

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica L.*) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Pseudomonas fluorescen* SECARA *In vitro***

**LAPORAN SKRIPSI  
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh:

**BONDAN SEKARING ADI PAMUNGKAS  
NIM. 105080513111007**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2014**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica L.*) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Pseudomonas fluorescen* SECARA *In vitro***

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya**

**Oleh:  
BONDAN SEKARING ADI PAMUNGKAS  
NIM. 105080513111007**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2014**

## SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica L.*) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Pseudomonas fluorescen* SECARA *In vitro*

Oleh:  
BONDAN SEKARING ADI PAMUNGKAS  
NIM. 105080513111007

Telah dipertahankan di depan penguji  
pada tanggal 2014  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Penguji I

(Ir. Ellana Sanoesi, MP)  
NIP.19630924 199803 2 002

Tanggal:

Dosen Penguji II

(Qurrota A'yunin S.Pi, MP, M.Sc)  
NIK.86062808120317

Tanggal:

Dosen Pembimbing I

(Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS)  
NIP.19550213 198403 1 001

Tanggal:

Dosen Pembimbing II

(Dr.Ir. Maftuch, M.Si)  
NIP.19660825 199203 1 001

Tanggal:

Mengetahui,  
Ketua Jurusan  
Manajemen Sumberdaya Perairan

(Dr.Ir. Arning W. Ekawati, MS)  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal:

## PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, Juli 2014

Mahasiswa

BONDAN SEKARING ADI P.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Atas terselesainya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT yang senantiasa mengiringi dan memberi petunjuk-Nya dalam setiap langkah serta, Nabi besar Muhammad SAW yang menjadi suri tauladan bagi umatnya.
2. Bapak Tanoyo Adi, dan Ibu Yayuk Mindarti selaku kedua orang tua, terimakasih atas doa, bimbingan dan dukungannya dari awal hingga akhir terselesainya laporan skripsi ini.
3. Wahyu Sekaring Galih dan Galuh Sekaring Widhi Astana selaku saudara yang memberikan dukungan dalam terselesainya laporan skripsi ini.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku dosen pembimbing I, terimakasih karena senantiasa dengan sabar dalam membimbing, mengarahkan serta memberikan motivasi semangat dan jangan mudah menyerah kepada penulis.
5. Bapak Dr. Ir. Maftuch, M.Si selaku dosen pembimbing II, yang senantiasa memberikan motivasi, gagasan, dukungan serta masukan beliau kepada penulis untuk terus belajar.
6. Ibu Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku dosen penguji I, yang telah memberikan masukan dan saran dalam penyelesaian laporan skripsi.
7. Ibu Qurrota A'yunin, S.Pi, MP, M.Sc selaku dosen penguji II, yang telah memberikan masukan dan saran dalam penyelesaian laporan skripsi.
8. Ibu Titin selaku laboran Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan yang senantiasa selalu memberikan bantuan dengan ikhlas serta arahan dan saran kepada penulis selama kegiatan penelitian berlangsung.

- Seluruh rekan-rekan mahasiswa Budidaya Perairan 2010 yang telah ikut membantu serta mendukung dalam penyelesaian skripsi ini.



## RINGKASAN

**BONDAN SEKARING ADI PAMUNGKAS.** Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In Vitro*. Di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS.** dan **Dr. Ir. Maftuch, M. Si**

---

Pembangunan perikanan saat ini mengarahkan pengembangan usaha yang berbasis budidaya, karena berkurangnya hasil tangkapan dari perairan umum, sedangkan permintaan pasar semakin hari semakin meningkat. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk usaha budidaya ikan agar berkesinambungan dapat meningkatkan perekonomian masyarakat pembudidaya ikan sehingga perlunya suatu strategi yang tepat dalam pengembangan usaha budidaya ikan air tawar lebih lanjut. Kendala utama adalah serangan penyakit. Penyakit ikan merupakan salah satu masalah serius yang harus dihadapi dalam pengembangan usaha budidaya ikan. Salah satunya adalah *Pseudomonas fluorescens* yang diketahui sebagai penyakit yang sangat ganas yang dapat menyerang ikan mas. Gejala yang timbul akibat serangan penyakit ini yaitu terjadi pendarahan dan borok pada kulit, serta sirip ekor terkikis. Selama ini pencegahan terhadap serangan bakteri umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia. Pemberian antibiotik berkepanjangan dapat menyebabkan organisme menjadi resisten. Selain itu, residu dari antibiotik dan bahan kimia dapat mencemari lingkungan perairan. Alternatif bahan antibakteri dari tanaman obat. Daun beluntas (*Pluchea indica* L.) yang merupakan salah satu tanaman dari suku Asteraceae yang mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, minyak atsiri, asam klorogenik, natrium, kalium, magnesium, dan fosfor sedangkan akarnya mengandung flavonoid dan tannin

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, pada bulan Maret hingga bulan Mei 2014. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap daya hambat dari bakteri *Pseudomonas fluorescens* secara *In vitro*.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu mengadakan percobaan untuk melihat suatu hasil dan rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), menggunakan 4 perlakuan konsentrasi ekstrak kasar daun beluntas yaitu : dosis (A) 9% ; (B) 12% ; (C) 15% ; (D) 180%. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun kemangi memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Dosis maksimal adalah pada 13,65%mm, sedangkan dosis optimal yang didapatkan sebesar 10,56%. Hubungan antara dosis ekstrak kasar daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) dengan diameter hambatan yang terbentuk adalah berpola kuadratik, dimana persamaannya didapatkan  $y = -0,0926x^2 + 2,5222x - 6,6333$  dengan nilai  $R = 0,72$ .

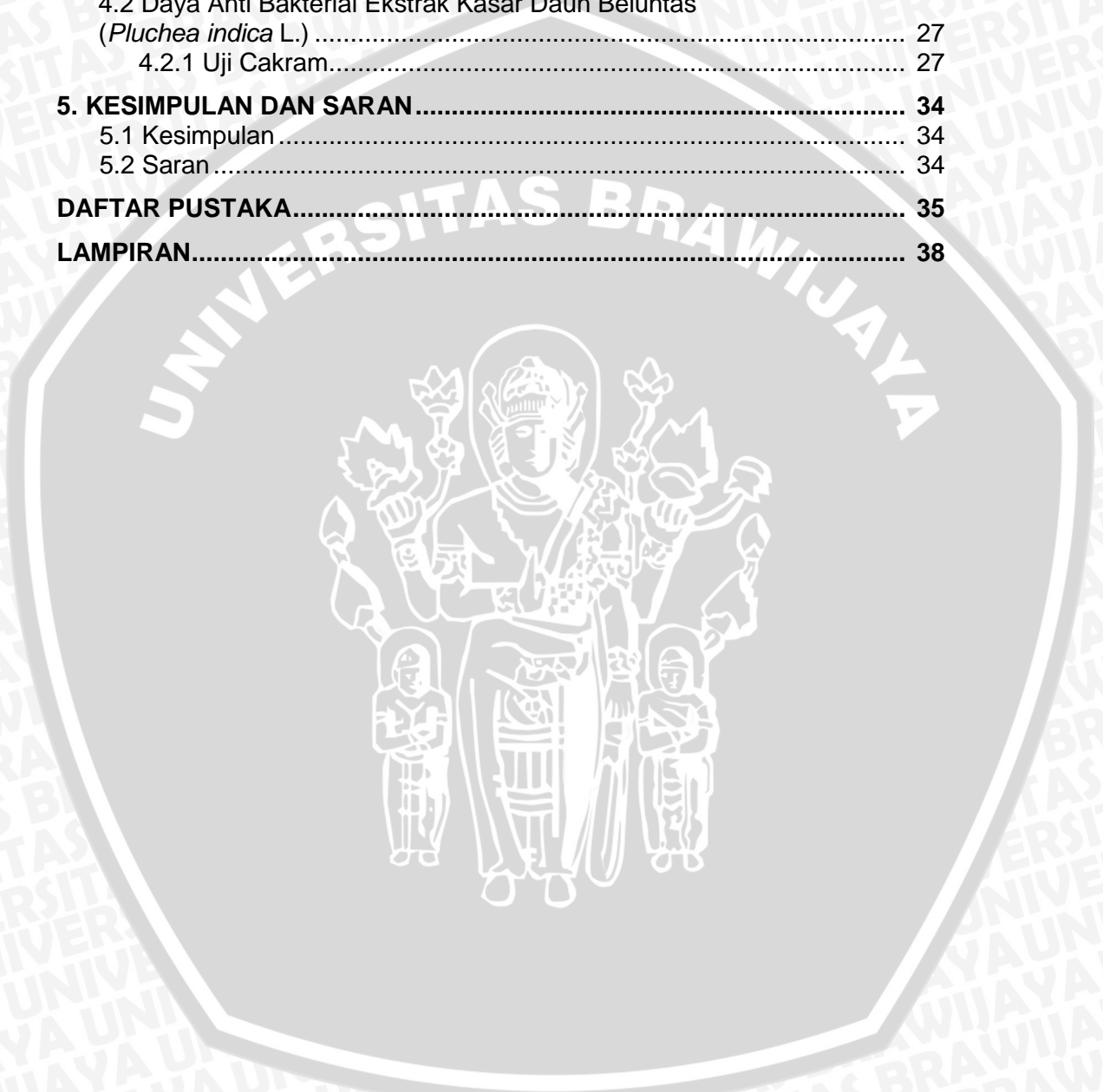
Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah ekstrak kasar daun beluntas dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas fluorescens* dimana konsentrasi optimum adalah dosis 10,56% dan konsentrasi maksimal sebesar 13,65%.

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	<b>iii</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>v</b>
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xii</b>
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.4 Hipotesis .....	5
1.5 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian.....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>6</b>
2.1 Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi .....	6
2.1.2 Habitat dan Penyebaran .....	7
2.1.3 Pertumbuhan.....	8
2.1.3 Infeksi Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i> dan Gejalanya.....	9
2.2 Daun Beluntas <i>Pluchea indica L.</i> .....	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi .....	9
2.2.2 Bahan Aktif Daun Beluntas ( <i>Pluchea indica L.</i> ).....	11
2.2.3 Aktivitas Antimikroba .....	12
2.3 Uji Efektivitas Antibakteri Secara <i>In Vitro</i> .....	13
2.3.1 Uji Cakram .....	13
<b>3. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	<b>15</b>
3.1 Materi Penelitian .....	15
3.1.1 Alat Penelitian .....	15
3.1.2 Bahan Penelitian .....	16
3.2 Metode Penelitian .....	16
3.3 Pengambilan Data .....	17
3.4 Rancangan Penelitian .....	17
3.5 Prosedur Penelitian .....	19
3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	19
3.5.2 Sterilisasi Tempat Perlakuan .....	19
3.5.3 Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Beluntas.....	20



3.5.4 Pembuatan Media .....	20
3.5.5 Pemiakan Bakteri <i>Pseudomonas flourescens</i> .....	21
3.6 Pelaksanaan Penelitian .....	22
3.6.1 Uji Cakram.....	22
3.7 Parameter Uji.....	23
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>24</b>
4.1 Identifikasi Bakteri <i>Pseudomonas flourescens</i> .....	24
4.2 Daya Anti Bakterial Ekstrak Kasar Daun Beluntas ( <i>Pluchea indica</i> L.) .....	27
4.2.1 Uji Cakram.....	27
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>34</b>
5.1 Kesimpulan.....	34
5.2 Saran.....	34
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>35</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>38</b>



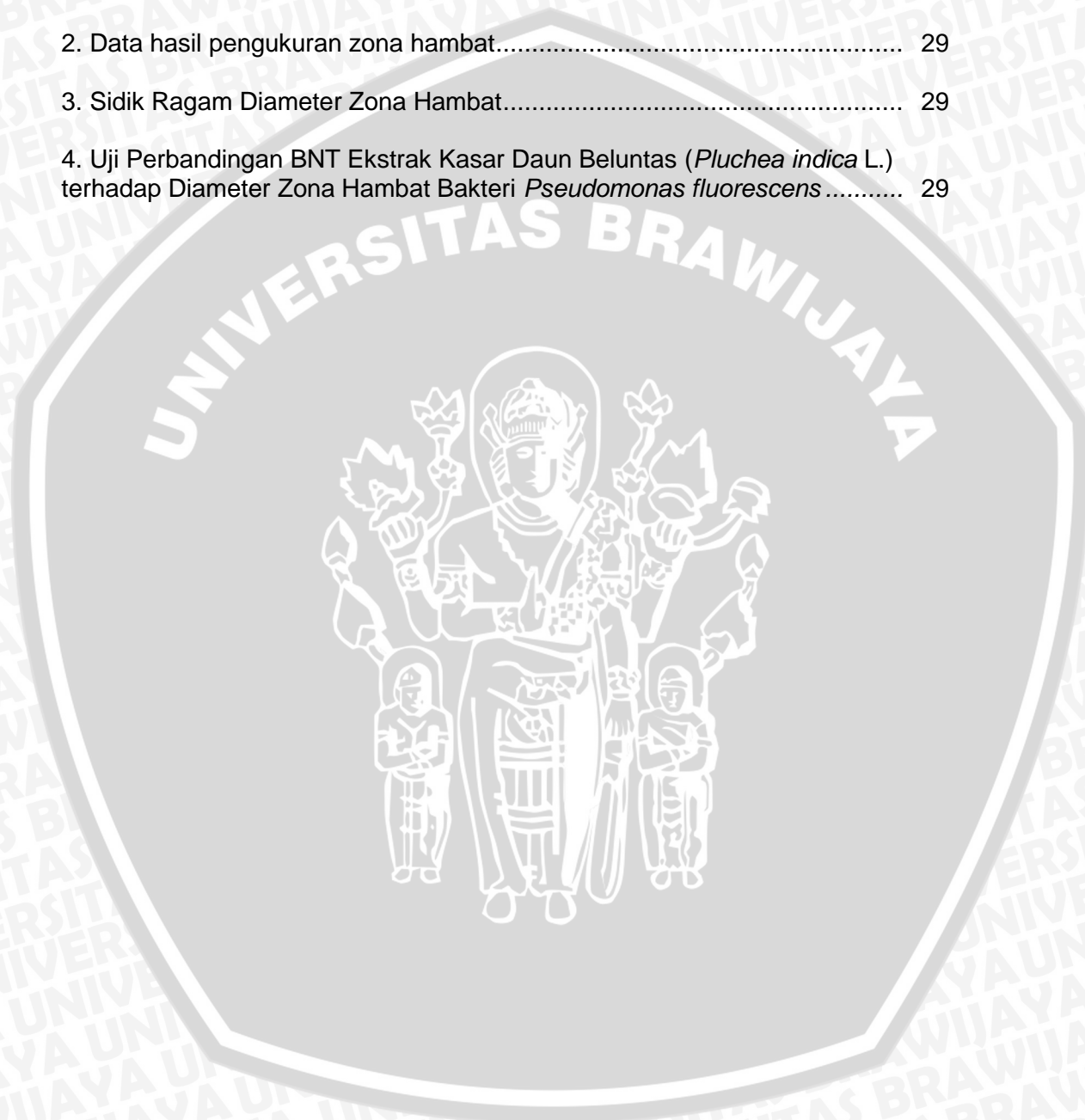
## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Pseudomonas fluorescens</i> dengan pembesaran 900000x.....	7
2. Bakteri <i>P.flurescens</i> perbesaran 1000x .....	7
3. Daun Beluntas .....	10
4. Denah Penelitian Uji Cakram .....	18
5. Biakan Murni Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	26
6. Ekstrak Kasar Daun Beluntas .....	27
7. Daya Hambat pada Penelitian Pendahuluan.....	28
8. Hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar daun kemangi ( <i>Ocimum sanctum</i> L.) terhadap diameter zona hambat bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	31
9. Mekanisme Perusakan Membran Sitoplasma oleh Flavonoid .....	32



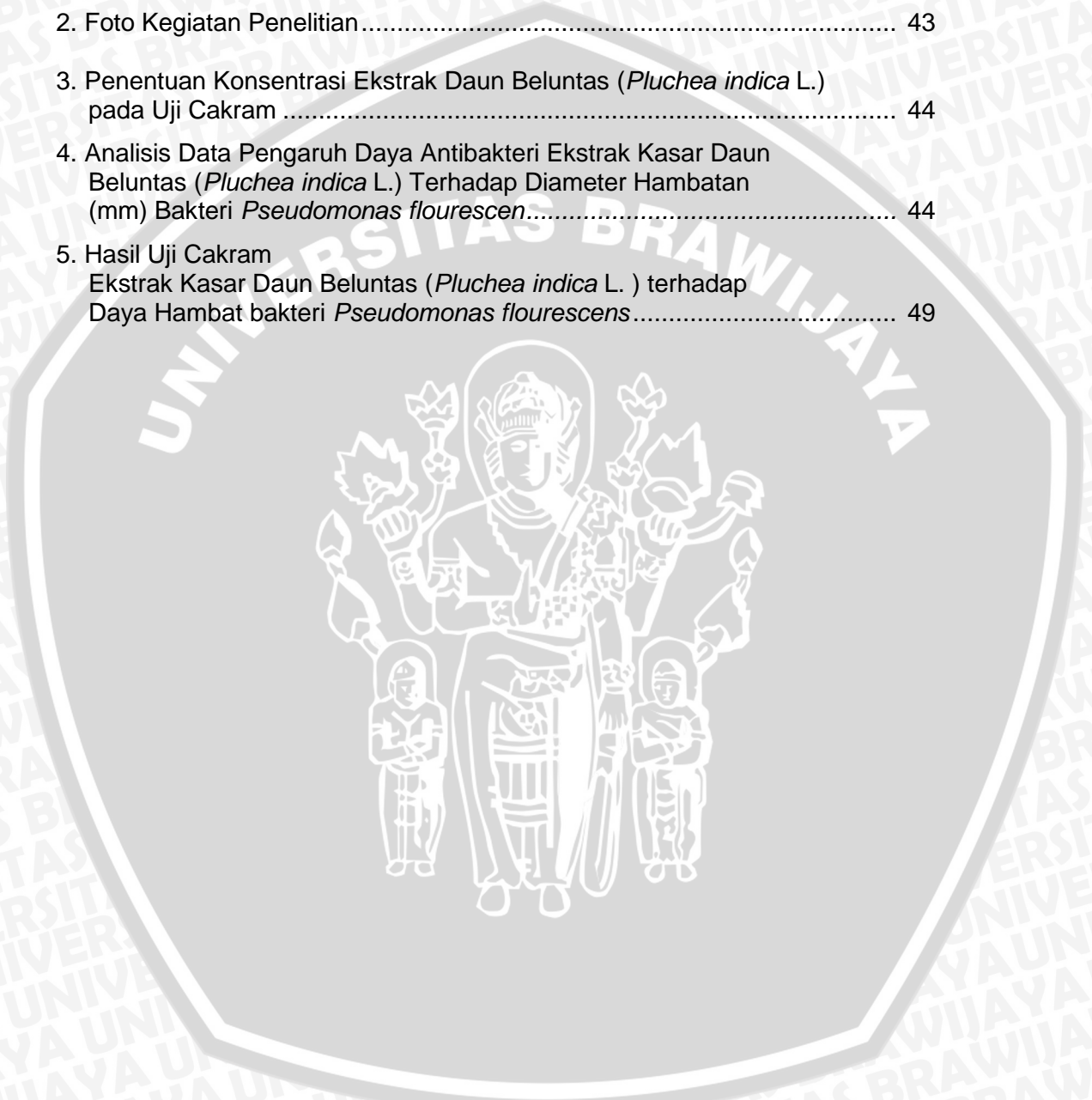
## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rancangan Perlakuan .....	18
2. Data hasil pengukuran zona hambat.....	29
3. Sidik Ragam Diameter Zona Hambat.....	29
4. Uji Perbandingan BNT Ekstrak Kasar Daun Beluntas ( <i>Pluchea indica</i> L.) terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	29



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Foto Alat Penelitian.....	38
2. Foto Kegiatan Penelitian.....	43
3. Penentuan Konsentrasi Ekstrak Daun Beluntas ( <i>Pluchea indica</i> L.) pada Uji Cakram .....	44
4. Analisis Data Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Beluntas ( <i>Pluchea indica</i> L.) Terhadap Diameter Hambatan (mm) Bakteri <i>Pseudomonas fluorescen</i> .....	44
5. Hasil Uji Cakram Ekstrak Kasar Daun Beluntas ( <i>Pluchea indica</i> L. ) terhadap Daya Hambat bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	49



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara kepulauan, dimana wilayahnya dikelilingi oleh lautan yang luas, sangat potensial mengembangkan pada dunia agronisnis perikanan. Menurut Nontji (2005), Indonesia merupakan negara kepulauan dengan wilayah laut yang lebih luas daripada luas daratannya. Luas seluruh wilayah Indonesia dengan jalur laut 12 mil adalah lima juta km<sup>2</sup> terdiri dari luas daratan 1,9 juta km<sup>2</sup>, laut teritorial 0,3 juta km<sup>2</sup>, dan perairan kepulauan seluas 2,8 juta km<sup>2</sup>. Artinya seluruh laut Indonesia berjumlah 3,1 juta km<sup>2</sup> atau sekitar 62 persen dari seluruh wilayah Indonesia. Selain itu, Indonesia juga merupakan negara dengan garis pantai terpanjang di dunia dengan jumlah panjang garis pantainya sekitar 81.000 km. Luas laut yang besar ini menjadikan Indonesia unggul dalam sektor perikanan dan kelautan. Pada tahun 2010 volume produksi yang dihasilkan dari sektor perikanan sebesar 11.662.342 ton dimana 5.384.418 ton dari perikanan tangkap dan 6.277.924 ton dari perikanan budidaya (Zulkarnain *et al.*, 2013).

Kemampuan sektor perikanan untuk berproduksi hanya 59% dari hasil ekonomis maksimal tersebut. Informasi tersebut menunjukkan adanya peluang usaha sebanyak 41% atau 2,7 juta ton per tahun yang belum dimanfaatkan (Rusmini, 2002).

Perairan umum merupakan sumberdaya perikanan utama di Indonesia bahkan dunia. Tipe perairan umum yang dikenal yaitu danau alam, danau buatan, sungai dan lebak lebung (rawa banjir). Lebak lebung dengan sungai-sungainya merupakan tipe perairan umum yang terpenting, dari luas maupun produksinya. Potensi ini sangat mungkin dikembangkan untuk industri budidaya perikanan. Terus meningkatnya jumlah penduduk telah mendorong peningkatan

kebutuhan pangan protein. Sementara dilain pihak sumberdaya ikan sebagai salah satu sumber protein hewani penting, makin terbatas. Hal tersebut menjadikan akuakultur sebagai tumpuan harapan masa depan perikanan (Arsyad, *et al.*, 2005).

Pembangunan perikanan saat ini mengarahkan pengembangan usaha yang berbasis budidaya, karena berkurangnya hasil tangkapan dari perairan umum, sedangkan permintaan pasar semakin hari semakin meningkat. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk usaha budidaya ikan agar berkesinambungan dapat meningkatkan perekonomian masyarakat pembudidaya ikan sehingga perlunya suatu strategi yang tepat dalam pengembangan usaha budidaya ikan air tawar lebih lanjut (Rahmawati dan Dede, 2012).

Kendala utama adalah serangan penyakit. Penyakit ikan merupakan salah satu masalah serius yang harus dihadapi dalam pengembangan usaha budidaya ikan. Kerugian yang diakibatkan oleh penyakit ikan selain dapat mematikan ikan juga dapat menurunkan mutu dari ikan itu sendiri. Kematian yang ditimbulkan oleh penyakit ikan sangat tergantung pada jenis penyakit ikan yang menyerang, kondisi ikan dan kondisi lingkungan. Apabila kondisi lingkungan menurun maka kematian yang diakibatkan oleh wabah penyakit sangat tinggi, tapi sebaliknya apabila kondisi lingkungan baik maka kematian akibat infeksi suatu penyakit lebih rendah. Tinggi rendahnya kematian akibat infeksi suatu penyakit juga tergantung pada kondisi immunitas ikan. Wabah penyakit yang terjadi pada kondisi ikan sedang sehat tidak akan mengakibatkan kematian yang tinggi, dan sebaliknya akan mengakibatkan kematian yang tinggi apabila kondisi ikan kurang sehat (Fauziah, 2011).

Sedangkan menurut Prajitno (2005), penyakit ikan adalah segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun

tidak langsung. Gangguan terhadap ikan dapat disebabkan oleh organisme lain, pakan maupun kondisi lingkungan yang kurang menunjang kehidupan ikan. Dengan demikian timbulnya serangan penyakit ikan di kolam merupakan hasil interaksi yang tidak serasi antara ikan, kondisi lingkungan dan organisme penyakit. Interaksi yang tidak sesuai ini dapat menyebabkan ikan stress, sehingga mekanisme pertahanan diri yang dimilikinya menjadi lemah dan akhirnya mudah terserang penyakit. Salah satu kendala yang sering dihadapi dalam budidaya ikan adalah serangan penyakit. Serangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri merupakan kendala utama dalam budidaya perikanan. Suatu kegiatan pembudidayaan ikan, pastinya tidak akan terlepas dari adanya berbagai permasalahan yang dapat mempengaruhi dan mengganggu kondisi fisiologis ikan, sehingga ikan jatuh sakit bahkan mati. Salah satunya adalah *Pseudomonas fluorescens* yang diketahui sebagai penyakit yang sangat ganas yang dapat menyerang ikan mas. Gejala yang timbul akibat serangan penyakit ini yaitu terjadi pendarahan dan borok pada kulit, serta sirip ekor terkikis (Mulyadi, 2009).

*Pseudomonas sp.*, bakteri ini termasuk kelompok bakteri *gram negative*, yaitu bersifat motil karena adanya flagel untuk alat gerak dan bersifat *aerobic*. Beberapa spesies bakteri dapat menghasilkan pigmen yang larut dalam air. Bakteri ini berbentuk batang dengan ukuran tubuh sekitar  $0,6 \times 2 \mu\text{m}$ . Bakteri ini dapat terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan, ataupun bergerombol membentuk rantai pendek. Gejala ikan yang telah terinfeksi oleh bakteri ini adalah terdapat benjolan berwarna merah pada pangkal sirip dada; perutnya membengkak; tubuhnya penuh borok / luka; pendarahan pada organ internal, sekitar mulut, opercula dan daerah ventral; terjadi nekrosis pada jaringan limpa dan ginjal; menurunnya nafsu makan sehingga pertumbuhan ikan melambat; serta ikan terlihat lemah (Anonymous, 2012).

Penggunaan obat-obatan untuk mengurangi gejala atau menyembuhkan penyakit dianggap sangat praktis, efektif dan murah. Dewasa ini, masyarakat mulai sadar bahwa obat modern yang umunya berupa zat kimia memiliki kelemahan-kelemahan yang signifikan sementara pada sisi lain terdapat kelebihan obat herbal (Winarno,1998). Hal ini didukung adanya penelitian-penelitian terdahulu yang merekomendasikan penggunaan herbal untuk memenuhi berbagai kebutuhan pengobatan terhadap penyakit yang saat ini sedang berkembang.

Salah satu tanaman asli Indonesia yang tersebar dengan luas di beberapa daerah di Indonesia serta berpotensi untuk dikembangkan yaitu tanaman beluntas (*Pluchea indica* Less.) yang merupakan salah satu tanaman dari suku Asteraceae yang mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, minyak atsiri, asam klorogenik, natrium, kalium, magnesium, dan fosfor sedangkan akarnya mengandung flavonoid dan tannin (Ardiansyah,2012).

## 1.2 Perumusan Masalah

Penggunaan antibiotik dan obat-obatan untuk ikan dapat mengakibatkan resistensi bakteri terhadap bahan kimia yang digunakan. Oleh karena itu, diperlukan bahan alami yang mampu digunakan sebagai antibakteri. Berdasarkan latar belakang diatas, masalah yang dihadapi yaitu belum diketahuinya pengaruh penggunaan ekstrak daun beluntas terhadap uji daya hambat bakteri *Pseudomonas fluorescens*.

Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan sebagai berikut:

Apakah pemberian ekstrak kasar daun beluntas (*P.indica.L.*) dengan cara pemberian kertas cakram yang direndam didalam ekstrak kasar daun beluntas berpengaruh terhadap daya hambat dari bakteri *Pseudomonas fluorescens*.



### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun beluntas (*P.indica L.*) terhadap daya hambat bakteri *Pseudomonas fluorescens*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak kasar daun beluntas (*P.indica L.*) terhadap daya hambat dari bakteri *Pseudomonas fluorecens*.

### 1.5 Hipotesis

$H_0$  : Diduga pemberian ekstrak kasar daun beluntas (*P.indica L.*) dengan dosis yang berbeda tidak mempengaruhi daya hambat dari bakteri *Pseudomonas fluorescens*.

$H_1$  : Diduga pemberian ekstrak kasar daun beluntas (*P.indica L.*) dengan dosis yang berbeda dapat mempengaruhi daya hambat dari bakteri *Pseudomonas fluorescens*.

### 1.6 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada 5 Maret – 7 Mei 2014.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Bakteri *Pseudomonas fluorescens*.

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi *P. fluorescens* menurut Goto (1992) dalam Ramdan (2010), pengelompokan *P. fluorescens* adalah:

Kingdom	: Prokariota
Divisi	: Gracilutes
Kelas	: Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Spesies	: <i>Pseudomonas fluorescens</i>

Penyakit merah tergolong penyakit bakterial. Penyebabnya adalah bakteri *P. fluorescens*. Bakteri ini tergolong jenis bakteri gram negatif, berbentuk batang dengan ukuran sekitar 2-3 mikron meter, dan mempunyai alat berupa flagela yang digunakan untuk bergerak (Cahyono, 2001).

Karakteristik dari *Pseudomonas* yaitu bersel satu, berbentuk basil, streptobasil, flagel lofotrik yaitu mempunyai lebih dari satu flagel pada salah satu ujungnya, bakteri heterotrof, hidup berkoloni, bersifat oksidatif. Bakteri ini memiliki flagel yg berfungsi sebagai alat pergerakan, kapsul sebagai bahan kental berupa lapisan lendir, berdinding tipis, filum sebagai pintu gerbang masuknya bahan genetic (Qnoze, 2011).



**Gambar 1.** *P. fluorescens* dengan perbesaran 900.000x (Google image, 2014).

### 2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Bakteri *Pseudomonas* adalah bakteri yang banyak terdapat di lingkungan. Bakteri *P. fluorescens* diketahui terdapat pada beberapa macam makanan antara lain salad, daging, sushi, hamburger, susu pasteurisasi, tanah, air laut dan air tawar (Irianto, 2005).



**Gambar 2.** *P. fluorescens* perbesaran 1000x (Dokumentasi penelitian, 2014)

*P. fluorescens* juga termasuk kedalam bakteri yang dapat ditemukan dimana saja (ubiquitous), seringkali ditemukan pada bagian tanaman seperti permukaan daun, akar, sisa tanaman yang membusuk, tanah dan air (Bradbury, 1986 dalam Supriadi, 2006).

### 2.1.3 Pertumbuhan

Menurut Arwiyanto *et.al.* (2007), bahwa semua isolat *P. fluorescens* yang diuji bersifat gram negatif, dapat membentuk enzim katalase, oksidase positif, dan memerlukan oksigen untuk tumbuh (aerob), serta mampu menghidrolisa pati dan arginin, membentuk enzim gelatinase, dapat melakukan denitrifikasi, tidak mengakumulasi *polyhydroxy butirate*. Semua isolat dapat menggunakan glukosa, laktosa, fruktosa, trehalosa, selobiosa, manitol, dan dulcitol sebagai sumber karbon. Semua isolat tumbuh baik pada suhu sekitar 20<sup>o</sup> - 41<sup>o</sup> C dengan pertumbuhan terbaik pada suhu 30<sup>o</sup>C. pH terbaik untuk pertumbuhan bakteri ini yaitu kisaran 6 - 7.

Pertumbuhan didefinisikan sebagai penambahan jumlah sel atau biomassa yang berurutan dan teratur seiring dengan waktu. Pertumbuhan meliputi jumlah sel, berat kering, kandungan protein, kandungan asam nukleat, dan sebagainya. Bakteri biasanya melakukan pembiakan secara aseksual atau vegetatif. Pembiakan ini berlangsung cepat, jika faktor-faktor luar menguntungkan. Pelaksanaan pembiakan yaitu dengan pembelahan diri atau *divisio*. Jika faktor-faktor luar menguntungkan, maka setelah terjadi pembelahan, sel-sel baru membesar sampai masing-masing menjadi sebesar sel induk.

Bakteri yang diinokulasikan dalam medium yang sesuai dan pada keadaan yang optimum bagi pertumbuhannya, maka terjadi kenaikan jumlah yang sangat tinggi dalam waktu yang relatif pendek. Pada beberapa spesies, populasi (panen sel terbanyak yang dapat diperoleh) tercapai dalam waktu 24 jam, populasinya dapat mencapai 10 sampai 15 milyar sel bakteri per mililiter. Perbanyakan ini disebabkan oleh pembelahan sel secara aseksual. Fase pertumbuhan bakteri adalah sebagai berikut :

- 1) Fase *lag* adalah fase dimana bakteri beradaptasi dengan lingkungannya dan mulai bertambah sedikit demi sedikit.

- 2) Fase *logaritmik* adalah fase dimana pembiakan bakteri berlangsung paling cepat. Jika ingin mengadakan piaraan yang cepat tumbuh, maka bakteri dalam fase ini baik sekali untuk dijadikan inokulum.
- 3) Fase *stationer* adalah fase dimana jumlah bakteri yang berkembang biak sama dengan jumlah bakteri yang mengalami kematian.
- 4) Fase *autolisis* (kematian) adalah fase dimana jumlah bakteri yang mati semakin banyak, melebihi jumlah bakteri yang berkembang biak.

Fase kematian ditandai dengan cepat merananya koloni dan jumlah bakteri yang mati senantiasa bertambah. Keadaan ini dapat berlangsung beberapa minggu bergantung pada spesies dan keadaan medium serta faktor-faktor lingkungan. Kalau keadaan ini dibiarkan terus menerus, besar kemungkinan bakteri tidak dapat dihidupkan kembali dalam medium baru. Cara menghitung jumlah bakteri untuk membuat grafik pertumbuhan, yaitu dengan metode penuangan, penghitungan dengan mikroskop dengan menggunakan *haemocytometer*, dan dengan menggunakan turbidometer (Fauzi, 2009)

#### 2.1.4 Infeksi Bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan Gejalanya

Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas fluorescens* dapat menyerang ikan yang masih muda dan ikan yang sudah dewasa. Kerugian yang ditimbulkan oleh serangan bakteri ini sangat besar. Hampir semua bagian tubuh ikan dapat terserang oleh bakteri ini, karena serangannya yang sangat ganas sehingga dapat menyebabkan kematian. Penularannya bisa melalui air, alat-alat budidaya, bagian tubuh ikan yang sudah terinfeksi, melalui perantara hewan lain, dan melalui tumbuhan air. Gejala yang terlihat pada ikan yang telah terinfeksi bakteri ini adalah ikan berwarna gelap (kusam), nafsu makan berkurang atau bahkan tidak ada nafsu makan, ikan bergerombol di dekat pintu pengeluaran air, terdapat luka pada kulit, sirip dan sisik rusak, pendarahan pada tubuh ikan, perut

busung, insang rusak berwarna keputih-putihan hingga kebiru-biruan, ikan melemah, dan timbul luka borok. Faktor-faktor penunjang lainnya adalah kualitas perairan yang buruk, kandungan bahan organik di perairan yang cukup tinggi, dan perubahan musim kering (kemarau) ke musim penghujan (Cahyono, 2001).

## 2.2 Daun Beluntas *Pluchea indica* L.

### 2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Berdasarkan kunci determinasi tumbuhan beluntas dikelompokkan seperti di bawah ini :

Divisi : Spermathophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Bangsa : Asterales

Suku : Asteraceae

Marga : *Pluchea*

Jenis : *Pluchea indica* Less.

(Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).



Gambar 3. Daun Beluntas (*P. indica* Less).

Beluntas adalah suatu tanaman obat tradisional Indonesia. Tanaman ini memiliki habitat perdu dengan tinggi 1-1,5 m. Batangnya berkayu, bulat, tegak, bercabang, bila masih muda berwarna ungu setelah tua putih kotor. Daunnya tunggal, berbentuk bulat telur, tepi rata, ujung runcing, pangkal tumpul, berbulu halus, panjang 3,8-6,4 cm, lebar 2-4 cm, pertulangan menyirip, warna hijau muda hingga hijau. Bunganya majemuk, mahkota lepas, putik bentuk jarum, panjang  $\pm$  6 mm, berwarna hitam kecoklatan, kepala sari berwarna ungu, memiliki dua kepala putik yang berwarna putih atau putih kekuningan. Akar beluntas merupakan akar tunggang dan bercabang (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

### **2.2.2 Bahan Aktif Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)**

Beluntas digunakan sebagai tanaman pagar dan pembatas di perkebunan. secara tradisional daunnya digunakan sebagai obat untuk menghilangkan bau badan, obat penurun panas, obat batuk, dan obat antidiare. Daun beluntas yang telah direbus sering pula digunakan untuk mengobati penyakit kulit. Selain itu daun beluntas juga sering dikonsumsi oleh masyarakat sebagai lalapan (Winarno dan Sundari, 1998). Daun beluntas juga digunakan sebagai obat nyeri pada rheumatik, sakit pinggang. Ekstrak daun beluntas yang dikonsumsi bersama rumput laut dapat digunakan sebagai obat tuberkulosis kelenjar leher (Wijayakusuma, 1994).

Dari berbagai manfaat di atas dalam berbagai penelitian dilakukan uji senyawa yang terkandung di dalam daun beluntas. Berdasarkan skrining fitokimia, golongan senyawa aktif yang teridentifikasi dalam daun beluntas antara lain flavonoid, tanin, alkaloid, steroid dan minyak atsiri (Ardiansyah et al., 2002).

### 2.2.3 Aktivitas Antimikroba

Antimikroba adalah suatu zat yang mampu mengganggu pertumbuhan dan aktivitas metabolisme mikroba. Khusus untuk bakteri dinamakan antibakteri. Mekanisme kerja antimikroba antara lain dengan jalan merusak dinding sel mikroorganisme, merusak membran sitoplasma, mendenaturasi protein sel dan menghambat kerja enzim dalam sel (Pelczar dan Chan, 1986).

Semua senyawa flavonoid, menurut strukturnya merupakan turunan senyawa induk flavon dan semuanya mempunyai sejumlah sifat yang sama flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air dan berupa senyawa fenol (Harbone, 1987).

Secara umum antimikroba yang mempengaruhi pembentukan dinding sel atau permeabilitas membran sel bekerja bakteriosidal sedangkan pada sintesis protein bekerja bakteriostatik. Istilah bakteriosidal digunakan untuk zat yang dapat membunuh bakteri dan bakteriostatik adalah suatu keadaan yang mencegah pertumbuhan bakteri sehingga populasi bakteri tetap (Pelczar dan Chan, 1986).

Menurut Noviana (2004) pada perusakan membran sitoplasma, ion  $H^+$  dari senyawa fenol dan turunannya (flavanoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian.

Persenyawaan fenol sebagai desinfektan bersifat aktif terhadap sel vegetatif bakteri, tetapi tidak aktif terhadap spora bakteri. Persenyawaan bersifat fungisida dan antivirus. Keaktifannya menurun dengan berbagai senyawa organik lain (Prajitno, 2005).



## 2.2 Uji Efektivitas Antibakteri Secara *In Vitro*

### 2.3.1 Uji cakram

Uji cakram merupakan pengujian untuk mengetahui daya hambat dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terjadi di sekitar kertas cakram yang mengandung bahan antibakteri sesuai dengan konsentrasi perlakuan (Pelczar dan Chan, 1986).

Pada uji cakram lempengan agar disemai dengan mikroorganisme yang diuji, cakram yang berisi antibakteri diletakkan diatas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme yang diuji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antibakteri terlihat sebagai wilayah bening sekitar pertumbuhan mikroorganisme. Uji antibakteri dengan cara cakram adalah untuk mengetahui pada konsentrasi berapa persen yang bersifat bakteriostatik maupun bakteriosidal. Uji cakram diperkenalkan oleh William Kirby dan Alfred Bauer 1966 (Lay, 1994).

Menurut Bonang dan Koeswardono (1982), bahwa pengukuran aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (clear zone) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10<sup>5</sup>-10<sup>8</sup> CFU/ml Metode (Herrmawan *et al.*, 2007). Difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan, metode difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas. Prinsip metode pengenceran adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair dan parameternya dapat dilihat dari tingkatan kekeruhannya.

Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram.



### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk penelitian tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens* secara *In vitro* antara lain:

- Timbangan digital
- Timbangan sartorius
- Nampan
- Pipet tetes
- *triangle*
- *Autoclave*
- Lemari pendingin
- *Hotplate*
- Cawan petri
- Pinset
- *Laminar*
- Spektrofotometer
- cuvet
- Inkubator
- Korek gas
- Rak tabung reaksi
- *Sentrifuse*
- *Rotary vacuum evaporator*
- Toples Kaca
- *Beaker glass*
- Tabung reaksi
- Erlenmeyer
- Gelas ukur
- Bunsen
- Gunting
- Jarum osse
- Spatula
- *Micropipet*



### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)
- Kertas label
- Bakteri *Pseudomonas fluorescens*
- Alkohol 70%
- PSA (*Pseudomonas Selective Agar*)
- NB (*Nutrient Broth*)
- Tali
- Lap kering
- DMSO 10%
- Kapas
- Tissue
- Etanol 96%
- Kertas Saring
- Akuades
- Alumunium Foil
- Spiritus
- Kertas cakram ukuran 6mm

### 3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian dalam penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Menurut Nazir (1988), penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap obyek penelitian serta adanya kontrol. Tujuan penelitian eksperimental adalah untuk menyelidiki kemungkinan saling hubungan sebab-akibat dengan cara mengenakan kepada satu atau lebih kelompok eksperimental, satu atau lebih kondisi perlakuan dan membandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan.

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung, yaitu dengan cara pengamatan secara langsung terhadap gejala-gejala obyek yang diteliti baik situasi sebenarnya maupun dalam situasi buatan dalam rangka pengujian hipotesis (Surachmad, 1986).

### 3.3 Pengambilan Data

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung, yaitu penyelidik mengadakan pengamatan terhadap gejala-gejala subjek yang diselidiki baik secara langsung dalam situasi yang sebenarnya maupun dalam situasi buatan atau alat yang sudah ada maupun yang sengaja dibuat untuk keperluan khusus (Surachmad, 1986).

### 3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). RAL digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam sehingga kondisi lingkungan tempat penelitian dalam keadaan sama (Sastrosupadi, 2002).

$$Y = \mu + \tau + \varepsilon$$

Keterangan :

$\mu$  = nilai rerata harapan ( *mean* )

$\tau$  = pengaruh faktor perlakuan

$\varepsilon$  = pengaruh galat

Penelitian dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun beluntas (*Pluchea indica L.*) dengan perlakuan yang diberikan adalah perbedaan konsentrasi ekstrak kasar daun beluntas (*Pluchea indica L.*) terhadap bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Dasar penelitian ini adalah penelitian pendahuluan untuk mengetahui dosis daya hambat yang tepat dalam penggunaan ekstrak kasar daun beluntas (*Pluchea indica L.*). Dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, sedangkan perlakuan

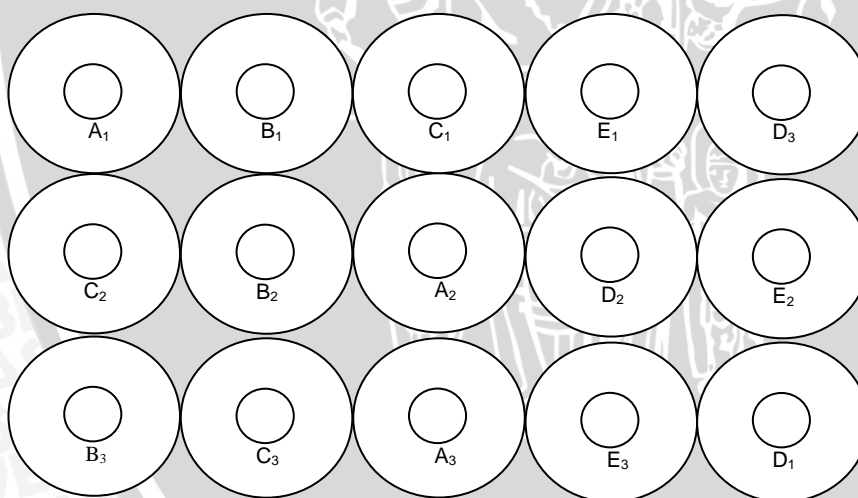
tersebut diperoleh total sampel sebanyak 4 perlakuan dan 1 kontrol. Sehingga tiap perlakuan dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>
B	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>
C	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>
D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>
E	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>

Keterangan:

- A : Perlakuan konsentrasi 9%
- B : Perlakuan konsentrasi 12%
- C : Perlakuan konsentrasi 15%
- D : Perlakuan konsentrasi 18%
- E : Perlakuan konsentrasi 0% (kontrol)

Untuk denah penelitian disajikan pada gambar 3 berikut :



**Gambar 4.** Denah Penelitian Uji Cakram

Keterangan:

A,B,C,D : perlakuan

E : kontrol

1,2,3 : ulangan

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Langkah awal dalam melakukan metode sterilisasi ini yaitu dengan mencuci alat-alat yang akan digunakan dengan sabun, dikeringkan kemudian dibungkus dengan menggunakan plastik tahan panas dan diikat menggunakan benang. Kemudian ditambahkan air secukupnya dituang ke dalam *autoclave*, alat yang telah dibungkus kertas koran dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris.

Selanjutnya tombol ON dinyalakan, setelah mencapai suhu 121°C dan tekanan menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit dengan cara membuka dan atau menutup kran uap yang berada di bagian atas tutup *autoclave*. Kemudian tombol OFF ditekan untuk mematikan *autoclave*, ditunggu beberapa saat sampai suhu menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka kran uap lalu buka penutup *autoclave* dengan cara simetris. Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil dari *autoclave*. Kemudian alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

#### 3.5.2 Sterilisasi tempat perlakuan

Selain alat dan bahan, tempat dan laboran harus steril guna menghindari kontaminan. Tangan laboran yang bersinggungan, meja dan barang disekitar tempat perlakuan harus selalu dalam kondisi aseptis. Sterilisasi tempat dapat

dilakukan dengan cara kimia menggunakan alkohol maupun cara fisika dengan pembakaran langsung maupun dengan penyinaran dengan sinar UV.

### 3.5.3 Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Beluntas

Permulaan proses pembuatan ekstrak kasar daun beluntas (*Pluchea indica* L.) maka terlebih dahulu disiapkan daun beluntas segar yang kemudian dikeringkan dengan cara diangin - anginkan. Berat awal daun kemangi segar adalah 1kg kemudian di keringkan dan dihasilkan penyusutan berat sebesar 530 gram. Setelah daun beluntas kering maka langkah selanjutnya yakni dilakukan proses penggilingan dengan menggunakan *blender* hingga didapatkan ukuran daun beluntas kering yang lebih halus.

Persiapan perendaman (maserasi) dimana Serbuk kemangi sebanyak 250 gram dimaserasi dalam etanol 96% sebanyak 1,25 liter selama 3 x 24 jam dengan 3 kali dilakukan penggantian pelarut etanol dan dilakukan dalam suhu kamar. Larutan yang didapat kemudian disaring dengan kertas saring lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak daun beluntas sebanyak 34,28 gram.

### 3.5.4 Pembuatan Media

#### A. PSA (*Pseudomonas Selective Agar*)

Penelitian ini menggunakan PSA dengan dosis 40 gram/L. PSA ditimbang sebanyak 12,8 gram. Kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer berisi 320 ml akuades. Media diaduk pada kondisi hangat diatas *hotplate* sampai tercampur rata, kemudian erlenmeyer ditutup dengan kapas dan kertas perkamen / aluminium foil kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

Media yang akan dipakai dibiarkan dingin hingga mencapai suhu  $\pm 30^{\circ}\text{C}$  karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.



Media selanjutnya dituang pada cawan petri tunggu dingin dan gunakan atau simpan pada lemari pendingin dengan diberi label. Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari pendingin.

### **B. Nutrient Broth (NB)**

Dalam pembuatan media untuk kultur bakteri langkah awal yang dilakukan yaitu NB ditimbang 6 gram dilarutkan dalam 200 ml akuades dalam erlenmeyer kemudian diaduk hingga larut sempurna dan berwarna kuning. Kemudian erlenmeyer ditutup kapas dan aluminium foil lalu dibungkus dengan kertas perkamen dan diikat, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit. Media yang akan digunakan untuk pembiakan bakteri dibiarkan dingin karena bakteri akan mati bila diinokulasi pada media yang masih panas.

#### **3.5.5 Pembiakan Bakteri *Pseudomonas fluorescens***

Larutan NB disiapkan sebanyak 6 gram dalam erlenmeyer sebanyak 200 ml. Lalu jarum ose dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum ose disentuh kebiakan murni *Pseudomonas fluorescens* kemudian dicelupkan ke dalam larutan NB. Kemudian larutan NB dibiarkan 12-24 jam dalam inkubator pada suhu 37<sup>0</sup>C.

Disiapkan petridisk yang berisi media PSA. Setelah NB menjadi keruh, jarum ose dicelupkan ke NB dan digoreskan ke permukaan PSA. Lalu digoreskan ke dalam media PSA secara zig-zag dengan metode goresan Sinambung, T atau Kuadran. Kemudian media PSA Inkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 24 jam.

### 3.6 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.6.1 Uji Cakram

Uji cakram merupakan pengujian untuk antibakteri dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terjadi di sekitar kertas cakram yang mengandung bahan antibakteri sesuai dengan konsentrasi perlakuan (Pelczar dan Chan, 1986).

Uji cakram digunakan untuk mengetahui pada konsentrasi tertentu yang dapat menghambat bakteri yang bersifat bakteristatik (menghambat bakteri) setelah pengamatan 24 jam, maupun bakteriosidal (membunuh bakteri) setelah pengamatan 48 jam. Kertas cakram yang telah direndam dengan zat antibakteri diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme yang diuji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antibakteri terlihat sebagai wilayah yang jernih di sekitar pertumbuhan mikroorganisme.

Prosedur pelaksanaan Uji cakram yaitu dengan menyiapkan petridisk yang telah terdapat media PSA, dan disiapkan konsentrasi ekstrak kasar daun beluntas untuk uji cakram. Penanaman bakteri pada media PSA dilakukan dengan cara mengambil biakan bakteri dari media NB dengan menggunakan pipet tetes, kemudian ditetaskan dalam media agar sebanyak 1 tetes dan diratakan pada seluruh permukaan media agar.

Kertas cakram yang akan digunakan disteril dengan direndam ke dalam ekstrak kasar daun beluntas selama 30 menit berdasarkan konsentrasi yang telah ditentukan. Kertas cakram yang telah direndam dalam Ekstrak kasar daun beluntas (*Pluchea indica* L.) ditiriskan dan diletakkan pada permukaan lempeng agar. Kemudian dibaca hasil setelah diinkubasi pada suhu ruang 37°C selama 24 jam dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong.

Jarak kertas cakram dengan tepi petridisk tidak boleh kurang dari 15 mm.

Jika jumlah kertas cakram lebih dari satu, maka jarak antar cakram tidak boleh kurang dari 24 mm. Saat meletakkan kertas cakram tidak boleh bergeser, karena mengurangi validasi pengukuran.

### 3.7 Parameter Uji

Parameter uji terdiri dari parameter utama dan parameter penunjang. Parameter utama yaitu diameter daerah hambatan yang diukur dengan menggunakan kertas cakram yang dinyatakan dengan mm ditambah daerah bening yang ada di sekeliling kertas cakram. Parameter penunjangnya adalah suhu inkubasi yakni sebesar 37°C.

### 3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan mempergunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variable bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan perbedaan antar dua perlakuan.

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Identifikasi Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

Kelompok *Pseudomonas* adalah batang gram-negatif, bergerak, aerob dan beberapa diantaranya menghasilkan pigmen yang larut dalam air. *Pseudomonas* ditemukan secara luas di tanah, air, tumbuhan dan hewan. Dalam jumlah kecil *P. fluorescens* sering terdapat dalam flora usus normal dan pada kulit manusia dan merupakan pathogen utama dari kelompoknya. Spesies *Pseudomonas* yang lain jarang menyebabkan penyakit.

Menurut Adelberg, *et al.*(2004), *Peudomonas* disebut patogen oportunistik, yaitu memanfaatkan kerusakan pada mekanisme pertahanan inang untuk memulai suatu infeksi. Bakteri ini dapat juga tinggal pada manusia yang normal dan berlaku sebagai saprofit pada usus normal dan pada kulit manusia.

*P. fluorescens* adalah aerob obligat yang tumbuh dengan mudah pada banyak jenis perbenihan biakan. *P. fluorescens* membentuk koloni halus bulat dengan warna fluoresensi kehijauan. Bakteri ini sering menghasilkan *piosianin*, pigmen kebiru-biruan yang tak berfluoresensi, yang berdifusi ke dalam agar. Spesies *Pseudomonas* lain tidak menghasilkan piosianin. Banyak strain *P. fluorescens* juga menghasilkan pigmen *piorubin* yang berwarna merah gelap atau pigmen *piomelanin* yang hitam. *P. fluorescens* dalam biakan dapat menghasilkan berbagai jenis koloni, sehingga memberi kesan biakan dari campuran berbagai spesies bakteri.

Adelberg, *et al.*(2004) menyatakan, *P. fluorescens* yang jenis koloninya berbeda dapat mempunyai aktivitas biokimia dan enzimatik yang berbeda dan pola kepekaan antimikroba yang berbeda pula. Banyak strain *P. aeruginosa* menghasilkan eksotoksin A, yang menyebabkan nekrosis jaringan dan dapat mematikan hewan bila disuntikkan dalam bentuk murni, tetapi *P. aeruginosa*

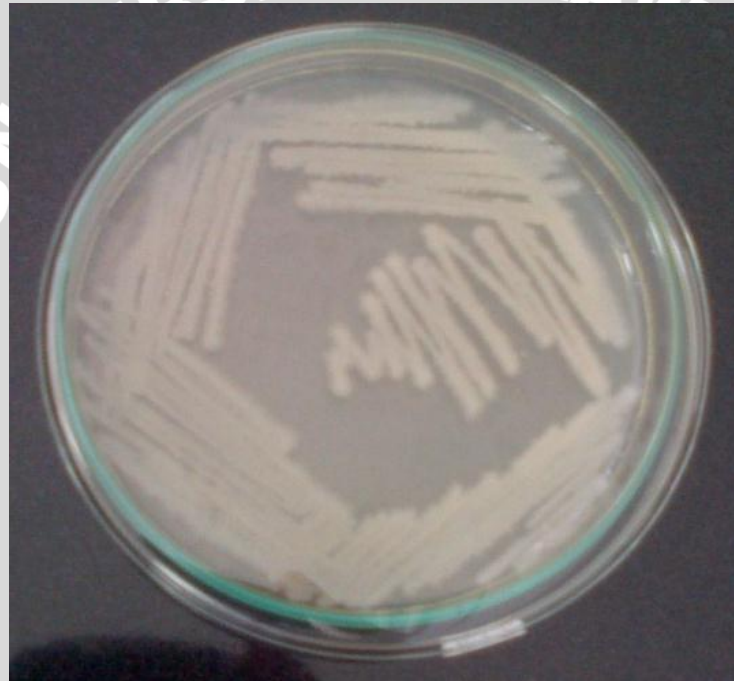
hanya bersifat patogen bila masuk ke daerah yang fungsi pertahanannya abnormal, seperti pada selaput mukosa dan luka karena kerusakan jaringan langsung

Pada penelitian ini digunakan isolat murni bakteri *P. fluorescens* yang didapatkan dari Balai Karantina Ikan Juanda Surabaya. Tahapan berikutnya yang dilakukan dalam pengkulturan ini adalah peremajaan bakteri *P. fluorescens* pada media agar yakni PSA (*Pseudomonas Selective Agar*) dalam peremajaan metode gores dan pada media cair yakni NB (*Nutrient Broth*) dimana menurut Indra (2008), dalam Pratama, et al. (2012), media adalah suatu substrat untuk menumbuhkan bakteri yang menjadi padat dan tetap tembus pandang pada suhu inkubasi. Medium adalah suatu bahan nutrisi tempat menumbuhkan bakteri di laboratorium. Media berfungsi untuk menumbuhkan mikroba, isolasi, memperbanyak jumlah, menguji sifat-sifat fisiologi dan perhitungan jumlah mikroba, dimana dalam proses pembuatannya harus disterilisasi dan menerapkan metode aseptis untuk menghindari kontaminasi pada media.

Dalam penelitian digunakan biakan bakteri dengan kepadatan  $10^7$  CFU/ml. Untuk mendapatkan kepadatan bakteri ini, dilakukan pembiakan bakteri dengan kepadatan sebesar 1 Mc Farland (1 Mc. Farland =  $10^7$  bakteri/ml). dengan melakukan penanaman bakteri uji ke dalam media tanam PSA, kemudian diambil dengan menggunakan jarum osse dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi NB, sampai didapat kekeruhan yang sama dengan standart Mc. Farland 1, selanjutnya dari bakteri dengan kepadatan Mc. Farland 1 tersebut diambil 0,5 ml menggunakan *micropipet* dan dimasukkan ke dalam 45 ml NB lagi. Dengan demikian telah didapatkan kepadatan  $10^7$  bakteri/ml (Jatmikoningtyas, 2001).

Isolat yang didapat kemudian digores pada media kultur dengan metode gores kuadran (*Streak*). Tujuannya yakni untuk mendapatkan koloni tunggal dan

murni, dan jika masih didapati koloni yang berbeda bentuknya melalui uji morfologi, maka dilakukan proses pemurnian. Metode pembiakan *streak* (gores) dilakukan pada media agar yang diletakkan pada cawan petri dengan cara menggosokkan jarum ose pada Gambar 6 yang telah mengandung bakteri dengan arah gerakan ke kiri dan ke kanan secara sinambung sampai meliputi seluruh permukaan agar sehingga akan diperoleh koloni yang menggerombol hingga mengecil. Bakteri *P. fluorescens* yang dibiakkan pada media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*) membentuk koloni berwarna kuning.



**Gambar 5.** Biakan Murni Bakteri *Pseudomonas flourescens*

## 4.2 Daya Antibakterial Ekstrak Kasar Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)

### 4.2.1 Uji Cakram

Dalam mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak kasar daun beluntas (*Pluchea indica* L.), maka diperlukan uji daya hambat dengan menggunakan kertas cakram. Uji cakram menurut Sommers (1994) ditandai dengan zona hambatan yang terbentuk sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri di sekitar cakram kertas saring, atau dengan kata lain adalah zona bening disekitar kertas cakram.

Ekstrak kasar daun beluntas didapatkan dengan metode maserasi dan diuapkan dengan mesin *Rotary Evaporator* sehingga didapatkan hasil ekstrak sebesar 34,28 gram.

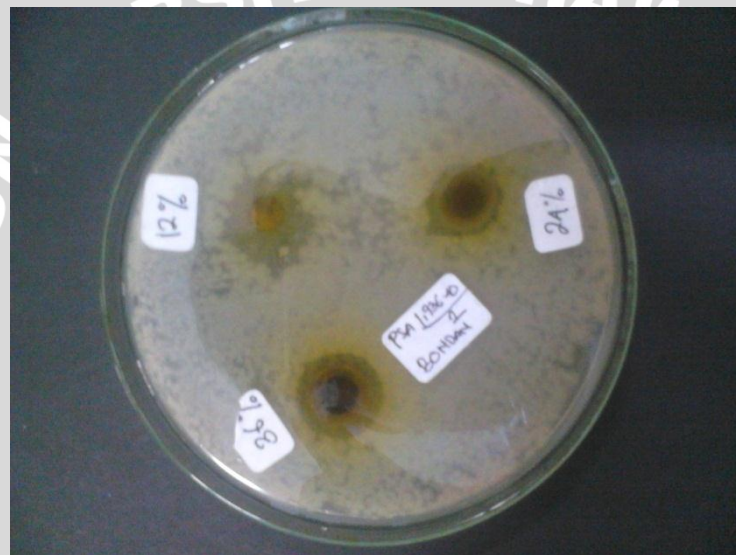


**Gambar 6.** Ekstrak kasar daun beluntas

Pada penelitian ini zona hambat (zona bening) didapati dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Pseudomonas fluorescens* di sekitar kertas cakram ukuran 6 mm yang telah direndam dengan perlakuan dosis yang berbeda-beda. Hasil dari penelitian uji cakram dapat dilihat pada Lampiran 1 ditiap perlakuan

dosis yang berbeda-beda. Hasil yang didapat tentang pengaruh daya hambat ekstrak kasar daun beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro* diperoleh hasil data yang berbedda pada tiap perlakuan dosis.

Pada penelitian pendahuluan didapatkan hasil yang berbeda-beda pada setiap dosis yang digunakan antara lain 12%, 24%, dan 36%. Data yang diperoleh dalam penelitian pendahuluan ini yaitu pada dosis ekstrak daun beluntas 12% memiliki daya hambat paling besar yaitu sebesar 2cm, sedangkan pada dosis 24% dan 36% berturut-turut adalah 1,7cm dan 1,5cm.



**Gambar 7.** Daya hambat pada penelitian pendahuluan

Dosis yang digunakan pada penelitian inti yaitu 9%, 12%, 15%, 18%, dan diperoleh data sebagai berikut.



**Tabel 2.** Data hasil pengukuran zona hambat.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SD	Total Kuadrat
	1	2	3				
A	8	8	9	25	8.333	0.577	625
B	10	11	12	33	11	1	1089
C	9	11	9	29	9.666	1.154	841
D	9	9	9	27	9	0	729
Total	36	39	39	114	38	2.732	3284
Rerata	9	9.75	9.75	28.5			
Total Kuadrat	1296	1521	1521	12996			

Di dalam data tersebut dan pada lampiran diperlihatkan bahwa konsentrasi ekstrak kasar daun beluntas terkecil yang menghasilkan diameter zona hambat adalah pada dosis 9% dan diameter zona hambat terbesar adalah pada dosis 12%. Untuk mengetahui nilai dari kenormalan data dilakukan uji kenormalan data yang ditunjukkan pada Lampiran . Hasil dari lampiran tersebut diketahui bahwa data normal sehingga dapat dilanjutkan untuk sidik ragam. Kegunaan dari sidik ragam yaitu untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Hasil sidik ragam pengaruh ekstrak kasar daun beluntas yang berbeda konsentrasi terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* ditunjukkan pada Tabel 2, sementara untuk perhitungan sidik ragam dapat dilihat pada Lampiran.

**Tabel 3.** Sidik Ragam Diameter Zona Hambat

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	11,67	3,89	5,833*	4,07	7,59
Acak	8	5,33	0,67			
Total	11	17,00				

Keterangan : \* = Berbeda Nyata

Pada perhitungan sidik ragam didapati hasil bahwa pengaruh pemberian ekstrak kasar daun beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* adalah berbeda nyata. Hal ini dikarenakan hasil dari F Hitung lebih besar dari F Tabel 5% namun lebih kecil dari F Tabel 1 % atau nilai 5,833 lebih

kecil daripada 7,59 dan 5,833 lebih besar daripada 4,07. Untuk selanjutnya dalam mengetahui perbandingan antar perlakuan maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang diperlihatkan pada Tabel 3 berikut ini.

**Tabel 4.** Uji Perbandingan Beda Nyata Terkecil Ekstrak Kasar Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

Rerata Perlakuan	8.3333	9	9.6666	11		notasi
8.3333	-	-	-	-	-	a
9	0.6666	-	-	-	-	a
9.6666	1.3333	0.6666	-	-	-	a
11	2.6666	2	1.3333	-	-	ab

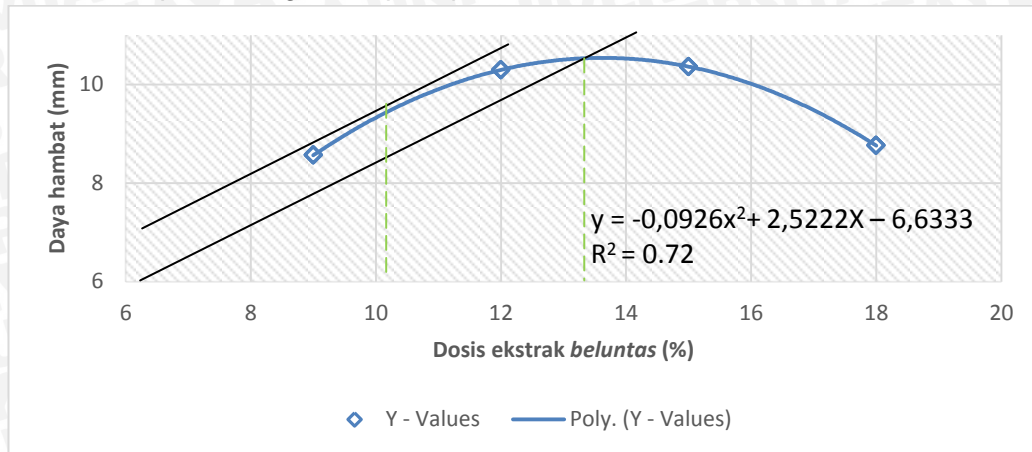
Pada data Tabel 3 ini didapati bahwa nilai hasil dari perlakuan B yakni dengan dosis 12% memiliki nilai yang berbeda sangat nyata dengan perlakuan lainnya dengan dosis masing-masing A = 9%, C = 15%, dan D = 18%. Hal ini dibedakan berdasarkan atas notasi yang telah diberikan pada tiap perlakuan karena pada perlakuan B memiliki notasi ab, sedangkan pada perlakuan lain notasinya adalah a. Artinya bahwa perlakuan B berbeda sangat nyata dengan perlakuan A, perlakuan B berbeda sangat nyata dengan perlakuan C dan D. Perbedaan notasi tersebut didapat dari perhitungan yang menunjukkan bahwa nilai selisih perlakuan B lebih besar dari pada nilai SED yang ditunjukkan pada Lampiran.

Untuk mengetahui bentuk hubungan koefisien determinasi antara perlakuan dengan parameter yang diuji yakni daya hambat bakteri *P. fluorescens*, maka dilakukan perhitungan polinomial orthogonal. Perhitungan polinomial orthogonal ditunjukkan pada Lampiran.

Untuk mengetahui bentuk hubungan koefisien determinasi antara perlakuan dengan parameter yang diuji yakni daya hambat bakteri *P. flourescen*,

maka dilakukan perhitungan polinomial orthogonal. Perhitungan polinomial orthogonal ditunjukkan pada Lampiran 4 dan Gambar 8.

didapatkan regresi seperti pada Gambar 10.



**Gambar 8.** Hubungan antara Konsentrasi Ekstrak Kasar Daun beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *P. fluorescens*

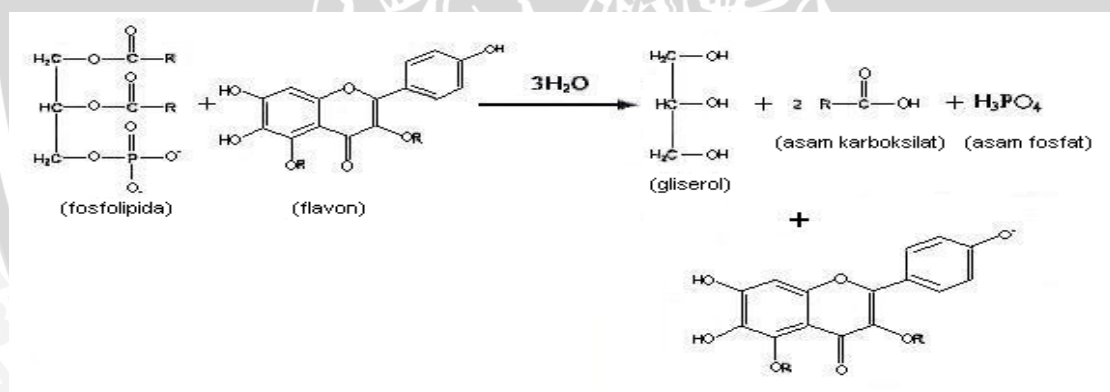
Pada grafik diatas dapat dilihat bahwa nilai optimal terdapat pada dosis 10,2% dengan daya hambat sebesar 9,8mm, sedangkan dosis maksimalnya yaitu 13,62% dengan daya hambat sebesar 10,56mm.

Pada ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* L.) mengandung bahan antibakteri yakni berupa flavonoid. Flavonoid merupakan suatu zat turunan dari golongan fenol yang terdapat dalam ekstrak kasar daun beluntas (*Pluchea indica* L.) serta larut dalam air. Fenol dapat juga berfungsi sebagai zat bakteriosidal. Kadar tinggi akan mengendapkan protein sedangkan kadar rendah mendenaturasi protein tanpa koagulasi sehingga bebas menembus jaringan (Doerge, 1972). Semua senyawa flavonoid, menurut strukturnya merupakan turunan senyawa induk flavon dan semuanya mempunyai sejumlah sifat yang sama flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air dan berupa senyawa fenol (Harbone, 1987).

Antimikroba adalah suatu zat yang mampu mengganggu pertumbuhan dan aktivitas metabolisme mikroba. Khusus untuk bakteri dinamakan antibakteri. Mekanisme kerja antimikroba antara lain dengan jalan merusak dinding sel mikroorganisme, merusak membran sitoplasma, mendenaturasi protein sel dan menghambat kerja enzim dalam sel (Pelczar dan Chan, 1986).

Secara umum antimikroba yang mempengaruhi pembentukan dinding sel atau permeabilitas membran sel bekerja bakteriosidal sedangkan pada sintesis protein bekerja bakteriostatik. Istilah bakteriosidal digunakan untuk zat yang dapat membunuh bakteri dan bakteriostatik adalah suatu keadaan yang mencegah pertumbuhan bakteri sehingga populasi bakteri tetap (Pelczar dan Chan, 1986).

Reaksi penguraian pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon menurut Gilman *et al.* (1991) ditunjukkan pada Gambar 11.



**Gambar 9.** Mekanisme perusakan membran sitoplasma oleh flavonoid

Pada Gambar 9 ini nampak pada perusakan membran sitoplasma, ion H<sup>+</sup> dari senyawa fenol dan turunannya (flavanoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma

akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian Noviana (2004).

Persenyawaan fenol sebagai desinfektan bersifat aktif terhadap sel vegetatif bakteri, tetapi tidak aktif terhadap spora bakteri. Persenyawaan bersifat fungisida dan antivirus. Keaktifannya menurun dengan berbagai senyawa organik lain (Prajitno, 2005).



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari penelitian tentang “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Beluntas (*Pluchea indica*L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In Vitro*” diperoleh kesimpulan bahwa, hasil uji cakram, konsentrasi ekstrak kasar daun beluntas (*Pluchea indica*L.) berbeda nyata terhadap daya hambat dari pertumbuhan bakteri *Pseudomonas fluorescens* dengan dosis optimal sebesar 10,2% dan dosis maksimal 13,62%.

### 5.2 Saran

Dari hasil penelitian ini maka dapat disarankan :

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak kasar daun beluntas secara *in vivo* ikan air tawar yang terserang bakteri *Pseudomonas fluorescens* dengan pemberian rentang dosis antara 9% hingga 18%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adelberg., Niccolls, L., M and Sartory, D.P. 2004. The Ecology of Mesophilic *Pseudomonas* in the Aquatic Environment. In the Genus *Pseudomonas*, edited by B. Austin, M. Altwegg, P. J. Gosling & S. Joseph. New York. Wiley.127-150 pp.
- Anonymous, 2012 .Bakteri Penyebab Penyakit Pada Ikan. <http://imi-jogja.blogspot.com/2012/11/bakteri-penyebab-penyakit-pada-ikan.html>. Diakses pada 13 Februari 2014.
- Ardiansyah, L. Nuraidadan N. Andarwulan. 2002. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less.). Malang:Prosiding Seminar Tahunan PATPI.
- Arsyad, M. N, Elok I., Akbar S. 2005. Perkembangan Kegiatan Budidaya Ikan di Perairan Umum Sumatera Selatan. *Jurnal Ilmu-ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan* **21** (3) : 63-76.
- Arwiyanto, T., Y.M.S. Maryudani, N. Azizah. 2007. Sifat-Sifat Fenotipik *Pseudomonas fluoresen*, Agensia Pengendalian Hayati Penyakit Lincat pada Tembakau Temanggung. *Biodiversitas* Volume 8 Nomor 2 ISSN:1412-033X. 147-151 hlm.
- Bonang, G. dan E.S. Koeswardono. 1982. Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik. Gramedia . Jakarta. 199 hlm.
- Cahyono, B. 2001. Budidaya Ikan di Perairan Umum. Kanisius.Yogyakarta. 68hlm.
- Doerge. 1972. Medisinal untuk Farmakologi. Penerbit Swadaya. Jakarta. 198 hlm.
- Dwijoseputro. 1987. Dasar – dasar Mikrobiologi. Djambatan. Malang. 214 hlm.
- Fauziah, R. 2011. Pengaruh Salinitas Terhadap Prevalensi Ektoparasit pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). Universitas Sumatera Utara. Medan. 23 Hlm.
- Harbone, J. B. 1987. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terjemahan oleh K. Padmawinata dan Iwang S. Edisi Kedua. ITB. Bandung. 354 hlm.
- Holmes, P., Niccolls, L., M and Sartory, D.P. 1996. The Ecology of Mesophilic *Aeromonas* in the Aquatic Environment. In the Genus *Aeromonas*, edited by B. Austin, M. Altwegg, P. J. Gosling & S. Joseph. New York. Wiley.127-150 pp.
- Irianto, A. 2005. Patologi Ikan Teleostei. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 256 hlm.

- Jatmikoningtyas, W. 2001. Uji efek anti bakteri dekokta daun jambu biji (*Psidium guava*) terhadap bakteri intestinal (*E. coli*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*) penyebab diare akut. Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya Malang. Malang. 50 hlm.
- Lay, B.W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 168 hlm.
- Mulyadi, R. 2009. Waspada Hama Dan Penyakit Pada Ikan Mas. Swadaya. Jakarta 56-58 hlm.
- Nazir, M. 1988. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta. 62 hlm.
- Nontji, A. 2005. Laut Nusantara. Cetakan Keempat. Djembatan. Jakarta 67 hlm.
- Noviana, L. 2004. Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Propolis Lebah Madu (*Apis mellifera*) dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Fakultas Matematika dan IPA Universitas Brawijaya. Malang. 61 hlm.
- Parag, S., N. Vijayshree, B. Ranu, and B. R. Patil. 2010. Antibacterial Activity of *Ocimum sanctum* Linn. and its Application in Water Purification. Res. J. Chem. Environ., **14**(3): 46-50
- Pelczar, M.J dan E.C.S. Chan. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi I. Universitas Indonesia. Jakarta. 443 hlm.
- Prajitno, A. 2005. Diktat Parasit dan Penyakit Ikan .Fakultas Perikanan.Universitas Brawijaya. Malang. 105 hlm.
- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan dan Udang Bakteri. Universitas Brawijaya. Malang. 113 hlm.
- Qnoze, F. E. D. 2011. Hama Dan Penyakit Pada Ikan.\_Ghalia Indonesia. Jakarta. 39 hlm.
- Rahman, M. F. 2008. Potensi Antibakteria Ekstrak Daun Pepaya pada Ikan yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 2 hlm.
- Rahmawati, H., Dede H. 2012. Strategi Pengembangan Usaha Budidaya Ikan Air Tawar. Jurnal Penelitian Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan. Vol. 1 No. 2. Universitas Bengkulu. Bengkulu. 129 hlm.
- Rusmini, N. 2002. Strategi Bisnis PT. Perikanan Samodra Besar Cabang Bena-Bali Untuk Mencapai Target Ekspor. Universitas Udayana. Bali. 20 Hal.
- Syamsuhidayat, S. S. dan J. R. Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hal. 470-471.



Sastrosupadi, A. 2002. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 276 hlm.

Setiaji, A., 2009. Efektifitas Ekstrak Daun Pepaya *Caricapapaya* L. untuk Pencegahan dan Pengobatan Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonashy drophila*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 1 Hal.

Sommers, H. M. 1994. Dasar Biologis dan Klinis Penyakit Infeksi. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 594 hlm.

Surachmad, W. 1986. Dasar dan Teknik Research: Pengantar Metodologi Ilmiah. Tarsito. Bandung. 105 hlm.

Wijayakusuma, H. 1994. *Tanaman berkhasiat Obat di Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Pustaka Kartini. hal. 24 - 25.

Winarno, M.W. dan D. Sundari. 1998. Pemanfaatan Tumbuhan sebagai Obat Diare di Indonesia. *Cermin Dunia Kedokteran*. 109:25-32.

Zulkarnain, Z., P. Purwanti, E. Indrayani. 2013. Analisis Pengaruh Nilai Produksi Perikanan Budidaya Terhadap Produk Domestik Bruto Sektor Perikanan di Indonesia. *Jurnal ECSOFiM*. 1(1) : 52-72



Lampiran 1. Foto Alat Penelitian



Autoklaf sterilisasi



Oven



Mikropipet



Autoklaf destruksi

Lampiran 1. (Lanjutan)



Inkubator



Laminar Air Flow (LAF)

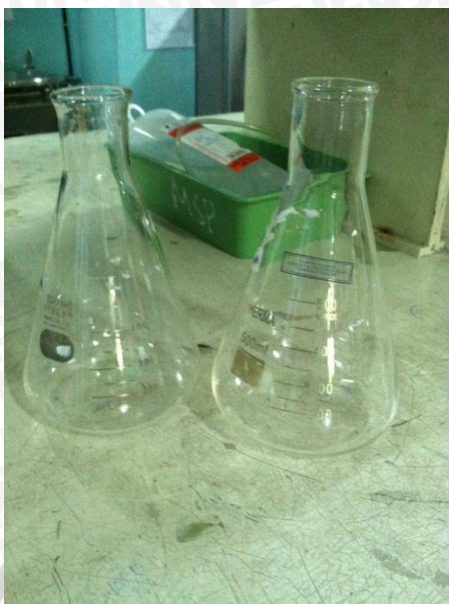


Timbangan digital



Timbangan sartorius

Lampiran 1. (Lanjutan)



Erlenmeyer



Beaker glass



Sprayer



Bunsen



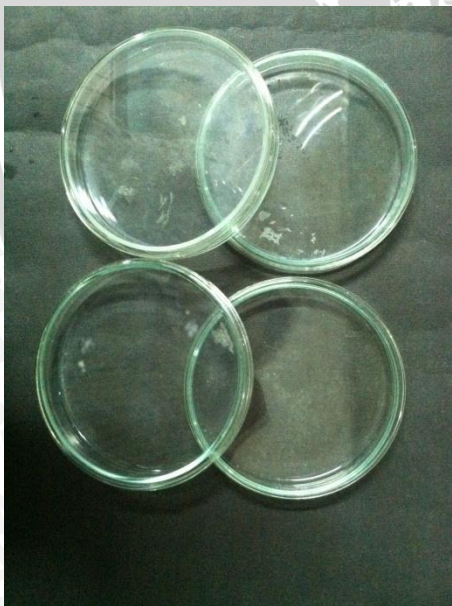
Lampiran 1. (Lanjutan)



Pipet tetes



Jangka sorong



Cawan petri



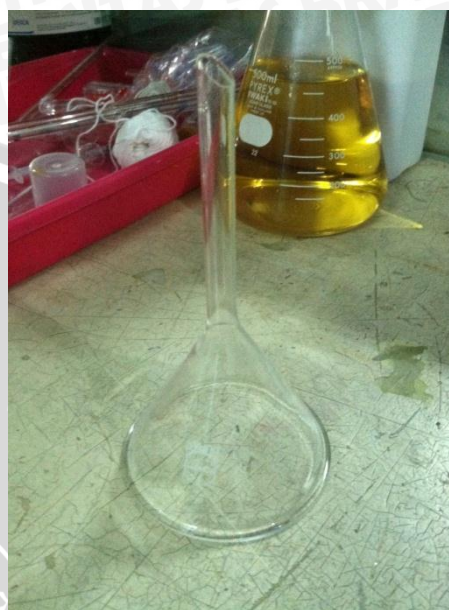
Tabung reaksi



Lampiran 1. (Lanjutan)



Gelas ukur



Corong kaca



Kulkas



Hot plate

### Lampiran 2. Foto Kegiatan Penelitian



Proses penggilingan serbuk halus daun beluntas (*Pluchea indica* L.)



Maserasi ekstrak kasar daun beluntas (*Pluchea indica* L.)



Penimbangan serbuk daun beluntas



Daun beluntas kering



### Lampiran 3. Penentuan Konsentrasi Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)

Persiapan perendaman (maserasi) dimana Serbuk kemangi sebanyak 250 gram dimaserasi dalam etanol 96% sebanyak 1,25 liter selama 3 x 24 jam dalam suhu kamar. Larutan yang didapat kemudian disaring dengan kertas saring lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak daun kemangi sebanyak 34,28 gram, selanjutnya dilakukan pengukuran dosis (%) untuk menentukan konsentrasi ekstrak kasar daun beluntas (*Pluchea indica* L.) dan ditambahkan larutan pengencer DMSO 10%.

➤ 9%

Ditimbang ekstrak kasar daun beluntas sebesar 0,09 gram dan ditambahkan DMSO 10% sebesar 0,91ml dan menghasilkan 1ml ekstrak kasar daun beluntas dengan konsentrasi 9%

➤ 12%

Ditimbang ekstrak kasar daun beluntas sebesar 0,12 gram dan ditambahkan DMSO 10% sebesar 0,88ml dan menghasilkan 1ml ekstrak kasar daun beluntas dengan konsentrasi 12%

➤ 15%

Ditimbang ekstrak kasar daun beluntas sebesar 0,15 gram dan ditambahkan DMSO 10% sebesar 0,85ml dan menghasilkan 1ml ekstrak kasar daun beluntas dengan konsentrasi 15%

➤ 18%

Ditimbang ekstrak kasar daun beluntas sebesar 0,18 gram dan ditambahkan DMSO 10% sebesar 0,82ml dan menghasilkan 1ml ekstrak kasar daun beluntas dengan konsentrasi 18%



Lampiran 4. Analisis Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens* secara *In vitro*

➤ Data Diameter Hambatan (mm) Bakteri *Aeromonas hydrophilla*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SD	Total Kuadrat
	1	2	3				
A	8	8	9	25	8.333333333	0.57735027	625
B	10	11	12	33	11	1	1089
C	9	11	9	29	9.666666667	1.15470054	841
D	9	9	9	27	9	0	729
Total	36	39	39	114	38	2.73205081	3284
Rerata	9	9.75	9.75	28.5			
Total Kuadrat	1296	1521	1521	12996			

➤ Perhitungan:

**Perhitungan Permodelan Statistik Rancangan Percobaan**

<b>FK</b>	114.00	12,996.00	<b>1,083.00</b>
<b>JK Total</b>		1,100.00	<b>17.00</b>
<b>JK Perlakuan</b>	3,284.00	1,094.67	<b>11.67</b>
<b>JK Acak</b>			<b>5.33</b>
<b>kk (koefisien keragaman)</b>	0.67	28.50	<b>2.865</b>

**Analisa Sidik Ragam dengan Uji F tabel dalam Statistik Rancangan Percobaan**

sidik ragam	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
<b>perlakuan</b>	3	11.67	3.89	5.833	4.07	7.59
<b>Acak</b>	8	5.33	0.67	*		
<b>Total</b>	11	17.00				

Lampiran 4. (Lanjutan)

Tabel BNT

Rerata Perlakuan	8.3333	9	9.6666	11		notasi
8.3333	-	-	-	-	-	a
9	0.6666	-	-	-	-	a
9.6666	1.3333	0.6666	-	-	-	a
11	2.6666	2	1.3333	-	-	ab

➤ Sidik Ragam Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens* secara *In vitro*

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	f1%
Perlakuan	3	11.67	-	-	4.07	7.59
Linear	1	0.07	0.07	0.1	ns	
Kuadratik	1	8.33	8.33	12.5	**	
Kubik	1	3.27	3.27	4.9	*	
Acak	8	5.33	0.6666			
Total	11					

\*\*) berbeda sangat nyata

Karena regresi kuadratik berbeda sangat nyata maka dihitung R<sup>2</sup>-nya

Tabel BNT

Rerata Perlakuan	8.3333	9	9.6666	11		notasi
8.3333	-	-	-	-	-	a
9	0.6666	-	-	-	-	a
9.6666	1.3333	0.6666	-	-	-	a
11	2.6666	2	1.3333	-	-	ab

Lampiran 4. (Lanjutan)

Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pemanding (Ci)		
		Linear	Kuadratil	Kubik
A	25	-3	1	-1
B	33	-1	-1	3
C	29	1	-1	-3
D	27	3	1	1
Q		2	-10	14
Kr		60	12	60
JK		0.07	8.33	3.27
Total JK regresi		11.67		

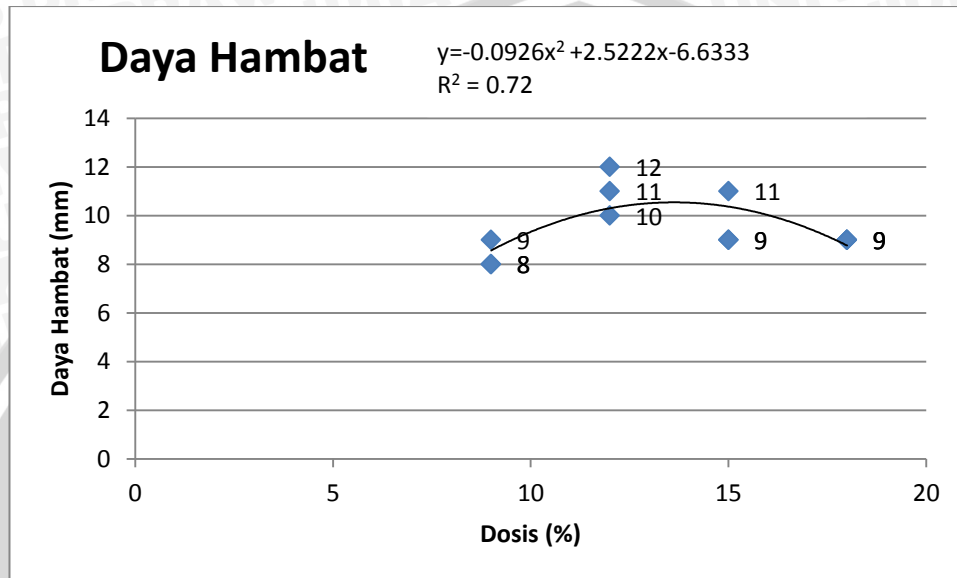
						Total
Uj	9	12	15	18		54
Uj	-1.5	-0.5	0.5	1.5		0
Uj <sup>2</sup>	2.25	0.25	0.25	2.25		5
Uj <sup>4</sup>	5.0625	0.0625	0.0625	5.0625		10.25
Yy	25	33	29	27		114
UjYy	-37.5	-16.5	14.5	40.5		1
Uj <sup>2</sup> Yy	56.25	8.25	7.25	60.75		132.5

Dengan persamaan kuadrat  
 $y = - 0,0926x^2 + 2,5222x - 6,6333$



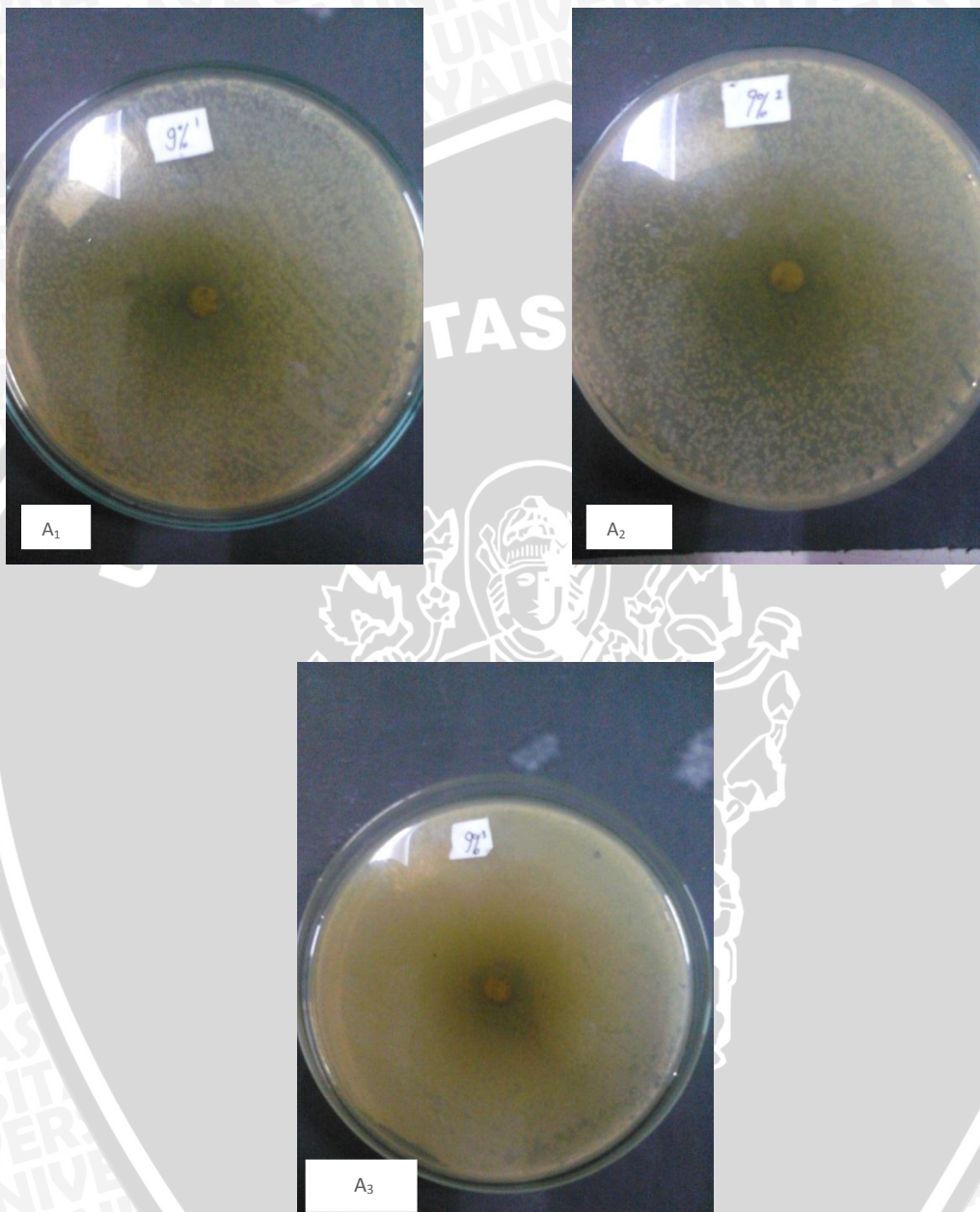
Lampiran 4. (Lanjutan)

- **Grafik Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens* secara *In vitro***



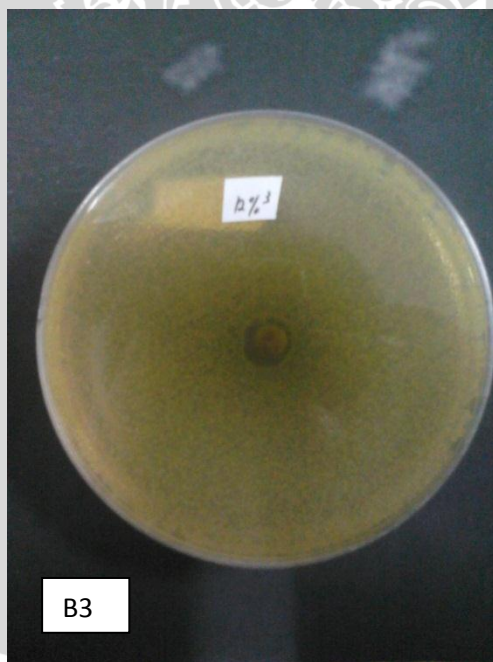
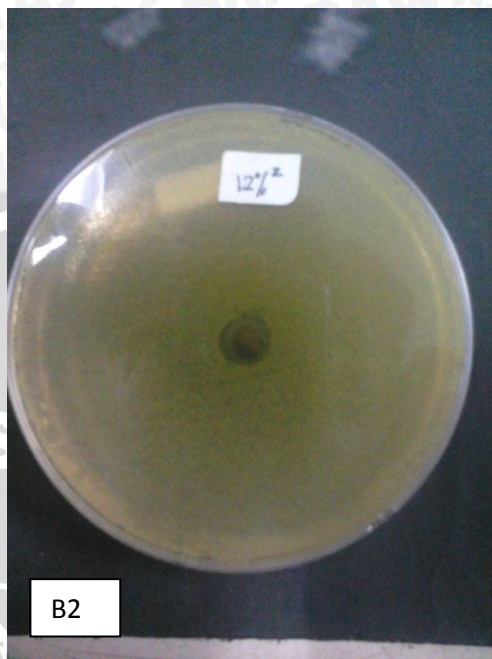
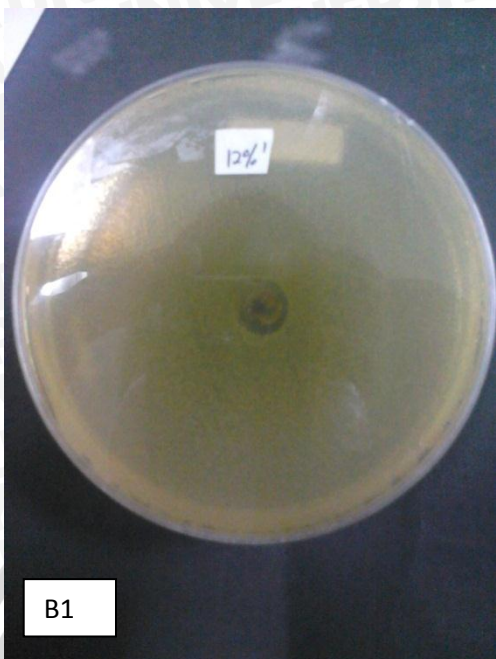
Lampiran 5. Hasil Uji Cakram Ekstrak Kasar Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap Daya Hambat bakteri *Pseudomonas flourescens*

➤ Uji cakram



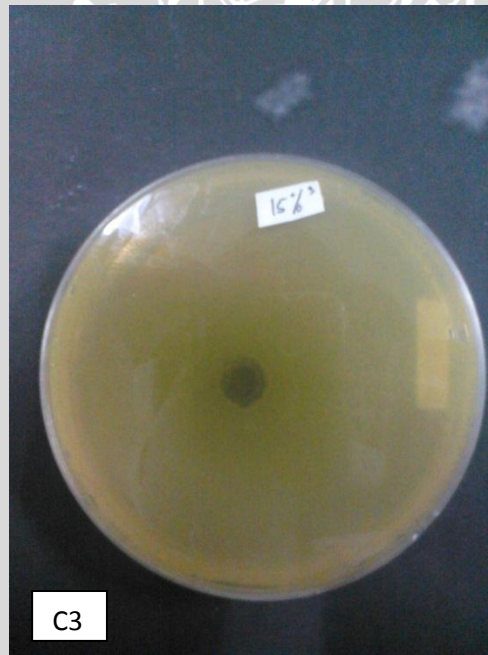
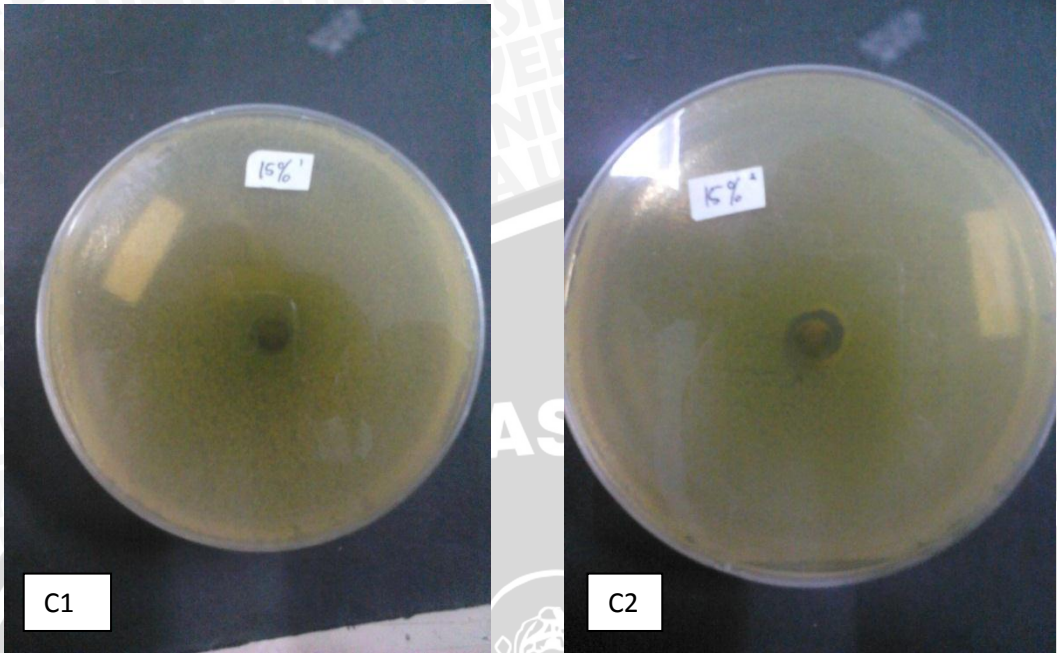
Perlakuan A = dosis 9%

Lampiran 5. (Lanjutan)



Perlakuan B = 12%

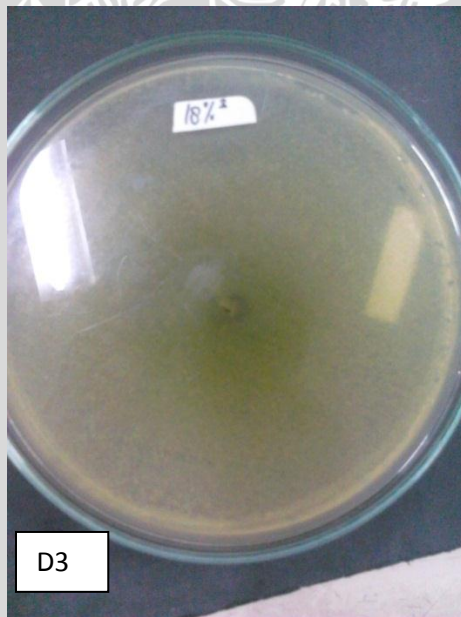
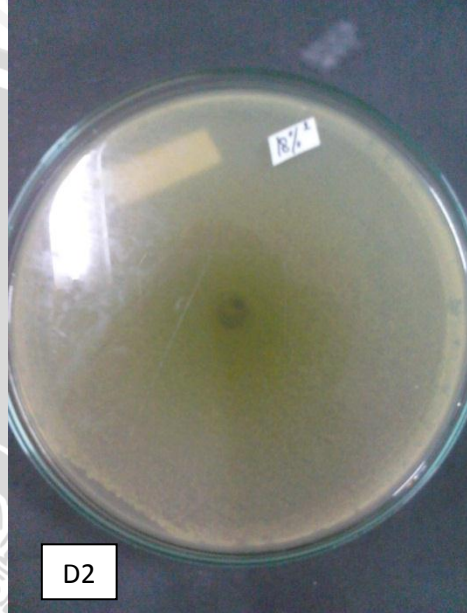
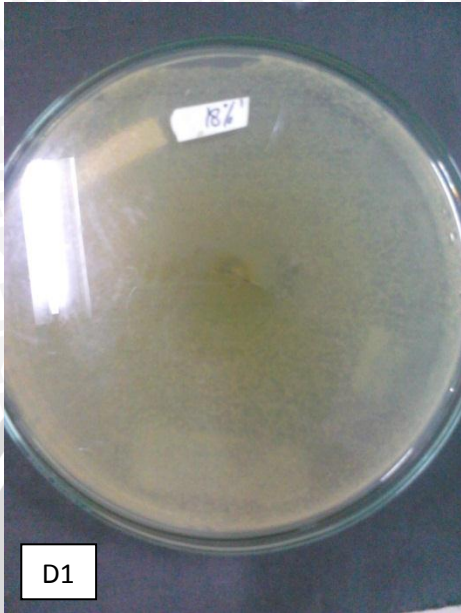
Lampiran 5. (Lanjutan)



Perlakuan C = 15%



Lampiran 5. (Lanjutan)



Perlakuan D = 18%

