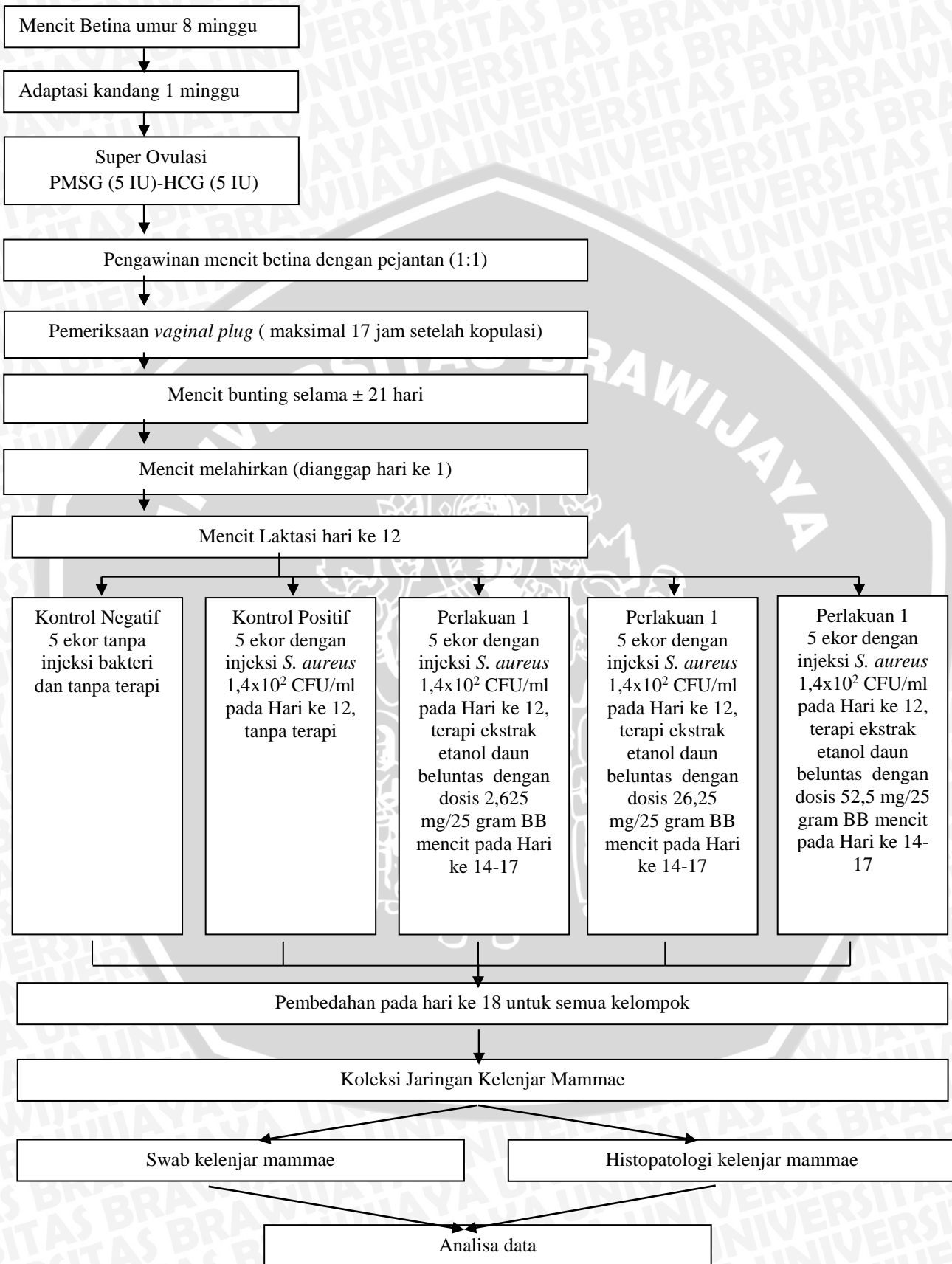


Lampiran 1 Kerangka Operasional Penelitian



Lampiran 2 Perhitungan Dosis dan Pengenceran PMSG dan HCG

- PMSG 200IU

1 ml PMSG + 3 ml pengencer → 200 IU

4ml → 200 IU

1 ml → 50 IU

0,1 ml → 5 IU

Dosis PMSG untuk setiap ekor mencit adalah 5 IU.

1 ekor mencit diinjeksikan 0,1 ml PMSG 5 IU

Total mencit = 25 ekor

Jumlah PMSG yang dibutuhkan = 25 ekor x 0,1 ml

= 2,5 ml

Jadi dilakukan pengenceran sebanyak 1 ml PMSG 200 IU ditambah 3 ml pengencer sehingga 4 ml larutan PMSG 5 IU

- HCG 300 IU

1ml + 5 ml → 300 IU

6 ml → 300IU

1 ml → 50 IU

0,1 ml → 5 IU

Dosis HCG untuk setiap ekor mencit adalah 5 IU.

1 ekor mencit diinjeksikan 0,1 ml PMSG 5 IU

Total mencit = 25 ekor

Jumlah PMSG yang dibutuhkan = 25 ekor x 0,1 ml

= 2,5 ml

Jadi dilakukan pengenceran sebanyak 1 ml HCG 300 IU ditambah 5 ml pengencer sehingga 6 ml larutan HCG 5 IU

Lampiran 3 Perhitungan Konsentrasi Bakteri *Staphylococcus aureus* 10²

Perhitungan dilakukan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 625nm untuk mengetahui absorbent.

Suspensi bakteri dihitung menggunakan spektrofotometer dan didapatkan nilai absorbant sebesar 0,246.

Menurut Reynold (2011) bahwa nilai absorbant 0,1 dianggap sama dengan 10⁸

Dilakukan pengenceran dengan rumus:

$$N1.V1=N2.V2$$

$$0,246 \times V1 = 0,1 \times 10 \text{ ml}$$

$$V1 = 1/0,246$$

$$V1 = 4,065 \text{ (merupakan volume suspensi bakteri)}$$

$$\begin{aligned} \text{Untuk mendapatkan konsentrasi bakteri } 10^8 &= \text{suspensi bakteri} + \text{NaCl} \\ &= 4,065 + 5,035 \\ &= 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

Untuk mendapatkan konsentrasi bakteri 10²:

Dilakukan pengenceran dengan cara mengambil 0,1 ml suspensi bakteri 10⁸ ditambahkan dengan 9,9 ml NaCl sehingga didapatkan konsentrasi bakteri 10⁶.

Dilakukan pengenceran dengan cara mengambil 0,1 ml suspensi bakteri 10⁶ ditambahkan dengan 9,9 ml NaCl sehingga didapatkan konsentrasi bakteri 10⁴.

Dilakukan pengenceran dengan cara mengambil 0,1 ml suspensi bakteri 10⁴ ditambahkan dengan 9,9 ml NaCl sehingga didapatkan konsentrasi bakteri 10², maka telah didapatkan bakteri dengan konsentrasi 10² dalam 10ml.

Lampiran 4 Perhitungan Dosis Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica L.*)

Dosis pada tikus:

D1 : 15 mg/200 gr BB

D2 : 150 mg/200 gr BB

D3 : 300 mg/200 gr BB

Dikonversikan berat badan tikus ke mencit, faktornya : 0,14

Perlakuan 1 (P1)

15 mg x 0,14 = 2,1 mg/20 gr mencit

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk mencit (25 gr)} &= \frac{25 \text{ gr}}{20 \text{ gr}} \times 2,1 \text{ mg} \\ &= 2,625 \text{ mg/25 gr mencit} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume P1} &= \frac{\text{Dosis} \times \text{BB}}{\text{Konsentrasi}} \\ &= \frac{2,625 \text{ mg/25 gr} \times 25 \text{ gr}}{60 \text{ gr/100 ml}} \\ &= \frac{2,625 \text{ mg}}{600 \text{ mg/ml}} \\ &= 0,0043 \text{ ml} = 0,005 \text{ ml} \end{aligned}$$

Total ekstrak daun beluntas yang dibutuhkan pada 1 kelompok perlakuan 1 per hari adalah

= 0,005 ml x 5 ekor mencit

= 0,025 ml

Perlakuan 2 (P2)

150 mg x 0,14 = 21 mg/20 gr mencit

$$\text{Dosis untuk mencit (25 gr)} = \frac{25 \text{ gr} \times 21 \text{ mg}}{20 \text{ gr}}$$

$$= 26,25 \text{ mg/ 25 gr mencit}$$

$$\text{Volume P2} = \frac{\text{Dosis} \times \text{BB}}{\text{Konsentrasi}}$$

Konsentrasi

$$= \frac{26,25 \text{ mg/25 gr} \times 25 \text{ gr}}{60 \text{ gr/100 ml}}$$

60 gr/100 ml

$$= \frac{26,25 \text{ mg}}{600 \text{ ml}}$$

600 ml

$$= 0,043 \text{ ml} = 0,05 \text{ ml}$$

Total ekstrak daun beluntas yang dibutuhkan pada 1 kelompok perlakuan 2 per hari adalah

$$= 0,043 \text{ ml} \times 5 \text{ ekor mencit}$$

$$= 0,25 \text{ ml}$$

Perlakuan 3 (P3)

$$300 \text{ mg} \times 0,14 = 42 \text{ mg/20 gr mencit}$$

$$\text{Dosis untuk mencit (25 gr)} = \frac{25 \text{ gr} \times 42 \text{ mg}}{20}$$

20

$$= 52,5 \text{ mg/25 gr mencit}$$

$$\text{Volume P3} = \frac{\text{Dosis} \times \text{BB}}{\text{Konsentrasi}}$$

Konsentrasi

$$= \frac{52,5 \text{ mg/25 gr} \times 25 \text{ gr}}{60 \text{ gr/100 ml}}$$

60 gr/100 ml

$$= \frac{52,5 \text{ mg}}{600 \text{ mg/ml}}$$

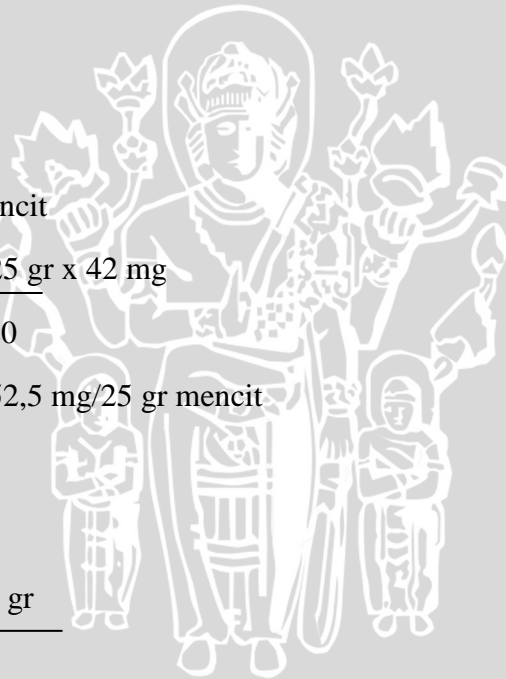
600 mg/ml

$$= 0,087 \text{ ml} = 0,09 \text{ ml}$$

Total ekstrak daun beluntas yang dibutuhkan pada 1 kelompok perlakuan 3 per hari adalah

$$= 0,09 \text{ ml} \times 5 \text{ ekor mencit}$$

$$= 0,45 \text{ ml}$$



Lampiran 5 Pembuatan mencit Betina Bunting secara *in vivo*

Mencit (*Mus musculus*) Betina

- Dilakukan penyuntikan PMSG 5 IU
- Dilakukan penyuntikan HCG 5 IU setelah 48 jam
- Dikawinkan dengan mencit jantan secara *monomating*
- Diperiksa adanya sumbat vagina setelah 17 jam pasca perkawinan
- Dianggap bunting hari ke nol bila terdapat sumbat vagina

Hasil



Lampiran 6 Cara Pengambilan Organ

Mencit (*Mus musculus*) Betina

- Dilakukan dislokasio os. Servicalis
- Diletakkan di atas papan seksi
- Dilakukan desinfeksi menggunakan alkohol 70%
- Dipotong rambut disekitar kelenjar mammae
- Diambil kelenjar mammae pada L4
- Disimpan kelenjar mammae pada pot sampel berisi BNF 10%

Hasil



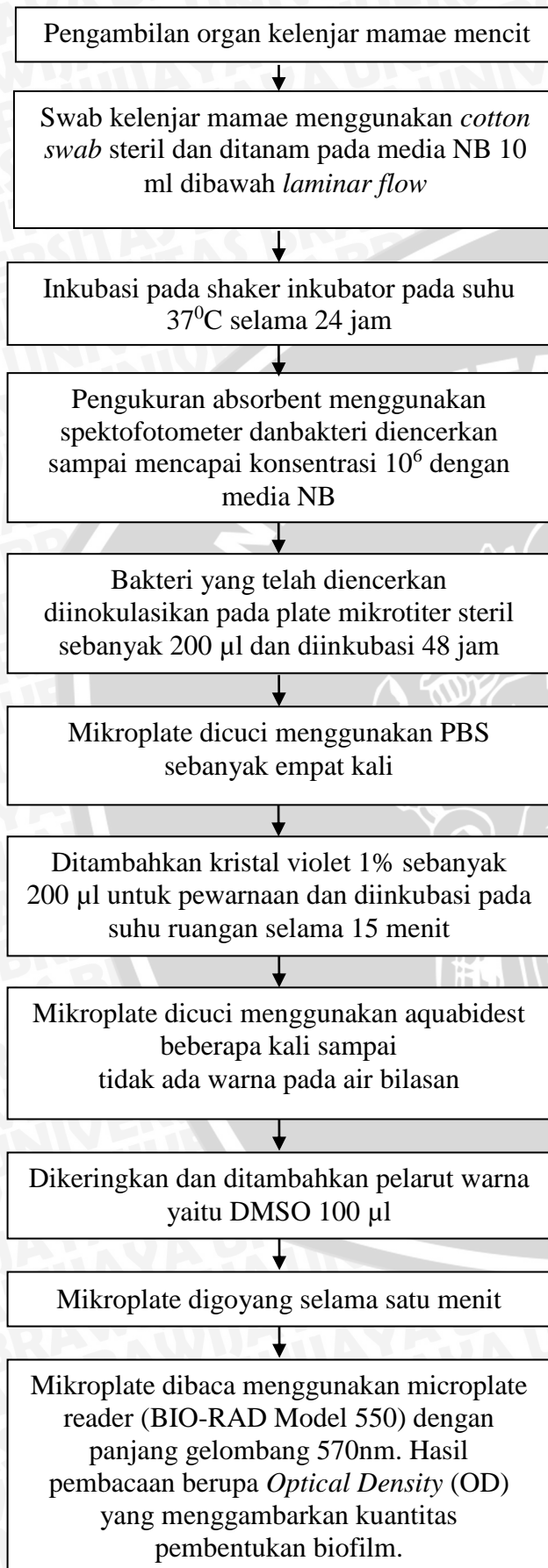
Lampiran 7 Pewarnaan Histopatologi Kelenjar Mammae

Blok parafin Kelenjar mammae

- Diiris 6 μm menggunakan mikrotom
- Ditempel diatas obyek glass menggunakan *Mayers Albumin* dan didiamkan selama 24 jam
- Dilakukan *clearing* menggunakan *xylol* I, II, III masing-masing selama 5 menit
- Dilakukan *redehidrasi* dengan alkohol 100% I dan II selama 5 menit
- Dichelup dengan *aquadest*
- Diwarnai dengan *Harris-Hematoxylin* selama 15 menit
- Dimasukkan ke dalam *aquadest* selama 1 menit (celup naik turun)
- Dimasukkan ke dalam *acid* alkohol 1% selama 5-7 celupan
- Dimasukkan ke dalam *aquadest* I selama 1 menit, *aquadest* II selama 15 menit
- Diwarnai dengan *eosin* selama 2 menit
- Dimasukkan ke dalam alkohol 96% I dan II selama 3 menit, alkohol 100% I dan II selama 3 menit
- Dibersihkan dengan *xylol* IV dan V selama 5 menit
- Ditutup dengan *cover glass*, direkatkan dengan *permount*

Hasil

Lampiran 8 Pengujian Pembentukan Biofilm dengan Metode *Microtiter Plate*



Lampiran 9 Hasil Uji Statistik *Microtiter Plate* Biofilm

Uji Normalitas

Tests of Normality

| | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|---------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| biofilm | .131 | 25 | .200* | .961 | 25 | .425 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Oneway

Descriptives

BIOFILM

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|-------|----|-------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| K Neg | 5 | .3454 | .18204 | .08141 | .1194 | .5714 | .20 | .65 |
| K Pos | 5 | .9276 | .37630 | .16828 | .4604 | 1.3948 | .33 | 1.29 |
| P1 | 5 | .5304 | .10784 | .04823 | .3965 | .6643 | .35 | .64 |
| P2 | 5 | .4722 | .11519 | .05151 | .3292 | .6152 | .36 | .66 |
| P3 | 5 | .4356 | .13592 | .06079 | .2668 | .6044 | .29 | .65 |
| Total | 25 | .5422 | .28068 | .05614 | .4264 | .6581 | .20 | 1.29 |

Test of Homogeneity of Variances

BIOFILM

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1.731 | 4 | 20 | .183 |

ANOVA

BIOFILM

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 1.018 | 4 | .255 | 5.836 | .003 |
| Within Groups | .872 | 20 | .044 | | |
| Total | 1.891 | 24 | | | |

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BIOFILM
Tukey HSD

| (I) KELOMPOK | (J) KELOMPOK | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------|--------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| K Neg | K Pos | -.5822* | .13209 | .002 | -.9775 | -.1869 |
| | P1 | -.1850 | .13209 | .634 | -.5803 | .2103 |
| | P2 | -.1268 | .13209 | .870 | -.5221 | .2685 |
| | P3 | -.0902 | .13209 | .958 | -.4855 | .3051 |
| K Pos | K Neg | .5822* | .13209 | .002 | .1869 | .9775 |
| | P1 | .3972* | .13209 | .049 | .0019 | .7925 |
| | P2 | .4554* | .13209 | .019 | .0601 | .8507 |
| | P3 | .4920* | .13209 | .010 | .0967 | .8873 |
| P1 | K Neg | .1850 | .13209 | .634 | -.2103 | .5803 |
| | K Pos | -.3972* | .13209 | .049 | -.7925 | -.0019 |
| | P2 | .0582 | .13209 | .992 | -.3371 | .4535 |
| | P3 | .0948 | .13209 | .950 | -.3005 | .4901 |
| P2 | K Neg | .1268 | .13209 | .870 | -.2685 | .5221 |
| | K Pos | -.4554* | .13209 | .019 | -.8507 | -.0601 |
| | P1 | -.0582 | .13209 | .992 | -.4535 | .3371 |
| | P3 | .0366 | .13209 | .999 | -.3587 | .4319 |
| P3 | K Neg | .0902 | .13209 | .958 | -.3051 | .4855 |
| | K Pos | -.4920* | .13209 | .010 | -.8873 | -.0967 |
| | P1 | -.0948 | .13209 | .950 | -.4901 | .3005 |
| | P2 | -.0366 | .13209 | .999 | -.4319 | .3587 |

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

Homogeneous Subsets

BIOFILM

Tukey HSD^a

| KELOMPOK | N | Subset for alpha = .05 | |
|----------|---|------------------------|-------|
| | | 1 | 2 |
| K Neg | 5 | .3454 | |
| P3 | 5 | .4356 | |
| P2 | 5 | .4722 | |
| P1 | 5 | .5304 | |
| K Pos | 5 | | .9276 |
| Sig. | | .634 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Means Plots

