

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* Merr.) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI
Pseudomonas fluorescens SECARA IN VITRO**

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

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Oleh:
IKA KHAIRATUN NISYAK
NIM. 125080501111012



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* Merr.) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI
Pseudomonas fluorescens 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:
IKA KHAIRATUN NISYAK
NIM. 125080501111012**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* Merr.) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI
Pseudomonas fluorescens SECARA IN VITRO**

Oleh :
IKA KHAIRATUN NISYAK
NIM. 125080501111012

Telah Dipertahankan Di Depan Penguji
Tanggal : 2016
Dan Dinyatakan Telah Memenuhi Syarat
Tanggal :

Menyetujui,

Dosen Penguji I

(Muhammad Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc)
NIP. 19860717 201505 1 001

TANGGAL: 26 MAY 2016

Dosen Pembimbing I

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

TANGGAL: 26 MAY 2016

Dosen Pembimbing II

(Ir. Heny Suprastyani, MS)
NIP. 19620904 198701 2 001

TANGGAL: 26 MAY 2016

Mengetahui,

Ketua Jurusan MSP



(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)
NIP.19620805 198603 2 001

TANGGAL: 26 MAY 2016



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dengan 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 dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagialis), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, Mei 2016

Mahasiswa

Ika Khairatun Nisyak



UCAPAN TERIMA KASIH

Pembuatan laporan skripsi ini tidak luput dari bantuan banyak pihak, untuk itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan kelancaran dan berbagai kemudahan pada penulis dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
2. Sujud dan terima kasih yang dalam penulis persembahkan kepada Ibunda terkasih Anis Surayyah dan Ayahanda tercinta Fauzi serta Mbah Uti Dartik dan adikku Robi Maulana yang tidak bosan-bosannya memberikan dorongan yang kuat, segala motivasi, kebijaksanaan dan do'a.
3. Dr. Ir. Maftuch, M.Si dan Ir. Heny Suprastyani, MS sebagai dosen pembimbing yang telah membimbing penulis dalam proses penyelesaian skripsi mulai dari proposal hingga laporan.
4. M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc sebagai dosen penguji selaku dosen penguji, atas arahan dan bimbingan hingga laporan terselesaikan.
5. Titin Tunistutik, STP yang telah membantu penulis dalam melakukan penelitian di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan.
6. Bawang Dayak Crew's dan Putri Dwi Agustin, Siti Nur Siyami dan Lita sebagai teman setia penulis yang telah membantu selama proses penelitian dan proses penyusunan laporan skripsi.
7. Teman-teman Aquasean BP 2012 yang namanya tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah mengukir sejarah bersama dalam menimba ilmu di kampus Universitas Brawijaya.

Malang, Mei 2016

Penulis

RINGKASAN

IKA KHAIRATUN NISYAK. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In Vitro*. **Dr. Ir. MAFTUCH, M.Si dan Ir. HENY SUPRASTYANI, MS.**

Budidaya perairan merupakan hal yang penting untuk meningkatkan produksi perikanan. Budidaya perairan diharapkan menjadi penyedia dalam hal industri, dan dapat membuka lapangan kerja untuk meningkatkan perekonomian negara Indonesia serta dari sisi ekologi diharapkan mampu menjadi penyeimbang bagi kegiatan penangkapan ikan. Kendala yang dihadapi dalam peningkatan usaha dan pengembangan perikanan yaitu karena adanya masalah penyakit yang sering menyerang. Serangan penyakit terjadi dikarenakan negara Indonesia merupakan negara beriklim tropis, sehingga sesuai untuk berkembangnya parasit. Salah satu penyakit yang ada adalah bakteri *Pseudomonas fluorescens* yang menyerang ikan air tawar. Salah satu upaya dengan cara pencegahan bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan bahan alami yang berasal dari alam. Bawang dayak dapat digunakan sebagai anti bakteri karena tidak menimbulkan resistensi bakteri patogen seperti halnya antibiotik. Diantara kandungan yang dimiliki bawang dayak flavonoid dan tanin merupakan senyawa antibakteri.

Penelitian ini bertujuan mengetahui konsentrasi terendah pemberian ekstrak kasar bawang dayak yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* serta mengetahui penggunaan ekstrak kasar bawang dayak (yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* (bersifat bakteriostatik atau bersifat bakteriosida). Penelitian ini dilakukan pada Bulan Januari – Maret 2016, di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang serta dilakukan di UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu dengan metode Rancangan Acak Lengkap. Penelitian ini dilakukan dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan yaitu dengan menggunakan dosis 10 ppm, 35 ppm, 60 ppm, 85 ppm, serta kontrol positif dan kontrol negatif. Parameter utama dari penelitian ini adalah hasil uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan diameter zona hambatan yang disekitar kertas cakram. Parameter penunjang dari penelitian ini adalah suhu inkubasi untuk mengetahui pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin. Hasil dari uji cakram memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*, dengan rata – rata diameter zona hambat adalah sebagai berikut perlakuan A dengan dosis 10 ppm sebesar 3,61 mm, perlakuan B dengan dosis 35 ppm sebesar 3,61 mm, perlakuan C dengan dosis 60 ppm sebesar 4,44 mm, perlakuan D dengan dosis 85 ppm sebesar 4,67 mm. Grafik dihasilkan berupa grafik linier dengan persamaan $y = 3,354 + 0,015x$ dengan tingkat kepercayaan (R^2) sebesar 0,985 serta (r) sebesar 0,99. Ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) merupakan antibakteri yang bersifat bakteriostatik, karena hanya menghambat pertumbuhan tanpa membunuh bakteri.

KATA PENGANTAR

Penulis panjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In Vitro*” untuk melengkapi tugas – tugas dan memenuhi syarat – syarat guna memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Penulis menyampaikan shalawat dan salam pada junjungan Nabi Muhammad SAW yang telah membawa umat manusia dari alam kegelapan menuju alam yang penuh ilmu pengetahuan.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan, baik dilihat dari segi isi maupun pembahasan. Penulis mengharapkan kritik dan saran yang bermanfaat dari pembaca untuk kesempurnaan penulisan di masa yang akan datang. Mudah – mudahan semua bantuan, masukan dan dorongan yang diberikan dengan penuh keikhlasan akan mendapatkan balasan yang setimpal dari Allah SWT. Akhir kata penulis berharap dengan rahmat Allah SWT skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun pembaca.

Malang, Mei 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
RINGKASAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Tempat dan Waktu Penelitian.....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> Merr.).....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	6
2.1.2 Bahan Aktif Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> Merr.)	7
2.1.3 Aktifitas Antimikroba	8
2.2. Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i>	8
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	8
2.2.2 Habitat dan Penyebaran	9
2.2.3 Infeksi dan Tanda Penyerangan	10
2.3 Uji Efektifitas Antibakteri Secara <i>In Vitro</i>	10
2.3.1 Uji MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>).....	10
2.3.1 Uji Cakram.....	11

3. METODE PENELITIAN	12
3.1 Materi Penelitian	12
3.1.1 Alat Penelitian.....	12
3.1.2 Bahan Penelitian.....	13
3.2 Metode Penelitian.....	13
3.3 Rancangan Penelitian	14
3.4 Prosedur Penelitian	16
3.4.1 Persiapan Penelitian	16
3.4.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	16
3.4.1.2 Sterilisasi Tempat Perlakuan.....	17
3.4.1.3 Pembuatan Ekstrak.....	17
3.4.1.4 Uji Skrining Fitokimia Kualitatif.....	18
3.4.1.5 Pembuatan Media Agar Miring	20
3.4.1.6 Peremajaan Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i>	21
3.4.1.7 Pembuatan Media <i>Nutrient Broth</i> (NB)	21
3.4.1.8 Kultur Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i>	22
3.4.1.9 Cara Memperoleh Bakteri <i>P. fluorescens</i> 10 ⁹	22
3.4.1.10 Pembuatan Media Agar Untuk Uji Cakram	23
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian	23
3.4.2.1 Uji MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>)	23
3.4.2.2 Uji Cakram	24
3.5 Parameter Uji	25
3.6 Analisa Data.....	25
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1 Hasil Uji Fitokimia.....	26
4.2 Uji MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>)	27
4.3 Uji Cakram	29
5. PENUTUP	37
5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN.....	40

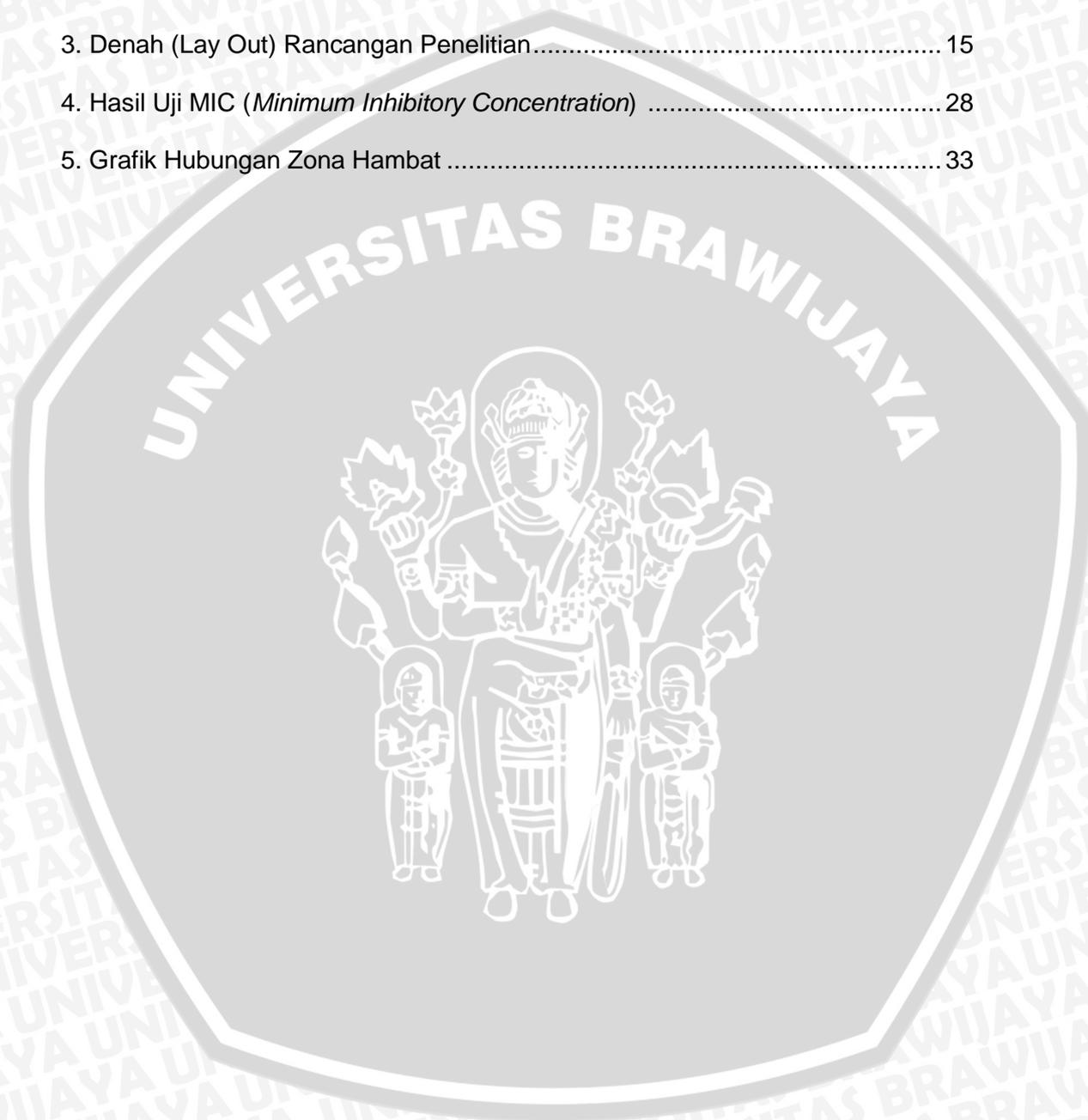
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat yang digunakan dalam penelitian.....	12
2. Bahan - bahan yang digunakan saat penelitian.....	13
3. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Bawang Dayak	26
4. Hasil Pengamatan Uji MIC Menggunakan Spektofotometer.....	27
5. Hasil Rata – rata Uji Daya Hambat	30
6. Klasifikasi Respon Hambat	30
7. Hasil Analisa Sidik Ragam	31
8. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)	32



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bawang Dayak.....	7
2. <i>Pseudomonas fluorescens</i>	9
3. Denah (Lay Out) Rancangan Penelitian.....	15
4. Hasil Uji MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>)	28
5. Grafik Hubungan Zona Hambat	33



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian dan Bahan Penelitian	41
2. Hasil Uji Fitokimia	46
3. Gambar Isolat Murni dan Hasil Peremajaan Bakteri.....	47
5. Skema Kerja Uji MIC.....	49
6. Skema Kerja Uji Cakram.....	50
7. Hasil Uji Skrining Fitokimia Bawang Dayak.....	51
8. Hasil Uji Cakram	52
9. Hasil Perhitungan Daya Hambat.....	54



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut Afifah *et al.* (2014), permintaan ikan konsumsi di Indonesia terus mengalami peningkatan 0,5 hingga 3,0 % pertahun. Nilai ekspor hasil perikanan pada tahun 2011 sebesar US\$ 3,5 miliar dengan negara tujuan ekspor utama diantaranya, Amerika Serikat mencapai nilai US\$ 1,07 miliar (30,4%); Jepang US\$ 806 juta (22,9%) dan Eropa US\$ 459,8 juta (13,1%). Sektor perikanan Indonesia saat ini menjadi andalan dunia untuk memenuhi permintaan pasar. Indonesia perlu mengambil langkah-langkah perlindungan terhadap keberlanjutan sumberdaya lautnya, agar stok tetap aman untuk jangka panjang.

Menurut Kordi (2010), budidaya perairan merupakan hal yang penting untuk meningkatkan produksi perikanan di Indonesia. Budidaya perairan diharapkan menjadi penyediaan dalam hal industri untuk menghasilkan pangan serta budidaya perairan diharapkan dapat membuka lapangan kerja dan menghasilkan devisa untuk negara dan juga untuk menggerakkan perekonomian negara Indonesia. Dari sisi ekologi lingkungan diharapkan budidaya perairan mampu menjadi penyeimbang bagi kegiatan penangkapan ikan. Menurut Sukarni, *et al.* (2012), peningkatan usaha budidaya menyebabkan adanya arus perpindahan sehingga mengakibatkan perpindahan hama dan penyakit ikan dan tersebar ke daerah lain yang dapat menimbulkan kerugian yang sangat besar.

Menurut Nurdiyanto dan Sumanto (2006), salah satu kendala yang dihadapi dalam peningkatan usaha dan pengembangan perikanan yaitu adanya masalah – masalah penyakit yang sering menyerang ikan pada saat proses budidaya. Serangan penyakit tersebut terjadi dikarenakan negara

Indonesia merupakan negara beriklim tropis, dimana iklim tersebut sesuai untuk berkembang parasit.

Adanya masalah penyakit dalam usaha budidaya biasanya disebabkan oleh lingkungan seperti kondisi air yang buruk pada perairan. Namun masalah wabah besar penyakit biasa juga disebabkan oleh bakteri. Ada beberapa teknik dalam mencegah ataupun mengobati masalah penyakit ikan salah satunya menggunakan antibiotik. Namun penggunaan antibiotik menyebabkan banyak masalah baru seperti penyebaran bakteri resisten antibiotik dan bahaya terhadap lingkungan (Maftuch, *et al.*, 2013).

Menurut Prajitno (2005), menjelaskan bahwa penyakit ikan ialah segala hal yang dapat menimbulkan gangguan terhadap ikan baik secara langsung maupun tidak langsung. Timbulnya serangan penyakit ikan di kolam budidaya merupakan interaksi yang tidak seimbang antara ikan, kondisi lingkungan dan organisme penyakit, interaksi yang tidak seimbang dapat mengganggu kekebalan tubuh ikan sehingga dengan mudah terserang penyakit. Salah satu penyakit yang ditakuti oleh pembudidaya adalah bakteri *P. fluorescens* yang menyerang ikan air tawar.

Menurut Afrianto, *et al.* (2015), menyatakan bahwa *Pseudomonas* merupakan bakteri saprofit yaitu dapat hidup di air asin, payau dan tawar. *Pseudomonas* ini bersifat patogen terhadap ikan. *Pseudomonas fluorescens* merupakan patogen pada ikan air tawar. Ciri khas bakteri *P. fluorescens* ini menyebabkan infeksi sekunder pada ikan, tetapi patogenitasnya lebih rendah. Serangan *P. fluorescens* dapat menyebabkan kematian massal serta.

Menurut Kris, *et al.* (2009), suatu upaya dengan cara pencegahan lain adanya serangan bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan bahan – bahan alami yang berasal dari alam. Alasan penggunaan bahan alami dari alam

ini, karena bahan yang berasal dari alam dapat dengan mudah didapatkan serta lebih ekonomis dibandingkan dengan bahan kimia dan tidak berbahaya.

Bawang dayak dapat digunakan sebagai antibakteri, hal ini sesuai dengan pendapat Firdaus (2014) yang menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aerus* yang diuji dengan menggunakan *disc diffusion*, dengan dosis ekstrak bawang dayak 10 mg/ml, 20 mg/ml dan 40 mg/ml dinyatakan memiliki aktivitas antibakteri.

Menurut Mierza, *et al.* (2011), bawang dayak merupakan tumbuhan yang berasal dari Kalimantan Tengah yang digunakan suku Dayak sebagai obat. Bawang dayak memiliki tinggi batang sekitar 30 – 40 cm dengan bentuk umbi bawang dayak berwarna merah berlapis seperti bawang merah. Bawang dayak memiliki kandungan senyawa kimia seperti glikosida, alkalonoid, flavonoid, tanin, fenolik dan steroid. Diantara kandungan yang dimiliki bawang dayak flavonoid dan tanin merupakan senyawa antibakteri.

1.2 Perumusan Masalah

Selama ini upaya pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri dilakukan dengan cara menggunakan antibiotik yaitu obat – obatan yang memiliki bahan kimia sehingga dapat mengakibatkan organisme patogen menjadi resisten, sehingga penggunaan antimikroba menjadi tidak efektif dan tidak efisien. Dari hal tersebut bahan alami yang berasal dari alam yang mampu digunakan sebagai bahan antibakteri. Berdasarkan latar belakang tersebut, masalah yang dihadapi dan masih belum diaplikasikan penggunaannya yaitu pengaruh pemberian ekstrak kasar bawang dayak terhadap daya hambat bakteri *P. flourescens*.

Berdasarkan uraian diatas didapatkan rumusan masalah sebagai berikut :

Apakah ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) dengan uji kertas

- cakram mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. flourescens*?
- Berapa konsentrasi terendah ekstrak kasar bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas flourescens*?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Mengetahui dosis terendah pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. flourescens*.
- Mengetahui penggunaan ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. flourescens* (bersifat bakteristatik atau bersifat bakteriosida).

1.4 Hipotesis

Adapun hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

H_0 : Diduga pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) dengan dosis yang berbeda tidak mempengaruhi daya hambat dari bakteri *P. flourescens*.

H_1 : Diduga pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) dengan dosis yang berbeda dapat mempengaruhi daya hambat dari bakteri *P. flourescens*.

1.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Januari 2016 meliputi proses ekstraksi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.) di Laboratorium Ilmu Kelautan. Kemudian dilanjutkan pada bulan Februari – Maret 2016, meliputi persiapan hingga proses inti penelitian di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Barwijaya Malang serta proses uji skrining fitokimia UPT. Materia Medica, Batu, Jawa Timur.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Indrawati dan Razimin (2013), klasifikasi taksonomi bawang dayak adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Seperdevisio	: Spermatophyta
Devisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Subkelas	: Liliadae
Ordo	: Liliales
Familia	: Indaceae
Genus	: Eleutherine
Spesies	: <i>Eleutherine palmifolia</i> Merr.

Menurut Utami dan Puspaningtyas (2013), menjelaskan bawang dayak memiliki nama latin *Eleutherine americana* Merr., diberi nama latin tersebut dikarenakan terdapat kandungan senyawa aktif eleutherine dalam bawang dayak. Bawang dayak ini memiliki sinonim nama latin dengan *Eleutherine palmifolia* Merr. Ciri – ciri bawang dayak sendiri merupakan tanaman berumpun atau bergerombol, berbatang basah dengan ketinggian tanaman bawang dayak ini mencapai 50 cm, memiliki umbi yang berbentuk panjang, bulat seperti telur serta berwarna merah seperti bawang merah namun tidak berbau. Warna dari daun bawang dayak yaitu hijau. Bawang dayak ini mirip dengan anggrek tanah dengan bunga berwarna putih yang biasanya mekar pada sore hari dan mekar pada beberapa jam saja. Morfologi bawang dayak dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bawang Dayak (Indrawati dan Razimin, 2013)

2.1.2 Bahan Aktif Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.)

Menurut Utami dan Puspaningstyas (2013), kandungan senyawa aktif yang terdapat pada bawang dayak antara lain adalah naftoquinonens beserta turunannya, seperti eleutherine, eleutherol, eleuthernone dan elecanacine. Selain bahan tersebut bawang dayak juga memiliki kandungan saponin, alkaloid, steroid, glikosida, fenolik, triterpenoid, tanin serta falovonoid yang biasanya dimanfaatkan untuk bahan baku obat – obatan.

Menurut Kuntorini (2013), menyatakan bahwa *bulbus* tumbuhan genus *Eleutherine* ini dari beberapa penelitian diketahui mengandung senyawa golongan naftokuinon (*elecanacin, eleutherin, elutherol, eleutherinon*). Beberapa senyawa turunan naftokuinon inilah diketahui memiliki fungsi sebagai antioksidan. Hasil penelitian dari ekstrak etanol *bulbus* bawang dayak yang tumbuh liar yang berasal dari Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Bawang dayak memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai LC50 sebesar 25,33 ppm dan berdasarkan skrining fitokimia *bulbus* bawang dayak ini mengandung triterpenoid dan kuinon.

2.1.3 Aktifitas Antimikroba

Menurut Rostinawati (2010), antimikroba adalah suatu senyawa pada dosis rendah memiliki kemampuan untuk mencegah atau menghambat proses hidup suatu mikroorganisme atau membunuh mikroorganisme tersebut. Pada prinsipnya cara pengobatan penyakit yang infeksi mikroba yaitu dilakukan dengan cara menghambat pertumbuhan mikroba penyebabnya, sehingga obat tersebut dikenal dengan istilah antimikroba.

Menurut Lenny (2006), senyawa flaovonida merupakan suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa – senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuhan – tumbuhan. Sedangkan menurut Firdaus (2014), tanaman bawang dayak (*Eleutherine palmifolia*) merupakan salah satu tanaman yang dipercaya sebagai tanaman obat obat multifungsi untuk berbagai jenis penyakit. Pada umbi bawang dayak terkandung suatu senyawa fitokimia diantaranya adalah glikosida, flavonoid, alkalonoid, tannin, stereroid fan fenolik dimana senyawa – senya tersebut diduga mempunyai efek antimikroba.

2.2. Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Kartika (2009) klasifikasi *Pseudomonas fluorescens* adalah sebagai berikut dan gambar *P. fluorescens* dapat dilihat pada Gambar 2 :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas fluorescens</i>



Gambar 2. *Pseudomonas fluorescens* (Purnama, 2013)

Menurut Soenandar dan Tjachjono (2012), menjelaskan bahwa bakteri *Pseudomonas flouescens* merupakan bakteri gram negatif dan bersifat bakteri aerob. *P. flouescens* mampu bergerak dengan menggunakan flagellum polar. Bakteri *P. flouescens* adalah bakteri yang berbentuk batang lurus atau tegak lengkung dimana ukurannya berkisar antara $(0,5 - 1) \times (1,5 - 5,0) \mu\text{m}$.

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Menurut Arwiyanto, *et al.* (2007), *P. flouescens* merupakan bakteri yang bersifat gram negatif serta memerlukan oksigen untuk tumbuh (aerob). Semua isolat *P. flouescens* dapat tumbuh pada kisaran suhu $20 - 41^\circ\text{C}$ dengan pertumbuhan terbaik pada suhu 30°C serta pH yang baik untuk pertumbuhannya adalah pada kisaran $6 - 7$. Pada medium yang mengandung NaCl semua bakteri *P. flouescens* tumbuh sampai pada dosis NaCl 2%.

Menurut Lesmana (2003), *Pseudomonas* merupakan bakteri yang banyak terdapat di perairan. Bakteri *Pseudomonas* ini tahan terhadap suhu ekstrim yaitu pada suhu panas hingga dingin sekalipun serta tahan terhadap desinfektan. Infeksi bakteri *Pseudomonas* ini sangat berbahaya bagi ikan kecuali pada ikan dalam keadaan sehat. Bakteri *Pseudomonas* menyerang ikan ketika sistem imun tubuh ikan menurun serta kondisi lingkungan yang tidak baik.

Dalam jumlah banyak bakteri *P. fluorescens* dapat mengeluarkan zat racun yang terakumulasi dalam air sehingga dapat meracuni ikan.

2.2.3 Infeksi dan Tanda Penyerangan

Menurut Hardi, *et al.* (2014), gejala – gejala yang muncul pertama pada ikan yang terinfeksi *P. fluorescens* biasanya pada bagian mata ikan yang yang terjadi eksoptalmia dan opasitas. Eksoptalmia adalah penonjolan abnormal pada salah satu atau kedua bola mata sedangkan opasitas adalah lensa yang tidak dapat menggambarkan obyek dengan jelas di retina. Eksotoksin dan endotoksin bakteri *P. fluorescens* menyebar pada bagian mata khususnya pada bagian *choroid* mata yang menyebabkan adanya hipertropi, inilah yang menyebabkan ikan mengalami eksoptalmia dan perubahan lainnya.

Menurut Suprastyani (1989), bakteri *P. fluorescens* merupakan jenis patogen yang tidak berbahaya. Bakteri *P. fluorescens* hanya diisolasi dari kulit yang terkena penyakit, tidak dari organ – organ dalam ikan. Penyerangan oleh bakteri *P. fluorescens* tampak melemahkan specimen, mengganggu metabolisme tetapi pada beberapa kasus juga dapat menyebabkan kematian pada ikan.

2.3 Uji Efektifitas Antibakteri Secara *In Vitro*

2.3.1 Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Menurut Harmita dan Radji (2006), prosedur dalam menentukan sensitifitas mikroorganisme terhadap antibiotik dengan menggunakan metode Dosis Hambat Minimum (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Dosis Hambat Minimum (KHM) merupakan dosis antibiotik yang efektif yang masih dapat menghambat pertumbuhan organisme tertentu. KHM atau MIC dapat ditentukan dengan menggunakan prosedur tabung pengenceran.

Menurut Miranti, *et al.* (2013), Pada Pengujian Dosis Hambat Minimum (KHM) atau yang sering dikenal dengan metode *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) pada metode ini, metode yang digunakan berupa metode dilusi. Metode difusi yang digunakan adalah metode difusi cair yang berguna untuk menentukan konsentrasi minimal dari suatu antibakteri yang dapat menghambat ataupun membunuh bakteri. Konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan.

2.3.1 Uji Cakram

Menurut Noverita, *et al.* (2009), metode kertas cakram atau metode difusi dengan metode Kirby-Bauer. Hal pertama yang harus dilakukan adalah kertas cakram kosong dipanaskan dalam oven dengan suhu 70°C yang dilakukan selama 15 menit, langkah kedua kertas cakram dicelupkan ke dalam larutan uji. Hal ketiga yang harus dilakukan adalah kertas cakram yang telah terisi larutan uji didiamkan selama 15 menit. Hal keempat yang harus dilakukan adalah setelah kertas cakram menyerap larutan uji diletakkan pada permukaan media yang telah berisi mikroba uji dan diinkubasi pada suhu 37°C dilakukan selama 18 – 24 jam. Kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat, yaitu berupa zona bening yang terbentuk disekitar cakram, dengan menggunakan penggaris milimeter atau jangka sorong.

Menurut Lay (1994), pada uji cakram ini lempengan disemai dengan mikroorganisme yang akan diuji, cakram yang telah berisi antibakteri diletakkan diatas lempengan agar yang disemai dengan mikroorganisme uji. Daya hambat pertumbuhan mikroorganisme oleh suatu zat antibakteri ditunjukkan dengan adanya wilayah atau zona bening disekitar pertumbuhan mikroorganisme. Uji zat antibakteri dengan cara cakram ini berguna untuk mengetahui pada dosis berapa yang bersifat bakterostatik maupun bakteriosidal.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Sedangkan gambar alat yang digunakan pada Lampiran 1.

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian

No	Alat	Kegunaan
1.	Autoklaf	Sebagai alat untuk mensterilisasi peralatan yang akan digunakan
2.	Beaker glass 1000 ml	Sebagai tempat maserasi
3.	Botol Sampel ± 25 ml	Sebagai tempat penyimpanan sampel
4.	Bunsen	Untuk mencegah terjadinya kontaminasi pada saat perlakuan
5.	Cawan Petri	Sebagai tempat untuk uji cakram
6.	Erlenmeyer	Sebagai tempat pembutan media
7.	Gelas ukur	Sebagai alat untuk mengukur larutan
8.	Inkubator	Sebagai alat untuk menginkubasi
9.	Jangka sorong digital	Untuk mengukur diameter zona hambat
10.	Kulkas	Sebagai tempat penyimpanan bahan pada suhu dingin
11.	Laminary Air Flow	Sebagai tempat dilakukannya perlakuan
12.	Mikropipet 10-100 µl dan Mikropipet 100-1000 µl	Sebagai alat untuk mengambil larutan
13.	Nampan	Sebagai Sebagai tempat menyimpan alat
14.	Rak Tabung Reaksi	Sebagai tempat untuk meletakkan tabung reaksi
15.	Sendok bahan	Sebagai alat untuk mengambil sampel
16.	Spatula	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan
17.	Spektrofotometer Genesys 20	Sebagai alat untuk mengukur kekeruhan atau nilai absorbansi
18.	Sprayer	Sebagai tempat menyimpan alkohol untuk sterilisasi
19.	Tabung Reaksi	Sebagai tempat untuk peremajaan bakteri dan uji MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>)
20.	Timbangan analitik	Sebagai alat untuk menimbang bahan dengan ketelitian 10^{-3} gram
21.	Timbangan digital	Sebagai alat untuk menimbang bahan dengan ketelitian 10^{-2} gram
22.	Vortex Mixer	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan
23.	Pinset	Untuk mengambil kertas cakram
24.	Bola Hisap	Sebagai alat bantu mengambil larutan pada pipet volume
25.	Pipet Volume	Untuk mengambil larutan dalam skala kecil

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel

2. Sedangkan gambar alat yang digunakan pada Lampiran 1.

Tabel 2. Bahan - bahan yang digunakan saat penelitian

No	Bahan	Kegunaan
1.	Bawang Dayak (<i>Euletherin palmifolia</i> Merr.)	Sebagai bahan yang akan digunakan sebagai ekstraksi
2.	Bakteri <i>P. flourescens</i>	Sebagai bakteri yang digunakan pada saat perlakuan
3.	NB (<i>Nutrient Broth</i>)	Sebagai media cair
4.	PSA (<i>Pseudomonas Soya Agar</i>)	Sebagai media uji MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>)
5.	Etanol 96 %	Sebagai bahan pelarut
6.	Alkohol 70 %	Sebagai bahan sterilisasi
7.	Aluminium Foil	Sebagai bahan untuk menutupi seluruh bagian beaker glass pada saat sterilisasi
8.	Antibiotik <i>Clindamycin</i>	Sebagai antibiotik Kontrol Positif
9.	DMSO 10%	Sebagai pelarut ekstrak
10.	Kapas	Sebagai bahan untuk menutupi alat saat sterilisasi
11.	Kertas Bekas	Sebagai bahan untuk membungkus peralatan yang akan disterilisasi
12.	Kertas Cakram	Sebagai bahan untuk mengetahui besar zona bening dari ekstrak kasar yang digunakan
13.	Kertas Label	Sebagai bahan penanda
14.	Kertas Saring Halus	Sebagai alat untuk menyaring bahan setelah maserasi
15.	Masker	Untuk menutup bagian muka (mulut dan hidung) agar tidak terjadi kontaminasi pada saat perlakuan
16.	Plastik 2 kg	Sebagai bahan untuk menyimpan cawan petri pada saat diinkubator
17.	Platik Wrap	Sebagai pembungkus botol sampel
18.	Sarung Tangan	Sebagai alat untuk mencegah kontaminasi
19.	Spirtus	Sebagai bahan bakar untuk Bunsen
20.	Tali Kasur	Sebagai bahan untuk mengikat peralatan yang akan di sterilisasi
21.	Tisu	Sebagai bahan pembersih

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada kegiatan penelitian ini adalah dengan menggunakan metode eksperimen, yang artinya metode yang

memungkinkan untuk memanipulasi variabel pada satu atau kelompok eksperimen dengan menghubungkan sebab dan akibat dari objek yang diteliti.

3.3 Rancangan Penelitian

Menurut Sastrosupadi (2002), rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu rancangan acak lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap (RAL) ini merupakan rancangan penelitian yang digunakan untuk suatu percobaan yang mempunyai media atau tempat dilakukannya percobaan seragam sehingga kondisi lingkungan tempat dilakukannya penelitian dalam keadaan seragam pula.

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} : Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke - i dan ulangan ke - j

μ : Nilai tengah umum

T_i : Pengaruh perlakuan ke - i

ε_{ij} : Pengaruh gallat percobaan dari perlakuan ke - i dan ulangan ke - j

Dalam penelitian *in vitro* perlakuan dengan menggunakan variabel bebas berupa pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) dengan perlakuan pengaruh perbedaan dosis ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) terhadap bakteri *P. fluorescens*. Dasar penelitian ini berupa penelitian pendahuluan untuk mengetahui dosis daya hambat penggunaan ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.).

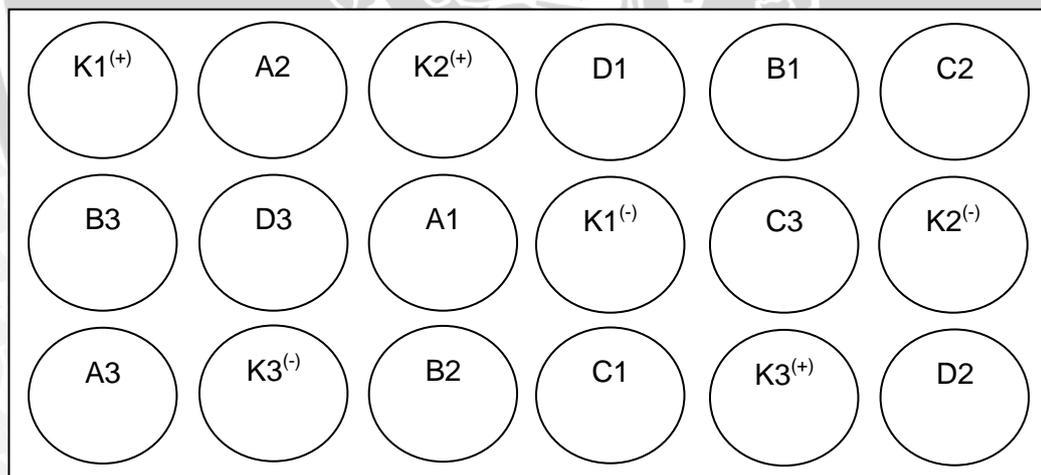
Hal pertama yang dilakukan yaitu menggunakan skala log dengan dosis 0 ppm, 0.01 ppm, 0.1 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm serta K+ dan K-. Berdasarkan hasil dari penelitian pendahuluan didapatkan hasil skala log yang mendekati K+ yaitu pada dosis MIC ppm menjadi bening pertama kali.

Sehingga untuk uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) menggunakan dosis 10 ppm, 35 ppm, 60 ppm, 85 ppm serta K+ dan K-.

Dalam penelitian ini terdiri dari 4 perlakuan dengan ulangan sebanyak 3 kali serta terdapat kontrol positif dan kontrol negatif antara lain :

- K+ : Bakteri *P. flourescens* ditanam pada media yang diberi Antibiotik *Clindamycin* dosis 300 mg
- K- : Bakteri *P. flourescens* ditanam pada media tanpa diberi ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.).
- A : Bakteri *P. flourescens* ditanam pada media diberi ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) dengan dosis 10 ppm
- B : Bakteri *P. flourescens* ditanam pada media diberi ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) dengan dosis 35 ppm
- C : Bakteri *P. flourescens* ditanam pada media diberi ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) dengan dosis 60 ppm
- D : Bakteri *P. flourescens* ditanam pada media diberi ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) dengan dosis 85 ppm

Dalam penelitian ini denah penelitian disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Denah (Lay Out) Rancangan Penelitian

Keterangan gambar:

- A – D : Perlakuan
- 1 – 3 : Ulangan
- K : Kontrol positif (+) dan kontrol negatif (-)

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

3.4.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Kegiatan sterilisasi alat dapat dilakukan dengan menggunakan *autoclave* dengan cara sebagai berikut :

- Alat – alat yang akan digunakan dicuci menggunakan sabun cuci, dikeringkan kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas bekas dan diikat menggunakan benang sedangkan untuk tabung reaksi dan erlenmeyer bagian atas ditutup dengan kapas.
- Air secukupnya dituang ke dalam *autoclave*, kemudian alat yang telah dibungkus dengan kertas bekas dimasukkan ke dalam keranjang *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris. Kelp uap (*safety falve*) dipastikan pada posisi tegak.
- Tombol ON dinyalakan dan temperatur diputar pada posisi maksimal. Ditunggu hingga keluar uap air kemudian klep uap ditutup, kemudian ditunggu hingga mencapai suhu 121°C dan tekanan menunjukkan 1 atm. Selanjutnya suhu diturunkan sampai lampu pada *autoclave* berwarna kuning keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit. Setelah alarm berbunyi maka tanda sterilisasi selesai dan suhu pada *autoclave* diturunkan pada suhu minimal.
- Tombol OFF ditekan, ditunggu sampai suhu menunjukkan angka 0 (nol), buka kran uap lalu buka penutup *autoclave* dengan cara simetris.
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

3.4.1.2 Sterilisasi Tempat Perlakuan

Selain alat dan bahan, tempat dan laboran juga harus steril guna menghindari kontaminan dengan bakteri yang berada diluar tempat penelitian. Tangan laboran yang bersinggungan, meja dan sekitar tempat perlakuan harus dalam kondisi steril. Sterilisasi tempat dapat dilakukan dengan cara kimia menggunakan alkohol 70% maupun cara fisika yaitu dengan pembakaran langsung maupun dengan penyinaran dengan sinar UV. Pada kegiatan penelitian ini sterilisasi tempat dilakukan dengan menggunakan sinar UV yang terdapat pada *laminar air flow* (LAF).

3.4.1.3 Pembuatan Ekstrak

Proses pembuatan ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.), adapun langkah-langkahnya adalah sebagai berikut :

- Meyiapkan bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) yang didapatkan dari daerah Kecamatan Blimbing, Kota Malang.
- Bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) terlebih dahulu dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.
- Bawang dayak yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan *blender* (mesin penghalus).
- Bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) yang sudah halus (simplisia) ditimbang.
- Simplisia bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) dicampur dengan pelarut etanol 96% dalam *beaker glass* 1000 ml dengan perbandingan 1 : 4 yaitu setiap 1 gr serbuk bawang dayak, direndam dalam 4 ml etanol.
- Tutup dengan aluminium foil.
- Bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) yang sudah dicampur dengan pelarut didiamkan selama 1x24 jam atau sering disebut dengan proses maserasi.

- Bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) yang sudah dimaserasi disaring dengan menggunakan kertas saring halus.
- Hasil filtrat dievaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai pelarut etanol 96% menguap.
- Hasil ekstraksi ditimbang.

Bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) sebelum dikeringkan sebanyak 5 kg, sehingga dihasilkan bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) halus (simplisia) sebanyak 1 kg. Dalam proses maserasi digunakan sebanyak 400 gr simplisia bawang dayak dan didapatkan filtrat dari hasil maserasi sebanyak 1,12 L, dan didapatkan hasil ekstrak sebanyak 10,17 gr.

3.4.1.4 Uji Skrining Fitokimia Kulaitatif

Kegiatan penelitian Uji Skrining Fitokimia diujikan di UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur. Senyawa – senyawa yang diuji adalah flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Adapun prosedur kerja dari setiap identifikasi senyawa adalah sebagai berikut :

a. Prosedur Identifikasi Senyawa Flavonoid

- 0,5 ml sampel ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) diletakkan pada tabung reaksi
- Dipanaskan selama 5 menit.
- Ditambah HCl pekat 3 tetes.
- Ditambah sedikit serbuk Mg 1 – 2 butir.
- Ditunggu perubahan warna sampel hingga menjadi warna merah tua / merah muda yang menandakan bahwa sampel uji positif mengandung senyawa flavonoid.

b. Prosedur Identifikasi Senyawa Alkaloid

- Diletakkan 0,5 ml sampel ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) dalam 3 tabung reaksi.
- Tabung pertama ditambah pereaksi Boucherdet beberapa tetes.
- Tabung kedua ditambah pereaksi Meyer beberapa tetes.
- Tabung kedua ditambah pereaksi Dragendorf beberapa tetes.
- Ditunggu hingga tabung pertama dengan pereaksi Boucherdet menghasilkan endapan coklat.
- Ditunggu hingga tabung kedua dengan pereaksi Meyer menghasilkan endapan coklat putih.
- Ditunggu hingga tabung ketiga dengan pereaksi Dragendorf menghasilkan endapan jingga.
- Perubahan warna endapan dari setiap pereaksi menandakan bahwa sampel uji tersebut positif mengandung Alkaloid.

c. Prosedur Identifikasi Senyawa Tanin

- 0,5 sampel ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) diletakkan pada tabung reaksi.
- Ditambahkan FeCl₃ 1 %.
- Perubahan warna sampel menjadi warna hijau, biru, buru tua, hijau kehitaman menandakan bahwa sampel uji tersebut positif mengandung tanin.

d. Prosedur Identifikasi Senyawa Tanin Galat

- 0,5 sampel ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) diletakkan pada tabung reaksi.
- Ditambahkan sedikit Natrium asetat.
- Ditambahkan FeCl₃ 1 %.

- Perubahan warna sampel menjadi warna biru tinta/hitam menandakan bahwa sampel uji tersebut positif mengandung Tanin Galat.

e. Prosedur Identifikasi Senyawa Tanin Katekol

- 0,5 sampel ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) diletakkan pada tabung reaksi.
- Ditambahkan sedikit larutan Formaldehid 3 % : HCl pekat dengan perbandingan (2 : 1).
- Dipanaskan pada suhu 90°C
- Perubahan warna endapan sampel menjadi warna merah menandakan bahwa sampel uji tersebut positif mengandung Tanin Katekol.

f. Prosedur Identifikasi Senyawa Saponin

- 0,5 sampel ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) diletakkan pada tabung reaksi.
- Ditambahkan 2 ml air panas.
- Dikocok hingga kuat.
- Sehingga terbentuk buih permanen selama tidak kurang dari 10 menit dengan tinggi buih 1 – 10 cm.
- Ditambahkan HCl pekat sebanyak 1 tetes.
- Sampel uji dikatakan positif mengandung senyawa Saponin jika busa permanen tersebut tidak hilang.

3.4.1.5 Pembuatan Media Agar Miring

Pembuatan media agar miring digunakan sebagai media untuk peremajaan bakteri. Adapun proses pembuatan agar miring adalah sebagai berikut :

- Media PSA ditimbang 0,96 gr dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer.

- Media dilarutkan dengan aquades sebanyak 24 ml dan dihomogenkan.
- Media yang sudah homogen dimasukkan ke dalam 4 tabung reaksi sebanyak 6 ml disetiap tabung reaksinya.
- Tabung reaksi ditutup kapas dan dibungkus alumunium foil serta diikat tali.
- Media disterilisasi dengan autolaf pada suhu 121°C selama 15 menit sengan tekanan 1 atm.
- Tabung reaksi yang berisi media steril dimiringkan dengan kemiringan 30°.
- Media ditunggu hingga menjadi padat.

3.4.1.6 Peremajaan Bakteri *Pseudomonas flourescens*

Isolat bakteri *P. flourescens* didapatkan dari Balai Besar Budidaya Air Payau (BBBAP) Jepara. Bakteri tersebut sudah dilakukan uji biokimia terlebih dahulu seperti yang ditunjukkan pada Lampiran 2. Peremajaan bakteri *P. flourescens* dilakukan dengan cara sebagai berikut :

- Media Agar Miring yang sudah dibuat disiapkan terlebih dahulu.
- Bakteri diambil dengan menggunakan jarum ose dari stok bakteri
- Bakteri yang terdapat pada jarum ose digoreskan ke dalam media Agar Miring dengan metode gores.
- Media Agar Miring diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu 33°C selama 24 jam

Adapun hasil dari peremajaan bakteri dan isolat murni bakteri *P. flourescens* dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.4.1.7 Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Media NB merupakan media cair yang digunakan untuk kultur bakteri.

Adapun proses pembuatan media NB adalah sebagai berikut :

- Media ditimbang sebanyak 0,16 gr dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer.

- Media dilarutkan dengan aquades sebanyak 50 ml lalu dihomogenkan.
- Media yang sudah homogen ditutup kapas dan dipungkus aluminium foil serta diikat dengan tali.
- Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

3.4.1.8 Kultur Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

Adapun prosedur kultur bakteri *P. fluorescens* adalah sebagai berikut :

- Biakkan bakteri yang sudah diremajakan pada media Agar Miring diambil dengan menggunakan jamur ose sebanyak 1 gores.
- Ose yang sudah terdapat bakteri dicelupkan pada media NB yang sudah dipersiapkan.
- Media disimpan pada inkubator dengan suhu 33°C selama 24 jam.
- Semua kegiatan pengkulturan dilakukan secara steril.
- Setelah 24 jam media NB akan berubah menjadi keruh yang menandakan bahwa bakteri telah tumbuh.

3.4.1.9 Cara Memperoleh Bakteri *P. fluorescens* 10⁹

Bakteri *P. fluorescens* dengan kepadatan 10⁹ sel/ml diperoleh dengan cara sebagai berikut :

- Biakkan bakteri yang sudah diremajakan pada media Agar Miring diambil dengan menggunakan jamur ose sebanyak 1 gores.
- Ose yang sudah terdapat bakteri dicelupkan pada media NB yang sudah dipersiapkan.
- Media disimpan pada inkubator dengan suhu 33°C selama 24 jam.
- Semua kegiatan pengkulturan dilakukan secara steril.
- Setelah 24 jam media NB akan berubah menjadi keruh yang menandakan bahwa bakteri telah tumbuh.

- Setelah bakteri tumbuh, kemudian dicocokkan dengan larutan Mc. Farland.
- Sehingga didapatkan bakteri *P.flourescens* dengan kepadatan 10^9 sel/ml.

3.4.1.10 Pembuatan Media Agar Untuk Uji Cakram

Proses pembuatan media agar untuk uji cakram menggunakan media PSA (*Pseudomonas Soya Agar*) adalah sebagai berikut :

- Media PSA ditimbang sebanyak 14,4 gr dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml.
- Media dilarutkan dengan aquades sebanyak 360 ml dan dihomogenkan.
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan dibungkus alumunium foil serta diikat dengan tali.
- Media disterilisasi dengan autolaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.
- Media steril ditunggu hingga media tidak terlalu panas.
- Media dituang pada 18 cawan petri sebanyak ± 20 ml disetiap cawannya.
- Media ditunggu hingga padat.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

3.4.2.1 Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Skema kerja uji MIC dapat dilihat pada Lampiran 5. Adapun prosedur melakukan uji MIC sebagai berikut :

- Disiapkan larutan DMSO 10 %
- Tabung 1 dan 2 diisi dengan ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) sebanyak 1000 ppm.
- Tabung 3 sampai tabung 7 diisi dengan 9 ml DMSO 10%, sedangkan tabung 8 diisi DMSO 10 % 10 ml tanpa diberi penambahan ekstrak kasar bawang dayak.

- Untuk tabung 9 diisi bakteri yang sudah dikultur dengan media NB sebanyak 10 ml tanpa pemberian ekstrak kasar bawang dayak.
- Dilakukan pengenceran berseri dengan cara mengambil 1 ml larutan pada tabung 2, selanjutnya dimasukkan kedalam tabung 3 dan seterusnya sampai tabung 7.
- Metode tersebut dilakukan berseri mulai dari tabung 2 ke tabung 3, tabung 3 ke tabung 4, dan dilakukan dengan cara yang sama sampai tabung 7.
- Selanjutnya ditambahkan bakteri yang dikultur pada media NB sebanyak 1 ml pada tabung 1 sampai 8.
- Kemudian diinkubasi pada suhu 33°C pada inkubator.

3.4.2.2 Uji Cakram

Setelah didapatkan dosis dari hasil uji MIC dilanjutkan dengan mengetahui daya hambat ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.). Skema kerja uji cakram dapat dilihat pada Lampiran 6. Adapun prosedur pelaksanaan uji cakram adalah sebagai berikut :

- Disiapkan cawan petri yang telah terdapat media *Pseudomonas Soya Agar* (PSA).
- Kertas cakram steril ukuran 6 mm diberi beberapa perlakuan, yakni direndam ke dalam ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) dengan dosis 10 ppm, 35 ppm, 60 ppm, 85 ppm. Perlakuan kontrol positif, kertas cakram direndam ke dalam antibiotik (*Clindamycin*) untuk kontrol negatif direndam ke dalam aquades selama 10 – 15 menit.
- Bakteri *P. fluorescens* disebar pada seluruh permukaan lempeng Agar dengan cara digoreskan, untuk mendapatkan pertumbuhan yang merata, kapas *cotton swap* (kapas lidi) dioleskan secara mendatar kemudian diputar

lempeng Agar 80° dan dibuat olesan kedua, kemudian lempeng Agar diputar 45° dan dibuat olesan ketiga.

- Setelah 10–15 menit kertas cakram yang telah mengandung ekstrak diletakkan pada media Agar.
- Media yang sudah ditanam bakteri dan diberi kertas cakram ukuran 6 mm diinkubasi pada suhu 33°C selama 24 jam.
- Saat meletakkan kertas cakram tidak boleh bergeser, karena mengurangi validasi pengukuran.
- Media diamati hasil dan diukur zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong digital.

3.5 Parameter Uji

Parameter uji dari penelitian ini terdiri dari paramter utama dan parameter penunjang. Paramter utama dari penelitian ini adalah hasil uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan diameter zona hambatan yang diukur dengan menggunakan kertas cakram yang dinyatakan dengan milimeter (mm). Parameter penunjang dari penelitian ini adalah suhu inkubasi untuk mengetahui pertumbuhan bakteri *P. flourescens* selama penelitian.

3.6 Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini dilakukan analisis secara statistik dengan menggunakan analisis uji keragaman atau uji f (ANOVA) dengan metode yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL). Hal ini digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon paramter ukur (uji f). Jika data sidik ragam memperlihatkan pengaruh berbeda nyata maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Uji Fitokimia

Uji skrining fitokimia digunakan untuk mengetahui golongan – golongan senyawa bioaktif yang ada pada ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) secara kualitatif. Golongan senyawa – senyawa yang diuji di UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur antara lain adalah uji flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Hasil uji skrining fitokimia disajikan pada Tabel 3 lebih jelasnya hasil Uji Fitokimia dapat dilihat pada Lampiran 7.

Tabel 3. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Bawang Dayak

Uji Fitokimia		Hasil Uji	Keterangan
Flavonoid		+	Berwarna merah/merah muda
Saponin		+	Terbentuk busa permanen
Tanin	Tanin Galat	+	Berwarna biru tinta/hitam
	Tanin Katekol	+	Terdapat endapan merah
Alkaloid	Pereaksi Mayer	-	Tidak terdapat endapan putih
	Peraksi Dragendrof	-	Tidak terdapat endapan jingga

Keterangan :

+ : Ada dalam Ekstrak

- : Tidak ada dalam Ekstrak

Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) positif mengandung flavonoid, saponin dan tanin. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) yang berperan sebagai antibakterial. Menurut Rohyani, *et al.* (2015), uji skrining fitokimia sangat penting untuk tanaman obat yang digunakan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada tumbuhan. Dimana tumbuhan ini memiliki efek menguntungkan bagi kesehatan atau memiliki peranan aktif bagi pencegahan penyakit. Senyawa metabolit sekunder biasanya diproduksi oleh tumbuhan yang dikelompokkan menjadi beberapa golongan berdasarkan struktur kimianya yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, saponin, antrakuinon dan terpenoid.

4.2 Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dilakukan dengan menggunakan berbagai macam dosis ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) dengan tujuan untuk mengetahui dosis terkecil dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. flourescens*. Pada uji MIC yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan dosis skala log yaitu 0 ; 0,01 ; 0,1 ; 1 ; 10 ; 100 dan 1000 ppm serta kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif dan kontrol negatif digunakan sebagai pembanding untuk mengetahui apakah memiliki pengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri atau murni ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) yang bekerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. flourescens*.

Hasil uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) menunjukkan adanya perbedaan pada setiap perlakuan setelah dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer. Hasil Uji MIC dapat dilihat pada Tabel 4 berikut :

Tabel 4. Hasil Pengamatan Uji MIC Menggunakan Spektrofotometer

No	Dosis (ppm)	Abrorbansi	Warna
1.	0	0,116	Keruh
2.	0,01	0,114	Keruh
3.	0,1	0,111	Keruh
4.	1	0,122	Keruh
5.	10	0,107	Jernih
6.	100	0,116	Keruh
7.	1000	0,294	Keruh
8.	Kontrol (+)	0,098	Jernih
9.	Kontrol (-)	0,906	Keruh

Keterangan :

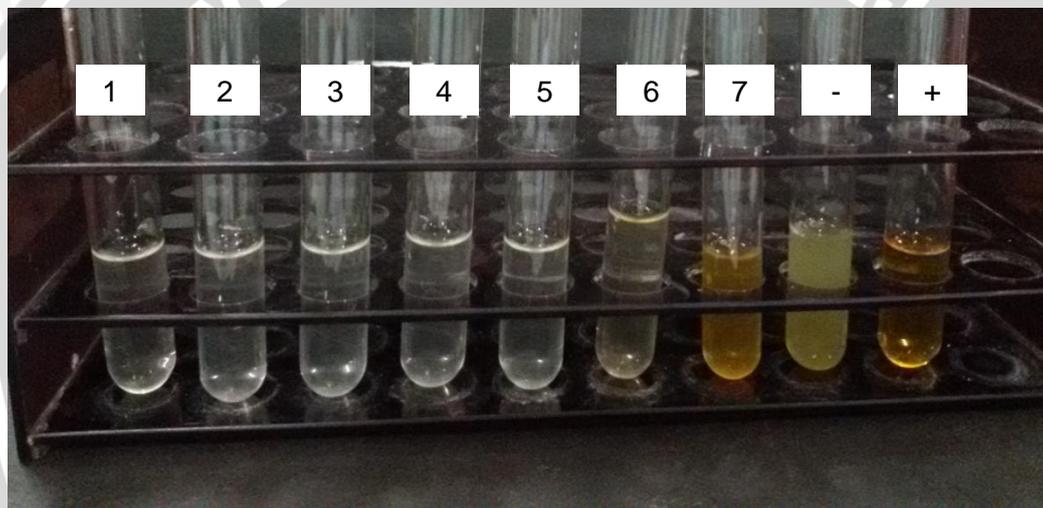
Tabung No. 5 : Mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. flourescens*.

Kontrol (+) : Tidak ditambah bakteri *P. flourescens*, hanya ditambah ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.).

Kontrol (-) : Tidak ditambah ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.), hanya ditambah bakteri *P. flourescens*.

Berdasarkan hasil uji MIC yang ada pada tabel dengan menggunakan spektrofotometer menunjukkan bahwa tabung Nomor 5 dan tabung kontrol

positif (+) menghasilkan larutan bening. Nilai absorbansi tabung 5 dengan dosis ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) 10 ppm adalah 0,107 μ m. Nilai absorbansi tabung 5 mendekati nilai absorbansi kontrol positif (+) sebesar 0,098. Hasil uji MIC dengan cara pengukuran nilai absorbansi yang mendekati nilai kontrol positif atau dibawah nilai kontrol negatif yaitu 10 ppm yang terlihat pada tabel dengan nomor 5, dosis tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*, dosis yang akan digunakan pada setiap perlakuan pada uji cakram dengan interval dosis 25 ppm adalah 10 ppm, 35 ppm, 60 ppm dan 85 ppm. Hasil uji MIC dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dari dosis yang terendah pada tabung nomor 1 sampai dosis tertinggi pada tabung nomor 7 kemudian tabung (-) sebagai kontrol negatif dan tabung (+) sebagai kontrol positif

Pada gambar hasil uji MIC menunjukkan bahwa tabung kontrol negatif (-) berwarna keruh, hal ini dikarenakan pada tabung kontrol negatif (-) hanya diberi bakteri *P. fluorescens* tanpa diberi ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) sehingga mengindikasikan bahwa warna keruh tersebut hanya diakibatkan oleh bakteri *P. fluorescens* yang tumbuh. Tabung kontrol positif (+) dan tabung nomor 7 (dosis 1000 ppm) memiliki warna hampir sama, namun dapat dibedakan pada tabung nomor 7 (dosis 1000 ppm) memiliki warna sedikit lebih

keruh dibandingkan dengan tabung kontrol positif (+). Hal ini dikarenakan tabung nomor 7 (dosis 1000 ppm) berisi ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) dan diberi penambahan bakteri *P. fluorescens* sedangkan tabung kontrol positif (+) lebih jernih karena hanya berisi ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.). Tabung nomor 1 hingga nomor 6 (dosis 0 ppm, 0,01 ppm, 0,1 ppm, 1 ppm dan 100 ppm) memiliki warna yang hampir sama namun dengan kekeruhan yang sedikit berbeda. Hal ini dikarenakan pada tabung 1 hingga tabung 7 dilakukan pengenceran bertingkat dan diberi penambahan bakteri *P. fluorescens*. Hal ini sesuai dengan pendapat Andrews (2001), MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dianggap sebagai standar terbaik untuk menentukan kepekaan dari organisme terhadap antimikroba oleh karena itu digunakan untuk menilai hasil uji. MIC digunakan di laboratorium untuk memastikan resistensi dari mikroorganisme uji, untuk memberikan hasil yang pasti apabila hasil yang diperoleh melalui metode lain dari pengujian, atau ketika metode difusi cakram tidak sesuai dengan yang diinginkan.

4.3 Uji Cakram

Pada uji cakram dilakukan menggunakan dosis ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) 10 ppm, 35 ppm, 60 ppm dan 85 ppm serta kontrol positif dan kontrol negatif. Digunakan dosis diatas 10 ppm berdasarkan hasil uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*), hasil uji MIC tersebut diketahui bahwa dengan dosis minimum 10 ppm sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* oleh karena itu digunakan dosis diatas 10 ppm untuk mengetahui daya hambat dari ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.).

Berdasarkan hasil pengamatan diameter zona bening pada uji cakram saat dilakukannya penelitian, didapatkan zona bening pada setiap perlakuan. Diameter zona bening dipengaruhi oleh jumlah dosis yang digunakan pada saat

dilakukannya penelitian. Semakin tinggi dosis yang digunakan, maka semakin besar pula diameter zona bening yang dihasilkan. Adapun gambar hasil uji daya hambat bakteri *P. flourescens* setelah pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. Palmifolia* Merr.) dapat dilihat pada Lampiran 8.

Hasil rata – rata perhitungan zona bening dari ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) dengan dosis 10 ppm, 35 ppm, 60 ppm dan 85 ppm dengan menggunakan empat perlakuan dan tiga kali ulangan, didapatkan diameter zona bening setelah dilakukan pengamatan 24 jam seperti ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Rata – rata Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Bawang Dayak (*E. palmifolia* Merr.) Terhadap Bakteri *P. flourescens*

Perlakuan	Ulangan			Total Perlakuan	Rerata
	1	2	3		
A (10 ppm)	3,71	3,62	3,49	10,82	3,61
B (35 ppm)	3,79	3,59	3,70	10,08	3,69
C (60 ppm)	4,29	4,20	4,84	13,33	4,44
D (85 ppm)	4,76	4,57	4,68	14,01	4,67
TOTAL				49,24	

Pada Tabel 5 diatas pengamatan zona bening didapatkan hasil rata – rata diameter zona hambat pada setiap perlakuan A dengan dosis 10 ppm sebesar 3,61 mm, B dengan dosis 35 ppm sebesar 3,69 mm, C dengan dosis 60 ppm sebesar 4,44 mm, D dengan dosis 85 ppm sebesar 4,67 mm.

Menurut Afriani (2010) dalam Widyana, et al. (2014), menyatakan bahwa respon hambat dari suatu bahan aktif dapat diklasifikasikan menjadi 4 respon seperti yang ditunjukkan pada Tabel 6 berikut.

Tabel 6. Klasifikasi Respon Hambat

No	Diameter Zona bening (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
1.	> 20	Sangat kuat
2.	11 – 19	Kuat
3.	5 – 10	Sedang
4.	< 5	Lemah

Berdasarkan Tabel 6 diatas mengenai respon hambat suatu bahan aktif aktif terhadap bakteri uji cakram dapat ditentukan bahwa respon hambatan ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) terhadap bakteri *P. flourescens* dengan dosis 10 ppm hingga 85 ppm tergolong memiliki zona hambat lemah karena ukuran diameter zona bening yang dihasilkan < 5 mm. Hasil rata-rata uji cakram tersebut diketahui nilai daya hambat tertinggi terhadap pada dosis 85 ppm dengan rata-rata diameter hambat 4,67 mm sedangkan yang terendah terdapat pada dosis 10 ppm dengan rata-rata diameter hambat 3,61 mm. Kemudian untuk mengetahui pengaruh perbedaan perlakuan ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) terhadap zona hambat, maka dilakukan analisis sidik ragam. Berikut merupakan tabel sidik ragam yang disajikan pada Tabel 7. Untuk perhitungan lengkapnya disajikan pada Lampiran 9.

Tabel 7. Hasil Analisa Sidik Ragam Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Bawang Dayak (*E. palmifolia* Merr)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2,55446667	0,851489	22,4964**	4,07	7,59
Acak	8	0,3028	0,03785			
Total	11					

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata

Pada tabel sidik ragam didapatkan hasil bahwa dosis ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap daya hambat bakteri *P. flourescens*. Hal ini dikarenakan nilai F. Hitung lebih besar dari nilai F 5 % dan F 1 % atau nilai dari 22,4964 lebih besar dari 4,07 dan 7,59. Perbedaan masing-masing perlakuan terhadap zona hambat bakteri didukung dengan perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf $F > 5\%$ (kepercayaan 95%) maupun taraf nyata 1% (kepercayaan

99%). Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang disajikan pada Tabel 8, untuk perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 9.

Tabel 8. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Bawang Dayak (*E. palmifolia* Merr)

Rerata Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		3,61	3,69	4,44	4,67	
A	3,61	-	-	-	-	a
B	3,69	0,09 ^{ns}	-	-	-	a
C	4,44	0,84 ^{**}	0,75 ^{**}	-	-	b
D	4,67	1,06 ^{**}	0,98 ^{**}	0,23 ^{ns}	-	b

Keterangan :

ns : tidak berbeda nyata

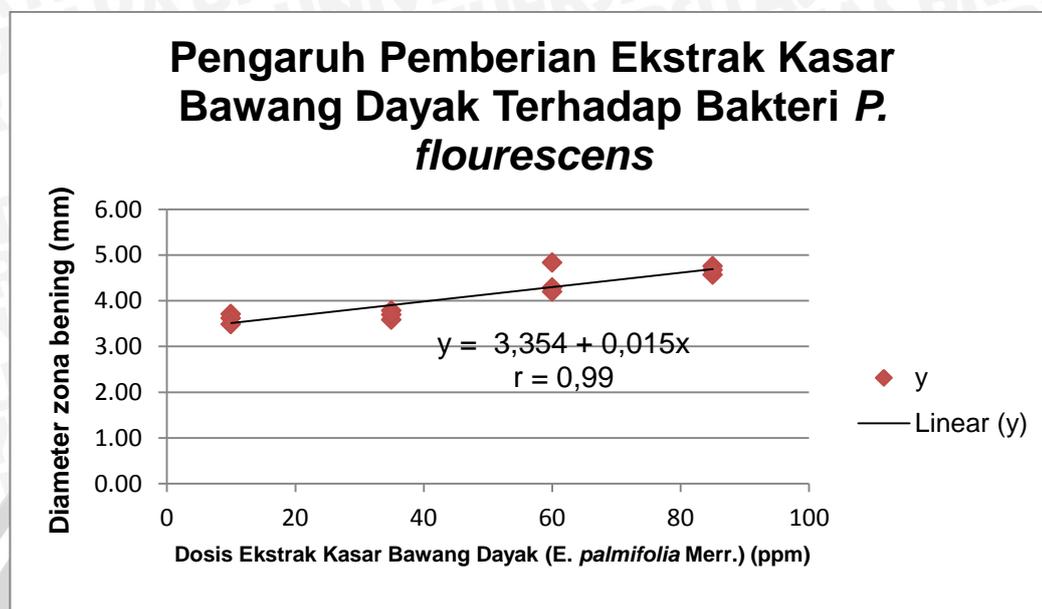
* : berbeda nyata

** : berbeda sangat nyata

Tujuan dari dilakukannya uji BNT adalah untuk mengetahui perbedaan nyata terkecil dari setiap perlakuan. Pemberian notasi dilakukan dengan cara membandingkan hasil pengurangan dari rerata setiap perlakuan dengan SED 5 % dan SED 1 %. Untuk mengetahui perhitungan SED 5 % dan SED 1 % dapat dilihat pada Lampiran 9. Pada hasil tabel uji BNT (Tabel. 8) didapatkan nilai dari hasil perlakuan A (10 ppm) dan B (35 ppm) tidak memberikan nilai yang signifikan antar perlakuan dan diberi notasi a. Hasil dari C (60 ppm) dan D (85 ppm) memberikan nilai perlakuan yang berbeda nyata dari perlakuan A (10 ppm) dan B (35 ppm) sehingga diberi notasi b. Kemudian dilanjutkan dengan menghitung polinomial orthogonal setelah mengetahui nilai selisih dari uji BNT untuk mengetahui kurva regresi yang dihasilkan.

Hasil perhitungan uji polinomial orthogonal yang berupa grafik, didapatkan grafik regresi yang membentuk pola linier dari diameter zona bening yang dihasilkan ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.). Grafik hasil

perhitungan uji polinomial orthogonal disajikan pada Gambar. 5, untuk perhitungan lengkapnya disajikan pada Lampiran 9.



Gambar 5. Grafik Hubungan Zona Hambat antar Perlakuan Ekstrak Kasar Bawang Dayak (*E. palmifolia* Merr.) Terhadap Bakteri *P. Flourescens*

Berdasarkan Gambar 5, grafik hubungan zona hambat antar perlakuan ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) terhadap bakteri *P. flourescens* menunjukkan pola linier dengan persamaan $y = 3,354 + 0,015x$ koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,985 dan koefisien korelasi (r) sebesar 0,99. Menurut Santosa dan Hamdani (2007), koefisien korelasi merupakan hubungan keeratan antara variabel bebas dan variabel terikat. Koefisiensi korelasi dibagi menjadi 2 yaitu koefisiensi positif dan koefisiensi negatif. Koefisiensi positif adalah hubungan variabel bebas dan variabel terikat berbanding lurus, jika nilai koefisiensi mendekati 1 maka hubungan kedua variabel semakin kuat. Sedangkan koefisiensi negatif hubungan kedua variable berbanding terbalik, jadi bila nilai koefisiensi adalah 0 maka antara variabel bebas dan variabel terikat menandakan tidak memiliki hubungan sama sekali. Pada dosis 10 ppm hingga 85 ppm grafik mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya

dosis ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.), hasil perhitungan lengkapnya pada Lampiran 9. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Suciarti, *et al.* (2012), bahwa semakin tinggi dosis ekstrak maka kandungan bahan antibakteri yang dikandungnya juga akan semakin pekat sehingga diameter zona hambat semakin besar.

Hasil penelitian mengenai uji daya hambat ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) terhadap bakteri *P. fluorescens* menghasilkan sifat bakteristatik pada bakteri *P. fluorescens*. Proses penghambatan bakteri secara kimia dapat dilakukan dengan metode antibakteri yang berguna untuk menghambat aktivitas bakteri. Cara kerjanya antibakteri dibagi menjadi dua antara lain antibakteri bersifat bakteristatik dan antibakteri yang bersifat bakteriosida. Bakteristatik yang artinya antibakteri tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Sedangkan bakteriosida merupakan antibakteri yang mampu membunuh bakteri. Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Yuhana, *et al.* (2011), sifat bakteristatik ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) terhadap bakteri *P. fluorescens* disebabkan karena pada umumnya bakteri gram negatif relatif resisten terhadap senyawa antibakteri. Patogenitas gram negatif sering dikaitkan dengan struktur dinding selnya yang relatif lebih kuat dibandingkan bakteri gram positif.

Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan uji cakram yang didapatkan bahwa ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* hal tersebut dilihat dari luasan diameter zona bening pada saat uji cakram. Bahan aktif yang didapatkan dari hasil skrining fitokimia dan berperan sangat penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* adalah flavonoid, saponin

dan tanin. Flavonoid berperan secara langsung dengan mengganggu fungsi sel mikroorganisme dan penghambatan siklus sel mikroba. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah serta memiliki fungsi sebagai antimikroba. Senyawa tanin ini banyak dijumpai pada tumbuhan. Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri.

Menurut Parubak (2013), senyawa flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan dan dalam responnya terhadap infeksi oleh mikroorganisme, sehingga tidak heran apabila senyawa flavonoid efektif sebagai senyawa antimikroba terhadap sejumlah mikroorganisme. Flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol yang memiliki bermacam-macam efek antara lain efek antioksidan. Sedangkan mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri menurut Cowan (1999), adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler.

Menurut Darsana, *et al.* (2012), saponin merupakan glukosida yang larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut pada pelarut eter. Senyawa saponin bekerja sebagai antibakteri dengan cara mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis, mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida. Menurut Cavalieri, *et al.* (2005), senyawa saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, kemudian mengikat membran sitoplasma, mengganggu dan mengurangi

kestabilan. Hal ini menyebabkan sitoplasma keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida.

Menurut Ajizah (2007), tanin mempunyai sifat antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga senyawa tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Tanin juga terkandung didalam ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.). Mekanisme kerja penghambatan senyawa tanin yaitu dengan cara dinding bakteri yang telah lisis akibat senyawa saponin dan flavonoid, sehingga menyebabkan senyawa tanin dapat dengan mudah masuk ke dalam sel bakteri dan mengkoagulasi protoplasma sel bakteri.

Parameter penunjang merupakan parameter yang digunakan selama penelitian. Pada penelitian ini parameter penunjang yang digunakan adalah suhu inkubasi. Parameter ini sangat penting agar bakteri tumbuh dengan baik. Suhu merupakan faktor utama yang mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri. Seperti halnya makhluk hidup tingkat tinggi lainnya, untuk pertumbuhannya pun memerlukan suhu tertentu. Suhu inkubasi yang diterapkan pada penelitian ini adalah 33°C. Hal ini sesuai dengan pendapat Sugiarti, *et al.* (2013), anggota genus *Pseudomonas* dapat tumbuh pada suhu optimal 20 – 45°C. Namun bakteri ini dapat tumbuh baik pada suhu 37°C.

5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) terhadap bakteri *P. flourescens* secara *In Vitro* maka diperoleh kesimpulan :

- Ekstrak kasar bawang dayak berpengaruh terhadap zona hambat bakteri *P. flourescens* dengan nilai rata – rata zona hambat terendah sebesar 3,61 mm. Pemberian dosis terendah 10 ppm ekstrak kasar bawang dayak mampu menghambat bakteri *P. flourescens*. Persamaan hubungan antar konsentrasi perlakuan zona hambat bakteri *P. flourescens* yaitu $y = 3,354 + 0,015x$.
- Ekstrak kasar bawang dayak bersifat bakteriostatik atau mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. flourescens* yang diketahui setelah pengamatan selama 2 x 24 jam masa inkubasi ternyata tidak ada perubahan zona hambatan pada diameter kertas cakram.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) terhadap bakteri *P. flourescens* dapat disarankan menggunakan ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* Merr.) untuk menghambat bakteri *P. flourescens* dengan dosis terendah 85 ppm dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan dosis optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, B.; N. Abdulgani dan G. Mahasri. 2014. Efektivitas Perendaman Benih Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) dalam Larutan Perasan Daun Api-api (*Avicennia marina*) terhadap Penurunan Jumlah *Trichodina* sp. *Jurnal Sains Dan Seni POMITS*. **3** (2): 2337-3520.
- Afrianto, E ; E. Liviawaty; Z. Jamaris, dan Hendi. 2015. Penyakit Ikan. Swadaya : Jakarta.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *BIOSCIENTIAE*. **1** (1) : 31-38.
- Andrews, J.M. 2001. Determination of *Minimum Inhibitory Concentration*. *Journal of Antimicrobials Chemotherapy*. **48** : 5 – 16.
- Arwiyanto, T ; Y.M.S Maryudani dan N. Azizah. 2007. Sifat – Sifat Fenotipik *Pseuodomonas fluorescens* Pengendalian Hayati Penyakit Lincah Pada Tembakau Temanggung. *Biodiversitas*. **8** (2) : 147 – 151.
- Cavalieri, S.J ; I.D. Rankin ; R.J. Harbeck ; R.S. Sautter. ; Y.S. Mc Carter ; S.E. Sharp ; J.H. Ortez., dan C.A. Spiegel. 2005. Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. American Society for Microbiology, USA.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. **12** (4) : 564 – 582.
- Darsana, I.G.O ; Besung, I.NK ; H. Mahatmi. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* secara *In Vitro*. *Indonesia Medicus Veterinus*. **1** (3) : 337 – 351.
- Firdaus, T. 2014. Efektifitas Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Keswhatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Hardi, E. H ; Sukenda ; E. Harris dan A. M Lusiastuti. 2011. Toksisitas Produk Ekstrasellular (ECP) *Streptococcus agalactiae* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Natur Indonesia*. **13** (3): 187-199.
- Harmita dan M. Radji. 2006. Buku Ajar Analisa Hayati Edisi 3. Penerbit Buku Kedokteran EGC : Jakarta. 41 hlm.
- Indrawati, N.L dan Razimi. 2013. Bawang Dayak Si Umbi Ajaib Penakluk Aneka Penyakit. PT. Agromedia Pustaka : Jakarta.
- Kartika, A. 2009. Teknik Eksplorasi dan Pengembangan Bakteri *Pseudomonas fluorescens*. 18 hlm.

- Kordi, G. H. 2010. Budidaya Ikan Patin di Kolam Terpal. Lily Publisher : Yogyakarta.
- Kris ; A. Belyada ; Ardianor dan B. Th. Djanang. 2009. Penentuan Dosis Dosis Tepat Tanaman Lengkuas (*Alpina galanga*) Dalam Mengatasi Penyakit Jamur Pada Ikan Lais (*Kryptopterus macarocephalus*) Yang Didomestikkan. *Tropical Fisheries*. **4** (2) : 397 – 407.
- Kuntorini, M. Evi. 2013. Kemampuan Antioksidan Bulbus Bawang Dayak (*Euetherine Americana* Merr.) Pada Umur Berbeda. *Prosiding Semirata*.
- Lay, B.H. 1994. Analisa Mikroba Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 168 hlm.
- Lenny S. 2006. Senyawa Falvonoida, Fenilpropanoida dan Alkalonoida. Depantemen Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahun Alam. Universitas Sumatera Utara. *Karya Ilmiah*. Medan.
- Lesmana, D.S. 2003. Mencegah dan Menanggulangi Penyakit Ikan Hias. Penebar Swadaya. Jakarta. Hlm 80.
- Maftuch; E. Prasetio; A. Sudianto; M. Rozik; R. Nurdiyani; E. Sanusi; H. Nursyam; F. Fariedah; Marsoedi; Murachman. 2013. Improvement of Innate Immune Responses And Defense Activity In Tiger Shrimp (*Penaeus Monodon* Fab.) by Intramuscular Administration of The Outer Membrane Protein *Vibrio Alginolyticus*. *SpringerPlus*. **2** : 432.
- Mierza, V ; D. Suryanto, M. Pandabota dan Nasution. 2011. Skiring Fitokima dan Uji Efek Anibakteri Ekstrak Etanol Umbi Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia* Merr.). *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. Medan. Hal : 340 – 351.
- Miranti, M ; Prasetyorini dan C. Suwary. 2013. Perbandingan Aktivitas Antibakteri ekstrak etanol 30% dan 96% Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Ekologia*. **13** (1) : 9-18.
- Noverita, D ; Fitria dan E. Sinaga. 2009. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteria Jamur Endotrofit dari Daun dan Rimpang *Zingiber elitensil*. *Jurnal Farmasi Indonesia*. **4** (4) : 173 – 174.
- Nurdiyanto dan Sumanto. 2006. Metode distribusi Monegenea Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Di Daerah Instimewa Yogyakarta. *Jurnal Sains Vet*. **12** (2) : 135 – 142.
- Parubak, A.S. 2013. Senyawa Flavonoid Yang Bersifat Antibakteri Dari Akway (*Drimys becariana*.Gibbs). *Chem. Prog*. **6** (1) : 34 - 37.
- Prajitno, A. 2005. Diktat Kuliah Parasit dan Penyakit ikan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 105 hlm.
- Purnama, W. Bea. 2013. *Aktivitas Antibakteri Glukosa Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginusa, Bacillus subtilis dan*

Escherichiancoli. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta

Rohyani, I.S ; E. Aryanti dan Suripto. 2015. Kandungan Fitokimia Beberapa Jenis Tumbuhan Lokal Yang Sering Dimanfaatkan Sebagai Bahan Baku Obat Di Pulau Lombok. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. 1 (2) : 388-391.

Rostinawati, T. 2010. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Tespong (*Oenanthe javavica* D.C) Terhadap *Eschericia Coli*, *Staphylococcus Aureus* dan *Candida albicans*. Penelitian mandiri. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran Jatinangor. Bandung.

Santosa, P. B dan M. Hamdani. 2007. Statistika Deskriptif dalam Bidang Ekonomi dan Niaga. Penerbit Erlangga.

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

Soenandar, M dan R. H Tjachjono. 2012. Membuat Pertisida Organik. PT. Agromedia Pustaka : Jakarta.

Sucianti, A ; Wardiyanto dan Sumino. 2012. Efektifitas Ekstrak Daun *Rhizophora mucronata* dalam Menghambat Pertumbuhan *Aeromonas salmonicida* dan *Vibrio harveyi*. *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya*. 1 (1): 1-8.

Sugiarti, S ; Sakti, S.P dan Juswono, U.P. 2013. Pemanfaatan *Pseudomonas putida* dan *Pseudomonas flourescens* Sebagai Biosensor untuk Mengukur kadar BOD₅ Dalam Air. 2 (2) : 34 – 39.

Sukarni; Maftuch; H. Nursyam. 2012. Kajian Penggunaan Ciprofloxacin terhadap Histologi Insang dan Hati Ikan Botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *J.Exp. Life Sci*. 2 (1) : 6-12.

Suprastyani, H. 1986. Dasar – dasar Mepelagari Penyakit Bakterial Pada Ikan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 58 hlm.

Utami, P dan D.E Puspaningtyas. 2013. The Miracke of Herbs. PT. Agromedia Pustaka : Jakarta.

Widyana, W ; S. Khotimah1 dan I. Lovadi. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lumut *Octoblepharum albidium* Hedw terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Protobiont*. 3 (2) : 166 – 170.

Yuhana, N ; A. Irianto dan H. Pramono. 2011. Rekayasa Mikroorganisme Inisiator Perifiton Pada Kolam Budidaya Ikan Tilapia Dengan Pemberian Konsorsia Mikroorganisme Unggul Periphyton. *Jurnal Perikanan (J. Fish. Sci.)*. 13 (1): 13-21.

LAMPIRAN

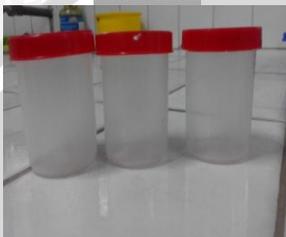
Lampiran 1. Alat Penelitian dan Bahan Penelitian



Autoklaf



Beaker Glass



Botol Sampel



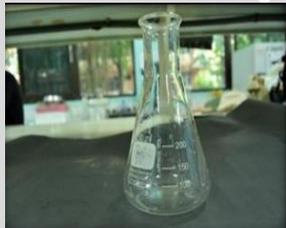
Blender



Bunsen dan Korek Api



Cawan Petri



Erlenmeyer



Gelas Ukur



Hot Plate



Inkubator

Lampiran 1. (Lanjutan)



Jangka Sorong Digital



Lemari Pendingin



Laminary Air Flow



Micro Pipet



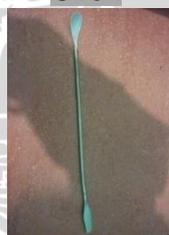
Nampan



Oven



Rak Tabung Reaksi



Sendok Bahan



Spatula, Jarum Ose, Cotton Spwap



Spektofotometer



Sprayer



Tabung Reaksi

Lampiran 1. (Lanjutan)



Timbangan Analitik



Timbangan Digital



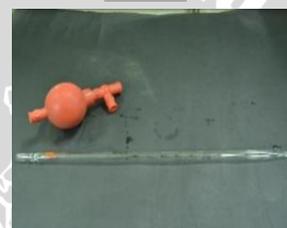
Vortex Mixer



Pinset



Corong



Bola Hisap dan Pipet Volume



Bawang Dayak



Nutrient Broth



Pseudomonas Soya Agar



Akuades



Alkohol



Alumunium Foil



Lampiran 1. (Lanjutan)



Antibiotik Clindamycin



DMSO



Kapas dan Benang Kasur



Tisu



Etanol



Kertas Label



Keras Saring



Masker



Plastik 2 Kg



Plastik Wrap



Sarung Tangan



Spiritus

Lampiran 1. (Lanjutan)



Blue Tip



Autolaf Destruksi



Mc. Farland



Lampiran 2. Hasil Uji Fitokimia

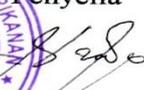


**KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN
DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA
BALAI BESAR PENGEMBANGAN BUDIDAYA AIR PAYAU
LABORATORIUM PENGUJIAN MUTU
PERIKANAN BUDIDAYA**

Alamat surat: PO Box 1 Jepara , Kantor: Jl. Cik Lanang – Bulu Jepara 59418
Telp. : (0291) 591125, Faximili : (0291) 591724
Email : bbbapjpr@rad.net.id Website : udang-bbbap.com

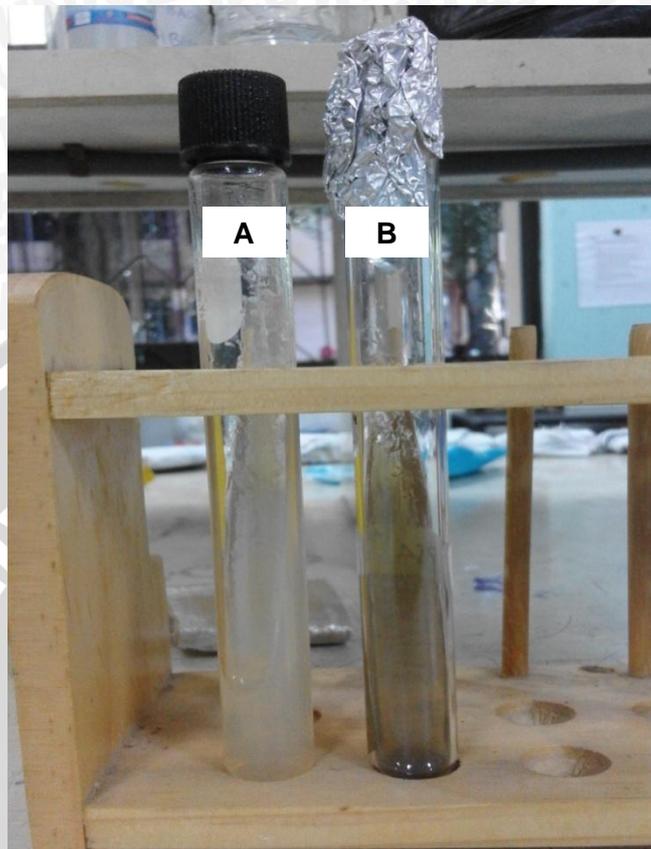
HASIL UJI BIOKIMIA

Uji Bio Kimia	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Gram	—
Bentuk	Batang
Katalase	+
Oksidase	+
H ₂ S	—
Indol	—
Citrate	+
OF medium	Oksidatif
VP	—
MR	—
Urea	—
Glukosa	+
Sukrosa	—
37 ⁰ C	+

Lab. Mikrobiologi BBPBAP Jepara
Penyelia

Sri Murti Astuti, SP.
NIP. 19651106 199103 2001



Lampiran 3. Gambar Isolat Murni dan Hasil Peremajaan Bakteri

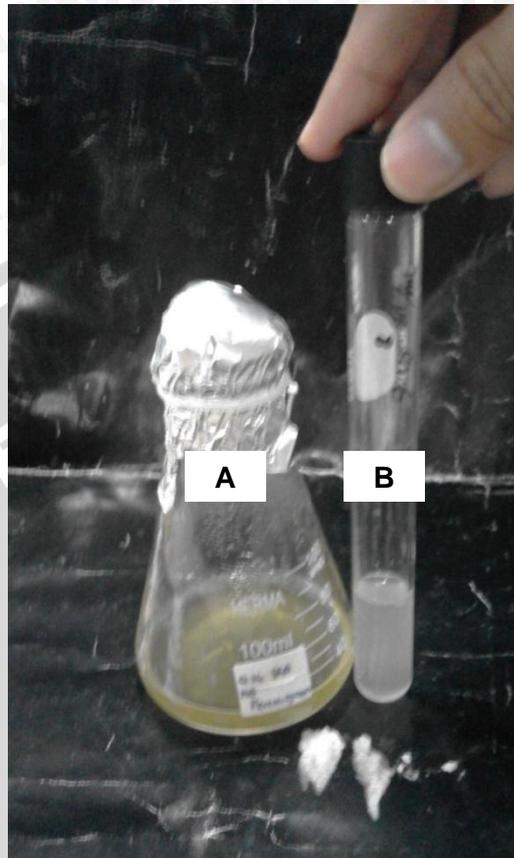


Keterangan :

A : Isolat Murni bakteri *P. fluorescens*

B : Hasil Peremajaan bakteri *P. fluorescens*

Lampiran 4. Gambar Hasil Pengenceran Bakteri



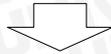
Keterangan :

A : Pengenceran bakteri *P. fluorescens* 10^9

B : Standart Mc. Farland 10^9

Lampiran 5. Skema Kerja Uji MIC

Persiapan dan Sterilisasi Alat dan Bahan



9 Tabung Reaksi Dipersiapkan (Tabung 1-7 untuk perlakuan dan tabung 8 sebagai kontrol negatif dan tabung 9 sebagai kontrol positif)



Tabung nomor 1 dan tabung 9 diisi dengan ekstrak kasar bawang dayak 1000 ppm dengan penambahan DMSO 10%



Tabung diisi dengan DMSO 10% sebanyak 9 ml kecuali tabung 8



Dilakukan pengenceran dari tabung nomor 1 sampai nomor 7



Setiap tabung ditambahkan media NB yang sudah ditambahkan bakteri sebanyak 1 ml kecuali tabung nomor 9, dan untuk tabung nomor 8 diisi dengan media NB yang sudah ditambahkan bakteri sebanyak 10 ml



Setiap tabung divortex agar semua bahan yang terdapat dalam setiap tabung homogen

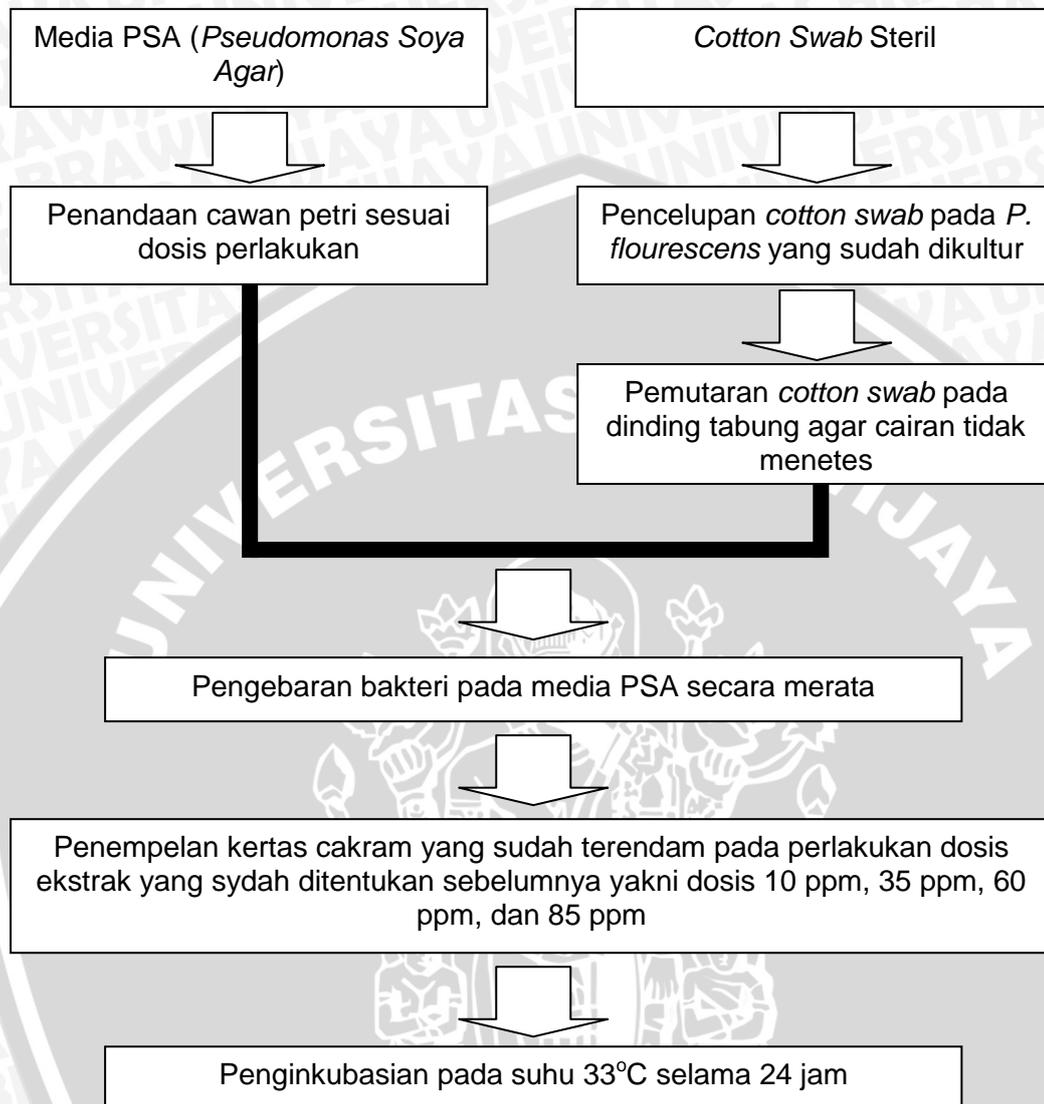


Diinkubasi 24 jam



Dilakukan pengamatan dengan melihat larutan dalam tabung dan pengamatan menggunakan spektrofotometer

Lampiran 6. Skema Kerja Uji Cakram



Lampiran 7. Hasil Uji Skrining Fitokimia Bawang Dayak


DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR
UPT MATERIA MEDICA

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)

KOTA BATU

Nomor : 074 /207/ 101.8 / 2016

Halaman : 1 dan 2

Sifat : Biasa

Perihal : Surat Keterangan Skrining Fitokimia

Memenuhi permohonan saudara :

Nama	NIM	Fakultas
Dimas Ardiansyah	125080501111011	Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang
Ika Khairatun N	125080501111012	
Dwi Retno F	125080501111019	
Riska Rinaldi	125080507111008	
Nuraini Farida	125080507111014	
Nadifatul Habibah	125080507111019	
Immaria Fransira	125080507111044	

Kami menerangkan bahwa yang bersangkutan telah melakukan Skrining Fitokimia untuk bahan penelitian dari ekstrak Bawang Dayak (*Elentherine palmifolia L. merr.*). Adapun proses skrining dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu dengan perincian sebagai berikut :

Bahan : Larutan Uji Formaldehid 3%
 Natrium asetat FeCl₃ 1%
 Serbuk Mg Pereaksi Dragendorf
 HCL pekat Pereaksi Meyer

Alat : Tabung reaksi Penjepit tabung reaksi
 Pipet tetes Labu ukur
 Pipet Volume Mikro pipet
 Beakerglass Spatula stainless steel
 Corong gelas Bunsen

Cara Kerja :**I. Identifikasi Flavonoid**

0.5 ml sampel dipanaskan selama 5 menit Ditambah HCL pekat beberapa tetes → ditambh sedikit serbuk Mg → Hasil Positif : warna merah tua / merah muda

II. Identifikasi Alkaloid

0.5 ml sampel dalam masing – masing 3 tabung reaksi → ditambahkan Pereaksi Bouchardat, Meyer, Dragendorf beberapa tetes → hasil positif : endapan coklat bouchardat, endapan putih meyer, endapan jingga Dragendorf

III. Identifikasi Tanin

0.5 ml sampel → ditambahkan FeCl₃ 1% → warna positif warna hijau, biru, ungu, biru tua, hijau kehitaman

IV. Identifikasi Tanin Galat

0.5 ml sampel → ditambahkan sedikit Natrium asetat → ditambahkan FeCl₃ 1% warna positif warna biru tinta / hitam

V. Identifikasi Tanin Katekol

0.5 ml sampel → ditambahkan larutan Formaldehid 3 % : HCL pekat (2:1) dipanaskan suhu 90 °C → warna positif endapan merah

VI. Identifikasi Saponin

1 ml sampel → ditambahkan 2 ml air panas → dikocok kuat hasil positif : terbentuk buih permanen selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm → ditambahkan HCL pekat 1 tetes → Hasil positif : busa permanen tidak hilang

Lampiran 7. (Lanjutan)

Halaman : 2 dari 2

Hasil* :

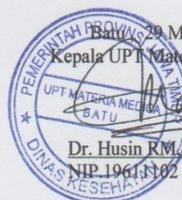
Nama Sampel	Flavonoid	Saponin	Tanin		Alkaloid	
			Tanin Galat	Tanin Katekol	P. Meyer	P.Dragendrof
Ekstrak Bawang dayak (Elentherine palmifdia (L.)Merr.	+	+	+	+	-	-

*HasilFotoTerlampir

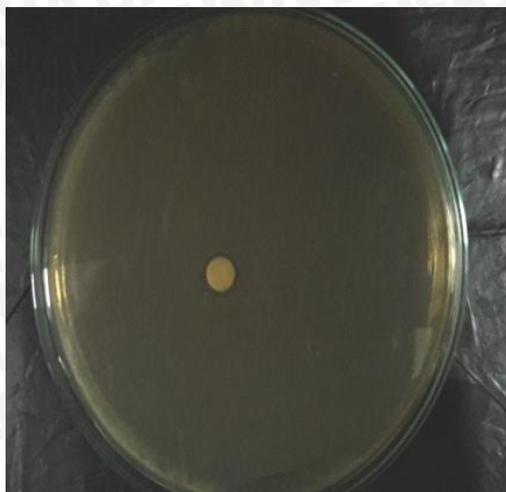
Demikian keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

29 Maret 2016
Kepala UPT Materia Medica Batu

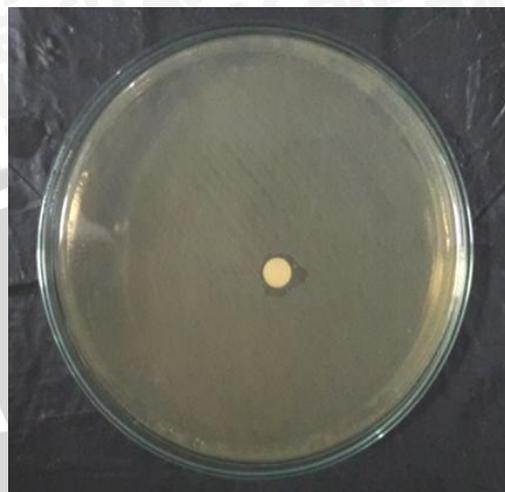
Dr. Husin RM, Drs., Apt., MKes.
NIP. 196411021991031003



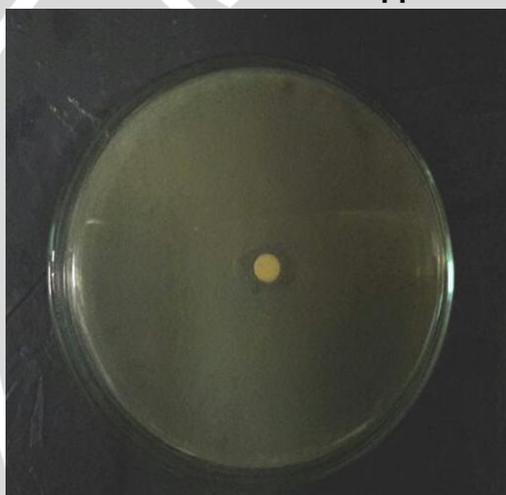
Lampiran 8. Hasil Uji Cakram



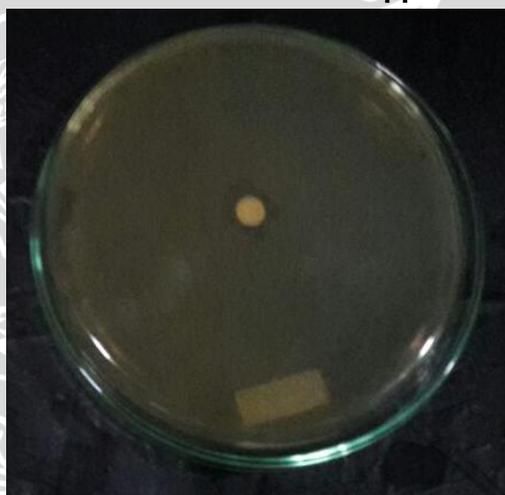
Perlakuan A dosis 10 ppm



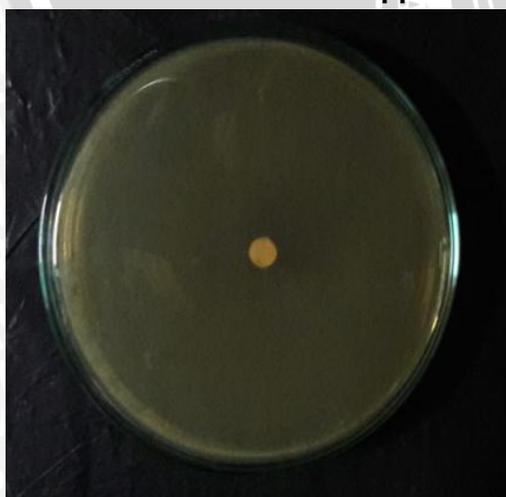
Perlakuan B dosis 35 ppm



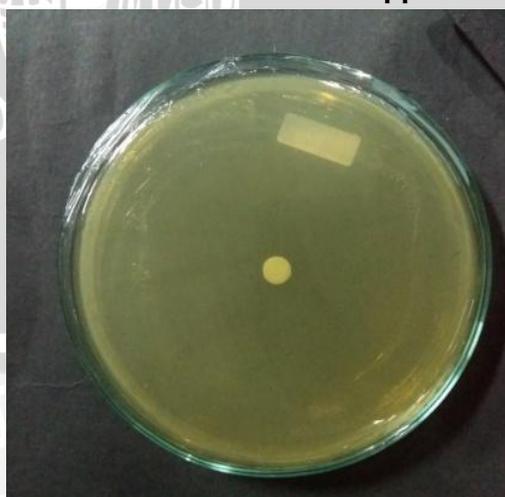
Perlakuan C dosis 60 ppm



Perlakuan D dosis 85 ppm



Kontrol Positif



Kontrol Negatif

Lampiran 9. Hasil Perhitungan Daya Hambat

Data Diameter Zona Hambatan (mm) Bakteri *P. fluorescens*

Perlakuan	R1	R2	R3	Total Perlakuan	Rata- rata	Total ²
A (10 ppm)	3,71	3,62	3,49	10,82	3,61	117,07
B (35 ppm)	3,79	3,59	3,70	10,08	3,69	122,77
C (60 ppm)	4,29	4,20	4,84	13,33	4,44	177,69
D (85 ppm)	4,76	4,57	4,68	14,01	4,67	196,28
TOTAL				49,24		613,81

Perhitungan:

$$1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} = \frac{G^2}{N} = \frac{49,24^2}{12} = 202,048133$$

$$2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK total)} = \sum x_{ij}^2 - \text{FK}$$

$$= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - \text{FK}$$

$$= (3,71^2 + 3,62^2 + 3,49^2 + 3,79^2 + 3,59^2 + 3,7^2 + 4,29^2 + 4,2^2 + 4,84^2 + 4,76^2 + 4,57^2 + 4,68^2) - 202,048133$$

$$= 2,8573$$

$$3. \text{ JK Perlakuan} = \frac{(\sum xi)^2}{r} - \text{FK}$$

$$= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - \text{FK}$$

$$= \frac{(10,82^2 + 11,08^2 + 13,33^2 + 14,01)}{3} - 202,048133$$

$$= 2,55446667$$

$$4. \text{ JK galat} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan}$$

$$= 2,8573 - 2,55446667 = 0,3028$$

$$5. \text{ db Total} = (n \times r) - 1$$

$$= (12 \times 3) - 1 = 35$$

$$6. \text{ db Perlakuan} = n - 1$$

$$= 4 - 1 = 3$$

7. Sidik Ragam Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Bawang Dayak (*E. palmifolia* Merr.) Terhadap Daya Hambat Bakteri *P. flourescens* secara *In Vitro*

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2,55446667	0,851489	22,4964**	4,07	7,59
Acak	8	0,3028	0,03785			
Total	11					

Keterangan **: Berbeda Sangat Nyata

8. Hasil Uji BNT Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Bawang Dayak (*E. palmifolia* Merr.) Terhadap Daya Hambat Bakteri *P. flourescens* secara *In Vitro*

$$\text{SED} = \frac{2 \times \text{KT}_{\text{acak}}}{\text{ulangan}(r)} = \frac{2 \times 0,03785}{3} = 0,15885003$$

$$t \text{ tabel BNT } 5\% = \text{SED} \times F \text{ } 5\% = 0,15885003 \times 4,07 = 0,29546106$$

$$t \text{ tabel BNT } 1\% = \text{SED} \times F \text{ } 1\% = 0,15885003 \times 7,59 = 0,46003$$

Rerata Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
A	3,61	-	-	-	-	a
B	3,69	0,09 ^{ns}	-	-	-	a
C	4,44	0,84**	0,75**	-	-	b
D	4,67	1,06**	0,98**	0,23 ^{ns}	-	b

9. Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	10,82	-3	1	-1
B	11,08	-1	-1	3
C	13,33	1	-1	-3
D	14,01	3	1	1
Q = $\sum C_i \cdot T_i$		11,82	0,42	-3,56
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = $(\sum C_i^2) \cdot r$		60	12	60
JK = Q^2 / Kr		2,32854	0,0147	0,211227

$$\begin{aligned} \text{Total JK Regresi} &= \text{JK Regresi Linier} + \text{JK Regresi Kudratik} + \text{JK Regresi Kubik} \\ &= 2,32854 + 0,0147 + 0,211227 = 2,55446667 \end{aligned}$$

10. Tabel Sidik Ragam Regresi

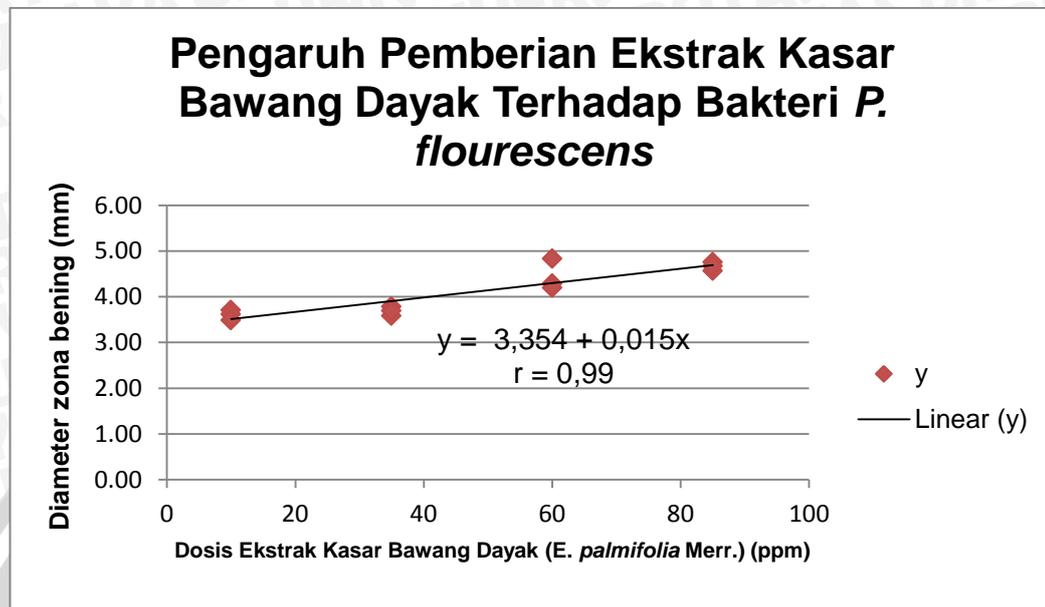
Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2,55446667			4,07	7,59
Linier	1	2,32854	2,32854	61,52021	**	
Kuadratik	1	0,0147	0,0147	0,388375	ns	
Kubik	1	0,211227	0,211227	5,580625	ns	
Acak	8	0,3028	0,03785			
Total	14					

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{\text{JK Regresi Linier}}{\text{JK Total Terkoreksi}} = \frac{2,32854}{2,32854 + 0,3028} = 0,88492555$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{\text{JK Regresi Kudratik}}{\text{JK Total Terkoreksi}} = \frac{0,0147}{0,0147 + 0,3028} = 0,04629921$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{\text{JK Regresi Kudratik}}{\text{JK Total Terkoreksi}} = \frac{0,211227}{0,211227 + 0,3028} = 0,4109255$$

Nilai regresi linier lebih besar dari nilai regresi kuadratik, dan regresi kubik, sehingga grafik yang dibuat adalah grafik linier.



Keterangan :

X = Dosis Esktrak (ppm)

Y = Zona Bening (mm)

