah, 2019). Pada Gambar 2.2 merupakan gambar Sembalit Angin sebagai berikut:



Gambar 2.2 Sembalit Angin(*Mussaenda frondosa* L)
(Dokumentasi Pribadi)

Tumbuhan Sembalit Angin ini memiliki klasifikasi ilmiah sebagai berikut:

- Regnum : Plantae
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Sub Kelas : Asteroideae
- Ordo : Rubiales
- Family : Rubiaceae
- Genus : *Mussaenda*
- Spesies : *Mussaenda frondosa* L (Qamarin, Dkk, 2018).

Tumbuhan Sembalit Anginini memiliki kandungan fitokimia yang berfungsi sebagai antibakteri dan antioksidan. kandungan fitokimia yang terkandung di dalamnya yaitu Alkaloid dan flavonoid selain mengandung senyawa-senyawa tersebut, ada pula steroid, tanin, polifenol, dan terpenoid. Tumbuhan ini diolah dengan cara tradisional oleh masyarakat seperti merebusnya sebagai obat yang diminum. Tumbuhan ini masuk kedalam family *Rubiaceae*, dimana family *Rubiaceae* telah teruji dan menunjukkan aktivitas yang signifikan terhadap bakteri patogen (Qamarin, Dkk, 2018).

c. Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L)

Tumbuhan Kunyit yang sangat dikenal oleh masyarakat memiliki warna yang khas yaitu berwarna kuning dan digunakan sebagai rempah-rempah dalam memasak maupun obat tradisional, tumbuhan Kunyit yang dapat digunakan sebagai obat antibakteri dan antioksidan ini memiliki kandungan kurkumin yang memberikan warna kuning pada kunyit yang biasa digunakan sebagai pewarna alami tekstil, pangan, farmasi dan kosmetik (Singh, 2010).

Morfologi dari Kunyit dapat dilihat pada gambar 2.3 yang dimana tumbuhan Kunyit memiliki Rimpang yang terdapat di dalam tanah, berwarna kuning. Kunyit memiliki perakaran serabut berwarna coklat muda, memiliki batang semu yang ditutupi oleh pelepah pelepah daun, daun yang berbentuk oval, tepi daun yang rata dan tidak memiliki tangkai daun (Lestari, 2020).



Gambar.2.3 Morfologi Rimpang Kunyit(*Curcuma longa*)
(Dokumentasi Pribadi)

Berikut merupakan klasifikasi ilmiah dari Rimpang Kunyit yaitu:

- Regnum : Plantae
- Divisi : Spermatophyta
- Kelas : Monocotyledonae
- Ordo : Zingiberales
- Family : Zingiberaceae
- Marga : *Curcuma*
- Spesies : *Curcuma longa* Linn (Mutiah, 2015)

Senyawa kurkumin yang terdapat di dalam Rimpang Kunyit bermanfaat sebagai antibakteri baik, untuk bakteri gram positif maupun yang negatif seperti bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* (Setiyo, dkk, 2018).

B. Bakteri *Bacillus Subtilis*

Bacillus subtilis merupakan Bakteri penyebab infeksi, dimana bakteri ini dapat menghasilkan berbagai enzim yang pada dasarnya tidak toksik tetapi bakteri tersebut berperan penting dalam proses infeksi. Bakteri *Bacillus subtilis* salah satu bakteri gram positif, bersifat aerobik dan mampu membentuk endospora. *Bacillus subtilis* biasa terdapat pada tanah, air dan udara. Dimana bakteri ini dapat

menginfeksi mata, meningitis, luka dan penyakit lainnya. *Bacillus subtilis* berbentuk batang tebal maupun tipis, rantai maupun tunggal. Suhu optimum untuk pertumbuhannya sekitar 25⁰-35⁰C, ph yang cocok untuk pertumbuhannya sekitar 7-8. Media sebagai prantara untuk hidupnya bakteri *Bacillus subtilis* ini antara lain tanah, udara, air dan materi tumbuhan yang terdekomposisi. Selain itu *Bacillus subtilis* juga biasa berada pada bahan makanan seperti susu, daging, nasi dan pasta. Bakteri *Bacillus subtilis* memiliki klasifikasi sebagai berikut (Rahmawati,2015).

- Kingdom : Bacteria
- Filum : Firmicutes
- Kelas : Bacilli
- Ordo : Bacillales
- Family : Bacillaceae
- Genus : *Bacillus*
- Spesies : *Bacillus subtilis* (Rahmawati, 2015)

C. Penelitian Relevan

Penelitian yang relevan sebelumnya dilakukan oleh Hidayat dan Harjono (2017) dengan judul penelitian:” Uji Aktifitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Babandotan (*Agratum conyzoides* L) dalam Pelarut Etanol” penelitian ini membuktikan bahwa Babandotan memiliki kandungan senyawa berupa saponin, tanin, flavonoid, polifenol serta minyak atsiri yang dimana senyawa-senyawa tersebut dapat digunakan sebagai antibakteri. Daun Babandotan yang diekstraksi dan diformulasikan dengan VCO (*Virgin coconut oil*) dan dikemas menjadi produk berupa krim sebagai obat penyembuh luka yang diuji dengan aktivitas

antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* ini terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut, semakin banyak dioleskan maka semakin besar pula daya hambatnya terhadap bakterinya.

Selanjutnya penelitian yang relevan dengan penelitian ini adalah penelitian yang dilakukan oleh Himma (2010) mengatakan bahwa rimpang kunyit memiliki konsentrasi daya hambat minimum 0,08% pada bakteri *Bacillus subtilis* dan *Shigella dysenteriae* 30% pada bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.

Penelitian relevan lainnya dengan penelitian ini adalah penelitian yang dilakukan oleh Efendi dengan judul penelitian “skrining aktivitas antibakteri fraksi kelopak bunga *mussaenda frondosa* l.” mengatakan bahwa tumbuhan *Mussaenda frondosa* atau biasa disebut masyarakat dayak dengan Sembalit angina ini dapat digunakan sebagai anti bakteri yang dimana sembalit angina ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* *Salmonella typhosa*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus* (Efendi, 2019).

D. Pengembangan Buku Referensi

Pengembangan adalah sesuatu yang sudah ada dan dievaluasi masih terdapat kekurangan dan diinovasi kembali menjadi sebuah bahan atau media yang sempurna dan dapat digunakan sebagai penunjang mata kuliah, mata pelajaran tertentu dan bahkan sebagai bahan bacaan yang tidak terikat oleh kurikulum atau bersifat fleksibel (sofiyana, dkk, 2016).

Bahan ajar adalah sebagai segala bentuk yang digunakan seperti buku, baik itu tertulis maupun tidak tertulis yang digunakan untuk membantu guru dalam melaksanakan proses pembelajaran dan sebagai bahan untuk dipelajari oleh peserta didik dalam mencapai standar kompetensi yang telah ditentukan (Bahtiar, 2015). Menurut Reza *et al* (2016) bahan ajar merupakan salah satu komponen penting yang dapat membantu dan mempermudah kelancaran proses belajar mengajar peserta didik (Irawati, 2018). Adapun bahan ajar yang ingin dikembangkan dalam penelitian pengembangan ini adalah buku referensi.

Buku referensi adalah suatu tulisan dalam bentuk buku yang substansi pembahasannya hanya terkait pada satu bidang ilmu kompetensi (Bahtiar, 2015) Buku referensi merupakan buku yang dapat memberikan keterangan mengenai suatu topik, nama orang, tempat, istilah dan riwayat dari orang-orang terkenal dan lain sebagainya (Kalsum, 2016).

Pengembangan berbasis hasil riset merupakan pengembangan yang dilakukan berdasarkan penelitian (*riset*) yang dimana datanya digunakan sebagai pengembangan suatu produk. Pengembangan berbasis hasil riset ini memiliki keunggulan yang dimana pengguna akan memiliki kecil kemungkinan dalam melakukan suatu tritmen yang digunakan oleh orang yang melakukan pengembangan berdasarkan hasil riset ini.

Pengembangan yang biasa dikembangkan berupa media seperti buku referensi, buku ajar dan sebagainya dimana dalam mengembangkan media dilakukan dengan berbagai cara salah satunya dengan model ADDIE yang dimana

model ini memiliki beberapa tahap yaitu: *analyce, design, developmen, implementation and evaluation* (Putri, dkk, 2017).

E. Kerangka Berpikir

Indonesia merupakan Negara yang terdiri dari banyak suku, dan budaya yang bedara pada pulau-pulau yang ada di Indonesia. Salah satunya pulau Kalimantan yang dimana pulau Kalimantan memiliki keanekaragaman yang melimpah salah satunya keanekaragaman hayati seperti tumbuhan. Tumbuhan yang ada di Kalimantan merupakan tumbuhan yang sebagian besar memiliki khasiat obat.

Tumbuhan yang memiliki khasiat obat masih banyak belum diketahui masyarakat sekarang padahal orang-orang terdahulu memakai bahan alam yang ada di lingkungan sekitar sebagai obat tradisional. Ukuran yang digunakan juga bukan ukuran yang pasti hanya ukuran kira-kira saja. Oleh sebab itu penulis ingin mendokumentasikanya dalam bentuk buku referensi. Adapun alur kerangka berfikirnya sebagaimana tampak pada Gambar 2.4 berikut:



Gambar 2.4 Alur Kerangka Berpikir

F. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kajian teoritis dan kerangka berfikir maka hipotesis pada penelitian ini yaitu :

H_0 = Tidak berpengaruh signifikan dalam menghambat pertumbuhan dari bakteri *Bacillus subtilis*.

H_1 = Berpengaruh signifikan dalam menghambat pertumbuhan dari bakteri *Bacillus subtilis*



BAB III

METODE PENELITIAN

Tahapan dalam penelitian ini meliputi dua tahapan yaitu: tahap penelitian eksperimental dan tahap pengembangan produk hasil riset. Pertama, tahap eksperimental merupakan penelitian laboratoris yang bertujuan untuk mengetahui formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan Rimpang kunyit terhadap Bakteri *Bacillus subtilis*. Kedua tahapan pengembangan produk penelitian berbasis hasil riset sebelumnya yaitu berupa buku referensi dengan menggunakan model pengembangan ADDIE.

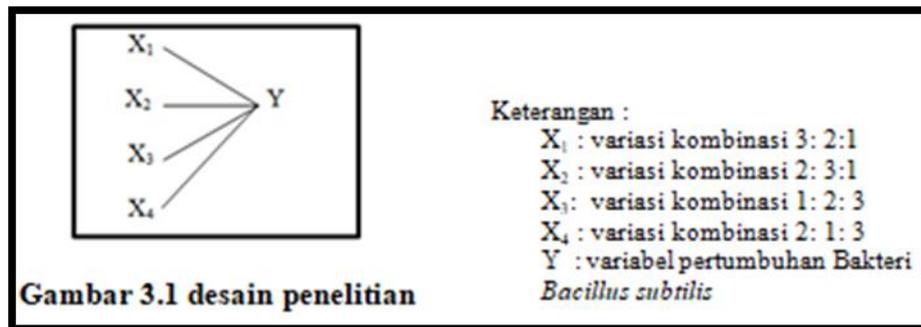
A. Penelitian Tahap I

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian pada tahap ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratoris yang bertujuan untuk mengetahui formulasi kombinasi bioherbal daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang kunyit dan pengaruhnya terhadap bakteri *Bacillus subtilis*.

2. Rancangan penelitian

Desain penelitian ini dirancang dengan menggunakan *post test group design* dimana penggunaan data hasil penelitian dilakukan setelah pemberian perlakuan penelitian. Desain penelitian tersebut dirancang untuk mengetahui pengaruh X_1 , X_2 , X_3 , dan X_4 berpengaruh terhadap Y . Sebagaimana diagram yang tampak pada gambar 3.1 sebagai berikut:



Rancangan penelitian eksperimen di susun menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorian (RAKF) dengan *postes grup desain* di mana pengukuran data hasil penelitian dilakukan setelah pemberian perlakuan penelitian. Rancangan eksperimen di susun atas (6) perlakuan sebagaimana tampak pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Rancangan Penelitian

Konsentrasi		
K(+)	Cloramfenicol 0,1%	2 ml Cloramfenicol + 198 ml Aquades steril
K(-)	Aquades steril	-
P1	30%	14 gram ekstrak kombinasi + 6 ml Aquades steril
P2	40%	12 gram ekstrak kombinasi + 8 ml Aquades steril
P3	50%	10 gram ekstrak kombinasi + 10 ml Aquades steril
P4	60%	8 gram ekstrak kombinasi + 12 ml Aquades steril
P5	70%	6 gram ekstrak kombinasi + 14 ml Aquades steril
P6	80%	4 gram ekstrak kombinasi + 16 ml Aquades steril

Ulangan penelitian sebanyak 4 kali sesuai dengan rumus foderer yaitu $(n-1)(t-1) \geq 15$ (Shaw, at all, 2002) total unit perlakuan yang digunakan dalam penelitian ditambah 1 ulangan untuk error penelitian, sehingga total penelitian adalah sebanyak 30 unit. Secara lengkap perhitungan jumlah dalam penelitian sebagai berikut: $(n-1)(t-1) \geq 15$

$$(6-1)(t-1) \geq 15$$

$$5t-5 \geq 15$$

$$5t \geq 15 + 5$$

$$5t \geq 20$$

$$t \geq \frac{20}{5}$$

$$t \geq 4 \text{ (ulangan)}$$

3. Populasi dan Sampel

Populasi pada tahap eksperimen berasal dari laboratorium mikrobiologi Universitas kedokteran Brawijaya Malang. Sampel pada penelitian ini adalah sebagian dari mikroorganisme *Bacillus subtilis* yang ditumbuhkan pada medium murni di Laboratorium

4. Variabel Penelitian

Pada penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat, variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi dengan simbol X, pada penelitian ini terdapat empat variabel bebas yaitu formulasi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit angin, dan rimpang Kunyit yang terbagi menjadi kombina 3:2:1, 2:3:1, 1:2:3 dan 3:1:2 Sedangkan variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi dengan simbol Y, pada penelitian ini yang termasuk variabel terikat adalah pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

5. Waktu dan tempat

Tahap penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2020 sampai dengan bulan Januari 2021, yang dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi IAIN Palangka Raya

6. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: *autoklaf*, *becker glass* 1000 ml, *becker glass* 500 ml, *becker glass* 250 ml, *becker glass* 100 ml, *becker glass* 50 ml, tabung reaksi, *labu erlenmeyer* 500 ml, *labu erlenmeyer* 250 ml, cawan petri, gelas selai, jarum inokulasi, Pengaduk besi, pengaduk kaca, corong kaca, pinset, magnetik stirer, mikropipet, pipet

tetes, LAF, *hot plate*, *inkubator*, *neraca digital*, timbangan, gunting, *cutter*, lampu bunsen, blender, baskom, nampan, kompor gas, jangka sorong, panci, alat tulis, kain serbet, lemari es.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: daun Tambora, daun Sembali angin, rimpang Kunyit, *Beef extract*, *Becto peptone*, Aquades, Alkohol 70%, metanol, kapas, vaselin, kertas sampul, kain kasa, kertas label, kertas kraf, karet gelang, lysol, sabun cuci, *Cotton buds*, Aluminium foil. Medium murni NA (Nutrien Agar).

7. Prosedur Penelitian

a. Tahap pendahuluan

1) Pembuatan medium NA

- a) Menyiapkan alat yang steril
- b) Menyiapkan medium Nutrient Agar (NA), dengan formula
 - *Beef extract*..... 3 gr
 - *Becto pepton*.....5 gr
 - Agar powder.....15 gr
 - Aquadest.....1000 ml
- c) Menimbang komponen medium dengan menggunakan neraca digital untuk 10 cawan petri, dengan formula
 - Beef extract 0,45 gram
 - Bactopepton 0,75 gram
 - Agar powder 2,25 gram
- d) Melarutkan semua bahan di dalam Beaker Glass 1000 ml yang telah berisi Aquadest, kemudian meletakkan *Beaker Glass* diatas *hot plate stirrer* dan mengaduknya sampai homogen.

- e) Memasukkan larutan sebanyak 15 ml ke setiap masing-masing cawan petri yang berjumlah 10 cawan petri dengan menggunakan mikropipet, setelah cawan petri yang telah berisi medium dingin dibungkus dengan menggunakan kertas sampul kemudian mengikatnya menggunakan karet gelang.
- f) Mensterilisasi semua cawan yang telah berisi larutan medium ke dalam autoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi selesai, selanjutnya cawan petri dibiarkan 1-2 jam, sampai medium dingin dan memadat.
- g) Memasukkan medium yang telah padat ke dalam inkubator.
- h) Menunggu selama 1x24 jam, jika medium tidak ditumbuhi oleh jamur atau bakteri, maka medium dapat digunakan.

2) Pembuatan Ekstrak daun Tambora, daun Sembalit Angin, dan Rimpang Kunyit

- a) Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan
- b) Menyiapkan dan mencuci daun Tambora, daun Sembalit Angin, dan Rimpang Kunyit sampai bersih, kemudian dikeringkan sampai benar-benar kering
- c) Memotong daun Tambora, daun Sembalit Angin, dan Rimpang Kunyit menjadikan potongan-potongan kecil sehingga memudahkan dalam proses memblender
- d) Sebelum proses memblender dilakukan, daun Tambora, daun Sembalit Angin, dan Rimpang Kunyit ditimbang terlebih dahulu

- e) Memblender daun Tambora, daun Sembalit Angin, dan Rimpang Kunyit hingga menjadi bubuk, kemudian merendamnya dengan metanol kemudian diamkan selama kurang lebih 3 jam
- f) Menyaring suspensi tersebut dengan menggunakan kain bersih, kemudian menyaringnya kembali dengan menggunakan kertas saring.
- g) Hasil saringan dimasukkan kedalam becker glass
- h) Kemudian melakukan proses pengupuan ekstrak dengan cara sederhana, yaitu menggunakan *hot plate* dengan suhu yang terkontrol, proses penguapan dilakukan hingga tidak terdapat lagi alkohol didalamnya
- i) Ekstrak daun Tambora, daun Sembalit Angin, dan Rimpang Kunyit kemudian dijadikan sebagai stok induk.

3) Tahap Persiapan Formulasi Kombinasi Bioherbal Ekstrak Metanol Daun Tambora, Daun Sembalit Angin, Dan Rimpang Kunyit (mengacu pada Mukhoffah, 2017)

- a) Menyiapkan ekstrak daun Tambora, daun Sembalit Angin, dan Rimpang Kunyit dari stok induk, dan menempatkan masing-masing ekstrak dalam *becker glass* secara terpisah
- b) Mengambil ekstrak daun Tambora, daun Sembalit Angin, dan Rimpang Kunyit dengan mengikuti formulasi kombinasi bioherbal yang telah dirancang sebagaimana dijabarkan pada Tabel 3.2 berikut:

Tabel 3.2 Komposisi Formulasi Bioherbal Ekstrak Daun Tambora, Daun Sembalit Angin, dan Rimpang Kunyit

No	Bahan	Fungsi	Konsentrasi (b/v)			
			Formulasi 1	Formulasi 2	Formulasi 3	Formulasi 4
1	Ekstrak daun Tambora	Bahan aktif	30	20	10	20
2	Ekstrak daun Sembalit Angin	Bahan aktif	20	30	20	10
3	Ekstrak Rimpang Kunyit	Bahan aktif	10	10	30	30
4	Aquades Steril	Solven	100	100	100	100

- c) Menempatkan masing-masing formulasi kombinasi ekstrak bioherbal yang telah dibuat sebagaimana Tabel 3.2 ke dalam *becker glass*, yang kemudian dijadikan sebagai stok induk formulasi ekstrak
- d) Membuat pengenceran masing-masing formulasi kombinasi ekstrak bioherbal dalam beberapa taraf pengenceran perlakuan penelitian yaitu 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%.

b. Tahap perlakuan

- 1) Menyiapkan medium lempeng NA dan memberi kode perlakuan
- 2) Menyiapkan paper disc dengan ukuran diameter 2 cm sebanyak jumlah yang diinginkan, letakkan di atas cawan petri kosong
- 3) Merendam paper disc kedalam setiap cawan petri yang berisi pengenceran kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sambalit Angin, dan Rimpang Kunyit selama kurang lebih 15 menit
- 4) Menginokulasikan mikroba ke atas permukaan medium lempeng NA dengan menggunakan *cotton buds*
- 5) Meletakkan *paper disc* yang telah mengandung kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sambalit Angin, dan Rimpang Kunyit ke dalam medium yang telah diinokulasi sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan

- 6) Menyimpan seluruh medium perlakuan ke dalam inkubator pada suhu 37°C
- 7) Mengamati dan mengukur zona hambat pada bakteri yang diberikan perlakuan, pengamatan dilakukan setiap 1x24 jam selama 4 hari
- 8) Mencatat semua hasil pengamatan

8. Teknik Pengambilan Data

Teknik pengambilan data akan dilakukan setelah pemberian perlakuan. Data akan diambil dari semua unit penelitian, yaitu berupa hasil pengukuran zona hambat, yang dimaksud zona hambat adalah jarak antar sisi terluar paper disc yang mengandung ekstrak kombinasi tumbuhan tambora, Sembalit Angingan rimpang kunyit dengan koloni biakan *Bacillus subtilis* di permukaan medium NA.

9. Teknik Analisis Data

Analisis data yang digunakan untuk menguji hipotesis adalah *one ways anava* menggunakan soffwer SPSS 22 untuk data kelayakan data produk analisis dengan menggunakan instrumen kelayakan dengan menggunakan skala likert

B. Penelitian Tahap II

1. Jenis Penelitian

Tahap penelitian ini merupakan produk hasil penelitian produk tahap sebelumnya, yaitu berupa penyusunan buku refrensi yang mengacu pada penelitian sebelumnya desain produk akan di validasi pakar dan diujikan kepada pengguna, setelah itu di revisi kembali untuk mendapatkan produk. Menurut Sugiyono (2013) penelitian

pengembangan merupakan penelitian yang digunakan untuk menghasilkan produk tertentu, atau secara sederhana Putra (2011) mendefinisikan penelitian pengembangan sebagai penelitian metode penelitian yang secara sengaja sistematis, bertujuan untuk mencari temuan, merumuskan, memperbaiki, mengembangkan, menghasilkan, menguji keefektifan produk, model, metode, jasa, prosedur tertentu yang lebih unggul, baru, efektif, efisien, produktif dan bermakna.

2. Rancangan Penelitian

Desain penelitian Tahap II ini menggunakan desain penelitian pengembangan dengan model ADDIE, dimana produk penelitian yang dikembangkan akan diuji tingkat kelayakan produk.

3. Subjek

Subjek penelitian pada tahap pengembangan ini adalah 3 orang Dosen yang mengajar di Jurusan MIPA khususnya pada Prodi Tadris Biologi IAIN Palangka Raya.

4. Waktu dan tempat

Tahap penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2021 sampai dengan bulan Maret 2021, yang dilaksanakan di Program Studi Tadris Biologi IAIN Palangka Raya untuk implementasi produk penelitian melalui proses pembelajaran.

5. Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah objek penelitian atau apa yang menjadi titik perhatian suatu penelitian (Arikunto, 2006). Variable dalam tahap

pengembangan ini adalah aspek kelayakan produk. kelayakan buku referensi diukur berdasarkan penilaian ahli dan pengguna.

6. Instrumen penelitian

Untuk mendapatkan data yang diperlukan dalam tahap penelitian ini diperlukan Teknik dan instrumen penilaian data. Tujuan agar diperoleh data yang objektif. Pengumpulan data dilakukan dengan beberapa cara. Instrumen yang digunakan antara lain Lembar Validasi produk dan angket Kelayakan

a. Lembar Validasi Produk

Data untuk kevalidan diperoleh dari lembar validasi. Lembar validasi digunakan untuk memperoleh informasi tentang kualitas produk berdasarkan penilaian validator ahli. Informasi yang diperoleh melalui instrument ini digunakan sebagai masukan dalam merevisi produk yang telah di kembangkan sehingga menghasilkan produk akhir yang valid.

b. Angket Kelayakan

Data untuk keterbacaan diperoleh dari angket respon pengguna dari aspek kelayakan angket tersebut digunakan untuk mengetahui apakah buku referensi ekstraksi dapat digunakan dalam kondisi pembelajaran normal, dapat diterapkan oleh pendidik, serta lebih mudah digunakan oleh pendidik dalam pembelajaran.

7. Analisis Instrumen

Analisis instrumen terdiri dari uji analisis kelayakan buku referensi oleh tim ahli dan analisis lembar respon kelompok terbatas , instrument divalidasi dengan validitas dengan konsep-konsep tertentu

selanjutnya instrument dikonstruksi tentang aspek-aspek yang akan diukur dengan berlandasan teori tertentu (sugiyono, 2013).

a. Instrumen Uji Kelayakan Oleh Tim Ahli

Instrumen ini digunakan untuk menganalisis kelayakan buku referensi yang dibuat dengan indikator kelayakan isi, validasi instrument uji kelayakan buku referensi dinilai oleh ahli menggunakan angket validasi

b. Instrumen Uji Kelayakan Oleh Pengguna

Instrument uji kelayakan pengguna oleh Dosen atau tenaga pendidik bertujuan untuk menghasilkan respon dari tenaga pendidik atau Dosen terhadap buku referensi yang dikembangkan.

8. Teknik Pengumpulan Data Penelitian

a. Sumber data

Sumber data diperoleh dari berbagai referensi yang berkaitan dengan materi yang akan disusun dalam produk. Data primer berupa uji lapangan dalam hal ini adalah tim ahli materi yaitu Dosen sebagai responden produk.

b. Metode pengumpulan Data

1. Dokumentasi

Dokumentasi diperoleh untuk data sekunder penelitian seperti data untuk mengkaji sumber belajar yang digunakan oleh mahasiswa, kebutuhan mahasiswa dalam pembelajaran dan jumlah mahasiswa di dalam kelas.

2. Uji lapangan

Uji lapangan dilakukan dengan menggunakan angket kelayakan penelitian ini melakukan uji kelayakan produk pada kelompok kecil terbatas.

3. Uji kevalidan

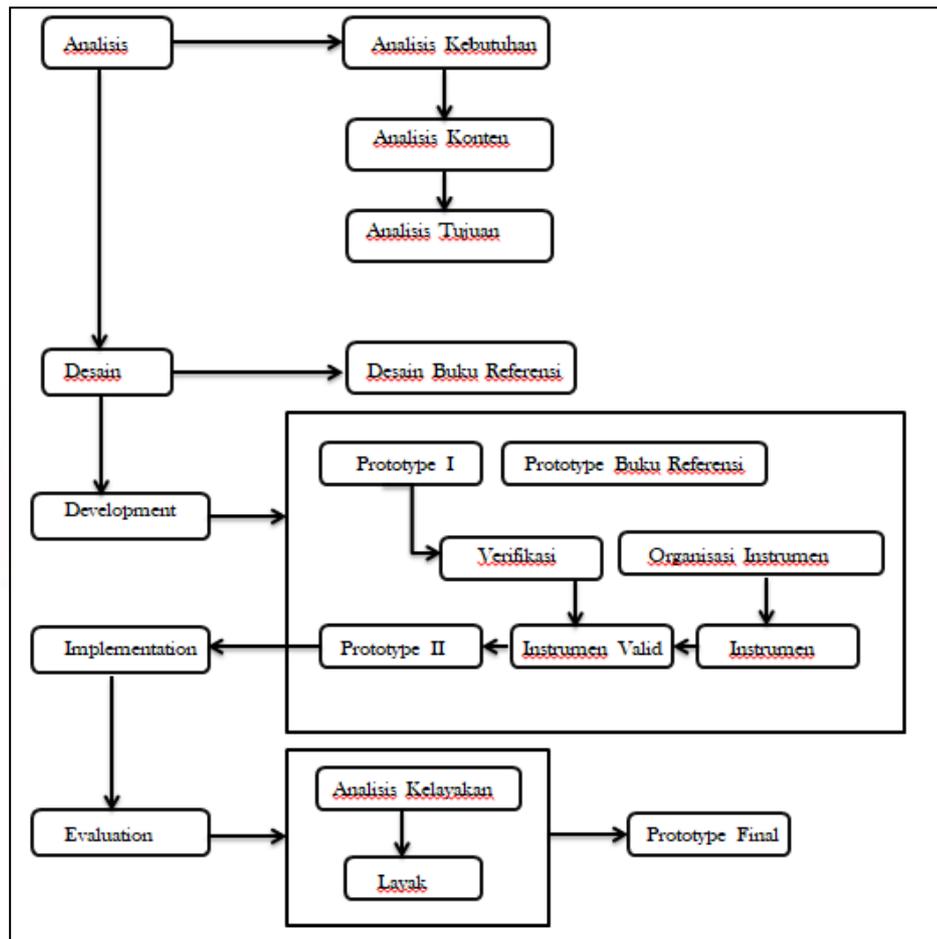
Data uji kevalidan diperoleh dari lembar validasi, lembar validasi produk yang digunakan bertujuan untuk memperoleh informasi tentang kualitas buku referensi yang dihasilkan berdasarkan validator ahli. Informasi yang diperoleh melalui instrument ini digunakan sebagai masukan dalam merevisi produk yang dikembangkan, sehingga menghasilkan produk akhir yang valid. Pengembangan buku referensi ekstraksi akan dikatakan valid jika hasil penilaian validator menunjukkan nilai keseluruhan aspek dan untuk semua aspek minimal berada pada kategori cukup valid.

4. Uji kelayakan

Data uji kelayakan diperoleh dari instrument penilaian berupa butir pernyataan melalui teknik dokumentasi angket respon pengguna digunakan untuk mengetahui apakah buku referensi ekstraksi sederhana dapat digunakan dalam pembelajaran.

9. Model Pengembangan Produk

Pengembangan buku referensi dikembangkan berdasarkan model pengembangan desain pembelajaran ADDIE dengan 5 tahapan yaitu *Analyzed, desain, development, implementation* dan *evaluation* (Tegeh, 2013).



Gambar 3.2 Alur Penelitian Menggunakan Model Pengembangan ADDIE

(Adaptasi dari Noor Hujjatusnaini, 2020)

a. Analisis (*Analysis*)

Tahap analisis merupakan tahap pertama dari pengembangan model ADDIE, dimana tahap ini perlu untuk pengembangan buku dan menganalisis kelayakan serta syarat pengembangan yang diawali oleh permasalahan sebelumnya. Prosedur yang dilakukan dalam pengembangan ini disesuaikan

dengan kebutuhan pengembangan (Mc.Griff,2000). Tahap analisis yang biasa disebut dengan analisis kebutuhan dilakukan dengan mengidentifikasi kebutuhan pembaca terkait bahan bacaan atau referensi. Buku Referensi yang disusun berdasarkan hasil riset ini termasuk kategori bahan bacaan non teks yang tidak terkait secara langsung pada standar kompetensi dan kompetensi dasar yang tertuang dalam standar isi, maka analisis yang dilakukan langsung pada analisis sumber belajar, dengan tetap memperhatikan hubungannya dengan tujuan Pendidikan Nasional (Muriati, 2014).

Tahap pertama pengembangan Buku Referensi dilakukan dengan analisis kebutuhan terhadap sumber belajar terkait materi Ekstraksi yang menjadi salah satu buku teks (referensi) dalam matakuliah Mikrobiologi. Analisis kebutuhan buku referensi ini meliputi kebutuhan terhadap referensi keilmuan terkait, ketersediaan referensi, kelemahan dan kekuatan referensi dan sumber belajar sebelumnya. Pengenalan kebutuhan tersebut dilakukan melalui analisis proses pembelajaran, menggunakan angket.

Penggalian informasi sehubungan analisis kebutuhan dilakukan pada mahasiswa Tadris Biologi IAIN Palangka Raya yang telah menempuh matakuliah Mikrobiologi Tahun ajaran 2019/2020, pada bulan Oktober 2020 di Institut Agama Islam Negeri (IAIN) Palangka Raya. Data yang diperoleh dari tahap analisis kebutuhan dalam model penelitian pengembangan ini merupakan data kualitatif, dimana data diperoleh dari angket dan kuisisioner. Data tersebut menggunakan skala likert, dan dianalisis dengan presentase deskriptif sebagai berikut.

$$\text{Presentase (\%)} = \frac{\text{Jumlah Skor Perolehan}}{\text{Skor maksimum}} \times 100\%$$

b. Tahap Desain (*Design*)

Tahap kedua yaitu desain merupakan tahap sistematis perencanaan kerangka produk, serta evaluasi produk dengan cara mengenali berbagai referensi yang akan digunakan dalam penyusunan buku referensi. Tahap desain ini meliputi dua tahap, yaitu tahap penentuan garis besar materi yang dibutuhkan dalam pengembangan produk, dan tahap desain produk, perencanaan dan pengembangan produk, dan tahap desain produk. Perencanaan dan penentuan garis besar kerangka materi dalam produk disesuaikan dengan hasil analisis kebutuhan yang selanjutnya dideskripsikan dan disesuaikan dengan tingkat keluasan dan kedalaman materi, serta penyajian. Desain produk mengacu pada Direktorat Jenderal penguatan riset dan pengembangan Kementerian Riset, teknologi dan Pendidikan Tinggi. Desain tersebut secara garis besar meliputi bagian (1) *Cover*, kata pengantar, daftar isi, daftar tabel, dan daftar gambar. (2) Bagian isi/batang tubuh yang terdiri dari beberapa bab. (3) daftar pustaka. Naskah buku referensi disusun menggunakan huruf Time New Roman (font 11 pt), spasi 1,5 pada kertas ukuran A5 jumlah batang tubuh (isi) buku referensi tidak kurang dari 80 halaman, tidak termasuk prakata, daftar isi dan lampiran. Perancangan ini masih bersifat konseptual yang akan mendasari proses pengembangan berikutnya.

c. Tahap Pengembangan (*Development*)

Tahap ketiga yaitu pengembangan dimana pada tahap ini sebuah proses seperti membuat, mengembangkan, dan memodifikasi referensi sebelumnya, dengan target mencapai solusi permasalahan yang muncul pada tahap analisis kebutuhan yang diselaraskan dengan tujuan. Tahapan pengembangan melalui beberapa tahap revisi dan rekonstruksi produk secara berulang, sampai produk dinyatakan layak oleh validator ahli untuk diuji coba ke lapangan secara langsung.

Validasi isi atau materi melibatkan dua orang ahli isi atau materi, yang dilakukan untuk mendapatkan data berupa penilaian, pendapat dan saran terhadap kesesuaian materi yang ada dalam buku referensi yang telah dikembangkan. Angket validasi isi (materi) berdasarkan komponen kelayakan isi, meliputi cakupan materi, akurasi materi, kemutakhiran, merangsang keingintahuan (*curiosity*), mengembangkan kecakapan akademik dan mengandung wawasan kontekstual. Validator isi atau materi buku referensi tentang ekstraksi ini menggunakan dosen sebagai ahli materi dan desain.

Komponen penilaian kelayakan isi buku referensi dikembangkan berdasarkan instrument evaluasi jenis buku referensi tingkat perguruan tinggi – P3AI (2015), yang dimodifikasi disusun dengan tujuan pengembangan penelitian sebagaimana tersaji pada lampiran 3. Sedangkan kelayakan desain dan tampilan dikembangkan dan dimodifikasi yang di sesuaikan dengan tujuan pengembangan produk penelitian, sebagai mana tersaji pada lampiran 4.

Data kuantitatif dari validator materi berupa data skor dari angket penilaian, sedangkan data berupa saran/komentar/tanggapan merupakan data

kualitatif. Jika nilai angket penilaian dari validator memperoleh kriteria penilaian “sangat baik” atau “baik”, maka produk yang disusun dapat dinyatakan layak untuk digunakan dalam tahap penelitian selanjutnya. Kriteria kelayakan penilaian buku referensi mengacu pada indikator sebagaimana ditampilkan pada Tabel 3.3 berikut.

Tabel 3.3 Kriteria Validitas Data Angket Penilaian

Nilai	Kualifikasi	Keterangan
80 – 100	Sangat Baik	Tidak perlu revisi
70 – 79	Baik	Tidak perlu revisi
60 – 69	Cukup	Revisi
50 – 59	Kurang	Revisi
< 50	Sangat Kurang	Revisi

(Adaptasi dari Noor Hujjatusnaini, 2020)

Teknik analisis data yang digunakan dalam menganalisis data kuantitatif dari data skor angket penilaian validator menggunakan skala *Likert*, dan analisis dengan presentasi deskriptif sebagai berikut:

$$\text{Nilai} = \frac{\text{Jumlah skor perolehan}}{\text{Skor Maksimum}} \times 100\%$$

d. Tahapan Implementasi (*Implementation*)

Tahap implementasi merupakan tahapan uji coba produk setelah produk yang dihasilkan dinyatakan layak oleh validator. Uji coba buku referensi tentang ekstraksi sebagai referensi pada semua Dosen Program Studi Tadris Biologi IAIN Palangka Raya. Lembar Instrumen penilaian kelayakan Buku Referensi.

Uji kelayakan dilakukan melalui proses penyebaran angket kelayakan kepada semua Dosen Program Studi Tadris Biologi. Satu orang Dosen (*Responden*) menilai kelayakan materi dan desain. Komponen-komponen isi yang dinilai terlampir pada lampiran 5. Sedangkan komponen-komponen desain yang dinilai terdapat pada tabel 3.7 yang terlampir pada lampiran 6.

Produk dinyatakan layak jika mendapat penilaian akhir dengan kriteria sangat baik (SB) dan baik (B). Adapun kriteria kelayakan penilaian buku referensi mengacu pada indikator sebagaimana ditampilkan pada Tabel 3.4 berikut:

Tabel 3.4 Kriteria Validitas Data Angket Penilaian Keterbacaan

Nilai	Kualifikasi	Keterangan
80 – 100	Sangat Baik	Tidak perlu revisi
70 – 79	Baik	Tidak perlu revisi
60 – 69	Cukup	Revisi
50 – 59	Kurang	Revisi
< 50	Sangat Kurang	Revisi

(Adaptasi dari Noor Hujjatusnaini, 2020)

Teknik analisis data yang digunakan dalam menganalisis data kuantitatif dari skor angket penilaian validator menggunakan skala Likert, dan analisis dengan persentasi deskriptif sebagai berikut:

$$Nilai = \frac{Jumlah\ skor\ perolehan}{Skor\ Maksimum} \times 100\%$$

e. Tahapan Evaluasi (*Evaluation*)

Tahapan evaluasi adalah tahapan untuk mengetahui apakah produk yang dikembangkan berhasil sesuai dengan yang diharapkan awal perancangan

atau tidak. Pada dasarnya tahap evaluasi terjadi pada setiap tahapan di atas, yang dinamakan sebagai tahap evaluasi formatif yang tujuannya untuk kebutuhan revisi (Supriatna dan Mulyadi, 2009). Pada model pengembangan ADDIE tahapan bersifat siklik, dimana evaluasi dilakukan di setiap akhir tahapan sebelumnya dan bersifat fleksibel. Tahapan evaluasi meliputi penilaian terhadap implementasi produk (buku referensi) dengan melakukan klarifikasi data yang diperoleh dari lembar validasi dan angket.

10. Analisis Data Penelitian

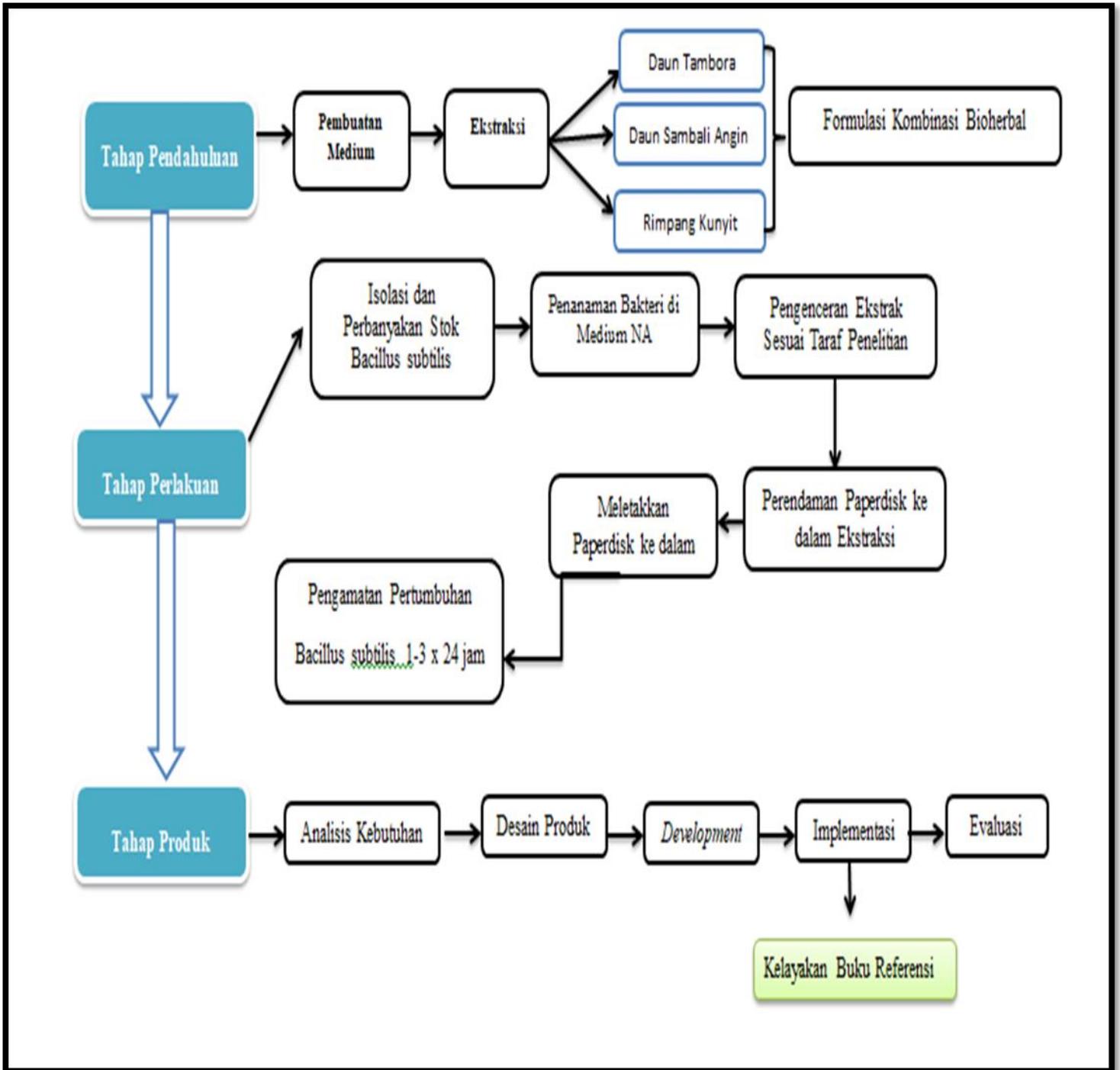
Data yang diperoleh pada penelitian pengembangan pada masing-masing tahapan merupakan data kuantitatif dari data skor angket menggunakan skala likert, sehingga data dianalisis dengan persentase deksriptif sebagai berikut:

$$\text{Nilai} = \frac{\text{Jumlah Skor Perolehan}}{\text{Skor Maksimum}} \times 100\%$$

Pada tahap implementasi produk dalam uji kelompok kecil (terbatas), diperoleh data kuantitatif. Uji terbatas dilakukan untuk mengetahui kelayakan produk.

11. Diagram Alur Penelitian

Diagram alur penelitian menjelaskan kerangka alur penelitian. Pelaksanaan penelitian berangkat dari rumusan masalah yang dikemukakan, sehingga rangka dalam alur penelitian ini merupakan runtutan penyelesaian masalah dalam penelitian ini sehingga tampak pada Gambar 3.3



Gambar 3.3 Alur penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Data hasil penelitian disusun dan disajikan sesuai dengan urutan rancangan penelitian, yaitu dalam bentuk data eksplorasi formulasi kombinasi bahan alam dan tahap penelitian pengembangan produk berupa buku referensi. Tahap pertama yaitu eksplorasi formulasi kombinasi yang didapatkan dari hasil pengujian hipotesis penelitian yang disusun berdasarkan hasil pengamatan dan pengukuran zona hambat pada medium yang telah ditumbuhi bakteri *Bacillus subtilis* dan diberi perlakuan berupa formulasi kombinasi tiga bahan alam yang berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri tersebut, di mana ketiga bahan alam tersebut yaitu daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit. Data hasil riset tersebut disusun dalam bentuk buku referensi yang mengacu pada model pengembangan ADDIE.

1. Hasil Penelitian Tahap I (Eksplorasi formulasi kombinasi ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit terhadap Bakteri *Bacillus subtilis*)

Tahap pertama penelitian merupakan tahap Eksplorasi formulasi kombinasi ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* yang data hasil penelitiannya disajikan berdasarkan tahap-tahap eksplorasi, di mana tahap eksplorasi tersebut meliputi formulasi kombinasi ketiga bahan alam, rekapitulasi zona hambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*, hasil analisis

varians zona hambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan hasil uji duncan 1% zona hambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* yang didapatkan pada setiap formulasi kombinasi.

a. Data Perlakuan Formulasi Kombinasi Bioherbal Ekstrak Metanol Daun Tambora (*Ageratum Conyzoides* L), Daun Sembalit Angin(*Mussaenda frondosa*) dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) Terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* pada kombinasi 3:2:1

Data hasil pengamatan zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yang diberi formulasi pertama dengan perbandingan 3:2:1 yang diamati selama 1x24 jam, 2x24 jam dan 3x24 jam. Perlakuan ini bertujuan untuk lebih mengetahui kecenderungan pengaruh bahan alam dalam formulasi tertentu lebih potensial terhadap bakteri target. Konsentrasi optimal dan efektif ekstrak, dijelaskan pada Tabel 4.3, Tabel 4.6 dan Tabel 4.9.

1) Data hasil pengamatan Zona hambat pertumbuhan bacillus subtilis pada 1x 24 jam

Data hasil pengamatan zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada medium dasar Nutrien agar (NA) dengan waktu pengamatan 24 jam ditunjukkan pada Tabel 4.1 sebagai berikut:

Tabel 4.1 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* Pada 1 x 24 Jam

Perlakuan	Ulangan				Σ mm	Rata-Rata mm
	I	II	III	IV		
P1 Kontrol (+)	1.94	1.94	2.84	4.24	10.96	2.74
P2 Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0
P3 (30%)	3.33	4.96	4.32	1.82	14.43	3.61
P4 (40%)	5.41	5.72	4.24	5.91	21.28	5.32
P5 (50%)	2.94	2.54	6.69	6.41	18.58	4.65
P6 (60%)	3.61	3.77	5.1	4.29	16.77	4.19
P7 (70%)	2.68	4.84	6.74	6.82	21.08	5.27
P8 (80%)	4.52	6.09	2.71	5.91	19.23	4.8075
Jumlah	24.43	29.86	32.64	35.4	122.33	30.58
Rata-Rata	3.053	3.73	4.08	4.425	15.29	3.82

Data rekapitulasi diatas diambil dalam 4 kali pengulangan di mana hasil rata-rata dari pengulangan pertama 3.05375, rata-rata pengulangan yang ke dua yaitu: 3.7325 selanjutnya pengulangan ketiga 4.08 dan pengulangan terakhir memiliki rata-rata 4.425. Tahap berikutnya adalah untuk mengetahui signifikansi pengaruh variable dalam penelitian yaitu dengan uji statistik ANAVA sebagaimana tampak pada Tabel 4.2 berikut:

Tabel 4.2 Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* Pada 1 x 24 Jam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	87.804	7	12.543	6.599	.000
Within Groups	45.617	24	1.901		
Total	133.420	31			

Hasil analisis varian yang ditunjukkan Tabel 4.2 di atas menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 6.599 dengan $-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka hipotesis penelitian H_1 diterima sedangkan H_0 ditolak pada taraf signifikan 1% Data tersebut dapat diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

Setelah itu, untuk mengetahui signifikansi dari pengaruh setiap taraf perlakuan penelitian yang dilakukan dengan uji Duncan dengan lama masa inkubasi 1x24 jam, sebagaimana yang tampak pada Tabel 4.3 sebagai berikut:

Tabel 4.3 Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* Pada 1x24 Jam

Formulasi Kombinasi	N	Subset for alpha = 0.01	
		1	2
P2	4	a	
P1	4		b
P3	4		b
P6	4		b
P5	4		b
P8	4		b
P7	4		b
P4	4		b
Sig.		1.000	.028

Berdasarkan data hasil pengamatan pada Tabel 4.3 menunjukkan hasil bahwa P3, P4, P5, P6, P7 dan P8 tidak berbeda signifikan terhadap P1 (Cloramphenicol 0,1%) sebagai kontrol (+) penelitian, tetapi berbeda signifikan terhadap P2 (aquades) sebagai Kontrol (-) penelitian. konsentrasi perlakuan ekstrak kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angindan rimpang Kunyit untuk formulasi kombinasi 3:2:1 pada pengamatan 1x24 jam menunjukkan bahwa konsentrasi 30% (P3) tidak berbeda signifikan terhadap seluruh konsentrasi perlakuan yang lainnya, akan tetapi berbeda signifikan jika dibandingkan dengan kontrol (-) penelitian berdasarkan uji Duncan 1% pada Tabel 4.3 dapat dijelaskan bahwa konsentrasi efektif perlakuan ekstraksi kombinasi ketiga bahan alam tersebut pada waktu pengamatan 1x24 jam yaitu pada konsentrasi 30% (P3) dan konsentrasi 40% (P4) dijelaskan sebagai konsentrasi yang paling optimum dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*.

2) Data Hasil Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* Pada 2x 24 Jam

Pengamatan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* selanjutnya dengan lama masa inkubasi 48 jam dengan empat kali pengulangan pada formulasi kombinasi 3:2:1 didapatkan data hasil pengukuran menggunakan jangka sorong yang disajikan dalam bentuk Tabel 4.4 sebagai berikut:

Tabel 4.4 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* Pada 2 X 24 Jam

Perlakuan	Ulangan				Σ mm	Rata-Rata mm
	I	II	III	IV		
P1 Kontrol(+)	3.24	2.44	3.24	4.54	13.46	3.36
P2 Kontrol(-)	0	0	0	0	0	0
P3 (30%)	6.14	5.94	6.24	6.64	24.96	6.24
P4 (40%)	6.94	7.04	7.44	9.44	30.86	7.71
P5 (50%)	6.44	4.64	8.34	8.44	27.86	6.97
P6 (60%)	7.34	4.64	6.24	5.74	23.96	5.99
P7 (70%)	3.84	5.84	6.74	8.24	24.66	6.17
P8 (80%)	0.14	0.24	0.74	5.64	6.76	1.69
Jumlah	34.08	30.78	38.98	48.68	152.52	38.13
Rata-Rata	4.26	3.85	4.87	6.08	19.065	4.77

Data rekapitulasi diatas diambil dalam 4 kali pengulangan di mana hasil rata-rata dari pengulangan pertama 4,26 mm, rata-rata pengulangan yang ke dua yaitu: 3.85 mm selanjutnya pengulangan ketiga 4.87 mm dan pengulangan terakhir memiliki rata-rata 6.08 mm. Tahap berikutnya adalah untuk mengetahui signifikansi pengaruh variable dalam penelitian yaitu dengan uji statistik ANAVA sebagaimana tampak pada Tabel 4.5 berikut:

Tabel 4.5 Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2x24 Jam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	213.198	7	30.457	14.246	.000
Within Groups	51.310	24	2.138		
Total	264.508	31			

Hasil analisis varian yang ditunjukkan Tabel 4.5 di atas menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 14.246 dengan $p-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka hipotesis penelitian H_1 diterima sedangkan H_0 ditolak pada taraf signifikan 1% Data tersebut dapat diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angindan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

selanjutnya untuk mengetahui signifikansi dari pengaruh setiap taraf perlakuan penelitian yang dilakukan dengan uji Duncan dengan lama masa inkubasi 2x24 jam, sebagaimana yang tampak pada Tabel 4.6 sebagai berikut:

Tabel 4.6 Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2x24 Jam

formulasi kombinasi	N	Subset for alpha = 0.01			
		1	2	3	4
P2	4	a			
P8	4	a	B		
P1	4		B	c	
P6	4			c	d
P7	4			c	d
P3	4			c	d
P5	4				d
P4	4				d
Sig.		.115	.118	.016	.147

Data hasil uji Duncan 1 % yang disajikan pada Tabel 4.6 menunjukkan bahwa P3, P6, P7 dan P8 tidak berbeda signifikan dengan P1 (Cloramphenicol 0,1%), tetapi berbeda signifikan jika dibandingkan dengan P4 dan P5. Hasil uji statistic di atas menggambarkan konsentrasi P3, pada Tabel 4.6 dapat dijelaskan bahwa perlakuan ekstraksi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit untuk formulasi 3:2:1 pada waktu pengamatan 2x24 jam. Konsentrasi yang efektif pada konsentrasi 30% (P3) dan konsentrasi yang optimum pada taraf konsentrasi 40% (P4) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

3) Data Hasil Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3x 24 Jam

Pengamatan terakhir pada formulasi kombinasi 3:2:1 dengan lama masa inkubasi 72 jam didapatkan data yang disusun dalam bentuk Tabel 4.7 yang ada di bawah ini:

Tabel 4.7 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3 X 24 Jam

Perlakuan	Ulangan				Σ mm	Rata-Rata mm
	I	II	III	IV		
P1 Kontrol (+)	1.34	2.74	2.14	4.04	10.26	2.57
P2 Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0
P3 (30%)	2.84	2.94	4.84	4.44	15.06	3.77
P4 (40%)	6.94	6.94	8.34	8.04	30.26	7.57
P5 (50%)	4.74	2.94	6.64	7.74	22.06	5.52
P6 (60%)	6.34	4.94	6.54	6.84	24.66	6.17
P7 (70%)	4.34	5.34	8.34	9.24	27.26	6.82
P8 (80%)	2.74	1.44	2.04	4.04	10.26	2.57
Jumlah	29.28	27.28	38.88	44.38	139.82	34.96
Rata-Rata	3.66	3.41	4.86	5.55	17.48	4.37

Data rekapitulasi pada Tabel 4.7 di atas terdapat 4 kali pengulangan yang di mana hasil rata-rata dari pengulangan pertama 3,66 mm rata-rata

pengulangan yang ke dua yaitu: 3.41 mm selanjutnya pengulangan ketiga 4.86 mm dan pengulangan terakhir memiliki rata-rata 5.5475 mm. Tahap berikutnya adalah untuk mengetahui signifikansi pengaruh variable dalam penelitian yaitu dengan uji statistik ANAVA sebagaimana tampak pada Tabel 4.8 berikut:

Tabel 4.8 Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* Pada 3x24 Jam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	186.792	7	26.685	14.401	.000
Within Groups	44.473	24	1.853		
Total	231.265	31			

Hasil analisis varian yang ditunjukkan Tabel 4.8 di atas menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 14.401 dengan $-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka hipotesis penelitian H_1 diterima sedangkan H_0 ditolak pada taraf signifikan 1%. Data tersebut dapat diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

selanjutnya untuk mengetahui signifikansi dari pengaruh setiap taraf perlakuan penelitian yang dilakukan dengan uji Duncan dengan lama masa inkubasi 3x24 jam, sebagaimana yang tampak pada Tabel 4.9 sebagai berikut:

Tabel 4.9 Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* Pada 3x24 Jam

formulasi kombinasi	N	Subset for alpha = 0.01			
		1	2	3	4
P2	4	a			
P1	4	a	B		
P8	4	a	B		
P3	4		B	c	
P5	4			c	d
P6	4			c	d
P7	4				d
P4	4				d
Sig.		.018	.250	.026	.061

Data hasil uji Duncan 1% pada Tabel 4.10 menunjukkan bahwa P3 dan P8 tidak berbeda signifikan terhadap P1 (Cloramphenicol 0,1%) sebagai kontrol (+) penelitian. P3, P5 dan P6 tidak berbeda signifikan terhadap P4, akan tetapi P4 berbeda signifikan terhadap P1 (Cloramphenicol 0,1%). Berdasarkan uji Duncan 1% pada Tabel 4.9 dijelaskan bahwa tingkatan konsentrasi efektif dan optimum perlakuan ekstraksi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit untuk formulasi kombinasi 3:2:1 pada waktu pengamatan 3x24 jam adalah konsentrasi 40% (P4) dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*. Potensi formulasi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angin, rimpang Kunyit terhadap bakteri *Bacillus subtilis* secara in vitro, disajikan pada Tabel 4.10 sebagai berikut:

Tabel 4.30 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Kombinasi 3:2:1

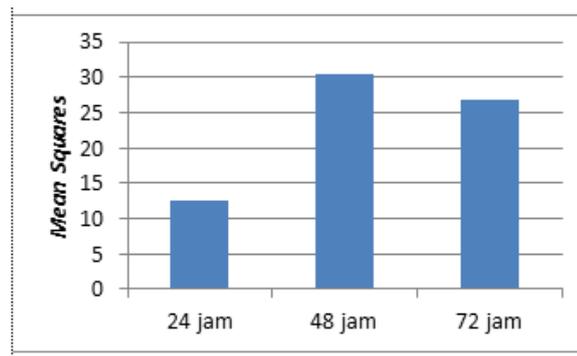
Perlakuan Kombinasi Ekstrak 3:2:1	Rerata Zona Hambat mm		
	24 jam	48 jam	72 jam
<i>Chloramfenicol</i> (+)	2.74	3.37	2.57
Aquades (-)	0	0	0
30%	3.61	6.24	3.77
40%	5.32	7.72	7.57
50%	4.645	6.97	5.52
60%	4.19	5.99	6.17
70%	5.27	6.17	6.82
80%	4.81	1.69	2.57

Tabel 4.10 menyajikan data rekapitulasi hasil analisis statistik Anava satu jalur dan dilanjutkan uji Duncan 1% pada Tabel 4.11 pada formulasi kombinasi 3:2:1. Bakteri *Bacillus subtilis* merupakan salah satu bakteri Gram positif, bersifat aerobik dan mampu membentuk endospore, dapat menginfeksi mata, meningitis, luka dan penyakit lainnya, dan dapat pula menginfeksi saluran reproduksi. Oleh karena itu, penting untuk mengetahui konsentrasi optimal dan efektif pada formulasi kombinasi yang tepat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

Tabel 4 Rekapitulasi Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis*

	24 jam		48 jam		72 jam	
	Sum of Squares	Sig.	Sum of Squares	Sig.	Sum of Squares	Sig.
Between Groups	87.804	,000	213.198	,000	186.792	,000
Within Groups	45.617		51.310		44.473	
Total	133.420		264.508		231.265	

Data hasil analisis statistik ANAVA di atas didukung dengan dengan perbandingan *mean square* yang disajikan dalam bentuk diagram pada Gambar 4.1 sebagai berikut:



**Gambar 4. 1 Mean Square Formulasi Kombinasi 3:2:1
*Bacillus subtilis***

Data rekapitulasi pada Tabel 4.11 diketahui bahwa hasil analisis variansi perlakuan ekstrak kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angin, dan rimpang Kunyit berpengaruh signifikan terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada signifikansi 1%, pada waktu perlakuan 1x24 jam, 2x24 jam, dan 3x24 jam. Diagram perbandingan *mean square* mempertegas signifikansi pengaruh formulasi 3:2:1, di mana masa inkubasi 2x24 jam memiliki nilai *mean square* lebih besar.

b.Data Perlakuan Formulasi Kombinasi Bioherbal Ekstrak Metanol Daun Tambora (*Ageratum conyzoides* L), Daun Sembalit Angin(*Mussaenda frondosa*) Dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) Terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis* Pada Kombinasi 2:3:1

Perlakuan selanjutnya menggunakan formulasi kombinasi yang kedua dengan perbandingan 2:3:1 pengamatan yang dilakukan selama 1x24 jam, 2x24 jam dan 3x24 jam. Tujuan dari perlakuan ini untuk mengetahui kecenderungan

pengaruh bahan alam dalam formulasi tertentu yang berpotensi menghambat pertumbuhan terhadap bakteri target. Konsentrasi optimal dan efektif ekstrak, pada Tabel 4.16, 4.19 dan 4.22.

1) Data Hasil Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* Pada 1x 24 Jam

Data hasil pengamatan zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada medium dasar Nutrien agar (NA) dengan waktu pengamatan 24 jam ditunjukkan pada Tabel 4.12 sebagai berikut:

Tabel 4.12 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* Pada 1x 24 Jam

Perlakuan	Ulangan				Σ (mm)	Rata-Rata (mm)
	I	II	III	IV		
P1 Kontrol (+)	1.34	3.64	3.24	2.34	10.56	2.64
P2 Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0
P3 (30%)	5.57	2.07	2.79	4.57	15	3.75
P4 (40%)	5.42	3.76	6.36	4.13	19.67	4.92
P5 (50%)	3.9	8.37	6.92	4.48	23.67	5.92
P6 (60%)	5.23	6.83	5.47	5.04	22.57	5.64
P7 (70%)	5.8	4.82	6.19	4.64	21.45	5.37
P8 (80%)	10.23	10.83	11.93	10.53	43.52	10.88
Jumlah	37.49	40.32	42.9	35.73	156.44	39.11
Rata-Rata	8.33	8.96	9.53	7.94	34.76	8.69

Data rekapitulasi pada Tabel 4.12 di atas dengan 4 kali pengulangan yang di mana hasil rata-rata dari pengulangan pertama 8.33 mm rata-rata pengulangan yang ke dua yaitu: 8.96 mm selanjutnya pengulangan ketiga 9.53 mm dan pengulangan terakhir memiliki rata-rata 7.94 mm. Tahap berikutnya adalah untuk mengetahui signifikansi pengaruh variable dalam penelitian yaitu dengan uji statistik ANAVA sebagaimana yang disusun dalam Tabel 4.13 berikut:

Tabel 4.13 Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 1x24 Jam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	272.001	7	38.857	27.727	.000
Within Groups	33.634	24	1.401		
Total	305.635	31			

Hasil analisis varian yang ditunjukkan Tabel 4.13 di atas menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 27.727 dengan $-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka hipotesis penelitian H_1 diterima sedangkan H_0 ditolak pada taraf signifikan 1% Data tersebut dapat diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

selanjutnya untuk mengetahui signifikansi dari pengaruh setiap taraf perlakuan penelitian yang dilakukan dengan uji Duncan dengan lama masa inkubasi 24 jam, sebagaimana yang tampak pada Tabel 4.14 sebagai berikut:

Tabel 4.14 Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 1x24 Jam

formulasi kombinasi	N	Subset for alpha = 0.01			
		1	2	3	4
P2	4	a			
P1	4		B		
P3	4		B	c	
P4	4		B	c	
P7	4			c	
P6	4			c	
P5	4			c	
P8	4				d
Sig.		1.000	.016	.027	1.000

Data pengamatan 1x 24 jam yang disusun dalam Tabel 4.14 menunjukkan hasil Duncan 1 % zona hambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* yaitu P3 dan P4 menunjukkan tidak berbeda signifikan terhadap P1(Cloramphenicol 0,1%), P3 dan P4 juga menunjukkan tidak berbeda signifikan terhadap P7, P6 dan P5. Sedangkan P7, P6 dan P8 berbeda signifikan terhadap P1 (Cloramphenicol 0,1%), P8 menunjukkan berbeda signifikan terhadap semua konsentrasi. Berdasarkan uji Duncan 1% pada Tabel 4.12 dijelaskan bahwa tingkatan konsentrasi efektif dan optimum pada perlakuan ekstraksi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit untuk formulasi kombinasi 2:3:1 pada waktu pengamatan 1x24 jam adalah pada konsentrasi 80% (P8) yang dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*.

2) Data Hasil Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2x 24 Jam

Pengamatan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* selanjutnya dengan lama masa inkubasi 2x24 jam pada formulasi kombinasi 2:3:1 didapatkan data hasil pengukuran menggunakan jangka sorong yang disajikan dalam bentuk Tabel 4.15 berikut:

Tabel 4.15 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2x 24 Jam

Perlakuan	Ulangan				Σ mm	Rata-Rata mm
	I	II	III	IV		
P1 Kontrol (+)	2.64	3.84	3.54	2.64	12.66	3.17
P2 Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0
P3 (30%)	7.44	3.84	4.64	5.04	20.96	5.24
P4 (40%)	5.14	5.44	7.34	5.44	23.36	5.84
P5 (50%)	3.14	10.14	6.64	5.04	24.96	6.24
P6 (60%)	4.44	7.84	6.64	5.84	24.76	6.19
P7 (70%)	7.04	7.14	7.04	4.64	25.86	6.47
P8 (80%)	9.94	11.84	11.14	8.04	40.96	10.24
Jumlah	39.78	50.08	46.98	36.68	173.52	43.38
Rata-Rata	4.97	6.26	5.87	4.59	21.69	5.42

Data rekapitulasi pada Tabel 4.15 di atas dengan 4 kali pengulangan yang di mana hasil rata-rata dari pengulangan pertama 4.97 mm rata-rata pengulangan yang ke dua yaitu: 6.26 mm selanjutnya pengulangan ketiga 5.87 mm dan pengulangan terakhir memiliki rata-rata 4.59 mm. Tahap berikutnya adalah untuk mengetahui signifikansi pengaruh variable dalam penelitian yaitu dengan uji statistik ANAVA sebagaimana yang disusun dalam Tabel 4.16 berikut:

Tabel 4.16 Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2 x 24 Jam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	241.040	7	34.434	14.579	.000
Within Groups	56.685	24	2.362		
Total	297.725	31			

Hasil analisis varian yang ditunjukkan Tabel 4.16 di atas menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 14.579 dengan $p-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka hipotesis penelitian H_1 diterima sedangkan H_0 ditolak pada taraf signifikan 1% Data tersebut dapat diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

selanjutnya untuk mengetahui signifikansi dari pengaruh setiap taraf perlakuan penelitian yang dilakukan dengan uji Duncan dengan lama masa inkubasi 48 jam, sebagaimana yang tampak pada Tabel 4.17 sebagai berikut:

Tabel 4.17 Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2 x 24 Jam

formulasi kombinasi	N	Subset for alpha = 0.01		
		1	2	3
P2	4	a		
P1	4		b	
P3	4		b	
P4	4		b	
P6	4		b	
P5	4		b	
P7	4		b	
P8	4			c
Sig.		1.000	.012	1.000

Data hasil uji Duncan 1% pada Table 4.17 di atas menunjukkan hasil uji Duncan P3, P4, P5, P6 dan P7 tidak berbeda signifikan terhadap P1 (Cloramphenicol 0,1%), P8 menunjukkan hasil berbeda signifikan terhadap P1(Cloramphenicol 0,1%), P1 (Cloramphenicol 0,1%) sebagai control (+) menunjukkan hasil berbeda signifikan terhadap P2 (Aquades) sebagai kontrol (-). Berdasarkan uji Duncan 1% pada Tabel 4.17 dijelaskan bahwa tingkatan konsentrasi efektif perlakuan ekstraksi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angina dan rimpang Kunyit yang digunakan untuk formulasi 2:3:1 pada waktu pengamatan 2x24 jam adalah pada konsentarsi 30%(P3). Konsentrasi 80% (P8) dapat dijelaskan sebagai konsentrasi yang paling optimum dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*.

3)Data Hasil Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3x 24 Jam

Pengamatan terakhir pada formulasi kombinasi 2:3:1 pada kombinasi ketiga bahan alam tersebut, dengan lama masa inkubasi 3x24 jam didapatkan data yang disusun dalam bentuk Tabel 4.18 yang ada di bawah ini:

Tabel 4. 18 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3 x 24 Jam

Perlakuan	Ulangan				Σ mm	Rata-Rata mm
	I	II	III	IV		
P1 Kontrol (+)	2.94	3.44	5.44	2.54	14.36	3.59
P2 Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0
P3 (30%)	5.84	1.04	3.04	3.94	13.86	3.47
P4 (40%)	4.64	5.54	8.44	5.24	23.86	5.97
P5 (50%)	3.74	10.74	8.04	5.34	27.86	6.97
P6 (60%)	6.14	8.64	5.84	3.44	24.06	6.02
P7 (70%)	8.44	5.14	6.54	5.44	25.56	6.39
P8 (80%)	7.44	7.04	6.94	8.94	30.36	7.59
Jumlah	39.18	41.58	44.28	34.88	159.92	39.98
Rata-Rata	4.89	5.19	5.54	4.36	19.99	4.99

Data rekapitulasi pada Tabel 4.18 di atas dengan 4 kali pengulangan yang di mana hasil rata-rata dari pengulangan pertama 4.89 mm rata-rata pengulangan yang ke dua yaitu: 5.19 mm selanjutnya pengulangan ketiga 5.54 mm dan pengulangan terakhir memiliki rata-rata 4.36 mm. Tahap berikutnya adalah untuk mengetahui signifikansi pengaruh variable dalam penelitian yaitu dengan uji statistik ANAVA sebagaimana yang disusun dalam Tabel 4.19 berikut:

Tabel 4.19 Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3 x 24 Jam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	175.229	7	25.033	7.827	.000
Within Groups	76.760	24	3.198		
Total	251.989	31			

Hasil analisis varian yang ditunjukkan Tabel 4.19 di atas menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 7.827 dengan $-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka hipotesis penelitian H_1 diterima sedangkan H_0 ditolak pada taraf signifikan 1%

Data tersebut dapat diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angindan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

selanjutnya untuk mengetahui signifikansi dari pengaruh setiap taraf perlakuan penelitian yang dilakukan dengan uji Duncan dengan lama masa inkubasi 72 jam, sebagaimana yang tampak pada Tabel 4.20 sebagai berikut:

Tabel 4.20 Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3 x 24 Jam

formulasi kombinasi	N	Subset for alpha = 0.01		
		1	2	3
P2	4	a		
P3	4	a	b	
P1	4	a	b	
P4	4		b	c
P6	4		b	c
P7	4		b	c
P5	4		b	c
P8	4			c
Sig.		.012	.020	.262

Data hasil uji Duncan 1% pada Tabel 4.20 di atas menunjukkan bahwa P3, P4, P5, P6 dan P7 tidak berbeda signifikan terhadap P1 (Cloramphenicol 0,1%), akan tetapi P8 berbeda signifikan terhadap P1 (Cloramphenicol 0,1%) sebagai Kontrol (+) penelitian. Tingkatan konsentrasi efektif ekstraksi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angindan rimpang Kunyit untuk formulasi 2:3:1 pada waktu 3x24 jam yaitu konsentrasi 40% (P4), karena P4 tidak berbeda signifikan terhadap 80% (P8). Akan tetapi konsentrasi 80% (P8) diinterpretasikan sebagai konsentrasi yang paling optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

Potensi formulasi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angin, rimpang Kunyit terhadap bakteri *Bacillus subtilis* secara in vitro, disajikan pada Tabel Data hasil pengamatan disusun dalam bentuk Tabel. Adapun pengamatan selama 3x24 jam yang dilakukan didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 4. 21 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Kombinasi 2:3:1

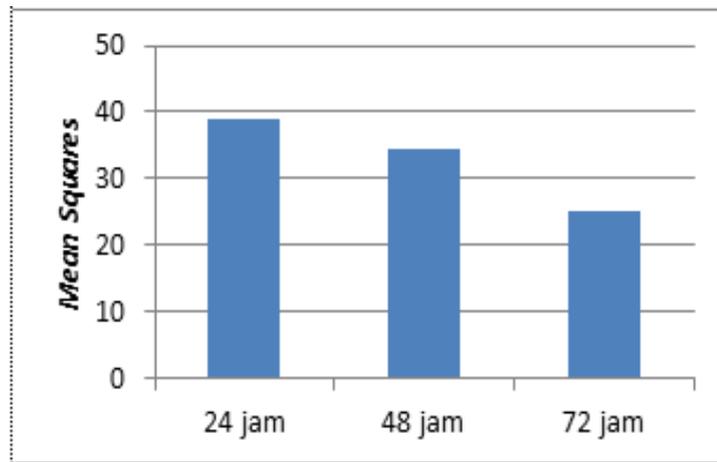
Perlakuan Kombinasi Ekstrak 2:3:1	Rerata Zona Hambat mm		
	24 jam	48 jam	72 jam
<i>Chloramfenicol</i> (+)	2.64	3.17	3.59
Aquades (-)	0	0	0
30%	3.75	5.24	3.47
40%	4.92	5.84	5.97
50%	5.92	6.24	6.97
60%	5.64	6.19	6.02
70%	5.36	6.47	6.39
80%	10.9	10.2	7.59

Rekapitulasi data zona hambat pada Tabel 4. 12 memberikan Gambaran secara lengkap rerata zona hambat pada masa inkubasi 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Hasil analisis data formulasi kombinasi 2:3:1 dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* disajikan pada Tabel 4. 13.

Tabel 4. 22 Rekapitulasi Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Kombinasi 2:3:1

	24 jam		48 jam		72 jam	
	Sum of Squares	Sig.	Sum of Squares	Sig.	Sum of Squares	Sig.
Between Groups	272.001	,000	241.040	,000	175.229	,000
Within Groups	33.634		56.685		76.760	
Total	305.635		297.725		251.989	

Data hasil analisis statistik ANAVA di atas didukung dengan dengan perbandingan *mean square* dalam bentuk diagram pada Gambar 4.2.



**Gambar 4. 2 Mean Square Formulasi Kombinasi 2:3:1
*Bacillus subtilis***

Data rekapitulasi pada Tabel 4.22 diketahui bahwa hasil analisis variansi perlakuan ekstrak kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angin, dan rimpang Kunyit berpengaruh signifikan terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada signifikansi 1%, pada waktu perlakuan 1x 24 jam, 2x24 jam dan 3x24 jam. Gambar 4.2 disajikan dalam bentuk diagram perbandingan *mean square* mempertegas signifikansi bahwa nilai *means square* untuk formulasi 2:3:1 masa inkubasi 1x24 jam lebih besar.

c. Data Perlakuan Formulasi Kombinasi Bioherbal Ekstrak Metanol Daun Tambora (*Ageratum conyzoides* L), Daun Sembalit Angin(*Mussaenda frondosa*) Dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) Terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis* Pada Kombinasi 1 : 2 :3

Formulasi kombinasi selanjutnya dari ketiga bahan alam yaitu daun Tambora, daun Sembalit Angin dan rimpang Kunyit dengan perbandingan 1:2:3 dengan lama pengamatan selama 1x24 jam, 2x24 jam dan 3x24 jam terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* secara in vitro. Data uji lanjut Duncan selanjutnya disajikan pada Tabel 4.27, Tabel 4.30 dan Tabel 4.33.

1) Data Hasil Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 1x 24 Jam

Data hasil pengamatan zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada medium dasar Nutrien agar (NA) dengan waktu pengamatan 1x24 jam ditunjukkan pada Tabel 4.23 sebagai berikut:

Tabel 4.23 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 1x 24 Jam

Perlakuan	Ulangan				Σ mm	Rata-Rata mm
	I	II	III	IV		
P1 Kontrol +	2.34	2.94	2.14	2.84	10.26	2.57
P2 Kontrol -	0	0	0	0	0	0
P3 (30%)	2.95	5.37	5.36	5.27	18.95	4.74
P4 (40%)	6.9	5.36	3.37	4.79	20.42	5.11
P5 (50%)	4.62	3.44	1.67	4.86	14.59	3.65
P6 (60%)	3.62	6.54	5.31	4.71	20.18	5.05
P7 (70%)	5.48	4.74	5.8	6.91	22.93	5.73
P8 (80%)	4.66	4.79	2.01	3.2	14.66	3.67
Jumlah	30.57	33.18	25.66	32.58	121.99	30.49
Rata-Rata	3.82	4.15	3.21	4.07	15.25	3.81

Data rekapitulasi pada Tabel 4.23 di atas dengan 4 kali pengulangan yang di mana hasil rata-rata dari pengulangan pertama 3.82 mm rata-rata ulangan yang ke dua yaitu: 4.15 mm selanjutnya pengulangan ketiga 3.21 mm dan pengulangan terakhir memiliki rata-rata 4.07 mm. Tahap berikutnya adalah untuk mengetahui signifikansi pengaruh variable dalam penelitian yaitu dengan uji statistik ANAVA sebagaimana yang disusun dalam Tabel 4.24 berikut:

Tabel 4.24 Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 1 x 24 Jam

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	95.488	7	13.641	11.068	.000
Within Groups	29.579	24	1.232		
Total	125.067	31			

Hasil analisis varian yang ditunjukkan Tabel 4.24 di atas menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 11.068 dengan $-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka hipotesis penelitian H_1 diterima sedangkan H_0 ditolak pada taraf signifikan 1% Data tersebut dapat diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

selanjutnya untuk mengetahui signifikansi dari pengaruh setiap taraf perlakuan penelitian yang dilakukan dengan uji Duncan dengan lama masa inkubasi 1 x 24 jam, sebagaimana yang tampak pada Tabel 4.25 sebagai berikut:

Tabel 4.25 Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 1 x 24 Jam

Formulasi kombinasi	N	Subset for alpha = 0.01		
		1	2	3
P2	4	a		
P1	4		b	
P5	4		b	c
P8	4		b	c
P3	4		b	c
P6	4			c
P4	4			c
P7	4			c
Sig.		1.000	.017	.026

Data hasil uji Duncan 1% pada Tabel 4.25 di atas menunjukkan bahwa P3, P5 dan P8 tidak berbeda signifikan terhadap P1 (Cloramphenicol 0,1%) sebagai kontrol (+) penelitian. Sedangkan P4, P6 dan P7 berbeda signifikan terhadap P1(Cloramphenicol 0,1%), taraf perlakuan ekstraksi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angina dan rimpang Kunyit untuk formulasi 1:2:3 pada pengamatan 1x24 jam menunjukkan bahwa konsentrasi 30% (P3) tidak

berbeda signifikan terhadap seluruh taraf perlakuan lainnya, akan tetapi berbeda signifikan jika dibandingkan dengan P2 (aquades) sebagai kontrol (-). Berdasarkan data hasil uji Duncan 1% yang ada pada Tabel 4.25 diinterpretasikan bahwa konsentrasi efektif perlakuan ekstrak kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angina dan rimpang Kunyit untuk formulasi 1:2:3 pada pengamatan 1x24 jam adalah 30% (P3), konsentrasi 70% (P7) dapat diinterpretasikan sebagai konsentrasi yang paling optimum dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*.

2) Data Hasil Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2x 24 Jam

Pengamatan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* selanjutnya dengan lama masa inkubasi 48 jam pada formulasi kombinasi 1:2:3 didapatkan data hasil pengukuran menggunakan jangka sorong yang disajikan dalam bentuk Tabel 4.26 sebagai berikut:

Tabel 4.26 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2 x 24 Jam

Perlakuan	Ulangan				Σ mm	Rata-Rata mm
	I	II	III	IV		
P1 Kontrol (+)	2.94	1.54	3.64	3.84	11.96	2.99
P2 Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0
P3 (30%)	7.14	7.14	7.54	4.74	26.56	6.64
P4 (40%)	6.24	6.44	7.74	4.94	25.36	6.34
P5 (50%)	4.74	4.34	4.94	7.44	21.46	5.37
P6 (60%)	4.54	9.64	6.24	5.24	25.66	6.44
P7 (70%)	7.64	6.74	9.24	8.04	31.66	7.92
P8 (80%)	2.34	4.04	1.34	2.54	10.26	2.57
Jumlah	35.58	39.88	40.68	36.78	152.92	38.23
Rata-Rata	4.45	4.99	5.09	4.59	19.12	4.79

Data rekapitulasi pada Tabel 4.26 di atas dengan 4 kali pengulangan yang di mana hasil rata-rata dari pengulangan pertama 4.45 mm rata-rata pengulangan yang ke dua yaitu: 4.99 mm selanjutnya pengulangan ketiga 5.09 mm dan pengulangan terakhir memiliki rata-rata 4.59 mm. Tahap berikutnya adalah untuk mengetahui signifikansi pengaruh variable dalam penelitian yaitu dengan uji statistik ANAVA sebagaimana yang disusun dalam Tabel 4.27 berikut:

Tabel 4.27 Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2 x 24 Jam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	198.782	7	28.397	16.903	.000
Within Groups	40.320	24	1.680		
Total	239.102	31			

Hasil analisis varian yang ditunjukkan Tabel 4.27 di atas menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 16.903 dengan $-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka hipotesis penelitian H_1 diterima sedangkan H_0 ditolak pada taraf signifikan 1% Data tersebut dapat diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

selanjutnya untuk mengetahui signifikansi dari pengaruh setiap taraf perlakuan penelitian yang dilakukan dengan uji Duncan dengan lama masa inkubasi 2 x 24 jam, sebagaimana yang tampak pada Tabel 4.28 sebagai berikut:

Tabel 4. 28 Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2 x 24 Jam

formulasi kombinasi	N	Subset for alpha = 0.01			
		1	2	3	4
P2	4	A			
P8	4		B		
P1	4		B	c	
P5	4			c	d
P4	4				d
P6	4				d
P3	4				d
P7	4				d
Sig.		1.000	.647	.016	.018

Data hasil uji Duncan 1% pada Tabel 4.28 menunjukkan bahwa P5 dan P8 tidak berbeda signifikan terhadap P1 (Cloramphenicol 0,1%) sebagai kontrol (+) penelitian, sedangkan P3, P4, P6 dan P7 berbeda signifikan terhadap P1 (Cloramphenicol 0,1%). Taraf perlakuan ekstrak kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit untuk formulasi 1:2:3 pada pengamatan 2x24 jam menunjukkan bahwa konsentrasi efektif perlakuan ekstrak adalah konsentrasi 30% (P3) dan konsentrasi 70% (P7) diinterpretasikan sebagai konsentrasi yang paling optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

3) Data Hasil Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3 x 24 Jam

Pengamatan selanjutnya pada formulasi kombinasi 1:2:3 dengan lama masa inkubasi 72 jam didapatkan data yang disajikan dalam bentuk Tabel 4.29 sebagai berikut:

Tabel 4.29 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3 x 24 Jam

Perlakuan	Ulangan				Σ	Rata-Rata
	I	II	III	IV	mm	mm
P1 Kontrol(+)	3.14	2.64	2.64	2.54	10.96	2.74
P2 Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0
P3 (30%)	3.14	4.94	4.94	4.04	17.06	4.27
P4 (40%)	3.34	3.14	3.14	3.94	13.56	3.39
P5 (50%)	5.94	4.14	4.14	4.94	19.16	4.79
P6 (60%)	5.94	8.04	8.04	6.14	28.16	7.04
P7 (70%)	5.84	5.04	5.04	7.54	23.46	5.87
P8 (80%)	3.44	4.94	4.94	2.14	15.46	3.87
Jumlah	30.78	32.88	32.88	31.28	127.82	31.96
Rata-Rata	3.85	4.14	4.11	3.91	15.98	3.99

Data rekapitulasi pada Tabel 4.29 di atas dengan 4 kali pengulangan yang di mana hasil rata-rata dari pengulangan pertama 3.85 mm rata-rata pengulangan yang ke dua yaitu: 4.14 mm selanjutnya pengulangan ketiga 4.11 mm dan pengulangan terakhir memiliki rata-rata 3.91 mm. Tahap berikutnya adalah untuk mengetahui signifikansi pengaruh variable dalam penelitian yaitu dengan uji statistik ANAVA sebagaimana yang disusun dalam Tabel 4.30 berikut:

Tabel 4.30 Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3 x 24 Jam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	125.567	7	17.938	22.995	.000
Within Groups	18.723	24	.780		
Total	144.290	31			

Hasil analisis varian yang ditunjukkan Tabel 4.30 di atas menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 22.995 dengan $-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka

hipotesis penelitian H_1 diterima sedangkan H_0 ditolak pada taraf signifikansi 1% Data tersebut dapat diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

selanjutnya untuk mengetahui signifikansi dari pengaruh setiap taraf perlakuan penelitian yang dilakukan dengan uji Duncan dengan lama masa inkubasi 3 x 24 jam, sebagaimana yang tampak pada Tabel 4.31 sebagai berikut:

Tabel 4.31 Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3 x 24 Jam

formulasi kombinasi	N	Subset for alpha = 0.01				
		1	2	3	4	5
P2	4	a				
P1	4		b			
P4	4		b	C		
P8	4		b	C		
P3	4		b	C	d	
P5	4			C	d	
P7	4				d	e
P6	4					e
Sig.		1.000	.033	.049	.022	.072

Data uji Duncan 1% pada Tabel 4.31 menunjukkan bahwa P3, P4, P5 dan P8 tidak berbeda signifikan terhadap P1 (Cloramphenicol 0,1%) sebagai kontrol (+) penelitian, akan tetapi berbeda signifikan terhadap P2 (Aquades) sebagai kontrol (-) penelitian. P3 tidak berbeda signifikan terhadap P4, P5, P7, P8 dan P1 tetapi berbeda signifikan terhadap P6. Berdasarkan hasil penelitian uji Duncan 1% pada Tabel 4.31 dijelaskan bahwa taraf efektif perlakuan ekstrak kombinasi ketiga bahan alam tersebut untuk formulasi 1:2:3 pada pengamatan 3x24 jam konsentrasi 30% (P3) dapat diinterpretasikan sebagai konsentrasi

efektif sedangkan konsentrasi optimum pada perlakuan ekstrak adalah konsentrasi 60% (P6) dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*. Potensi formulasi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angin, rimpang Kunyit terhadap bakteri *Bacillus subtilis* secara in vitro, disajikan pada Tabel Data hasil pengamatan disusun dalam bentuk Tabel. Adapun pengamatan selama 3x24 jam yang dilakukan didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 4. 32 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Kombinasi 1:2:3

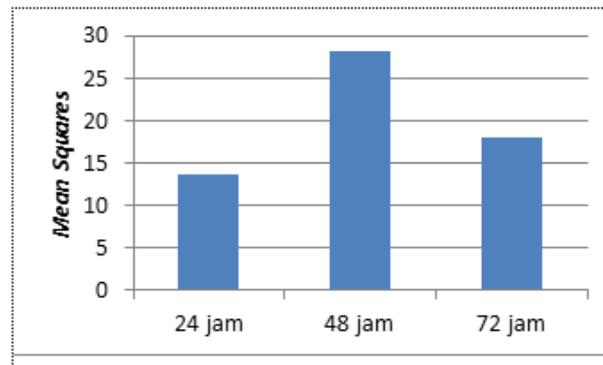
Perlakuan Kombinasi Ekstrak 1:2:3	Rerata Zona Hambat mm		
	24 jam	48 jam	72 jam
<i>Chloramfenicol</i> (+)	2.57	2.99	2.74
Aquades (-)	0	0	0
30%	4.74	6.64	4.27
40%	5.11	6.34	3.39
50%	3.65	5.37	4.79
60%	5.05	6.42	7.04
70%	5.73	7.92	5.87
80%	3.67	2.57	3.87

Data formulasi kombinasi 1:2:3 dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada Tabel 6:51 selanjutnya dilanjutkan dengan analisis varians. Formulasi kombinasi 1:2:3 menekankan pada kombinasi rimpang kunyit sebagai komponen kombinasi yang paling dominan, sebagai perbandingan respon daya hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yang lebih baik Tabel 4.24 sebagai berikut:

Tabel 4. 33 Rekapitulasi Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Kombinasi 1:2:3

	24 jam		48 jam		72 jam	
	Sum of Squares	Sig.	Sum of Squares	Sig.	Sum of Squares	Sig.
Between Groups	95.488	,000	198.782	,000	125.567	,000
Within Groups	29.579		40.320		18.723	
Total	125.067		239.102		144.290	

Nilai *mean square* dalam bentuk diagram pada Gambar 4.3 memperkuat data hasil analisis pada Tabel 4.23



**Gambar 4.3 Mean Square Formula Kombinasi 1:2:3
*Bacillus subtilis***

Formulasi kombinasi ekstrak 1:2:3 daun Tambora, daun Sembalit Angin, dan rimpang Kunyit berpengaruh signifikan terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada signifikansi 1%, pada waktu perlakuan 1x24 jam, 2x24 jam dan 3x24 jam. Signifikansi dipertegas dengan perbandingan *mean square* bahwa inkubasi 2x24 jam lebih besar

d. Data Perlakuan Formulasi Kombinasi Bioherbal Ekstrak Metanol Daun Tambora (*Ageratum conyzoides* L), Daun Sembalit Angin(*Mussaenda frondosa*) Dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) Terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis* Pada Kombinasi 2 : 1 :3

Formulasi kombinasi yang keempat yaitu formulasi kombinasi dengan perbandingan 2:1:3 dan dilakukan pengamatan 1x24jam, 2x24 jam dan 3x24 jam. Pengamatan melihat besarnya zona hambat yang terbentuk di atas medium dasar NA yang telah ditumbuhi bakteri *Bacillus subtilis* didapatkan hasil sebagai berikut: Formulasi kombinasi 2:1:3 daun Tambora, daun Sembalit Angin, rimpang Kunyit terhadap bakteri *Bacillus subtilis* secara in vitro.

1) **Data Hasil Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 1x 24 Jam**

Data hasil pengamatan zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada medium dasar Nutrien agar (NA) dengan waktu pengamatan 24 jam ditunjukkan pada Tabel 4.34 sebagai berikut:

Tabel 4.34 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 1 x 24 Jam

Perlakuan	Ulangan				Σ mm	Rata-Rata mm
	I	II	III	IV		
P1 Kontrol (+)	3.18	3.24	2.27	2.54	11.23	2.81
P2 Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0
P3 (30%)	6.02	3.71	5.66	6.58	21.97	5.49
P4 (40%)	4.58	5.17	4.49	4.87	19.11	4.78
P5 (50%)	6.64	3.56	3.24	3.94	17.38	4.35
P6 (60%)	2.82	3.24	3.22	5.09	14.37	3.59
P7 (70%)	2.75	4.08	5.41	2.73	14.97	3.74
P8 (80%)	4.62	7.35	8.39	1.64	22	5.5
Jumlah	30.61	30.35	32.68	27.39	121.03	30.26
Rata-Rata	3.83	3.79	4.09	3.42	15.13	3.78

Data rekapitulasi pada Tabel 4.34 di atas dengan 4 kali pengulangan yang di mana hasil rata-rata dari pengulangan pertama 3.83 mm rata-rata pengulangan yang ke dua yaitu: 3.79 mm selanjutnya pengulangan ketiga 4.09 mm dan pengulangan terakhir memiliki rata-rata 3.42 mm. Tahap berikutnya adalah untuk mengetahui signifikansi pengaruh variable dalam penelitian yaitu dengan uji statistik ANAVA sebagaimana yang disusun dalam Tabel 4.35 berikut

Tabel 4.35 Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 1 x 24 Jam

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	89.904	7	12.843	6.374	.000
Within Groups	48.361	24	2.015		
Total	138.265	31			

Hasil analisis varian yang ditunjukkan Tabel 4.35 di atas menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 6.374 dengan $-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka hipotesis penelitian H_1 diterima sedangkan H_0 ditolak pada taraf signifikan 1% Data tersebut dapat diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

selanjutnya untuk mengetahui signifikansi dari pengaruh setiap taraf perlakuan penelitian yang dilakukan dengan uji Duncan dengan lama masa inkubasi 1 x 24 jam, sebagaimana yang tampak pada Tabel 4.36 sebagai berikut:

Tabel 4.36 Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 1 x 24 Jam

Formulasi Kombinasi	N	Subset for alpha = 0.01	
		1	2
P2	4	a	
P1	4		B
P6	4		B
P7	4		B
P5	4		B
P4	4		B
P3	4		B
P8	4		B
Sig.		1.000	.026

Berdasarkan data hasil pengamatan pada Tabel 4.36 menunjukkan hasil bahwa P3, P4, P5, P6, P7 dan P8 tidak berbeda signifikan terhadap P1 (Cloramphenicol 0,1%) sebagai kontrol (+) penelitian, tetapi berbeda signifikan terhadap P2 (aquades) sebagai Kontrol (-) penelitian. Taraf perlakuan ekstrak kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit untuk formulasi kombinasi 2:1:3 pada pengamatan 1x24 jam menunjukkan bahwa konsentrasi 30% (P3) tidak berbeda signifikan terhadap seluruh konsentrasi perlakuan yang lainnya, akan tetapi berbeda signifikan jika dibandingkan dengan kontrol (-) penelitian berdasarkan uji Duncan 1% pada Tabel 4.30 dapat dijelaskan bahwa konsentrasi efektif perlakuan ekstraksi kombinasi ketiga bahan alam tersebut pada waktu pengamatan 1x24 jam yaitu pada konsentrasi 30% (P3) dan konsentrasi optimum adalah konsentrasi 80% (P8) dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*.

2) Data Hasil Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2 x 24 Jam

Pengamatan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* selanjutnya dengan lama masa inkubasi 2x24 jam pada formulasi kombinasi 2:1:3 didapatkan data hasil pengukuran menggunakan jangka sorong yang disajikan dalam bentuk Tabel 4.37 sebagai berikut:

Tabel 4.37 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2 x 24 Jam

Perlakuan	Ulangan				Σ mm	Rata-Rata mm
	I	II	III	IV		
P1 Kontrol (+)	3.24	1.54	2.34	2.64	9.76	2.44
P2 Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0
P3 (30%)	8.24	6.04	9.24	7.24	30.76	7.69
P4 (40%)	10.94	10.34	6.84	10.44	38.56	9.64
P5 (50%)	8.74	7.14	5.04	6.54	27.46	6.87
P6 (60%)	4.44	6.04	6.24	7.24	23.96	5.99
P7 (70%)	4.44	7.74	5.04	7.04	24.26	6.07
P8 (80%)	7.54	5.14	15.04	14.44	42.16	10.54
Jumlah	47.58	43.98	49.78	55.58	196.92	49.23
Rata-Rata	5.95	5.49	6.22	6.95	24.62	6.15

Data rekapitulasi pada Tabel 4.37 di atas dengan 4 kali pengulangan yang di mana hasil rata-rata dari pengulangan pertama 5.95 mm rata-rata pengulangan yang ke dua yaitu: 5.49 mm selanjutnya pengulangan ketiga 6.22 mm dan pengulangan terakhir memiliki rata-rata 6.95 mm. Tahap berikutnya adalah untuk mengetahui signifikansi pengaruh variable dalam penelitian yaitu dengan uji statistik ANAVA sebagaimana yang disusun dalam Tabel 4.38 berikut:

Tabel 4. 38 Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2 x 24 Jam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	343.817	7	49.117	10.725	.000
Within Groups	109.915	24	4.580		
Total	453.732	31			

Hasil analisis varian yang ditunjukkan Tabel 4.38 di atas menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 10.725 dengan $-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka hipotesis penelitian H_1 diterima sedangkan H_0 ditolak pada taraf signifikan 1% Data tersebut dapat diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angindan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

selanjutnya untuk mengetahui signifikansi dari pengaruh setiap taraf perlakuan penelitian yang dilakukan dengan uji Duncan dengan lama masa inkubasi 2 x 24 jam, sebagaimana yang tampak pada Tabel 4.39 sebagai berikut:

Tabel 4. 39 Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2 x 24 Jam

formulasi kombinasi	N	Subset for alpha = 0.01		
		1	2	3
P2	4	a		
P1	4	a	B	
P6	4		B	c
P7	4		B	c
P5	4		B	c
P3	4			c
P4	4			c
P8	4			c
Sig.		.120	.012	.012

Hasil uji Duncan pada Tabel 4.39 bahwa P5, P6 dan P7 tidak berbeda signifikan terhadap P1(Cloramphenicol 0,1%) sebagai kontrol (+) penelitian dan berbeda signifikan terhadap P2 (Aquades) sebagai kontrol (-) penelitian. sedangkan P3, P4 dan P8 berbeda signifikan terhadap P1(Cloramphenicol 0,1%). Taraf perlakuan ekstrak kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angindan rimpang Kunyit untuk formulasi kombinasi 2:1:3 pada pengamatan 2x24 jam bahwa konsentrasi efektif yaitu konsentrasi 30% (P3), sedangkan konsentrasi 80%

(P8) merupakan konsentrasi yang optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

3) Data Hasil Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3 x 24 Jam

Pengamatan terakhir pada formulasi kombinasi 2:1:3 pada kombinasi ketiga bahan alam tersebut, dengan lama masa inkubasi 72 jam didapatkan data yang disusun dalam bentuk Tabel 4.40 berikut:

Tabel 4. 40 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3 x 24 Jam

Perlakuan	Ulangan				Σ mm	Rata-Rata mm
	I	II	III	IV		
P1 Kontrol (+)	2.14	2.04	2.64	1.04	7.86	1.97
P2 Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0
P3 (30%)	10.54	11.34	8.54	7.84	38.26	9.57
P4 (40%)	4.64	4.74	3.14	5.24	17.76	4.44
P5 (50%)	8.94	3.14	4.74	4.24	21.06	5.27
P6 (60%)	4.34	4.94	4.34	5.84	19.46	4.87
P7 (70%)	3.6	4.14	1.54	2.84	12.12	3.03
P8 (80%)	6.74	5.04	9.04	6.74	27.56	6.89
Jumlah	40.94	35.38	33.98	33.78	144.08	36.02
Rata-Rata	5.12	4.42	4.25	4.22	18.01	4.50

Data rekapitulasi pada Tabel 4.40 di atas dengan 4 kali pengulangan yang di mana hasil rata-rata dari pengulangan pertama 5.12 mm rata-rata pengulangan yang ke dua yaitu: 4.42 mm selanjutnya pengulangan ketiga 4.25 mm dan pengulangan terakhir memiliki rata-rata 4.22 mm. Tahap berikutnya adalah untuk mengetahui signifikansi pengaruh variable dalam penelitian yaitu dengan uji statistik ANAVA sebagaimana yang disusun dalam Tabel 4.41 berikut:

Tabel 4.41 Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3 x 24 Jam

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	243.702	7	34.815	18.695	.000
Within Groups	44.693	24	1.862		
Total	288.395	31			

Hasil analisis varian yang ditunjukkan Tabel 4.41 di atas menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 18.695 dengan $-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka hipotesis penelitian H_1 diterima sedangkan H_0 ditolak pada taraf signifikan 1% Data tersebut dapat diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angindan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

selanjutnya untuk mengetahui signifikansi dari pengaruh setiap taraf perlakuan penelitian yang dilakukan dengan uji Duncan dengan lama masa inkubasi 3x 24 jam, sebagaimana yang tampak pada Tabel 4.42 sebagai berikut:

Tabel 4.42 Hasil Uji Duncan 1% Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3x 24 Jam

Formulasi Kombinasi	N	Subset for alpha = 0.01				
		1	2	3	4	5
P2	4	a				
P1	4	a	b			
P7	4		b	c		
P4	4		b	c	d	
P6	4			c	d	
P5	4			c	d	
P8	4				d	e
P3	4					e
Sig.		.053	.022	.043	.027	.011

Data hasil uji Duncan pada Tabel 4.42 menunjukkan hasil P4, P5, P6 dan P7 tidak berbeda signifikan terhadap P1 (Cloramphenicol 0,1%) sebagai kontrol (+), akan tetapi P1(Cloramphenicol 0,1%) tidak berbeda signifikan terhadap P2 (Aquadres) sebagai kontrol (-) penelitian. P5, P6 dan P8 tidak berbeda signifikan terhadap P4, tetapi P3 berbeda signifikan terhadap P1(Cloramphenicol 0,1%). Taraf konsentrasi efektif dan optimum perlakuan ekstrak kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit untuk formulasi kombinasi 2:1:3 pada pengamatan 3x24 jam adalah konsentrasi 30% (P3) dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*. Potensi formulasi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angin, rimpang Kunyit terhadap bakteri *Bacillus subtilis* secara in vitro, disajikan pada Tabel Data hasil pengamatan disusun dalam bentuk Tabel. Adapun pengamatan selama 3x24 jam yang dilakukan didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 4. 43 Rekapitulasi Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Kombinasi 2:1:3

Perlakuan Kombinasi Ekstrak 2:1:3	Rerata Zona Hambat mm		
	24 jam	48 jam	72 jam
<i>Chloramfenicol</i> (+)	2.81	2.44	1.97
Aquadres (-)	0	0	0
30%	5.50	7.69	9.57
40%	4.78	9.64	4.44
50%	4.35	6.87	5.27
60%	3.60	5.99	4.87
70%	3.75	6.07	3.03
80%	5.50	10.54	6.89

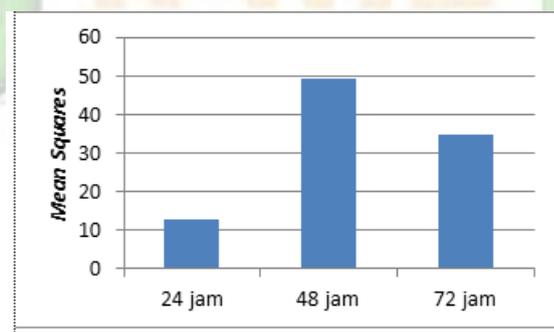
Data formulasi kombinasi 1:2:3 dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* selanjutnya sebagaimana data perlakuan kombinasi lainnya dilanjutkan dengan analisis varians, dengan tujuan untuk mengetahui

pengaruh perlakuan penelitian. Data hasil analisis varians satu jalur disajikan pada Tabel 4. 44.

Tabel 4. 44 Rekapitulasi Hasil Analisis Varians Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Kombinasi 2:1:3

	24 jam		48 jam		72 jam	
	Sum of Squares	Sig.	Sum of Squares	Sig.	Sum of Squares	Sig.
Between Groups	89.904	,000	343.817	,000	243.702	,000
Within Groups	48.361		109.915		44.693	
Total	138.265		453.732		288.395	

Berdasarkan rekapitulasi hasil analisis statistik menunjukkan formulasi kombinasi 2:1:3 daun Tambora, daun Sembalit Angin, rimpang Kunyit berpengaruh signifikan, dibuktikan dengan nilai Sig. $0.000 < 0.01.$, baik pada waktu inkubasi 24 jam, 48 jam, maupun 72 jam. Akan tetapi, jika dilihat dari perbandingan nilai *mean squares* (Gambar 4.4), masa inkubasi 48 jam memiliki nilai *mean* yang lebih besar dibandingkan waktu inkubasi lainnya.



Gambar 4. 4 Mean Square Formula Kombinasi 2:1:3 *Bacillus subtilis*

Signifikansi formulasi kombinasi ekstrak 2:1:3 dipertegas dengan perbandingan *mean square*. Perbandingan *mean square* memberikan fakta masa inkubasi 3x24 jam memiliki perbedaan capaian optimalisasi pengaruh variabel

jauh lebih besar dibandingkan 1x24 jam dan 2x24 jam, sehingga hasilnya dapat dijadikan barometer penentuan konsentrasi yang paling efektif dalam formulasi. Formulasi kombinasi ekstrak 2:1:3 daun Tambora, daun Sembalit Angin, dan rimpang Kunyit berpengaruh signifikan terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada signifikansi 1%, pada waktu perlakuan 1x24 jam, 2x24 jam dan 3x24 jam (Tabel 4.44). Signifikansi dipertegas dengan perbandingan *mean square* bahwa inkubasi 2x24 jam lebih besar

2. Hasil Penelitian Tahap II (Pengembangan Buku Referensi tentang ekstraksi menggunakan Model pengembangan ADDIE)

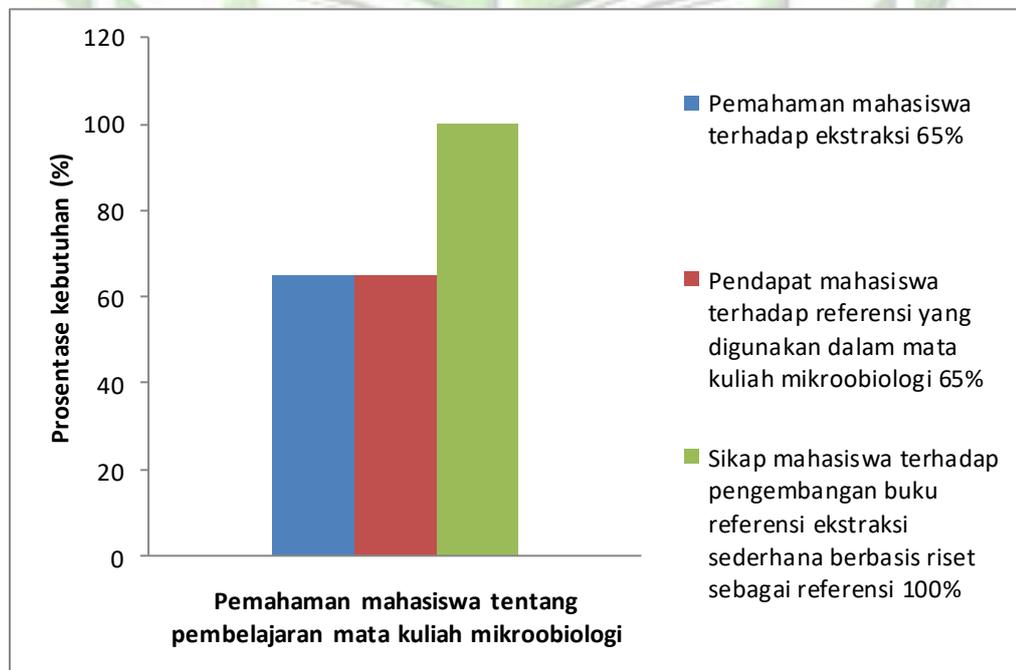
Pengembangan buku referensi tentang ekstraksi terkait hasil penelitian didukung dengan telaah beberapa referensi relevan, baik yang bersumber dari artikel, buku yang mendukung, dan hasil penelitian terkait. Pengembangan buku referensi tentang ekstraksi ini berpatokan pada model ADDIE di mana tahap dari model tersebut meliputi *Analysis, Design, Development, Implementation* dan *Evaluation* (Tegeh, 2003) yang dapat dijelaskan sebagai berikut:

1) Tahap Analisis (*Analysis*)

Tahap pertama yaitu tahap analisis yang di mana pada tahap ini dilakukan analisis kebutuhan untuk dapat melihat seberapa perlu pengembangan buku referensi, yang di mana diawali dengan analisis kelayakan pengembangan yang berawal dari permasalahan yang muncul sebelumnya, proses pengembangan disesuaikan dengan kebutuhan pengembangan (Mc. Griff, 2000). Pembuatan buku referensi ini diolah berdasarkan sumber belajar, karena pada dasarnya buku referensi berbasis

hasil riset ini termasuk katagori bahan bacaan non teks yang tertulis dalam standar isi, akan tetapi penyusunan tetap memperhatikan keterkaitan dengan tujuan pendidikan nasional.

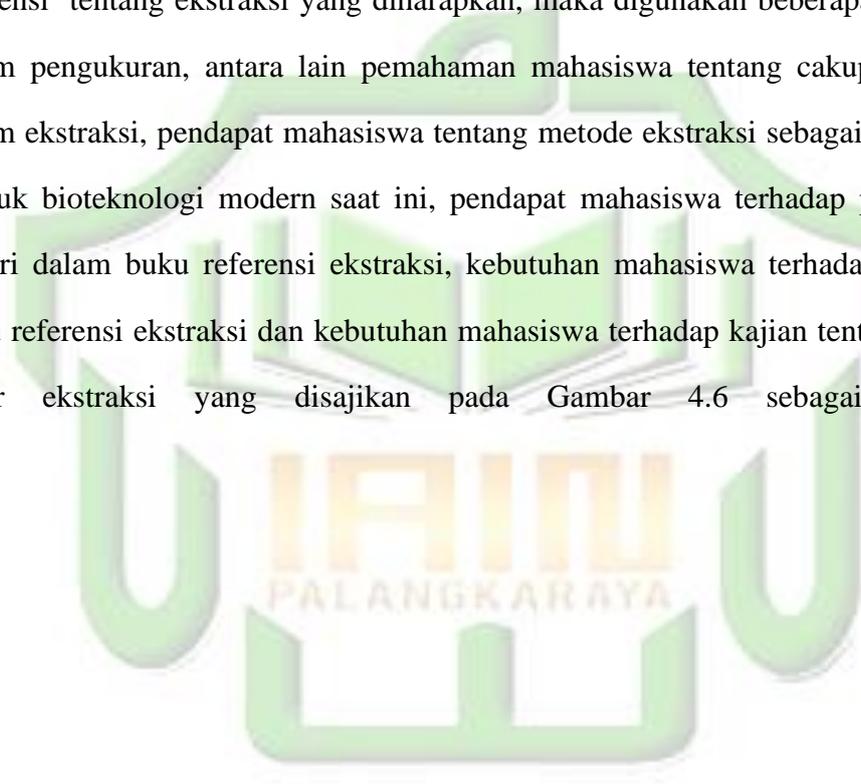
Tahap analisis kebutuhan adalah tahap mencatat kebutuhan pembaca terkait bahan bacaan atau referensi tentang ekstraksi, dalam mata kuliah Mikrobiologi pada Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan MIPA IAIN Palangka Raya, mencakup kebutuhan terhadap referensi keilmuan terkait, kesediaan referensi dan sumber belajar sebelumnya. Hasil analisis kebutuhan pada aspek pengukuran pemahaman mahasiswa terhadap materi ekstraksi mata kuliah Mikrobiologi tampak pada Gambar 4. 5 berikut:



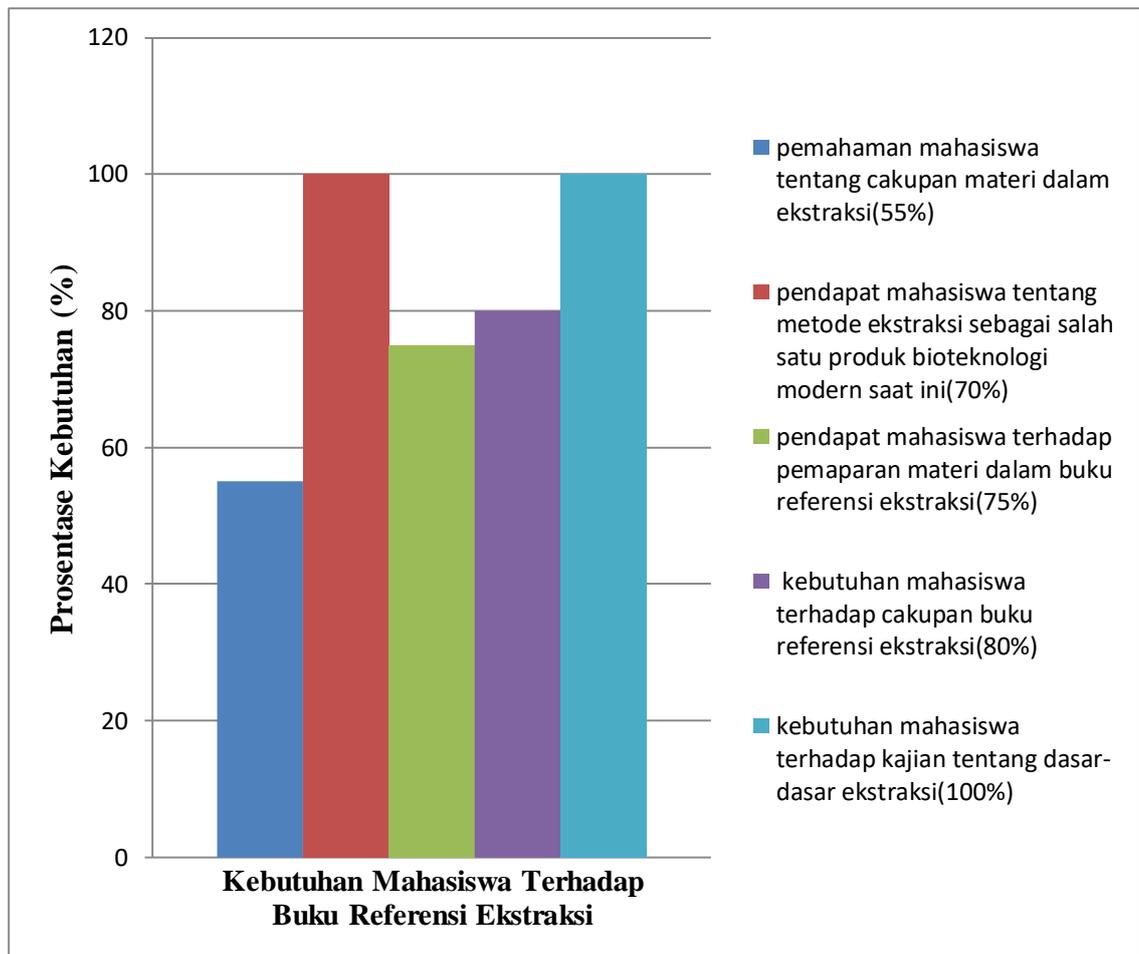
Gambar 4.5 Hasil Pemahaman Tentang Pembelajaran Mata Kuliah Mikrobiologi

Hasil analisis kebutuhan yang terdapat pada Gambar 4.5 diatas menunjukkan sebesar 65.00% responden menyatakan materi terkait ekstraksi merupakan materi yang sangat penting untuk dipelajari secara spesifik, 65.00% berpendapat bahwa referensi tentang ekstraksi terbatas dan sulit didapatkan dan secara keseluruhan (100%) responden menyatakan setuju untuk dilakukanya pengolahan buku referensi terkait materi ekstraksi berbasis hasil riset.

Semua itu digunakan untuk mengetahui kebutuhan mahasiswa terkait buku referensi tentang ekstraksi yang diharapkan, maka digunakan beberapa indikator dalam pengukuran, antara lain pemahaman mahasiswa tentang cakupan materi dalam ekstraksi, pendapat mahasiswa tentang metode ekstraksi sebagai salah satu produk bioteknologi modern saat ini, pendapat mahasiswa terhadap pemaparan materi dalam buku referensi ekstraksi, kebutuhan mahasiswa terhadap cakupan buku referensi ekstraksi dan kebutuhan mahasiswa terhadap kajian tentang dasar-dasar ekstraksi yang disajikan pada Gambar 4.6 sebagai berikut:



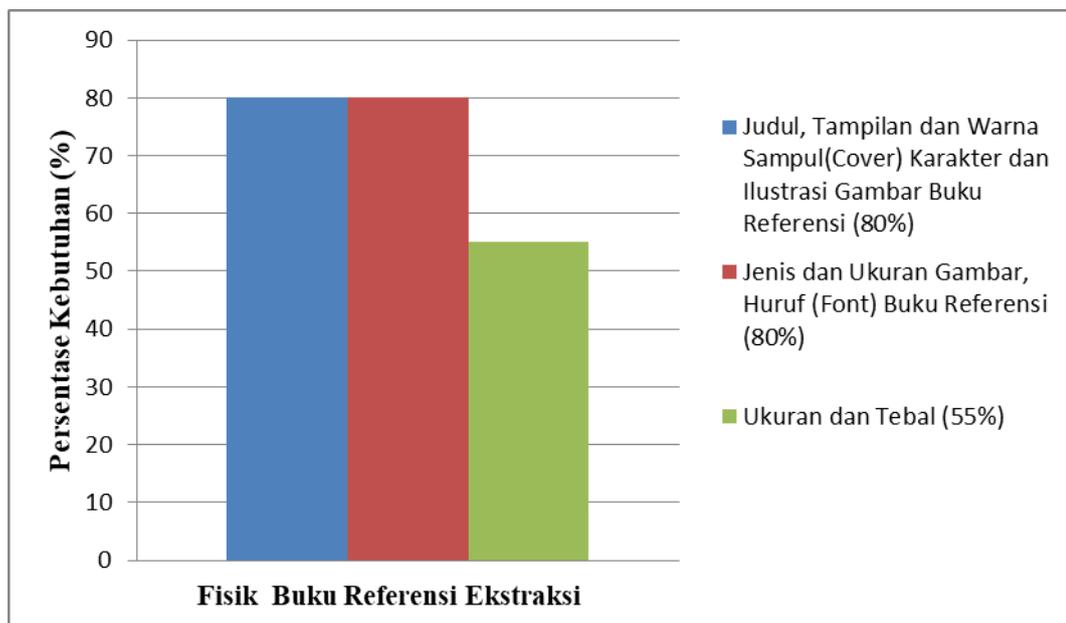
IAIN
PALANGKARAYA



Gambar 4.6 Hasil Analisis kebutuhan Buku Referensi Tentang Ekstraksi yang diharapkan

Berdasarkan data diatas terkait tentang analisis kebutuhan mahasiswa terhadap buku referensi tentang ekstraksi pada Gambar 4.6 didapatkan bahwa 55,00% responden berpendapat bahwa buku referensi mencakup materi tentang metode-metode yang digunakan dalam ekstraksi. Pada aspek ini didapat persentase sedikit agak rendah dikarenakan responden cukup bervariasi sehingga didapatkan persentase yang sedikit rendah. Respon dari responden 70,00% yang berpendapat bahwa metode ekstraksi sebagai salah satu produk bioteknologi modern yang ada pada saat ini. Akan tetapi, 100% responden

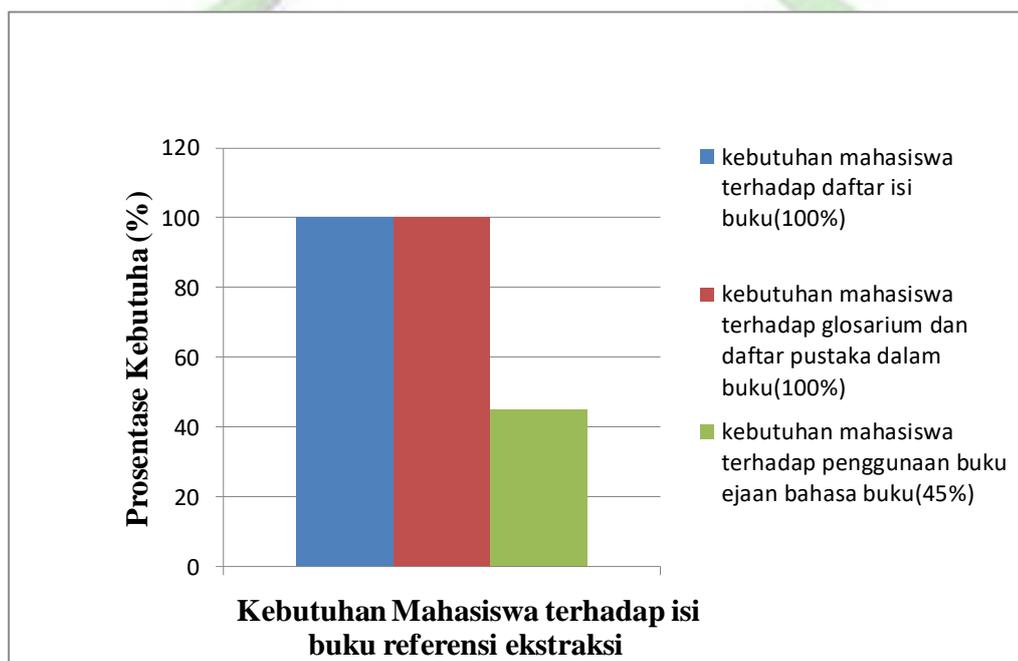
menyatakan setuju untuk dilakukan pengembangan metode ekstraksi. Kejelasan dari pemaparan materi dalam buku referensi tentang ekstraksi diharapkan singkat dan padat(75%). Cakupan isi materi pada buku referensi yang terkait ekstraksi diharapkan 80% responden bersifat spesifik dan dilengkapi dengan contoh sebesar (100%) responden mengatakan perlu ditambahkan kajian tentang dasar-dasar ekstraksi.



Gambar 4.7 Hasil Analisis Kebutuhan Fisik Buku Referensi Ekstraksi

Hasil analisis kebutuhan terhadap fisik buku referensi ekstraksi yang diharapkan ada pada Gambar 4.7 di atas bahwa 65,00% responden mengharapakan buku referensi berwarna lembut dan tidak mencolok, menyajikan buku referensi yang dilengkapi gambar-gambar dengan warna yang minimalis, cover buku referensi yang dibuat diharapkan mengandung satu gambar yang spesifik yang berhubungan dengan formulasi kombinasi yang bekerja efektif dalam menghambat bakteri pathogen dan dilengkapi dengan gambaran isi buku pada cover belakang buku.

Berdasarkan jenis dan ukuran gambar, serta huruf (font) buku referensi yang diharapkan sebesar 70,00%, responden mengharapkan buku dalam ukuran standard/sedang(Size 60) dengan menggunakan huruf *times new roman*, dan 55,00% responden berpendapat bahwa buku referensi tentang ekstraksi yang disusun cukup dalam rentang 50-100 halaman. Berdasarkan data hasil analisis kebutuhan tersebut disimpulkan bahwa pengembangan buku referensi tentang ekstraksi berdasarkan hasil penelitian penting dilakukan. Terkait isi buku referensi berbasis riset diharapkan,tampak pada Gambar 4.8 sebagai berikut:



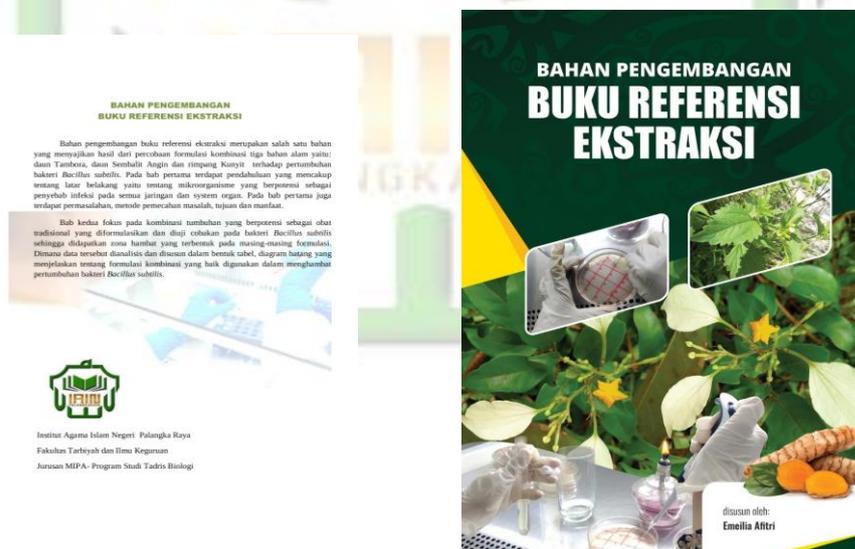
Gambar 4.8 Hasil Analisis Kebutuhan Isi Buku Referensi Tentang Ekstraksi

Data hasil analisis kebutuhan yang mengacu pada indikator isi buku referensi tentang ekstraksi yang diharapkan ada pada Gambar 4.8 di atas menunjukkan bahwa 100% respon dari mahasiswa tentang daftar isi, daftar pustaka dan

glosarium. Selain itu buku referensi juga disusun dan diharapkan memiliki penulisan dengan menggunakan ejaan bahasa Indonesia yang baku dan sesuai EYD (45%). pengembangan buku referensi tentang ekstraksi diharapkan dapat menjadi tambahan referensi dalam mata kuliah Mikrobiologi khususnya pada materi ekstraksi.

2) Desain (*Design*)

Data hasil penelitian yang didapatkan oleh peneliti di laboratorium dan data hasil analisis kebutuhan yang diambil pada mata kuliah Mikrobiologi, yang selanjutnya dikembangkan menjadi pembelajaran dalam bentuk buku referensi tentang ekstraksi. Desain cover dibuat dengan latar tumbuhan Sembalit Angin, yang dikombinasikan dengan tumbuhan Tambora, rimpang Kunyit dan perlakuan yang ada di tahap I. Hasil rancangan desain buku referensi disajikan pada gambar 4.9 sebagai berikut:



Gambar 4.9 Desain Cover Buku Referensi

Tahap desain merupakan tahap perancangan secara sistematis meliputi kerangka produk, evaluasi produk dengan cara mengidentifikasi berbagai referensi yang nantinya digunakan dalam penyusunan buku referensi. Tahap desain terdiri dari dua tahap yaitu :

- Tahap perancangan, merupakan tahap penentuan gambaran kerangka materi yang dibutuhkan dalam pengembangan sebuah produk yang disesuaikan dengan hasil analisis kebutuhan selanjutnya dideskripsikan dan disesuaikan dengan kedalaman dan keluasan materi, kebahasaan dan penyapaian.

Perancangan buku referensi disesuaikan dengan analisis kebutuhan terkait ruang lingkup materi dalam mikrobiologi utamanya adalah ekstraksi. Demikian juga dengan metode ekstraksi yang dianggap penting untuk dimasukkan dalam cakupan materi. Pemaparan materi dalam buku referensi harus dilakukan secara singkat dan padat, dilengkapi dengan contoh secara lebih spesifik.

- Tahap desain produk merupakan tahap penetapan penulisan secara Gambaran garis besar desain buku referensi yang dilengkapi ilustrasi dan Tabel yang disesuaikan dengan kebutuhan, desain buku referensi tentang ekstraksi adalah sebagai berikut:

- a. Bagian Pendahuluan
Bagian pendahuluan buku referensi menggambarkan ringkasan yang terdapat pada isi buku secara keseluruhan. Bagian pendahuluan meliputi bagian cover (Sampul depan), kata pengantar, daftar isi, daftar tabel, daftar Gambar, daftar lampiran
- b. Bagian Isi
Bagian isi buku referensi mencakup materi tentang ekstraksi yaitu definisi ekstraksi, metode-metode ekstraksi dan dilengkapi hasil riset. Jenis dan ukuran Gambar, serta huruf (Font) buku referensi menggunakan ukuran standar/ sedang (size 60) dengan huruf *times new roman* dan disusun dalam rentang 50-100 halaman. Ejaan dan tanda baca buku referensi sesuai EYD.
- c. Bagian Penutup
Bagian penutup terdiri dari daftar rujukan. Berdasarkan hasil analisis kebutuhan pada bagian belakang fisik buku referensi responden menyarankan ringkasan isi buku secara singkat.

Pembagian konsep materi yang ada dalam buku referensi disesuaikan dengan hasil penelitian di laboratorium. Isi dari buku referensi dan kedalaman materinya disesuaikan dengan capaian pembelajaran Mata kuliah mikrobiologi hasil pembagian isi buku referensi dan desain materi sebagai berikut.

HALAMAN JUDUL

UCAPAN TERIMAKASIH

PRAKATA

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL

DAFTAR GAMBAR

BAB I PENDAHULUAN

- A. Latar Belakang
- B. Permasalahan
- C. Metode Pemecahan Masalah
- D. Tujuan
- E. Manfaat

BAB II METODE EKSTRAKSI

- A. Maserasi
- B. Perkolasi
- C. Refluks
- D. Soxhletasi
- E. Infusa
- F. Dekoktasi
- G. Destilasi
- H. Lawan arah (*counter current*)
- I. Ultrasonik
- J. Gelombang mikro
- K. Ekstraksi gas superkriti

BAB III TEKNIK PENGUAPAN DAN PENGERINGAN

- A. Penguapan
 - 1. Metode Pemanas Air
 - 2. Metode Oven
 - 3. Metode Hotplate
 - 4. Metode Evaporator Tabung
- B. Metode Pemanas Air
 - 1. Pengeringan Beku(*freezedryer*)
 - 2. Pengeringan semprot (*spraydryer*)

BAB IV TEKNIK PEMISAHAN

1. Ekstraksi Cair-cair
2. Kromatografi Kertas
3. Kromatografi Lapis Tipis
4. Kromatografi Lapis Tipis Densitometer
5. Kromatografi Kolom
6. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
7. Kromatografi Gas-Cair

BAB V PROSEDUR OPERASIONAL PEMISAHAN EKSTRAKSI

1. Ekstraksi Cair-cair
2. Kromatografi Kertas
3. Kromatografi Lapis Tipis
4. Kromatografi Lapis Tipis Densitometer
5. Kromatografi Kolom
6. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
7. Kromatografi Gas-Cair

BAB VI FORMULASI KOMBINASI BAHAN ALAM TERHADAP MIKROBA PENYEBAB INFEKSI

REFERENSI

Gambar 4.10 Pemetaan Isi dan Desain Buku Referensi

Desain dalam buku referensi menggunakan format sebagai berikut:

- a. Buku referensi berbasis hasil riset dicetak dengan ukuran kertas A5 sesuai standar ketetapan oleh Ristek DIKTI untuk buku referensi.
- b. Menggunakan jenis *font* Times New Roman dengan ukuran 12 dan *line spacing* sebesar 1,5.
- c. Buku referensi terdiri atas 128 halaman sudah termasuk cover dan daftar pustaka.
- d. Gambar yang disajikan merupakan Gambar berwarna
- e. Materi buku referensi merupakan hasil dari riset dan analisis kebutuhan referensi pembelajaran materi ekstraksi di tingkat perguruan tinggi.
- f. Buku referensi terdiri atas 6 bab, yaitu: Bab I pendahuluan, Bab II metode ekstraksi, Bab III teknik penguapan dan pengeringan, Bab IV teknik

pemisahan, Bab V prosedur oprasional pemisahan ekstraksi dan Bab VI formulasi kombinasi bahan alam terhadap mikroba penyebab infeksi.

3) **Tahap Pengembangan** (*Development*)

Tahap pengembangan dilakukan dengan cara membuat, mengembangkan dan memodifikasi sumber atau referensi sebelumnya yang diselaraskan dengan tujuan pengembangan buku referensi dan disesuaikan dengan target untuk mencapai solusi permasalahan yang muncul pada tahap pertama yaitu analisis. Pengembangan buku referensi dilakukan dengan beberapa tahap revisi dan penyusunan produk secara berulang sampai buku referensi ini dinyatakan layak dan teruji (valid dan dapat digunakan) oleh validator ahli untuk diujikan ke lapangan secara langsung.

Pada tahap implementasi terdapat proses validasi yang di mana meliputi validasi isi (materi) dan validasi media (desain).

- a. Validasi isi (Materi), pada validasi ini menggunakan angket uji coba produk terkait isi (materi) dan kesesuaian materi buku referensi. Angket ini mencakup komponen kelayakan isi yang meliputi cakupan materi, ketepatan materi, kemutahiran, merangsang keingin tahuan, keahlian akademik dan mengandung wawasan kontekstual.
- b. Validasi media (Desain), validasi ini menggunakan angket uji coba produk terkait media dan desain buku referensi. Angket validasi media (desain) disusun berdasarkan komponen kebahasaan dan penyajian. Pada komponen kebahasaan meliputi kesesuaian dengan tahap tahap pengembangan, komunikatif, dialogis, interaktif, dan ketepatan dalam

penggunaan bahasa. Sedangkan pada komponen penyajian meliputi teknik penyajian, pendukung penyajian materi dan penyajian buku referensi.

Validasi isi dan media(desain) melibatkan dua orang ahli, yang terdiri dari Abu Yajid Nukti, M.Pd Dan Nur Inayah Syar, M.Pd Sebagai validator ahli materi dan media (desain) data yang diperoleh berupa penilaian pendapat dan saran terkait keunggulan dan kelemahan buku referensi yang disusun, serta kesesuaian materi buku referensi yang telah dikembangkan.

a. Analisis Deskripsi Kuantitatif Pengembangan Buku Referensi

Pemaparan uraian kuantitatif dalam pengembangan buku referensi bertujuan untuk mengetahui komentar dan pendapat validator ahli atas penilaian produk, sebagaimana disajikan dalam bentuk Tabel 4.45 sebagai berikut:

Tabel 4.45 Data Hasil Validasi Pengembangan Buku Referensi berdasarkan Aspek Desain dan Tampilan

NO	Aspek Penilaian	Skor Maksimal	Skor yang didapat Validator
1	Ukuran Buku Referensi	100	100
2	Desain Cover Buku Referensi	100	94,29
3	Desain Isi Buku Referensi	100	94,55
Total Skor Prosentase			288,84
Rata-Rata			96,28

Data hasil penilaian yang disajikan pada Tabel 4.45 di atas, validator ahli media (Desain) dengan total skor penilaian sebesar 288,84 dan rata-rata penilaian aspek desai dan tampilan oleh validator ahli sebesar 96,28 atau dapat dikualifikasikan baik beberapa saran perbaikan dalam produk adalah perbaikan

beberapa tampilan gambar, susunan halaman ganjil genap, penulisan, keseragaman tabel dan keseragaman bingkai dalam buku referensi.

Tabel 4.46 Data Hasil Validasi Pengembangan Buku Referensi berdasarkan Aspek Kelayakan Isi atau Materi

No	Aspek Penilaian	Skor Maksimal	Skor yang didapat Validator
1	Kelayakan Isi	100	100
2	Komponen Penyajian	100	88
3	Komponen Kebahasaan	100	93,33
Total Skor Prosentase			281,33
Rata-Rata			93,78

Menurut hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 4.46 di atas, validator ahli isi (Materi) buku referensi memberi skor penilaian dengan total skor 281,33 dan rata-rata penilaian aspek isi(materi) buku referensi sebesar 93,78 atau kualifikasi sangat baik dan layak digunakan selanjutnya. Beberapa revisi terkait ketercapaian peserta didik,cakupan isis buku referensi dan menjelaskan relevansi dalam kegiatan pembelajaran, di mana hal tersebut dapat di sesuaikan dengan RPS (Rancangan Pembelajaran Mahasiswa) atau silabus.

b. Analisis Kuantitatif Pengembangan Buku Referensi

Pemaparan uraian kualitatif dalam pengembangan buku referensi bertujuan untuk mengetahui komentar dan pendapat validator ahli atas penilaian produk, sebagaimana disajikan dalam bentuk Tabel 4.47 sebagai berikut:

Tabel 4.47 Uraian Penelitian Validator Ahli atas Penilaian Produk

NO	Validator	Uraian Penilaian Validator
1.	Nur Inayah Syar, M.Pd	Perlu revisi pada bagian margin, tampilan atau kualitas gambar, font setiap judul bab
2.	Abu Yajid Nukti M.Pd	Isi atau materi produk sudah baik dan lengkap

4) **Tahap Implementasi** (*Implementation*)

Tahap implementasi merupakan tahap uji coba produk setelah produk yang dihasilkan dinyatakan layak oleh validator. Hasil penilaian terhadap kelayakan buku referensi untuk selanjutnya menjadi bahan evaluasi dan perbaikan atas pengembangan buku referensi. Buku referensi yang dinyatakan layak digunakan dan direferensikan oleh validator, selanjutnya dilakukan uji coba skala kecil atau uji coba terbatas, dengan tujuan mengevaluasi kelayakan buku referensi sebagai sumber tambahan dalam matakuliah Mikrobiologi. Uji coba kelompok kecil diberi kepada 3 orang dosen yang mengajar di Program Studi Tadris Biologi IAIN Palangka Raya. Data yang dihasilkan dari uji coba produk dalam skala kecil digunakan untuk penyempurna produk. Data hasil implementasi produk yang dinilai dari aspek kelayakan Isi (materi) disusun pada Tabel 4.39 sebagai berikut:

Tabel 4.48 Data Hasil Uji Kelayakan Isi (Materi) oleh Responden

No	Aspek yang dinilai	Skor Maksimal	Skor yang didapat		
			Responden I	Responden II	Responden III
1	Kelayakan Isi	100	96	80	84
2	Penyajian	100	96	96	80
3	Kebahasaan	100	93,33	100	80
Total Skor Prosentase			285,33	276	244
Rata-rata			95,11	92	81,33
Rata-rata keseluruhan			89,48		

Data hasil uji kelayakan isi (materi) oleh responden ada pada Tabel 4.39 di atas, yang dimana ada tiga dosen sebagai responden dari tahap implementasi ini didapatkan persentase rata-rata dari responden pertama sebesar 95,11%, responden kedua sebesar 92% dan responden ketiga memberi penilaian sebanyak 81,33% itu untuk uji kelayakan isi(materi). Untuk hasil uji kelayakan desain buku referensi disajikan pada Tabel 4. 40 sebagai berikut:

Tabel 4.49 Data Hasil Uji kelayakan Desain oleh Responden

No	Aspek yang dinilai	Skor Maksimal	Skor yang didapat		
			Responden I	Responden II	Responden III
1	Ukuran	100	100	100	80
2	Cover Buku	100	97,14	94,28	82,85
3	Isi Buku Referensi	100	98,18	90,90	86,63
Total Skor Prosentase			295,32	285,18	249,48
Rata-rata			98,44	95,06	83,16
Rata-rata keseluruhan			92,22		

Berdasarkan data hasil uji kelayakan desain pada Tabel 4.40 yang ada di atas menunjukkan bahwa rata-rata persentase dari ketiga responden sebagai berikut: responden pertama memberikan penilaian

rata-rata 98,44 selanjutnya responden kedua memberikan penilaian sebesar 95,06 dan responden yang ketiga memberikan penilaian rata-ratanya sebesar 83,16 data yang didapatkan dalam tahap implementasi ini diperbaiki di tahap selanjutnya.

5) Tahap Evaluasi (*Evaluation*)

Pada dasarnya tahapan evaluasi terjadi pada setiap tahapan dalam model pengembangan ADDIE atau biasa disebut dengan tahap evaluasi formatif, yang tujuannya untuk kebutuhan revisi disetiap tahap model pengembangan. Tahap evaluasi merupakan tahap yang digunakan untuk mengukur apakah produk yang dikembangkan sesuai dengan tahap awal perencanaan atau tidak, dengan melakukan pengelompokan data yang diperoleh dari lembar validasi dan angket. Pada tahap evaluasi dilakukan perbaikan secara keseluruhan, meliputi cover, latar belakang, isi dan desainnya. Serta berbagai masukan. Tahap ini menjadi tahap terakhir dari pengembangan buku referensi tentang ekstraksi berbasis hasil riset, dari validator dan responden merupakan sebai sasaran penggunaan buku referensi ini.

B. Pembahasan

1. Penelitian Tahap I (Eksplorasi Formulasi Kombinasi Ekstrak Metanol (*Ageratum Conyzoides* L), Daun Sembalit Angin(*Mussaenda frondosa*) dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) terhadap bakteri *Bacillus subtilis*)

Keseluruhan data pada tahap eksplorasi formulasi kombinasi ekstrak methanol daun Tambora, daun Sembalit Angindan rimpang Kunyit terhadap bakteri *Bacillus subtilis* pada penelitian ini dilakukan analisis

varians zona hambat pertumbuhan dan hasil uji Duncan 1%, meliputi data hasil pengamatan zona hambat pada masa inkubasi 1x24 jam, 2x24 jam dan 3x24 jam.

a. Formulasi Kombinasi Bioherbal Ekstrak Metanol Daun Tambora (*Ageratum Conyzoides* L), Daun Sembalit Angin (*Mussaenda frondosa*) dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) Terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* pada kombinasi 3:2:1

Pengamatan zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yang diberi perlakuan konsentrasi dalam formulasi kombinasi perbandingan 3:2:1, pada masa inkubasi 1x24 jam, 2x24 jam dan 3x24 jam. Berdasarkan hasil pengamatan diketahui terdapat kecenderungan pengaruh bahan alam dalam formulasi tertentu yang sifatnya potensial dalam menghambat pertumbuhan bakteri target. Aini dan Mardianingsih (2018) melaporkan bahwa pengkombinasian bahan alam sangat efektif dan maksimal ketika dikombinasikan dengan bahan alam lain yang memiliki khasiat sebagai obat.

1) Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* Pada 1x 24 jam

Berdasarkan pengamatan zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada waktu pengamatan 1x24 jam ditunjukkan pada Tabel 4.3 diketahui bahwa rata-rata dari ulangan pertama 3.05 mm, rata-rata ulangan dua yaitu 3.73 mm, ulangan tiga 4.08 mm dan ulangan empat memiliki rata-rata 4.43 mm. Secara keseluruhan data rata-rata zona hambat memiliki rata-rata sebesar 3.82 mm data tersebut didukung dengan signifikansi perlakuan kombinasi bioherbal ekstrak pada masa

inkubasi 1x24 jam menunjukkan nilai F_{hitung} 6.599 dengan $p - value = 0,000$. $p - value < a$ ($a = 0,01$), maka diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angindan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada masa inkubasi 1x24 jam.

Berdasarkan hasil uji Duncan 1% pada Tabel 4.3 dapat diinterpretasikan bahwa konsentrasi yang efektif dari perlakuan ekstraksi kombinasi pada masa inkubasi 1x24 jam yaitu pada konsentrasi 30% (P3), sedangkan konsentrasi yang optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* ada pada konsentrasi 40% (P4). Taraf konsentrasi 30% (P3) dan 40% (P4) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, hal tersebut membuktikan potensi bahan alam dalam formulasi kombinasi 3:2:1 yang digunakan mengandung senyawa metabolit yang cukup baik sebagai antibakteri. Formulasi kombinasi bioherbal 3:2:1 mengandung komposisi 50% ekstrak daun Tambora, 30% ekstrak daun Sembalit Angindan 20% ekstrak rimpang Kunyit, dimana daun Tambora merupakan penyusun komposisi utama dalam formulasi kombinasi tersebut. Konsentrasi 30% pada formulasi kombinasi 3:2:1 memberikan gambaran bahwa kandungan metabolit sekunder daun Tambora lebih potensial dibandingkan daun Sembalit Angindan rimpang Kunyit. Menurut Ahmad (2015) bahwa daun Tambora memiliki senyawa kimia yang terkandung seperti alkaloid, fenol, flavonoid yang potensial

sebagai antibakteri dan antioksidan. Hasil pengamatan konsentrasi efektif dan optimum ekstrak daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit untuk formulasi kombinasi 3:2:1 pada masa inkubasi 1x24 jam sejalan dengan pernyataan Aminingsih, dkk, (2012) bahwa daun tambora berpotensi sebagai antibakteri penyebab infeksi pada luka. Bakteri penyebab infeksi salah satunya adalah *Bacillus subtilis*.

2) Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* pada 2x 24 Jam

Berdasarkan pengamatan zona hambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada perlakuan formulasi kombinasi 3:2:1 dengan lama masa inkubasi 2x24 jam didapatkan hasil pengukuran yang disajikan dalam bentuk Tabel 4.6 diketahui bahwa rata-rata pada pengulangan pertama 4.26 mm, rata-rata pengulangan ke dua 3.88 mm besar pengulangan ketiga 4.87 mm dan pengulangan keempat dengan besar rata-rata 6.09 mm. Secara keseluruhan ulangan memiliki rata-rata sebesar 4.77 mm hal tersebut didukung dengan signifikansi perlakuan kombinasi bioherbal ekstrak methanol dengan lama inkubasi 2x24 jam menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 14.246 dengan $-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada masa inkubasi 2x24 jam.

Berdasarkan signifikansi hasil uji Duncan 1 % pada Tabel 4.6 dapat diinterpretasikan bahwa perlakuan ekstrak si kombinasi daun Tambora,

daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit untuk formulasi 3:2:1 pada waktu pengamatan 2x24 jam. Konsentrasi yang efektif pada konsentrasi 30% (P3) dan konsentrasi yang optimum pada taraf konsentrasi 40% (P4) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Pada masa inkubasi 2x24 jam konsentrasi yang optimum dan efektif masih sama seperti pada masa inkubasi 1x24 yang di mana dapat di jelaskan bahwa ekstraksi yang terkandung dalam kertas cakram bisa bertahan sampai masa inkubasi 2x24 jam. Hal tersebut sejalan dengan pernyataan Dwyana dan Johannes (2012) yang melaporkan bahwa besar kecil zona hambat itu dipengaruhi oleh laju difusi bahan aktif alam seperti Flavonoid yang dapat merusak atau menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif.

3) Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3x24 Jam

Berdasarkan pengamatan 3x24 jam pada formulasi kombinasi 3:2:1 direkapitulasi pada Tabel 4.9 rata-rata ulangan pertama sebesar 3,66 rata-rata ulangan kedua sebesar 3.41 selanjutnya ulangan ketiga dengan besar 4.86 dan ulangan keempat dengan rata-rata 5.5475. secara keseluruhan dari ulangan sebesar hal tersebut didukung dengan adanya analisis varian pada Tabel 4.10 bahwa nilai F_{hitung} 14.401 dengan $-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada lama inkubasi 3x24 jam.

Berdasarkan uji Duncan 1% pada Tabel 4.9 dijelaskan bahwa tingkatan konsentrasi efektif dan optimum perlakuan ekstraksi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit untuk formulasi kombinasi 3:2:1 pada masa inkubasi 3x24 jam adalah konsentrasi 40% (P4) dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*. Pada masa inkubasi 3x24 jam konsentrasi yang efektif tidak sama pada masa inkubasi 2x24 jam yang pada mulanya konsentrasi efektif dalam menghambat bakteri *Bacillus subtilis* ada pada 30% (P3) sedangkan pada masa inkubasi 3x24 jam ini ada pada konsentrasi 40%(P4). Kenaikan konsentrasi efektif dari 30% (P3) ke 40% (P4) ini dikarenakan pada konsentrasi 30% (P3) memiliki konsentrasi yang tidak pekat sehingga ia tidak dapat bertahan sampai hari ketiga sedangkan konsentrasi 40% ini memiliki konsentrasi sedikit lebih pekat dibandingkan konsentrasi 30%(P3). Sejalan dengan pendapat Hidayat dan Harjono (2017) yang menyatakan bahwa Babandotan memiliki kandungan senyawa berupa saponin, tanin, flavonoid, polifenol serta minyak atsiri yang dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut, semakin banyak dioleskan maka semakin besar pula daya hambatnya terhadap bakterinya.

Pada formulasi 3:2:1 dengan lama masa inkubasi 1x24 jam, 2x24 jam, dan 3x24 jam dari ketiga masa inkubasi tersebut bahwa pada masa inkubasi 2x24 jam memiliki nilai *mean square* lebih besar. Hal tersebut dikarenakan komposisi yang terkandung dalam formulasi yang mengandung senyawa fitokimia lebih besar seperti yang terdapat pada

daun Tambora memiliki kandungan flavonoid yang bersifat polar sehingga senyawa tersebut mudah menembus kapsul dari bakteri *Bacillus subtilis* (Ahmad, 2015).

b. Formulasi Kombinasi Bioherbal Ekstrak Metanol Daun Tambora (*Ageratum conyzoides* L), Daun Sembalit Angin (*Mussaenda frondosa*) Dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) Terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis* Pada Kombinasi 2:3:1

Perlakuan yang kedua pada formulasi kombinasi perbandingan 2:3:1 pengamatan yang dilakukan selama 1x24 jam, 2x24 jam dan 3x24 jam. Berdasarkan hasil pengamatan diketahui terdapat kecenderungan pengaruh bahan alam dalam formulasi tertentu yang sifatnya potensial dalam menghambat pertumbuhan bakteri target. Selanjutnya penelitian Gunadi (2017) yang melaporkan bahwa bahan alam yang digunakan sebagai obat biasanya dikombinasikan dengan bahan alam lainnya, agar fungsi dari ramuan obat yang diolah lebih maksimal.

1) Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* pada 1x24 jam

Berdasarkan pengamatan zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada masa inkubasi 1x24 jam direkap pada Tabel 4.14 dengan 4 kali ulangan. Ulangan Pertama memiliki rata-rata sebesar 8.33, rata-rata ulangan kedua sebesar 8.96, ulangan ketiga dengan besar rata-rata 9.53 dan ulangan keempat memiliki besar rata-rata 7.94. Secara keseluruhan ulangan memiliki besar rata-rata yaitu 8.69 mm didukung dengan adanya uji analisis varian yang disajikan pada Tabel 4.15 bahwa nilai $F_{hitung} = 27.727$ dengan $-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak

metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada lama masa inkubasi 1x24 jam.

selanjutnya dilakukan uji Duncan 1% untuk mengetahui pengaruh dari setiap taraf perlakuan penelitian. Pengamatan 1x24 jam pada Tabel 4.16 zona hambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* memiliki taraf konsentrasi yang efektif dan optimum pada perlakuan ekstraksi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit untuk formulasi kombinasi 2:3:1 pada waktu pengamatan 1x24 jam adalah pada konsentrasi 80% (P8) yang dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*. Hal tersebut dikarenakan senyawa fitokimia yang terkandung dalam formulasi kombinasi yang cukup baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, komposisi yang terkandung dalam formulasi kedua ini adalah 30% ekstrak daun Tambora, 50% ekstrak daun Sembalit Angingan 20% ekstrak rimpang Kunyit, dapat diinterpretasikan bahwa ekstrak daun Sembalit Anginyang memiliki besar pengaruh terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, Sembali Angin memiliki kandungan alkaloid dan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri. Hal tersebut sejalan dengan pernyataan Qamarin, dkk (2018) yang menyatakan bahwa tumbuhan Sembalit Angin memiliki kandungan fitokimia seperti senyawa alkaloid dan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri dan antioksidan.

2) Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2x24 Jam

Berdasarkan pengamatan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada masa inkubasi 2x24 jam untuk formulasi kombinasi 2:3:1 direkap pada Tabel 4.17 dengan 4 kali ulangan, ulangan pertama memiliki besar rata-rata 4.97 rata-rata ulangan kedua sebesar 6.26, beras rata-rata ulangan ketiga 5.87 dan ulangan keempat dengan besar rata-rata 4.58. Secara keseluruhan ulangan memiliki rata-rata sebesar 5.42 mm. Hal tersebut didukung dengan uji analisis varian yang ditunjukkan pada Tabel 4.18 bahwa nilai F_{hitung} 14.579 dengan $-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada masa inkubasi 2x24 jam.

Hal tersebut didukung dengan uji Duncan 1% pada masa inkubasi 2x24 jam yang ditunjukkan pada Table 4.17 konsentrasi yang efektif dalam perlakuan ekstraksi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit yang digunakan untuk formulasi 2:3:1 pada waktu pengamatan 2x24 jam adalah pada konsentrasasi 30%(P3) dan konsentrasi 80% (P8) dapat dijelaskan sebagai konsentrasi yang paling optimum dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada masa inkubasi 2x24 jam. Pada pengamatan kedua konsentrasi yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri ada di konsentrasi 30%(P3) sedangkan pengamatan 1x24 jam konsentrasi efektif ada pada konsentrasi 80% (P8), hal tersebut dapat dipengaruhi oleh senyawa kimia yang terkandung di dalam daun

Sembalit Angin seperti alkaloid dan flavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Selain itu, dapat dipengaruhi juga oleh laju difusi dari kertas cakram yang digunakan sebagai metode dalam melakukan pengamatan. Sejalan dengan penelitian Dwyana dan Johannes (2012) yang melaporkan bahwa besar kecilnya zona hambatan dapat dipengaruhi oleh cepatnya pertumbuhan mikroorganisme dan laju difusi bahan aktif.

3) Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3x 24 Jam

Berdasarkan pengamatan 3x24 jam pada formulasi kombinasi 2:3:1 direkap pada Tabel 4.20 dengan 4 kali ulangan, besar rata-rata ulangan pertama 4.89, rata-rata ulangan kedua sebesar 5.19, ulangan ketiga dengan rata-rata 5.53 dan ulangan keempat memiliki rata-rata 4.36. Secara keseluruhan rata-rata setiap ulangan sebesar 4.99 mm hal tersebut didukung dengan adanya hasil analisis varian pada Tabel 4.21 yang menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 7.827 dengan $p-value = 0,000$. $p-value < \alpha$ ($\alpha = 0,01$), maka diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angin dan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada masa inkubasi 3x24 jam.

Selain didukung dengan hasil analisis varian data ini juga didukung dengan hasil uji Duncan 1% yang ditunjukkan pada Tabel 4.22 dimana taraf konsentrasi yang efektif ekstraksi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angin dan rimpang Kunyit untuk formulasi 2:3:1 pada waktu 3x24 jam yaitu konsentrasi 40% (P4), sedangkan taraf konsentrasi yang

optimum yaitu pada taraf konsentrasi P8 (80%) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Pada masa inkubasi 3x24 jam konsentrasi efektif ada pada konsentrasi 40%(P4) berbeda dengan pada masa inkubasi 2x24 yang ada pada 30% (P3) hal tersebut dikarenakan senyawa kimia yang terkandung di dalam bahan alam pada konsentrasi 30%(P3) dan 40%(P4) sedikit berbeda, konsentrasi 30% memiliki kandungan senyawa kimia yang tidak begitu pekat sedangkan pada konsentrasi 40%(P4) mengandung senyawa kimia yang sedikit pekat.

Formulasi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angingan rim pang Kunyit terhadap bakteri *Bacillus subtilis* yang di biakan secara in vitro selama 1x24 jam, 2x24 jam dan 3x24 jam di Rekap pada Tabel 4. 12 bahwa hasil analisis variansi perlakuan ekstrak kombinasi berpengaruh signifikan terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada signifikansi 1%, didukung dengan diagram perbandingan *mean square* pada Gambar 4. 2 mempertegas signifikansi bahwa nilai *means square* untuk formulasi 2:3:1 masa inkubasi 3x24 jam lebih besar. Hal tersebut dapat difahami bahwa pada formulasi 2:3:1 konsentrasi yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* ada pada konsentrasi 40%(P4) yang memiliki zona hambat terbesar, kepekatan ekstraksi dapat mempengaruhi proses penghambatan pertumbuhan bakteri. Menurut Dwyana dan Johannes (2012) menyatakan bahwa besar kecilnya zona hambat dipengaruhi oleh laju difusi bahan alam.

c. Formulasi Kombinasi Bioherbal Ekstrak Metanol Daun Tambora (*Ageratum conyzoides* L), Daun Sembalit Angin(*Mussaenda frondosa*) Dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) Terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis* Pada Kombinasi 1 : 2 :3

Formulasi yang ketiga dengan perbandingan 1:2:3 pada kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angin dan rimpang Kunyit dengan lama masa inkubasi 1x24 jam, 2x24 jam dan 3x24 jam terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yang dibiakan secara in vitro. Pertumbuhan tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.27, Tabel 4.30 dan Tabel 4.33.

1) Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 1x 24 Jam

Pengamatan zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dengan lama masa inkubasi 1x24 jam direkap pada Tabel 4.25 terdapat 4 kali ulangan yang di mana hasil rata-rata dari ulangan pertama 3.82 mm, rata-rata ulangan kedua sebesar 4.14 mm selanjutnya ulangan ketiga 3.21 mm dan pengulangan terakhir memiliki rata-rata 4.07 mm. Secara keseluruhan ulangan memiliki besar rata-rata 3.81 mm didukung dengan analisis varian pada Tabel 4.26 dimana nilai F_{hitung} 11.068 dengan $p\text{-value} = 0,000$. $p\text{-value} < a$ ($a = 0,01$), maka diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angin dan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dengan lama masa inkubasi 1 x 24 jam.

Berdasarkan hasil uji Duncan 1% pada Tabel 4.27 dapat diinterpretasikan bahwa konsentrasi efektif perlakuan ekstrak kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angin dan rimpang Kunyit untuk formulasi 1:2:3 pada pengamatan 1x24 jam adalah 30% (P3), konsentrasi 70% (P7) dapat diinterpretasikan sebagai konsentrasi yang paling optimum dalam menghambat

pertumbuhan *Bacillus subtilis*, yang di mana komposisi dari formulasi 1:2:3 rimpang Kunyit sebagai komposisi yang dominan dari pada daun Tambora 20% dan daun Sembalit Angin 30%. Rimpang Kunyit mengandung senyawa fitokimia seperti kurkumin dan minyak atsiri yang bekerja aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri, konsentrasi 30% pada formulasi 1:2:3 dapat dijelaskan sebagai konsentrasi yang sudah bias bekerja dengan baik. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Setiyo, dkk (2018) melaporkan bahwa rimpang kunyit merupakan bahan alam yang bermanfaat sebagai antibakteri, seperti bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

2) Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2x 24 Jam

Pengamatan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dengan lama masa inkubasi 2x24 jam pada formulasi kombinasi 1:2:3 direkap pada Tabel 4.20 memiliki 4 kali ulangan, rata-rata ulangan pertama sebesar 4.45mm, rata-rata ulangan kedua sebesar 4.99 mm, ulangan ketiga 5.09 mm dan ulangan keempat memiliki rata-rata sebesar 4.59 mm. Secara keseluruhan ulangan yaitu sebesar 4.79 mm, hal tersebut didukung dengan adanya analisis varian yang ditunjukkan pada Tabel 4.21 menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 16.903 dengan $p-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka dapat diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angin dan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

Berdasarkan uji Duncan 1% pada Tabel 4.30 Taraf perlakuan ekstrak kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angin dan rimpang Kunyit untuk

formulasi 1:2:3 pada pengamatan 2x24 jam menunjukkan bahwa konsentrasi efektif perlakuan ekstrak adalah konsentrasi 30% (P3) dan konsentrasi 70% (P7) diinterpretasikan sebagai konsentrasi yang paling optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Pada masa inkubasi 2x24 jam konsentrasi efektif dan optimum sama dengan masa inkubasi 1x24 jam yaitu 30%(P3) dan 70%(P7), hal tersebut dapat disebabkan kepekatan dari ekstrak, seperti pada konsentrasi 30%(P3) memiliki kepekatan yang relative sangat sedikit dibandingkan dengan konsentrasi yang lainnya. Pada konsentrasi 30%(P3) ini memiliki laju daya serap ekstrak yang cepat, karena kepekatan dari ekstraknya tidak terlalu pekat.

3) Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada 3 x 24 Jam

formulasi kombinasi 1:2:3 dengan lama masa inkubasi 3x24 jam direkap pada Tabel 4.31 terdapat 4 kali ulangan, dari ulangan pertama dengan besar rata-rata 3.82125, rata-rata ulangan kedua sebesar 4.1475 ulangan ketiga 3.2075 dan ulangan keempat rata-rata sebesar 4.0725. Secara keseluruhan ulangan sebesar 3.99 mm. Hal tersebut didukung dengan analisis varian pada Tabel 4.21 menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} 22.995 dengan $p-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh signifikansi terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

Berdasarkan uji Duncan 1% pada Tabel 4.33 bahwa konsentrasi 30% (P3) dapat diinterpretasikan sebagai konsentrasi efektif sedangkan konsentrasi optimum pada perlakuan ekstrak adalah konsentrasi 60% (P6) dalam

menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*. Potensi formulasi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angin, rimpang Kunyit terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dengan lama inkubasi 3x24 jam. Konsentrasi yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada masa inkubasi 3x24 jam masih sama pada masa inkubasi 1x24 jam dan 2x24 jam. Hal tersebut dikarenakan senyawa fitokimia yang terkandung dalam rimpang Kunyit sebagai komposisi yang dominan dibandingkan daun Tambora 20% dan daun Sembalit Angin 30%, yang memiliki kandungan senyawa kimia seperti minyak atsiri dan kurkumin yang bermanfaat sebagai antibakteri. Menurut Singh (2010) mengatakan bahwa rimpang Kunyit yang berwarna kuning diramu oleh masyarakat Indonesia secara tradisional seperti merebusnya, ataupun sebagai bumbu pelengkap makanan yang berfungsi sebagai antibakteri dan antioksidan.

Berdasarkan data dari masa inkubasi 1x24 jam, 2x24 jam dan 3x24 jam pada formulasi 1:2:3 dengan komposisi 20% daun Tambora, 30% daun Sembalit Angin dan 50% rimpang Kunyit. Sebagai komposisi yang dominan, kunyit mengandung senyawa fitokimia yang sangat baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yang di mana pada konsentrasi terkecil yaitu 30% memiliki kemampuan yang sangat baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* selama 3 masa inkubasi tersebut.

d. Formulasi Kombinasi Bioherbal Ekstrak Metanol Daun Tambora (*Ageratum conyzoides* L), Daun Sembalit Angin(*Mussaenda frondosa*) Dan Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L) Terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis* Pada Kombinasi 2 : 1 :3

Formulasi kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angin, rimpang Kunyit dengan perbandingan 2:1:3 dan dilakukan pengamatan 1x24 jam, 2x24 jam dan 3x24 jam. Pengamatan melihat besarnya zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yang telah dibiakan secara in vitro didalam medium dasar NA (Nutrien Agar).

1) Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 1x 24 Jam

Berdasarkan hasil pengamatan zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada medium dasar Nutrien agar (NA) dengan masa inkubasi 1x24 jam direkap pada Tabel 4.36 dimana terdapat 4 kali ulangan, ulangan pertama memiliki besar rata-rata 3.82 mm, rata-rata ulangan kedua sebesar 3.79 mm, ulangan ketiga 4.09 mm dan ulangan keempat memiliki rata-rata sebesar 3.42 mm. secara keseluruhan rata-rata dari pengulangan sebesar 3.78 mm. Hal tersebut didukung dengan adanya hasil analisis varian yang ditunjukkan pada Tabel 4.37 bahwa nilai F_{hitung} 6.374 dengan $p-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angin dan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* pada masa inkubasi 1x24 jam.

Hasil ANAVA juga didukung dengan uji Duncan 1% pada Tabel 4.38 taraf perlakuan ekstrak kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angin dan rimpang Kunyit untuk formulasi kombinasi 2:1:3 pada masa inkubasi 1x24 jam dijelaskan

bahwa konsentrasi efektif yaitu pada konsentrasi 30% (P3) dan konsentrasi optimum adalah konsentrasi 80% (P8) dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*. Hal tersebut dikarenakan konsentrasi dari taraf satu dengan taraf yang lain berbeda tingkat kepekatannya, selain itu senyawa yang terkandung di dalam bahan alam memiliki pengaruh sebagai anti bakteri seperti pada formulasi kombinasi 2:1:3 yang di mana komposisi rimpang kunyit yang menjadi dominan, rimpang Kunyit mengandung senyawa fitokimia seperti curcumin dan minyak atsiri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Sejalan dengan penelitian Setiyo, dkk (2018) melaporkan bahwa senyawa kurkumin yang terdapat pada rimpang Kunyit memiliki manfaat sebagai antibakteri.

2) Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 2 x 24 Jam

Pengamatan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dengan lama masa inkubasi 2x24 jam pada formulasi kombinasi 2:1:3 didapatkan data hasil pengukuran yang rekap pada Tabel 4.39 dengan 4 kali pengulangan, ulangan pertama memiliki rata-rata sebesar 5.95 mm, rata-rata ulangan kedua sebesar 5.49 mm, ulangan ketiga memiliki rata-rata sebesar 6.22 mm dan ulangan keempat memiliki rata-rata sebesar 6.95. Secara keseluruhan ulangan memiliki rata-rata sebesar 6.15 mm. Hal tersebut didukung dengan hasil analisis varian pada Tabel 4.40 bahwa nilai F_{hitung} 10.725 dengan $p-value = 0,000$. $p-value < a$ ($a = 0,01$), maka diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angingan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

Berdasarkan uji Duncan pada Tabel 4.41 Taraf perlakuan ekstrak kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angindan rimpang Kunyit untuk formulasi kombinasi 2:1:3 pada pengamatan 2x24 jam bahwa konsentrasi efektif yaitu konsentrasi 30% (P3), sedangkan konsentrasi 80% (P8) merupakan konsentrasi yang optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Taraf konsentrasi efektif untuk masa inkubasi 2x24 jam masih sama dengan masa inkubasi 1x24 jam, hal tersebut dikarenakan senyawa yang terkandung didalam rimpang Kunyit sebagai komposisi yang dominan seperti minyak atsiri dan kurkumin yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Menurut Singh (2010) bahwa kunyit memiliki manfaat sebagai antibakteri dan antioksidan.

3) Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Pada 3 x 24 Jam

Pengamatan selanjutnya dengan lama masa inkubasi selama 3x24 jam untuk formulasi kombinasi 2:1:3 direkap pada Tabel 4.42 terdapat 4 kali ulangan yang di mana hasil rata-rata dari ulangan pertama 5.12 mm, rata-rata ulangan kedua sebesar 4.42 mm, ulangan ketiga 4.25 mm, dan ulangan keempat memiliki rata-rata sebesar 4.22 mm. Secara keseluruhan pengulangan memiliki rata-rata sebesar 4.50 mm. Hal tersebut didukung dengan adanya uji statistik ANAVA pada Tabel 4.43 yang di mana nilai F_{hitung} 18.695 dengan $p\text{-value} = 0,000$. $p\text{-value} < a$ ($a = 0,01$), maka diinterpretasikan bahwa perlakuan formulasi kombinasi bioherbal ekstrak metanol daun Tambora, daun Sembalit Angindan rimpang Kunyit mempunyai pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

Signifikansi dari pengaruh setiap taraf perlakuan penelitian dilakukan dengan uji Duncan 1% pada masa inkubasi 3x24 jam untuk formulasi kombinasi 2:1:3 yang disajikan pada Tabel 4.44. Taraf konsentrasi efektif dan optimum perlakuan ekstrak kombinasi tersebut adalah 30% (P3) dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*. Pada masa inkubasi 3x24 jam taraf konsentrasi efektif masih sama seperti pada masa inkubasi 1x24 jam dan 2x24 jam berbeda halnya dengan taraf konsentrasi yang optimum yaitu pada konsentrasi 30%(P3) lain halnya pada masa inkubasi 1x24 jam dan 2x24 jam yang ada pada konsentrasi 80% (P8). Hal dikarenakan kandungan senyawa fitokimia yang dimiliki oleh rimpang kunyit sebagai sumbangsih komposisi yang dominan memiliki kandungan senyawa fitokimia seperti kurkumin dan minyak atsiri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Menurut Lestari (2020) mengatakan bahwa warna kuning yang dihasilkan oleh rimpang Kunyit disebabkan adanya senyawa fitokimia yaitu kurkumin.

Potensi formulasi kombinasi 2:1:3, daun Tambora 30%, daun Sembalit Angin20%, dan rimpang Kunyit 50% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yang dibiakan secara in vitro, pengamatan dilakukan selama 3x24 jam dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan penelitian. Berdasarkan data yang didapat formulasi 2:1:3 ini memiliki signifikansi yang besar terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dengan taraf konsentrasi yang lebih rendah yaitu taraf konsentrasi 30%.

2. Penelitian Tahap II (Pengembangan Buku Referensi tentang ekstraksi menggunakan Model pengembangan ADDIE)

Pada penelitian tahap II yang dilakukan yaitu pengembangan buku referensi tentang ekstraksi terkait hasil penelitian didukung dengan telaah beberapa referensi relevan, baik yang bersumber dari artikel, buku yang mendukung, dan hasil penelitian terkait. Pengembangan buku referensi tentang ekstraksi ini menggunakan pengembangan dengan model ADDIE di mana tahap dari model tersebut meliputi *Analysis, Design, Development, Implementation* dan *Evaluation* (Tegeh,2003) yang dapat dijelaskan sebagai berikut:

1) Tahap Analisis (*Analysis*)

Tahap pertama yang dilakukan adalah analisis kebutuhan sebagai tolak ukur seberapa perlu pengembangan buku referensi dilakukan. Berawal dari analisis kelayakan pengembangan diawali dengan analisis dari permasalahan yang muncul sebelumnya, dilanjutkan dengan menganalisis kelayakan pengembangan, dimana proses pengembangan disesuaikan dengan kebutuhan pengembangan. Pembuatan buku referensi ini dibuat sebagai sumber belajar, karena pada dasarnya buku referensi berbasis hasil riset ini termasuk katagori bahan bacaan non teks yang tertulis dalam standar isi, akan tetapi penyusunan tetap memperhatikan keterkaitan dengan tujuan pendidikan nasional. Menurut Taqwiem dan Alfianti (2019) melaporkan bahwa buku referensi merupakan buku yang mudah didapatkan dan disebarluaskan karena buku referensi ini tidak

terikat dengan suatu institusi atau pembelajaran tertentu, masyarakat umum pun dapat dengan mudah menikmati buku referensi dibanding buku ajar dan lain lain.

Berdasarkan hasil analisis kebutuhan dalam aspek pengukuran pemahaman mahasiswa terhadap materi ekstraksi pada mata kuliah Mikrobiologi disajikan pada Gambar 4.5 di mana responden menyatakan materi terkait ekstraksi merupakan materi yang sangat penting untuk dipelajari secara spesifik. Hal tersebut tampak dari nilai analisis kebutuhan sebesar 65.00%, yang diperkuat dengan pendapat responden yang mengatakan bahwa referensi tentang ekstraksi terbatas dan sulit didapatkan, dengan nilai persentase sebesar 65.00%, sehingga dapat disimpulkan bahwa secara keseluruhan (100%) responden setuju untuk dilakukannya pengembangan buku referensi terkait materi ekstraksi berbasis hasil riset. Ekstraksi bahan alam yang dijadikan sebagai materi perkuliahan pada mata kuliah Mikrobiologi menjadi salah satu media penyampaian informasi tentang kearifan lokal yang terintergrasi dalam kegiatan praktikum. Hal ini sejalan dengan hasil analisis kebutuhan responden tentang pentingnya penyusunan buku referensi ekstraksi, dengan harapan dapat memberikan referensi yang sifatnya aktual. Referensi yang bersifat aktual dan faktual.

Selanjutnya analisis pada aspek kebutuhan mahasiswa terhadap buku referensi tentang ekstraksi yang disajikan pada Gambar 4.6, 55,00% responden berpendapat bahwa buku referensi harus mencakup materi tentang metode-metode yang digunakan dalam ekstraksi. Pada indikator

ini mendapatkan persentase sedikit rendah dikarenakan respon dari responden cukup bervariasi, sehingga didapatkan persentase yang lebih rendah. Responden berpendapat bahwa metode ekstraksi sebagai salah satu produk bioteknologi modern yang dibutuhkan, dengan nilai persentase sebesar 70,00%. Walaupun demikian, responden setuju untuk dilakukan pengembangan tentang metode ekstraksi berbasis hasil riset, di mana hal tersebut dengan nilai persentase sebesar 100%. Keruntutan teknik penulisan buku referensi yang diinginkan dari hasil analisis kebutuhan mengharapkan buku referensi yang disusun berbasis hasil riset mencakup metode ataupun prosedur kerja yang jelas. Prosedur kerja merupakan gambaran strategi yang digunakan untuk memastikan bahwa sebuah proses dilaksanakan dengan baik, konsisten, efektif, dan efisien (Chasanah dan Rustianan, 2017).

Selain itu, responden menyarankan agar buku referensi yang akan dikembangkan menggunakan kata yang jelas, singkat, dan padat dalam memaparkan materi dengan persentase sebesar (75%). Buku referensi yang dibuat harus menggunakan kata yang jelas, singkat dan padat agar pembaca mudah memahaminya, menurut Taqwiem dan Alfianti (2019) melaporkan bahwa buku referensi yang ideal harus memenuhi syarat-syarat yaitu teori mutakhir yang lengkap dan jelas, serta ada kesimpulan dan daftar pustaka. Responden memberi persentase sebesar 80% untuk cakupan isi materi yang bersifat spesifik yang dilengkapi dengan contoh dan responden juga mengatakan bahwa perlunya ditambahkan kajian tentang dasar-dasar ekstraksi mendapatkan persentase sebesar (100%). Menurut Taqwiem, A., & Alfianti, D. (2019) melaporkan bahwa Buku

referensi merupakan suatu tulisan dalam bentuk buku yang substansi pembahasannya pada satu bidang ilmu kompetensi penulis

Analisis kebutuhan pada aspek fisik buku referensi ekstraksi disajikan pada Gambar 4.7 bahwa 65,00% responden mengharapkan buku referensi berwarna lembut dan tidak mencolok, menyajikan buku referensi yang dilengkapi gambar-gambar dengan warna yang minimalis, cover buku referensi yang dibuat diharapkan mengandung satu gambar yang spesifik dan berhubungan dengan formulasi kombinasi yang bekerja efektif dalam menghambat bakteri pathogen. Gambaran isi buku pada cover belakang buku, jenis dan ukuran gambar, serta huruf (font) buku referensi yang diharapkan sebesar 70,00%, responden mengharapkan buku dalam ukuran standard/sedang (Size 60) dengan menggunakan huruf *times new roman*, dan 55,00% responden berpendapat bahwa buku referensi tentang ekstraksi yang disusun cukup dalam rentang 50-100 halaman. Materi buku referensi yang dikembangkan dilengkapi dengan gambar-gambar yang dapat menarik perhatian pembaca. Pengembangan buku referensi diharapkan memiliki kelebihan pengemasan materi yang menarik dan disertai dokumentasi pengambilan sampel, cara identifikasi, dan hasil-hasil penelitian yang telah dilakukan, serta ditambahkan informasi dari pustaka yang relevan (Sofiana, dkk, 2016)

Data hasil analisis kebutuhan yang mengacu pada indikator isi buku referensi tentang ekstraksi yang diharapkan ada pada Gambar 4.8 bahwa 100% respon dari mahasiswa tentang daftar isi, daftar pustaka dan glosarium. Buku referensi juga disusun dan diharapkan memiliki

penulisan dengan menggunakan ejaan bahasa Indonesia yang baku dan sesuai EYD (45%). Pengembangan buku referensi tentang ekstraksi diharapkan dapat menjadi tambahan referensi dalam mata kuliah Mikrobiologi khususnya pada materi ekstraksi. Sejalan dengan Wangsanegara dan Subaeki (2015) menyatakan bahwa EYD merupakan salah satu aspek yang penting dalam menulis dokumen.

Berdasarkan data hasil analisis kebutuhan tersebut disimpulkan bahwa pengembangan buku referensi tentang ekstraksi berdasarkan hasil penelitian penting dilakukan dengan memperhatikan berbagai aspek seperti aspek pemahaman, besarnya kebutuhan terhadap buku referensi, fisik dari buku referensi agar dapat tersampaikan dengan baik dan buku referensi yang mampu membentuk pemahaman mahasiswa atau masyarakat tentang ekstraksi, harapan mahasiswa terhadap produk buku referensi yang dikembangkan yaitu produk yang dapat menjadi tambahan referensi yang berisi metode atau prosedur kerja dalam melakukan ekstraksi.

2) Desain (*Design*)

Desain cover buku referensi berbasis hasil riset ini dibuat dengan latar tumbuhan Sembalit Anginyang dikombinasikan dengan tumbuhan Tambora dan rimpang Kunyit yang menjadi komponen dalam buku ekstraksi selain itu gambar cara perlakuan yang dilakukan sebagai pelengkap dari cover yang menceritakan tentang alur dari penelitian yang dilakukan terlihat pada Gambar 4.9. Hal tersebut sejalan dengan Suryana (2020) mengatakan bahwa cover menjadi alat penting bagi peneliti yang

mengembangkan suatu produk, agar produk yang dikembangkan dapat menarik dan dapat di tangkap dengan mudah oleh penglihatan.

Tahap desain merupakan tahap perancangan secara sistematis, yang meliputi tahap perancangan dan desain. Tahap perancangan merupakan tahap penentuan gambaran kerangka materi yang dibutuhkan dalam pengembangan sebuah produk yang disesuaikan dengan hasil analisis kebutuhan selanjutnya disesuaikan dengan kedalaman dan keluasan materi, kebahasaan dan penyapaian. Hal tersebut sejalan dengan Husen, dkk (2020) yang mengatakan bahwa tahap perancangan dilakukan sebelum uji coba produk dilakukan kepada mahasiswa atau dosen. Sedangkan Tahap desain merupakan tahap penetapan penulisan secara gambaran garis besar desain buku referensi yang dilengkapi ilustrasi dan Tabel yang disesuaikan dengan kebutuhan. Menurut Rofiuddin dan makruf (2020) yang mengatakan bahwa penetapan gambar dalam tahap desain itu penting dilakukan agar gambar yang digunakan dapat menyampaikan pesan penulis kepada pembaca.

Berdasarkan hasil desain materi yang disajikan pada Gambar 4.10 tentang pemetaan isi dan desain buku referensi yang dibagi berdasarkan konsep materi yang ada dalam buku referensi disesuaikan dengan hasil penelitian di laboratorium, konsep yang digunakan bertujuan untuk ketercapaiannya suatu keinginan dengan runtut dilakukan secara sadar. Konsep adalah suatu kejadian yang mewakili satu kelas objek-objek, kejadian-kejadian, atau hubungan-hubungan yang mempunyai atribut-atribut yang sama (Hamdani, dkk, 2012)

3) Tahap Pengembangan (*Development*)

Berdasarkan hasil pada tahap pengembangan dalam penelitian ini dilakukan pengembangan, yaitu dengan cara memodifikasi sumber atau referensi sebelumnya, dengan tetap diselaraskan dengan tujuan pengembangan buku referensi. Proses pengembangan buku referensi yang disusun berdasarkan hasil riset disesuaikan dengan target, dengan tujuan untuk mencapai solusi permasalahan yang muncul pada tahap analisis kebutuhan. Analisis kebutuhan merupakan tahapan pertama pada tahap pengembangan, dimana analisis kebutuhan dilakukan untuk melihat seberapa besar produk yang dikembangkan itu dibutuhkan. Menurut Nasrullah dan Ismail (2017) mengatakan bahwa analisis kebutuhan merupakan salah satu kegiatan yang penting dalam mendesain pembelajaran dan sesuai dengan tujuan desain yang dikembangkan untuk membantu menyelesaikan kebutuhan belajar siswa dan kebutuhan mengajar guru.

Pengembangan buku referensi dilakukan dengan beberapa tahap revisi dan penyusunan produk secara berulang sampai buku referensi ini dinyatakan layak. Kelayakan buku referensi yang dikembangkan dalam penelitian ini diuji oleh validator ahli untuk diujikan ke lapangan secara langsung. Validator ahli merupakan seseorang yang menilai produk dan mahir dibidangnya seperti materi dan media dengan tujuan menghasilkan buku yang baik dan layak digunakan dalam pengembangan, yang dimana produk yang dikembangkan akan diuji kelapangan setelah dinilai oleh ahlinya (Sofiana, dkk, 2016)

Berdasarkan hasil penilaian dari validator ahli media (Desain) disajikan pada Tabel 4.37 dengan rata-rata penilaian aspek desain dan tampilan oleh validator ahli sebesar 96,28 . Validator ahli media memberi beberapa saran perbaikan dalam produk adalah perbaikan beberapa tampilan gambar, susunan halaman ganjil genap, penulisan, keseragaman tabel dan keseragaman bingkai dalam buku referensi. Menurut Sofiana, dkk (2016) mengatakan bahwa setelah didapatkan hasil validasi selanjutnya dilakukan perbaikan dan penyempurnaan draft buku referensi tersebut sehingga dihasilkan produk yang memenuhi kriteria validitas. Buku referensi Validator ahli isi (materi) buku referensi juga divalidasi oleh tim ahli dan didapatkan hasil penilaian dari validator yang disajikan pada Tabel 4.38 validator ahli isi (Materi) buku referensi dengan rata-rata sebesar 93,78 .atau kualifikasi sangat baik dan layak digunakan selanjutnya. Beberapa revisi terkait ketercapaian peserta didik, cakupan isi buku referensi dan menjelaskan relevansi dalam kegiatan pembelajaran, di mana hal tersebut dapat disesuaikan dengan RPS (Rancangan Pembelajaran Mahasiswa) atau silabus. Menurut Fujiastuti (2018) mengatakan bahwa media pembelajaran yang dikembangkan dapat menghasilkan produk yang sesuai dengan tujuan pembelajaran yang ada di RPS.

4) Tahap Implementasi (*Implementation*)

Tahap uji coba produk yang dihasilkan dari hasil penelitian ini diuji coba pada skala kecil atau uji coba terbatas kepada 3 orang dosen

yang mengajar di Program Studi Tadris Biologi IAIN Palangka Raya, di mana penilaian berdasarkan kelayakan dari buku yang nantinya diharapkan dapat dijadikan sebagai salah satu referensi tambahan pada mata kuliah Mikrobiologi khusus pada materi ekstraksi. Berdasarkan hasil kelayakan isi (materi) oleh responden disajikan pada Tabel 4.39, di mana ada tiga dosen sebagai responden dari tahap implementasi ini didapatkan persentase rata-rata dari responden pertama sebesar 95,11%, responden kedua sebesar 92% dan responden ketiga memberi penilaian sebanyak 81,33%. Secara keseluruhan hasil penilaian responden pada aspek kelayakan isi atau materi yang disajikan dalam buku referensi yang dikembangkan pada penelitian ini memiliki nilai rata-rata keseluruhan sebesar 89,48 nilai rata-rata tersebut diinterpretasikan bahwa buku referensi dikategorikan “baik” dan “layak” digunakan lebih lanjut, dengan sedikit perbaikan. Buku referensi yang baik dan layak digunakan apabila sudah di validasi dan di revisi (Sofiana, dkk, 2016)

Berdasarkan hasil penilaian responden pada Tabel 4. 40 menunjukkan bahwa rata-rata persentase hasil penilaian responden pertama memberikan penilaian dengan rata-rata 98,44, responden kedua memberikan penilaian dengan rata-rata sebesar 95,06 dan responden yang ketiga memberikan penilaian dengan rata-rata sebesar 83,16. Dengan demikian, hasil penilaian responden pada aspek kelayakan media atau desain yang disajikan dalam buku referensi yang dikembangkan pada penelitian ini memiliki nilai rata-rata keseluruhan sebesar 92,22,

nilai rata-rata tersebut diinterpretasikan bahwa desain buku referensi dikategorikan “baik“ dengan beberapa catatan perbaikan yang dapat dijadikan sebagai masukan untuk penyempurnaan produk pada tahap selanjutnya.

5) Tahap Evaluasi (*Evaluation*)

Tahap evaluasi dalam penelitian pengembangan pada dasarnya dilakukan disetiap tahapan pengembangan produk. Hal tersebut dilakukan untuk merevisi dan menyempurnakan produk yang dikembangkan sesuai dengan masukan dari seluruh responden memberikan saran dan komentar yang akan di perbaiki pada tahap evaluasi. Perbaikan yang dilakukan pada tahap evaluasi dilakukan secara keseluruhan, meliputi cover, latar belakang, isi dan desainnya. Tahap ini menjadi tahap terakhir dari pengembangan buku referensi tentang ekstraksi berbasis hasil riset, dari validator dan responden merupakan sebagai sasaran penggunaan buku referensi ini.

BAB V PENUTUP

A. Simpulan

1. Ekstrak daun Tambora, daun Sembalit Angin, dan rimpang Kunyit berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* . Hal itu dibuktikan dengan pengamatan zona hambat antar sisi terluar kertas cakram yang direndam dalam ekstrak pada taraf konsentrasi 30%, 40%,50%,60%, 70% dan 80% dengan koloni bakteri *Bacillus subtilis*. Hasil dari percobaan tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kombinasi daun Tambora, daun Sembalit Angin, dan rimpang Kunyit mampu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.
2. Formulasi kombinasi antara daun Tambora, daun Sembalit Angin, dan rimpang Kunyit yang efektif dan signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* adalah formulasi 2:1:3. Formulasi kombinasi 2:1:3 memiliki komposisi rimpang Kunyit (50%) yang dominan. Formulasi kombinasi dengan daya hambat yang terbesar jika dibandingkan formulasi lainnya. Hal itu disebabkan kombinasi rimpang Kunyit sebesar 50% yang mampu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Hal tersebut dikarenakan kandungan senyawa fitokimia yang ada di dalam rimpang Kunyit seperti kurkumin dan minyak atsiri. Formulasi 2:1:3 juga menunjukkan luas zona hambat yang signifikan jika dibandingkan dengan *cloramfenicol* sebagai kontrol positif penelitian.

3. Buku referensi tentang ekstraksi layak digunakan pada matakuliah mikrobiologi. Didukung dengan hasil uji skala kecil (uji produk) terhadap tenaga pendidik (Dosen) sebagai responden yang dimana mereka memberikan nilai dengan rata-rata yang diinterpretasikan “baik” dan layak untuk digunakan.

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan penulis menyarankan :

1. Masing-masing bahan alam yang digunakan memiliki kandungan senyawa fitokimia yang bermanfaat sebagai antibakteri, antifungi maupun antioksidan hal tersebut dapat dilihat pada saat dikombinasikan. Berdasarkan uji coba yang dilakukan penulis meyakini bahwa bahan alam tersebut memang memiliki khasiat sebagai obat herbal, dan penulis juga menyarankan agar peneliti selanjutnya dapat mengkombinasikan salah satu bahan yang digunakan dengan bahan lain atau dapat diuji coba dengan bakteri lain.
2. Berdasarkan hasil uji coba yang dilakukan, formulasi kombinasi yang efektif pada perbandingan 2:1:3 menggunakan pelarut methanol memiliki zona hambat yang sangat baik. Peneliti selanjutnya bisa menggunakan pelarut selain methanol ataupun hanya mengkombinasikan dua bahan yang dominan tersebut dengan tujuan apakah pelarut atau dua bahan yang digunakan itu menghasilkan zona hambat lebih besar dari penelitian ini ataupun tidak.

3. Saran yang dapat penulis ajukan berkaitan dengan hasil penelitian mengharapkan agar buku yang dikembangkan bermanfaat bagi masyarakat dan dosen mata kuliah mikrobiologi diharapkan dapat memanfaatkan buku referensi ekstraksi dalam materi ekstraksi.



DAFTAR PUSTAKA

- Abdiyani, S. (2008). Keanekaragaman jenis tumbuhan bawah berkhasiat obat di dataran tinggi Dieng. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*, 5(1), 79-92.
- Aini, R., & Mardiyarningsih, A. (2018). Potensi minyak atsiri ratus vagina dengan kombinasi lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum), kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Blume) dan daun sirih hijau (*Piper bettle* L) sebagai antifungi terhadap *Candida albicans* secara in Vitro. *Medika Respati: Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 13(4), 43-57.
- Agreta, M. (2019). Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanolik Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata*, L.), Daun Sirsak (*Annona muricata* L.), dan Kombinasinya Terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 (Doctoral dissertation, Universitas Setia Budi).
- Ahmad, I. (2015). Aktivitas Antibakteri dari Fraksi Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) secara Kromatografi Lapis Tipis Bioautografi. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 3(1), 29-36.
- Al-Qur'an, Terjemahan dan Tafsirnya (*dalam aplikasi Qur'an Kemenag yang diluncurkan tahun 2016*). Jakarta : Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an Badan Litbang dan Diklat Kementerian Agama RI
- Andik, R. (2019). *Pengembangan Buku Pengenalan Serangga Penyerbuk Hutan Mangrove Berbasis Riset di Pantai Timur Sumatera Utara* (Doctoral dissertation, UNIMED).
- Aminingsih, t., Nashrianto, h., & Rohman, a. s. (2012). potensi antibakteri terhadap *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus* dan identifikasi senyawa ekstrak heksana bandotan (*ageratum conyzoides* l.). *fitofarmaka: jurnal ilmiah farmasi*, 2(1), 18-26.
- Auliah, A. (2013). Formulasi kombinasi tepung sagu dan jagung pada pembuatan mie. *Chemica: Jurnal Ilmiah Kimia dan Pendidikan Kimia*, 13(2), 33-38.
- Chasanah, I., & Rustiana, A. (2017). Pengaruh Kemampuan Kerja, Fasilitas Kerja, dan Prinsip Prosedur Kerja Terhadap Kinerja Pegawai di Kantor Kecamatan Se Kabupaten Batang. *Economic Education Analysis Journal*, 6(2), 433-446.

- Dwyana, Z., & Johannes, E. (2012). Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Alga Merah *Eucheuma Cottonii* Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 7(1).
- Farizal, J., & Dewa, E. A. R. S. (2017). Identifikasi *Candida albican* pada saliva wanita penderita diabetes melitus. *J Teknol Lab*, 6(2), 67-74.
- Fauzi, F., Widodo, H., & Haryanti, S. (2019). Kajian Tumbuhan Obat yang Banyak Digunakan untuk Aprodisiaka oleh Beberapa Etnis Indonesia. **Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan**, 29(1), 51-64.
- Febriana, F., & Oktavia, A. I. (2019). *perbedaan kadar flavonoid total dari ekstrak daun kejobeling (strobilanthus crisper l. blume) hasil metode maserasi dan perkolasi* (Doctoral dissertation, Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang).
- Fitriani, V. Y., & Rijai, L. (2014). aktivitas antioksidan kombinasi daun cempedak (*artocarpus chempedan*) dan daun bandotan (*ageratum conyzoides* L)
- Fujiastuti, A. (2018, November). Pengembangan Media Pembelajaran Retorika Berbasis ARCS dengan Aplikasi Flash. In *Seminar Nasional SAGA# 2 (Sastra, Pedagogik, dan Bahasa)* (Vol. 1, No. 1, pp. 16-24).
- Gunadi, D., Oramahi, H. A., & Tavita, G. E. (2017). studi tumbuhan obat pada etnis dayak di desa gerantung kecamatan monterado kabupaten bengkayang. *jurnal hutan lestari*, 5(2).
- Hamdani, D., Kurniati, E., & Sakti, I. (2012). Pengaruh model pembelajaran generatif dengan menggunakan alat peraga terhadap pemahaman konsep cahaya kelas VIII di SMP Negeri 7 Kota Bengkulu. *Exacta*, 10(1), 79-88.
- Hanani, Endang. 2015. *Analisis Fitokimia*. Jakarta : penerbit Buku Kedokteran EGC
- Haris, N. A., & Toding, A. (2019). kajian etnobotani famili rubiaceae oleh masyarakat kota tarakan dan potensinya sebagai sumber belajar biologi. *biopedagogia*, 1(1), 75-80.
- Hasibuan, S. A. (2016). Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara In Vitro.
- Hidayati, A. S., & Harjono, H. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides*. L) dalam Pelarut Etanol. *Jurnal Mipa*, 40(1), 33-38.

- Himma, A. (2010). pengaruh ekstrak rimpang kunyit kuning (*curcuma domestica* val.) dengan pelarut etanol terhadap pertumbuhan *bacillus subtilis*, *escherichia coli*, *salmonella typhi*, dan *shigella dysenteriae*.
- Hujjatusnaini, Noor. 2020. Pengaruh Molekul Adhesi 65kDa Sub Unit Pili *Yersinia entrolitica* Dikombinasikan Probiotik *Laktobacilus Reuteri* Terhadap Daya Protektivitas Mencit Sebagai Bahan Pengembangan Monograf Tentang Imun Mukosa. Disertai. Tidak Diterbitkan Malang. Pascasarjana Universitas Malang
- Husen, W. R., Apriani, A., & Nugraha, F. (2020). Tahap Perencanaan Media Pembelajaran Komik Strip Abah Umis Pada Materi Kausa Materialis Pancasila. *NATURALISTIC: Jurnal Kajian Penelitian Pendidikan dan Pembelajaran*, 5(1), 698-704.
- Jaya, E. O. A. A. (2019). *Uji Efektifitas Ekstrak Etanol Herba Bandotan (Ageratum conyzoides) Sebagai Tonikum Pada Mencit Jantan (Mus musculus) Galur Swiss* (Doctoral dissertation, Universitas Setia Budi Surakarta).
- Kholifah, N. (2018). *Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol rumput bambu (Lophatherum Gracile Brongn) dan rimpang kunyit putih (Curcuma Zedoaria (Berg.) Roscoe) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Latifah, N. (2019, May). the novel postpartum herbal drugs: an in silico approach of bakumpai dayak tribe traditional medicinal plants. in *iop conference series: earth and environmental science* (vol. 276, no. 1, p. 012049). iop publishing.
- Lestari, K. A. (2020). pengembangan booklet karakteristik morfologi tumbuhan family zingiberaceae sebagai sumber belajar.
- Leba, M. A. U. (2017). *Buku Ajar: Ekstraksi dan Real Kromatografi*. Deepublish.
- McGriff, Steven J. 2000 Instructional System Design (ISD): Using the ADDIE Model. *Jurnal of collage of education*, pen:pen state University
- Mercury, A., Agustina, R., & Rijai, L. (2016, November). skrining aktivitas fraksi etilasetat daun nusa indah (*mussaenda philippica* a. rich). in *proceeding of mulawarman pharmaceuticals conferences* (vol. 4, pp. 7-14).
- Mutiah, R. (2015). Evidence Based Kurkumin dari Tanaman Kunyit (*Curcuma longa*) sebagai Terapi Kanker Pada Pengobatan Modern. *Journal of Islamic Pharmacy*, 1(1), 28-41.

- Nasrulloh, I., & Ismail, A. (2017). Analisis Kebutuhan Pembelajaran Berbasis ICT. *Jurnal Petik*, 3(1), 28-32.
- Nirwana, P. C. (2019). studi o-metilasi pada sintesis senyawa 1-metoksi naftalen dengan variasi jumlah mol dimetil karbonat (dmc) dan variasi waktu refluks berbasis green chemistry.
- Nurhayati, O. F.(2019) efek seduhan biji kopi robusta (*coffea canephora*) terhadap jumlah sel limfosit pada tikus wistar jantan yang diinduksi *staphylococcus aureus*
- Nurhayati, P. E., & Setiawan, N. C. E. (2018). aktivitas s antibakteri ekstrak etanol daun bandotan (*ageratum conyzoides* l.) terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dengan metode difusi sumuran (doctoral dissertation, akademi farmasi putera indonesia malang).
- Nuha, U., Amin, M., & Lestari, U. (2016). analisis kebutuhan buku ajar berbasis penelitian materi filogenetik molekuler untuk mahasiswa S1 pendidikan biologi Universitas Jember berdasarkan model pengembangan ADDIE.
- Nugroho, A. W. (2017). Konservasi Keanekaragaman Hayati Melalui Tanaman Obat Dalam Hutan di Indonesia Dengan Teknologi Farmasi: Potensi Dan Tantangan. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(7), 377-383.
- Permatasari, A. A. A. P., & Sari, N. K. Y. (2019, October). efektivitas antijamur ekstrak etanol bunga kamboja putih (*plumeria acuminata*) terhadap pertumbuhan candida albicans. in *seminar ilmiah nasional teknologi, sains, dan sosial humaniora (sintesa)* (vol. 2, no. 1)
- Putri, A. U., Kelautan, J. I., Ilmu, F., Dan, K., & Hasanuddin, U. (2013). Uji Potensi Antifungi Ekstrak Berbagai Jenis Lamun Terhadap Fungi Candida albicans. *Skripsi. Makassar: Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan Universitas Hasanuddin*.
- Qamariah, N., Handayani, R., & Novaryati, S. (2018). kajian empiris dan etnofarmakologi tumbuhan hutan berkhasiat obat asal desa tumbang rungan kelurahan pahandut kota palangkaraya kalimantan tengah. *anterior jurnal*, 18(1), 98-106.
- Rahayu, S. (2017). *isolasi pektin dari kulit pepaya (carica papaya l.) dengan metode refluks menggunakan pelarut hcl encer* (doctoral dissertation, politeknik negeri sriwijaya).
- Rahmawati, M. (2015). *Uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol dan air rimpang pacing (costus spiralis) terhadap bakteri escherichia coli, shigella dysenteriae, salmonella typhimurium, bacillus subtilis, staphylococcus aureus serta fungi candida albicans* (Bachelor's thesis, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, 2015).

- Rosdarni, R. (2019). Perbandingan Uji Sensivitas Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal MediLab Mandala Waluya*, 3(1 JULI), 59-62.
- Rofiuddin, M., & Makruf, M. (2020, December). Rancang Bangun Sosial Media Desain Grafis Berbasis WEB. In *Prosiding SEHATI (Seminar Nasional Humaniora dan Aplikasi Teknologi Informasi)* (Vol. 6, No. 1, pp. 284-291).
- Sari, A. P. P., Amin, M., & Lukiati, B. (2017). Buku Ajar Bioteknologi Berbasis Bioinformatika Dengan Model ADDIE. *Jurnal Pendidikan: Teori, Penelitian, Dan Pengembangan*, 2(6), 768-772.
- Safitri, I., Nuria, M. C., & Puspitasari, A. D. (2018). perbandingan kadar flavonoid dan fenolik total ekstrak metanol daun beluntas (*pluchea indica l.*) pada berbagai metode ekstraksi. *jurnal inovasi teknik kimia*, 3(1).
- Setyowati, R., Fauzi, A., Pribadi, E. S., & Wijayanto, H. (2019). Perilaku Pengguna Jasa Karantina Pertanian dalam Mendukung Perlindungan Sumberdaya Alam Hayati. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan (Journal of Natural Resources and Environmental Management)*, 9(3), 577-586.
- Siboro, T. D. (2019). Manfaat Keanekaragaman Hayati Terhadap Lingkungan. *Jurnal Ilmiah Simantek*, 3(1).
- Singh H.P. 2012. Phytotoxic Interference of *Ageratum conyzoides* with Wheat (*Triticum aestivum*) .*J. Agron. Crop Sci.* 189 (5): 341-346.
- Silaban, S. (2019). studi perbandingan karakteristik alelopati daun kering dan batang kering babadotan (*ageratum conyzoides l.*) terhadap perkecambahan dan pertumbuhan kecambah benih jagung (*zea mays l.*) var. hibrida nk 7328.
- Sofiyana, M. S., Rohman, F., & Saptasari, M. (2016). Pengembangan buku referensi bioekologi berdasarkan kajian struktur komunitas lumut epifit di Taman Nasional Bromo Tengger Semeru. *Konstruktivisme: Jurnal Pendidikan dan Pembelajaran*, 8(2), 117-130.
- Suryandari, N. L. G. Y. A. (2019). *Gambaran Asuhan Keperawatan Pada Ibu Post Partum Normal Dengan Ketidaknyamanan Pasca Partum Di Ruang Dara RSUD Wangaya Denpasar Tahun 2019* (Doctoral dissertation, Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar Jurusan Keperawatan)
- Suryana, J. (2020). Pengembangan Buku Panduan Model Blended Learning Berbasis Webblog. *Prasi: Jurnal Bahasa, Seni, Dan Pengajarannya*, 15(01), 44-56.

- Taqwim, A., & Alfianti, D. (2019). Pengembangan Buku Referensi Mata Kuliah Bahasa Indonesia Berwawasan Lahan Basah Berkarakter Waja Sampai Kaputing.
- Tegeh, I. M., & Kirna, I. M. (2013). Pengembangan Bahan ajar metode penelitian pendidikan dengan *addie* model. *Jurnal Ika*, 11(1).
- Wangsanegara, N. K., & Subaeki, B. (2015). Implementasi Natural Language Processing Dalam Pengukuran Ketepatan Ejaan Yang Disempurnakan (EYD) Pada Abstrak Skripsi Menggunakan Algoritma Fuzzy Logic. *Jurnal Teknik Informatika*, 8(2).
- Yennie, E., & Elystia, S. (2013). pembuatan pestisida organik menggunakan metode ekstraksi dari sampah daun pepaya dan umbi bawang putih. *jurnal dampak*, 10(1), 46-59.
- Yuliati, Y. (2017). uji efektivitas ekstrak kunyit sebagai antibakteri dalam pertumbuhan *bacillus sp* dan *shigella dysentriae* secara in vitro. *jurnal profesi medika: jurnal kedokteran dan kesehatan*, 10 (1).
- Yulianti, R. (2015). formulasi krim anti jerawat kombinasi ekstrak daun sirsak (*annona muricata* l.) dan daun jambu biji (*psidium guajava* l.). *jurnal kesehatan bakti tunas husada: jurnal ilmu-ilmu keperawatan, analisis kesehatan dan farmasi*, 14(1), 158-161.
- Zuhud, E. A. (2009). Potensi hutan tropika Indonesia sebagai penyangga bahan obat alam untuk kesehatan bangsa. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 6(6), 227-232.