

**UJI SENSITIVITAS EKSTRAK KASAR DAUN MENIRAN (*Phyllanthus niruri*
Linn) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA IN VITRO**

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

Oleh:

SYLVIA ADI CARLINA

NIM. 125080500111034



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016

**UJI SENSITIVITAS EKSTRAK KASAR DAUN MENIRAN (*Phyllanthus niruri*
Linn) TERHADAP 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:

SYLVIA ADI CARLINA

NIM. 125080500111034



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

UJI SENSITIVITAS EKSTRAK KASAR DAUN MENIRAN (*Phyllanthus niruri* Linn) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA IN VITRO

Oleh :

SYLVIA ADI CARLINA
NIM. 125080500111034

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal 20 Juni 2016
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Maftuch, M.S)

NIP. 19660825 199203 1 001

TANGGAL: 21 JUL 2016

Dosen Penguji II

(Muhammad Fakhri, S.Pi., M.P., M.Sc)

NIP. 19860717 201504 1 001

TANGGAL : 21 JUL 2016

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

(Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS)

NIP. 19550213 198403 1 001

TANGGAL: 21 JUL 2016

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. Mohamad Fadjar, M.Sc)

NIP. 19621014 1987 1 001

TANGGAL : 21 JUL 2016

Mengetahui,

Ketua Jurusan MSP

(Dr. Ir. Arning Wilareng Ekawati, MS)

NIP. 19620805 198603 2 001

TANGGAL : 21 JUL 2016



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar – benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya, tidak terdapat karya atau pendapat yang tertulis dalam naskah ini pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang telah 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, Juni 2016

Mahasiswa

Sylvia Adi Carlina



UCAPAN TERIMAKASIH

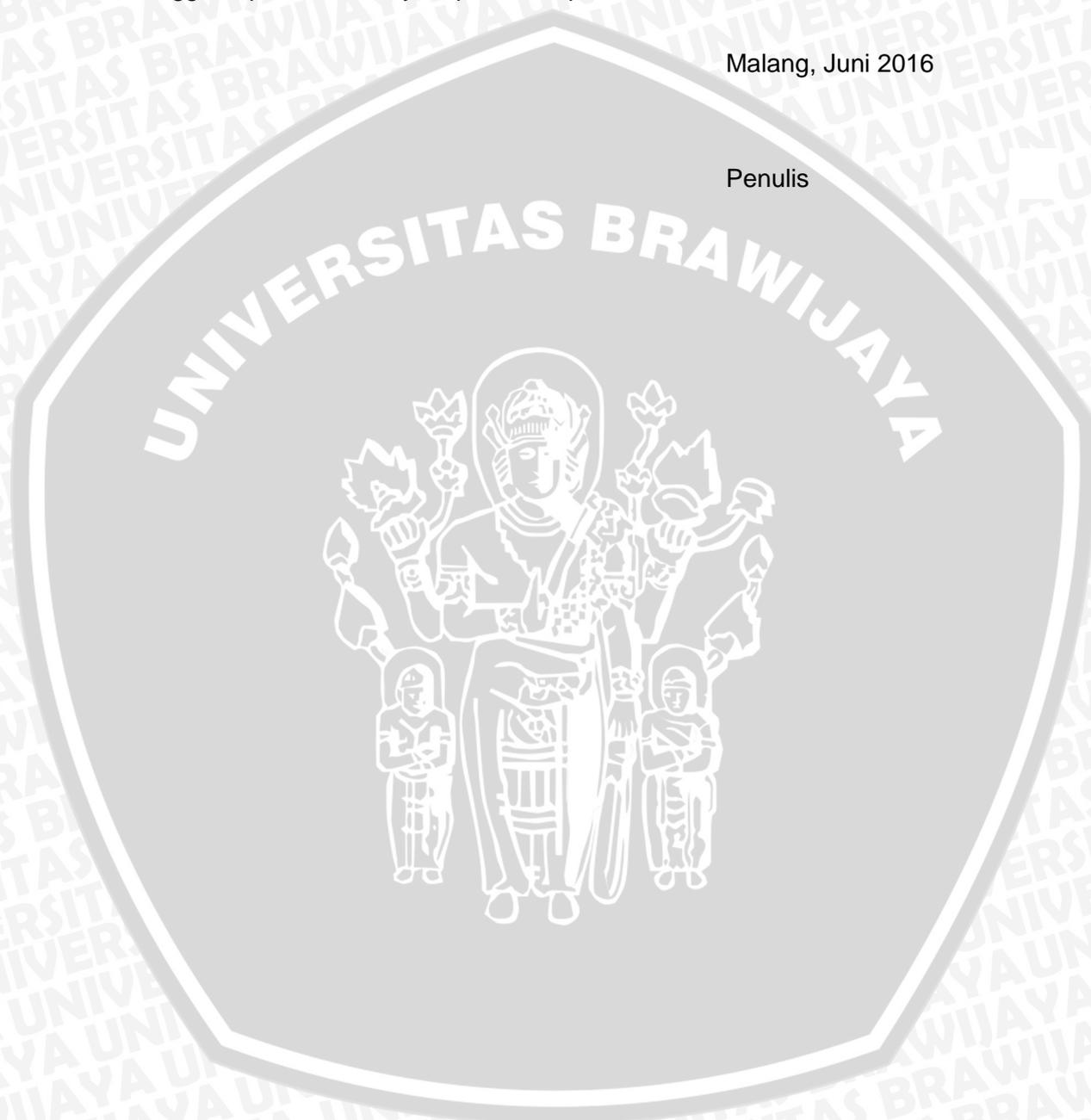
Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku Dosen Pembimbing I dan Dr. Ir. M. Fadjar, MSc, selaku Dosen Pembimbing II yang senantiasa memberikan bimbingan selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini selesai.
2. Dr. Ir. Maftuch, MS selaku penguji I dan Muhammad Fakhri, S.PI, M.P, M.Sc selaku penguji II yang telah memberikan banyak masukan dalam penyusunan skripsi ini.
3. Bundaku Beauty Dewi, Frida Aviona tercinta dan Uwa Febriyanto yang telah memberikan do'a, motivasi, serta segala dukungan serta Alm. Papa Agung Supriadi yang telah memberikan dukungan materil selama ini hingga penyusunan skripsi selesai.
4. Laboran Lab. Parasit dan Penyakit Ikan (Ibu Titin) FPIK Universitas Brawijaya, yang bersedia membantu dari awal hingga akhir penelitian.
5. Sahabat – sahabatku Hevy Setyo Bella, Fatimatuz Jahro, Binaria, Kapti Cleopatria, Anis Mey, Nhora Sandria (Keluarga Kost BS 2011-2013) Silfia Fajar, Siti Lestari, Arfin Reski, Dea Yulis Karlina, Nuraini Annisa, Dio Revisa, Herprita, Raka Eka N, Khrisna Wicaksono, Roy Fernandes, Septa Sholehudin, Alviola Pramudya, Mukhamad Mustofa, Eri Yudo dan Tim *P. fluorescens* Ion Tarsardo, Munir, Nikzha, Alvaitah, Azizah, Rosa Dea, Putri serta Tim skripsi Rusmawanto, Ellyda, dkk. yang telah memberikan bantuan serta dukungan selama penelitian.
6. Keluarga besar Aquasean 2012 yang telah banyak membantu dan memberikan semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini, serta semua

pihak yang telah memberi banyak dukungan baik moril maupun materil sehingga dapat tersusunnya laporan skripsi ini.

Malang, Juni 2016

Penulis



RINGKASAN

Sylvia Adi Carlina. Uji Sensitivitas Ekstrak Kasar Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) Terhadap Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In Vitro*. Di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS.** dan **Dr. Ir. Mohamad Fadjar, M. Sc**

Budidaya merupakan usaha manusia untuk mengelola faktor – faktor budidaya, hama, dan penyakit organisme budidaya, serta dapat memproduksi organisme yang dibudidayakan. Salah satu penyakit budidaya yang sering menyerang adalah bakteri *Pseudomonas fluorescens*. *P. fluorescens* menyerang ikan air tawar seperti ikan mas, silver carp, grass carp. Serangan dapat menyebabkan kematian massal, pada kulit ikan menunjukkan warna pucat dan berlendir, tanda ini jelas terlihat pada ikan yang berwarna gelap. Ikan yang menderita penyakit kulit sering menggosok-gosokkan badannya pada benda-benda di kolam. Tutup insang mengembung dan insang terlihat pucat. Perut ikan membengkak dengan sisik-sisik yang berdiri atau sebaliknya serta perut menjadi sangat kurus. Pengobatan dengan menggunakan antibiotik dalam budidaya skala besar kurang efisien, karena harga antibiotik yang mahal dan dapat membuat bakteri menjadi resisten, maka diperlukan alternatif pengganti antibiotik sebagai pengobatan dan pencegahan penyakit yang efektif tetapi murah, tidak menyebabkan resisten terhadap bakteri dan ramah lingkungan maka digunakanlah ekstrak kasar daun meniran (*Phyllanthus niruri*). Komponen dari meniran yang bersifat imunomodulator adalah senyawa flavonoid yang mampu meningkatkan sistem imun (kekebalan tubuh) sehingga dapat menangkal serangan virus, bakteri atau mikroba lainnya.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, pada bulan Januari sampai Maret 2016. Tujuan penelitian untuk menjelaskan pengaruh pemberian ekstrak kasar daun meniran (*P. niruri*) terhadap daya hambat dari bakteri *P. fluorescens* dan untuk mengetahui dosis efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* secara *In Vitro*.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen, yaitu untuk mengetahui hubungan sebab – akibat satu atau lebih kondisi perlakuan dan membandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan. Pengambilan data yang digunakan pada penelitian ini adalah metode observasi, yaitu pengambilan data secara langsung. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yaitu dengan 5 perlakuan A (10 ppt), B (20 ppt), C (30 ppt), D (40 ppt), E (50 ppt) dan masing – masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Hasil perlakuan menunjukkan adanya respon positif terhadap daya hambat bakteri. Perlakuan D menunjukkan respon daya hambat tertinggi dengan menghasilkan diameter rata – rata sebesar 7,54 mm. Diikuti perlakuan E (7,50 mm), kemudian perlakuan C (7,11 mm), perlakuan B (6,83 mm) dan perlakuan A (5,44 mm). Perlakuan tersebut menunjukkan nilai yang sangat berbeda nyata pada rancangan percobaan kecuali perlakuan A yang memiliki nilai tidak berbeda nyata. Hubungan antara dosis ekstrak kasar daun meniran (*P. niruri*) terhadap diameter daya hambat bakteri *P. fluorescens* menghasilkan grafik secara linier dan persamaan yang didapatkan adalah $y = 5,439 + 0,048x$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,812.

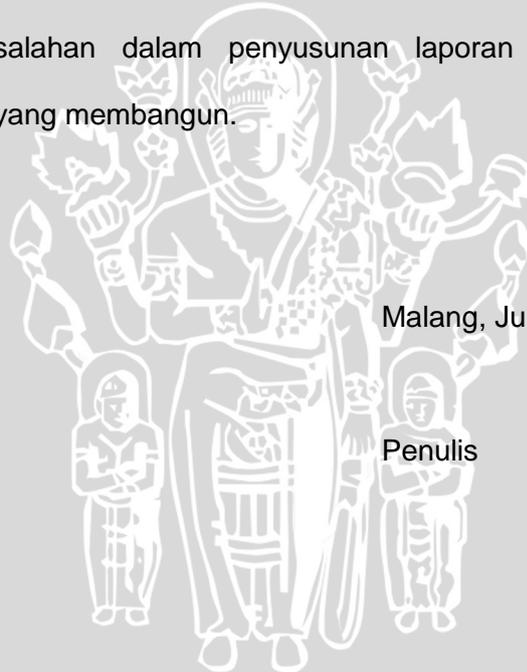
KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat, taufik serta hidayah-Nya sehingga Skripsi “Uji Sensitivitas Ekstrak Kasar Daun Meniran *Phyllanthus niruri* Linn pada Bakteri *Pseudomonas fluorescens* secara *In Vitro*” ini dapat terselesaikan.

Diharapkan dengan tersusunnya skripsi ini dapat bermanfaat, terutama bagi mahasiswa program studi Budidaya Perairan. Penulis menyadari bahwa dengan keterbatasan yang dimiliki, skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan, baik penulisan maupun bahasanya. Oleh karena itu, penulis memohon maaf apabila terdapat kesalahan dalam penyusunan laporan skripsi ini serta mengharapkan saran yang membangun.

Malang, Juni 2016

Penulis



DAFTAR ISI

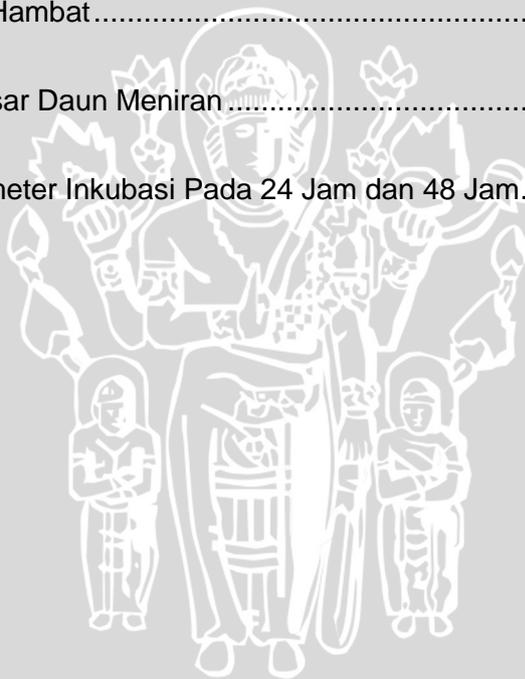
	Halaman
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan Penelitian	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biologi Daun Meniran (<i>P. niruri</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Daun Meniran (<i>P. niruri</i>).....	5
2.1.2 Habitat dan Penyebaran.....	6
2.1.3 Bahan Aktif Daun Meniran (<i>P. niruri</i>) Sebagai Antimikroba	6
2.2 Biologi Bakteri <i>P. fluorescens</i>	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri <i>P. fluorescens</i>	7
2.2.2 Infeksi dan Tanda Penyerangan Bakteri <i>P. fluorescens</i>	8
2.3 Uji Sensitivitas secara <i>In Vitro</i>	8
3. METODE PENELITIAN	10
3.1 Materi Penelitian	10
3.1.1 Alat Penelitian	10
3.1.2 Bahan Penelitian	11
3.2 Metode Penelitian	12
3.3 Pengambilan Data.....	12
3.4 Rancangan Penelitian	13
3.5 Prosedur Penelitian.....	15
3.5.1 Persiapan Penelitian.....	15

3.5.2 Penentuan Dosis Ekstrak Kasar Daun Meniran (<i>P. niruri</i>) pada Uji Difusi Kertas Cakram	18
3.5.3 Pelaksanaan Penelitian dengan Metode Uji Cakram	19
3.5.4 Parameter Uji	20
3.5.5 Analisis Data	20
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1 Identifikasi Bakteri <i>P. fluorescens</i>	21
4.2 Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Meniran (<i>P. niruri</i>) Terhadap Bakteri <i>P. fluorescens</i> secara <i>In Vitro</i>	22
4.3 Suhu Inkubator Selama inkubasi Bakteri <i>P. fluorescens</i>	28
5. KESIMPULAN DAN SARAN	29
5.1 Kesimpulan	29
5.2 Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	33



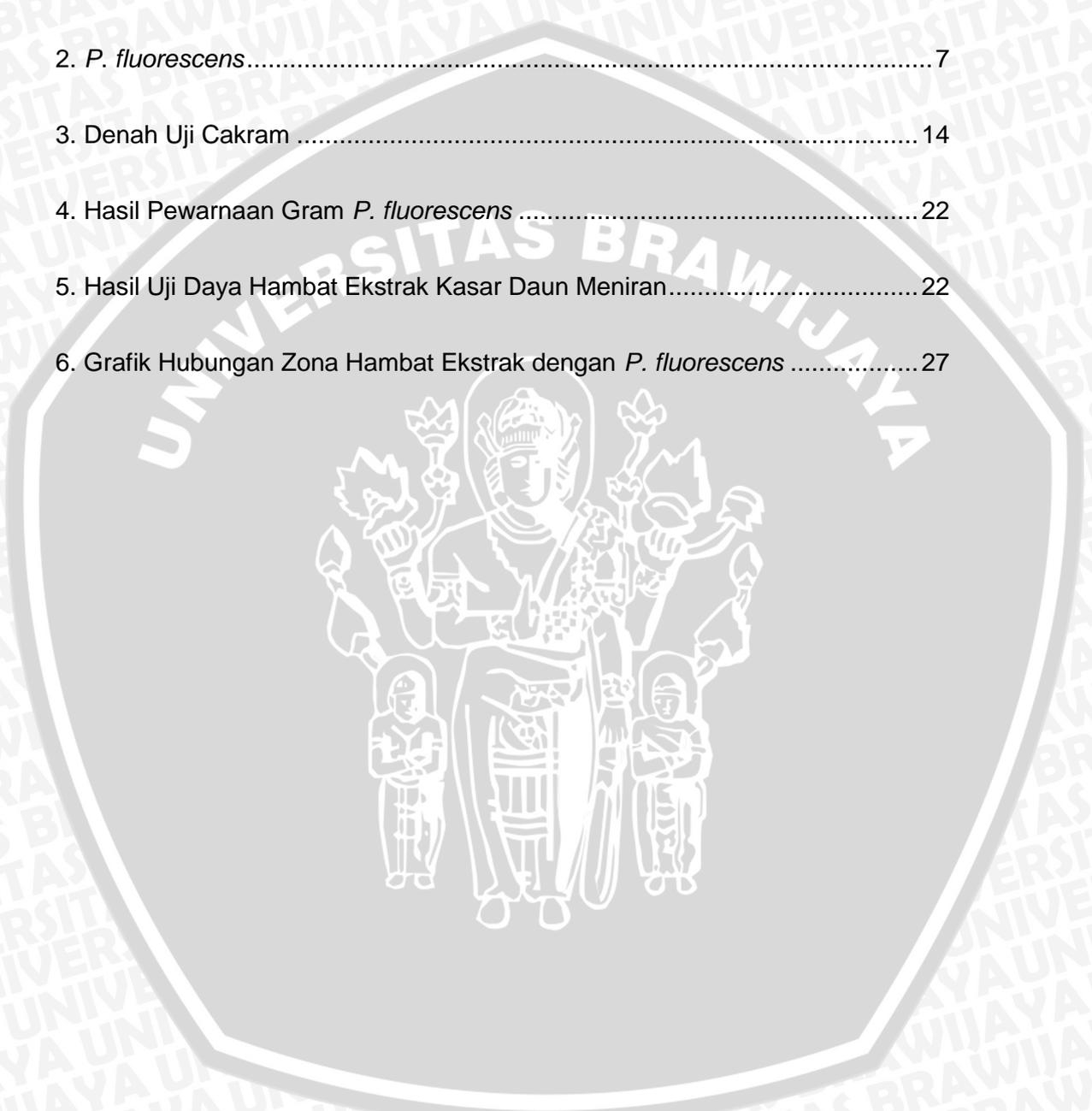
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat-Alat Penelitian	10
2. Bahan-Bahan Penelitian	11
3. Perlakuan Dalam Penelitian.....	14
4. Klasifikasi Respon Daya Hambat.....	24
5. Hasil Rata-Rata Zona Hambat Bakteri <i>P. fluorescens</i>	25
6. Sidik Ragam Zona Hambat.....	25
7. Uji BNT Ekstrak Kasar Daun Meniran.....	26
8. Data Rata-rata Diameter Inkubasi Pada 24 Jam dan 48 Jam.....	28



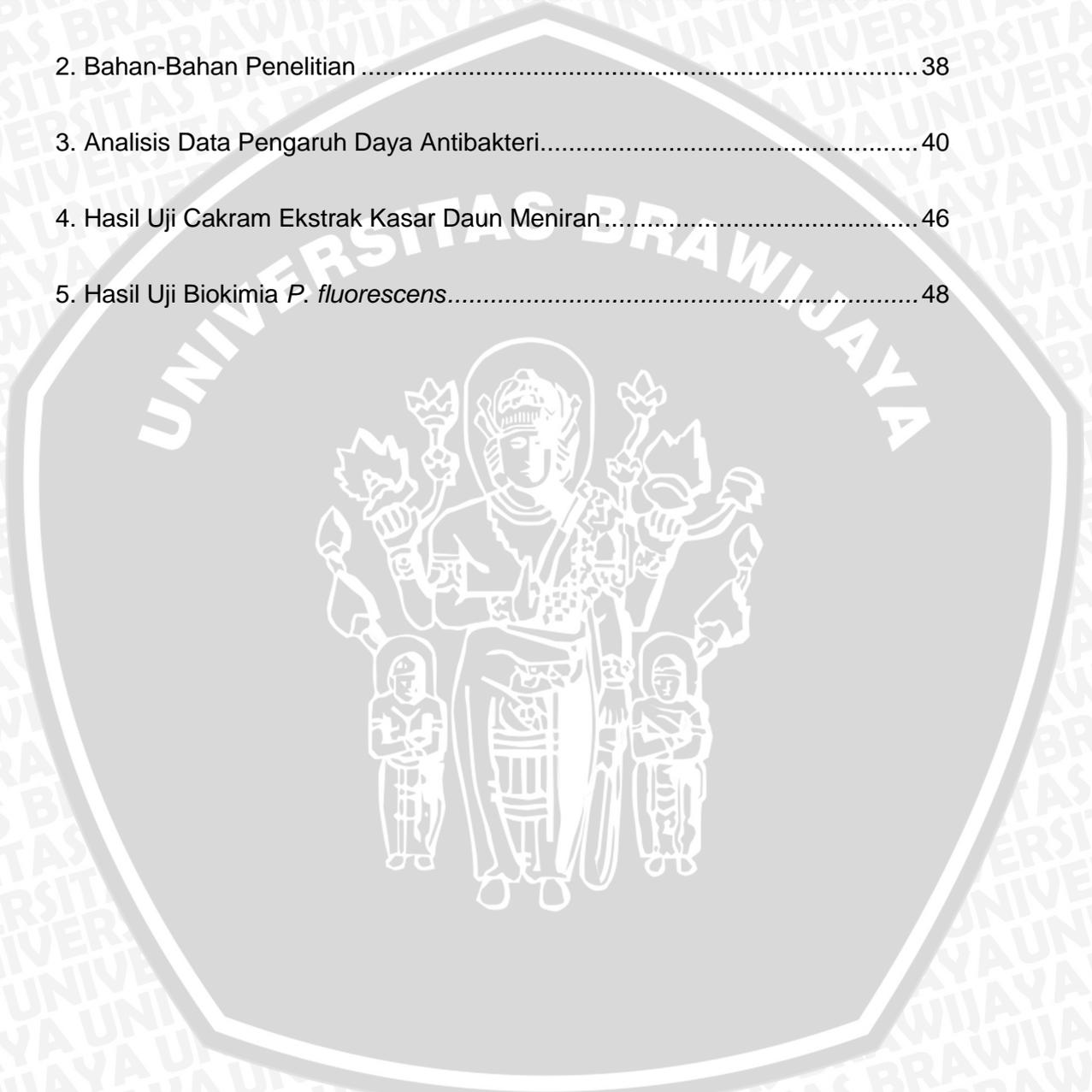
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun Meniran (<i>P. niruri</i>).....	5
2. <i>P. fluorescens</i>	7
3. Denah Uji Cakram	14
4. Hasil Pewarnaan Gram <i>P. fluorescens</i>	22
5. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Meniran.....	22
6. Grafik Hubungan Zona Hambat Ekstrak dengan <i>P. fluorescens</i>	27



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat-Alat Penelitian	34
2. Bahan-Bahan Penelitian	38
3. Analisis Data Pengaruh Daya Antibakteri.....	40
4. Hasil Uji Cakram Ekstrak Kasar Daun Meniran.....	46
5. Hasil Uji Biokimia <i>P. fluorescens</i>	48



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ruang lingkup budidaya ikan (akuakultur) ialah pengendalian pertumbuhan serta perkembangbiakan yang bertujuan untuk meningkatkan produktifitas perikanan melalui pemeliharaan dan penambahan sumber – sumber perikanan guna mengembangkan produksi perikanan laut, perikanan darat serta memperbaiki manajemen perikanan. Kegiatan budidaya merupakan usaha manusia untuk mengelola faktor - faktor budidaya, hama, dan penyakit organisme budidaya serta dapat memproduksi organisme yang dibudidayakan (Reksono, Hamdani dan Yuniarti, 2012).

Untuk mencapai target produksi sesuai dengan yang diharapkan, banyak permasalahan yang menghambat upaya peningkatan produksi tersebut terutama wabah penyakit. Kegagalan produksi yang sering ditemukan diakibatkan oleh serangan wabah penyakit ikan yang bersifat patogenik dari golongan parasit, jamur, bakteri dan virus (Ghufran dan Kordi, 2004). Di Indonesia sedikitnya telah tercatat empat kali wabah penyakit ikan, baik yang disebabkan oleh parasit maupun bakteri. Wabah penyakit menyebabkan terjadinya kematian pada ikan secara akut maupun kronis sehingga secara ekonomis ikan menjadi tidak laku dipasarkan karena penampilannya yang buruk, berbahaya bagi kesehatan manusia serta memperkecil laba usaha karena pertumbuhan ikan menjadi lambat (Ratnawati, Purwaningsih dan Kurniasih, 2013).

Menurut Prajitno (2005), penyakit ikan ialah segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun tidak langsung. 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 mudah terserang penyakit. Serangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri merupakan kendala utama dalam kegiatan budidaya.

Bakteri yang gemar menyerang ikan – ikan di kolam biasanya tergolong ke dalam jenis *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp.. Penyakit ini yang pernah menghebohkan dunia perikanan Indonesia, khususnya di Jawa Barat yang menyerang 295 ton ikan dan mengancam 51 ton ikan lainnya. Hingga sekarang penyakit bakteri ini menjadi momok dunia perikanan (Susanto, 1990).

Pseudomonas merupakan bakteri saprofit yang dapat hidup di air tawar, payau dan asin. Beberapa diantaranya bersifat pathogen pada ikan. *Pseudomonas septicemia* merupakan penyakit yang disebabkan oleh serangan *Pseudomonas*. Serangan penyakit ini diakibatkan oleh manajemen pemeliharaan yang kurang baik. Kekurangan oksigen, kekurangan pakan dan perubahan temperatur air yang drastis dapat menyebabkan ikan mengalami stress sehingga mudah terserang penyakit *P. septicemia*. Tiga spesies *Pseudomonas* yang telah diketahui sebagai pathogen salah satunya adalah *P. fluorescens* (Afrianto, Liviawaty, Jamaris dan Hendi, 2015).

Penggunaan antibiotik dalam penanggulangan penyakit menunjukkan hasil yang menggembirakan. Akan tetapi, penggunaan antibiotik yang berkepanjangan dapat berdampak pada bertambahnya jenis bakteri yang resisten terhadap antibiotik, residu di dalam tubuh ikan serta dapat mencemari lingkungan. Selain itu, penggunaan antibiotik dalam budidaya skala besar kurang efisien, karena harga antibiotik yang mahal sehingga diperlukan alternatif pengganti antibiotik sebagai pengobatan dan pencegahan penyakit yang efektif dan ekonomis, tidak menyebabkan resisten terhadap bakteri dan ramah lingkungan (Sumino, Supriyadi dan Wardiyanto, 2013).

Maka dari itu diperlukan pengembangan alternatif dari tanaman obat. Salah satunya dengan menggunakan daun meniran (*Phyllanthus niruri*). Kandungan aktif dalam meniran adalah flavonoid dan alkaloid. Komponen dari meniran yang bersifat imunomodulator adalah senyawa flavonoid yang mampu meningkatkan sistem imun (kekebalan tubuh) sehingga dapat menangkal serangan virus, bakteri atau mikroba lainnya (Sudewo, 2012).

1.2 Rumusan Masalah

P. fluorescens merupakan pathogen ikan air tawar. Bakteri tersebut sering ditemukan pada ikan *silver carp*, ikan mas, dan *black carp*. Bagian yang diserang umumnya sirip dan ekor sehingga terjadi erosi. Serangan dapat menyebabkan kematian massal, dimana terjadi lesi hemoragik pada kulit dan dasar sirip dan hemoragik terlihat jelas pada insang, ginjal, dan hati (Afrianto, Liviawaty, Jamaris dan Hendi, 2015).

Penggunaan antibiotik dalam budidaya skala besar kurang efisien, karena harga antibiotik yang mahal, sehingga diperlukan alternatif pengganti antibiotik sebagai pengobatan dan pencegahan penyakit yang efektif dan ekonomis, tidak menyebabkan resisten terhadap bakteri dan ramah lingkungan (Sumino, Supriyadi dan Wardiyanto, 2013). Maka digunakan alternatif bahan alami seperti daun meniran (*P. niruri*). Menurut Kardinan dan Kusuma (2004), secara klinis ekstrak meniran telah terbukti bersifat immunostimulan atau mampu merangsang daya tahan tubuh.

Berdasarkan uraian tersebut dapat diperoleh rumusan masalah yaitu bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak kasar daun meniran (*P. niruri*) terhadap sensitivitas bakteri *P. fluorescens* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menjelaskan pengaruh pemberian ekstrak kasar daun meniran (*P. niruri*) terhadap daya hambat dari bakteri *P. fluorescens* dan untuk mengetahui dosis efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri secara *In Vitro*.

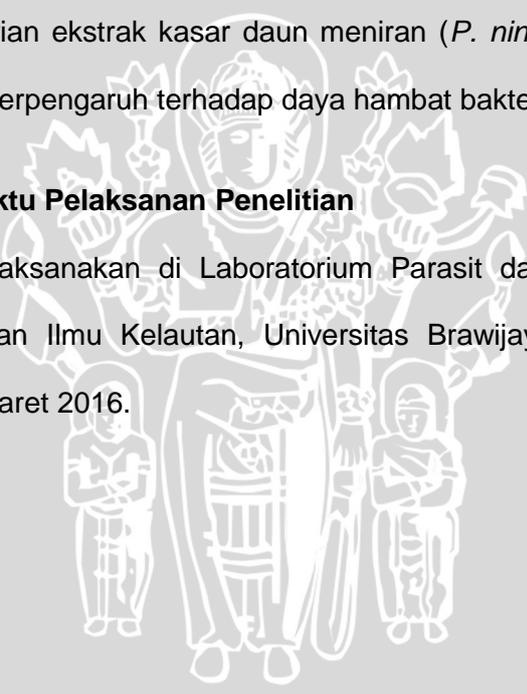
1.4 Hipotesis

H₀ : Diduga pemberian ekstrak kasar daun meniran (*P. niruri*) dengan dosis yang berbeda tidak berpengaruh terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens*.

H₁ : Diduga pemberian ekstrak kasar daun meniran (*P. niruri*) dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens*.

1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 18 Januari – Maret 2016.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Daun Meniran (*P. niruri*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Daun Meniran (*P. niruri*)

Menurut Soenanto (2009), meniran adalah sebutan dalam Bahasa Indonesia, dalam bahasa sunda disebut memeniran, dalam bahasa jawa disebut daun gendong anak, di Ternate disebut gosau ma dungi, di Malaysia disebut dukung anak, di Philipina disebut sampa – sampalukan dan di China disebut *zhen zhu cao*. Adapun klasifikasinya adalah sebagai berikut dan gambar disajikan pada

Gambar 1:

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Magnoliophyta

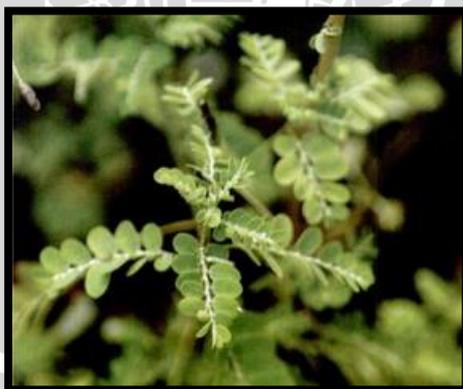
Kelas : Rosidae

Ordo : Euphorbiales

Famili : Euphorbiaceae

Genus : *Phyllanthus*

Spesies : *P. niruri* Linn.



Gambar 1. Daun Meniran (*P. niruri*) (Utami, 2003)

Tumbuhan ini mempunyai batang pohon berbentuk bulat dan dikategorikan berbatang basah dengan tinggi kurang dari 50 cm. Meniran mempunyai daun bersirip genap. Setiap satu tangkai daun terdiri dari daun majemuk yang

mempunyai ukuran kecil serta berbentuk lonjong. Bunganya yang kecil – kecil mirip menir, dan terdapat pada ketiak daun menghadap ke arah bawah. Meniran pada umumnya tidak dipelihara, karena dianggap tumbuhan rumput biasa (Thomas, 1992).

Semua bagian tubuh meniran yang ada di atas tanah, berbau aromatik dan rasanya pahit adalah bagian yang memiliki khasiat obat. Meniran ini batangnya ramping dengan garis tengah 1 mm – 3 mm, cabang – cabangnya bagaikan tangkai daun dengan garis tengah 0,25 mm – 1 mm, daunnya kecil – kecil berbentuk bulat panjang, ukuran panjang 4 mm – 8 mm dan lebarnya 1,5 mm – 5 mm, bunga dan buahnya menempel pada cabang, warna buahnya hijau sampai coklat jerami (Kartasapoetra, 1992).

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Menurut Kardinan dan Kusuma (2004), meniran merupakan tanaman liar yang berasal dari Asia tropik yang tersebar di seluruh daratan Asia termasuk Indonesia. Kini, tanaman tersebut telah tersebar ke Benua Afrika, Amerika, dan Amerika. Meniran umumnya tumbuh di ketinggian 1 – 1.000 mdpl. Tanaman ini tumbuh secara liar di tempat berbatu dan lembap, seperti di tepi sungai, pantai, semak, lahan bekas sawah, tanah telantar tepi sungai, pantai, hutan atau ladang atau tumbuh di sekitar perkarangan rumah.

2.1.3 Bahan Aktif Daun Meniran (*P. niruri*) Sebagai Antimikroba

Menurut Prajitno (2005), antibakteri adalah sesuatu zat yang mampu mengganggu metabolisme dan pertumbuhan mikroba. Mekanisme kerja antimikroba antara lain dengan jalan merusak dinding sel, mendenaturasi protein sel, merusak membran sitoplasma dan menghambat kerja enzim di dalam sel.

Tanaman ini seluruh bagiannya dapat digunakan karena mengandung banyak senyawa berguna, seperti flavonoid, alkaloid, asam lemak, vitamin C, damar, tannin (Permadi 2008). Komponen dari meniran yang bersifat

imunomodulator adalah senyawa flavonoid yang mampu meningkatkan sistem imun (kekebalan tubuh) sehingga dapat menangkal serangan virus, bakteri atau mikroba lainnya (Sudewo, 2012).

2.2 Biologi Bakteri *P. fluorescens*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri *P. fluorescens*

Klasifikasi Bakteri *P. fluorescens* menurut Siegrist (2010), adalah sebagai berikut:

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



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

P. fluorescens tergolong jenis bakteri gram negatif, berbentuk batang dengan ukuran sekitar 2 sampai 3 mikron meter dan mempunyai alat flagella untuk bergerak (Cahyono, 2001). Menurut Arwiyanto, Maryudani dan Azizah (2007), *P. fluorescens* memerlukan oksigen untuk tumbuh (aerob). Semua isolat *P. fluorescens* dapat tumbuh pada kisaran suhu 20 – 41 °C dengan pertumbuhan

terbaik pada suhu 30 °C serta pH yang baik untuk pertumbuhannya adalah pada kisaran 6 – 7.

Menurut Lesmana (2003), bakteri *Pseudomonas* ini tahan terhadap suhu ekstrim yaitu pada suhu panas hingga dingin sekalipun serta tahan terhadap desinfektan. Infeksi bakteri ini sangat berbahaya bagi ikan kecuali pada ikan dalam keadaan sehat. Bakteri *Pseudomonas* menyerang 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.

2.2.2 Infeksi dan Tanda Penyerangan Bakteri *P. fluorescens*

Menurut Susanto dan Widayati (2002), penyakit yang disebabkan oleh bakteri *P. fluorescens* dapat dibedakan berdasarkan lokasi penyerangannya pada kulit ikan menunjukkan warna pucat dan berlendir. Tanda ini jelas terlihat pada ikan yang berwarna gelap. Ikan yang menderita penyakit kulit sering menggosok – gosokkan badannya pada benda – benda di kolam. Pada tutup insang mengembang dan insang pucat. Perut ikan membengkak dengan sisik – sisik yang berdiri atau sebaliknya perut menjadi sangat kurus.

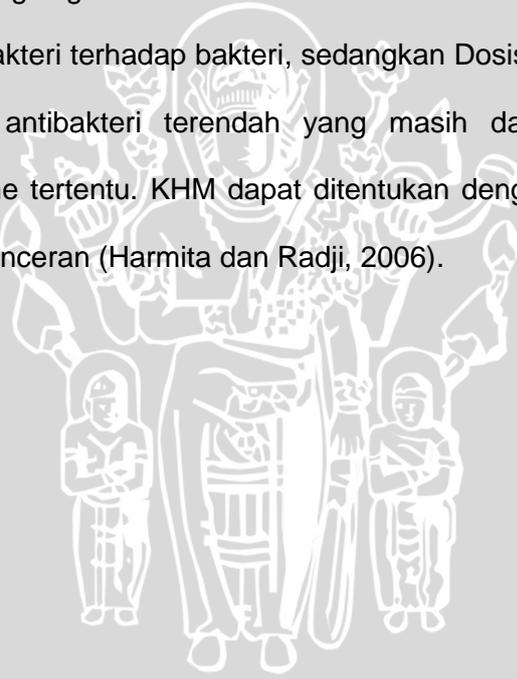
Menurut Susanto (1990), pada permukaan badan terutama dada, perut, pangkal sirip berwarna merah, berdarah. Tubuh nampak kasap, tidak licin dikarenakan lapisan lendir banyak berkurang. Beberapa bagian tubuh hilang atau rusak dan keadaan ikan lemah karena nafsu makan berkurang, gerak tidak lincah dan kehilangan keseimbangan. Penyakit ini termasuk ke dalam penyakit oleh bakteri yang sangat ganas karena dapat menimbulkan kematian massal pada ikan.

2.3 Uji Sensitivitas secara *In Vitro*

Menurut Mulyadi, Wuryanti dan Ria (2013), metode difusi cakram kertas dilakukan dengan meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di

atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Pencelupan cakram pada larutan uji hingga seluruh permukaan cakram basah. Pengamatan dilakukan setelah bakteri diinokulasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat zona bening di sekitar cakram. Pemilihan metode ini karena mudah dan sederhana untuk menentukan aktivitas antibakteri.

Beberapa prosedur berbeda dalam menentukan sensitivitas mikroorganisme terhadap bahan yang mengandung antibakteri antara lain dengan menggunakan metode cakram Kirby – Bauer dan metode Dosis Hambat Minimum (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Metode cakram adalah metode sederhana yang digunakan untuk melihat sensitivitas suatu zat yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri, sedangkan Dosis Hambat Minimum (KHM) adalah dosis antibakteri terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan organisme tertentu. KHM dapat ditentukan dengan menggunakan prosedur tabung pengenceran (Harmita dan Radji, 2006).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat – Alat yang digunakan pada penelitian tentang uji sensitivitas ekstrak kasar daun meniran *P. niruri* pada bakteri *P. fluorescens* disajikan pada Tabel 1, sedangkan gambar dapat dilihat pada Lampiran 1.

Tabel 1. Alat – Alat Penelitian

No	Alat	Kegunaan
1.	Autoclave	Alat untuk mensterilkan alat dan bahan yang akan digunakan pada penelitian
2.	Beaker glass	Sebagai wadah tabung reaksi saat sterilisasi
3.	Blender	Untuk menghaluskan ekstrak kasar daun meniran
4.	Blue tip	Tip merupakan pelengkap (pasangan) mikropipet yang diletakkan pada ujung pipet
5.	Bola hisap	Sebagai pasangan dari pipet volume untuk mengambil atau mengeluarkan larutan
6.	Bunsen	Untuk pengkondisian steril di dalam LAF
7.	Cawan Petri	Sebagai wadah dari media dan bakteri yang akan diamati
8.	Corong	Untuk mempermudah penuangan larutan ke wadah lain
9.	Erlenmeyer	Sebagai wadah untuk melarutkan dan memanaskan media
10.	Gelas ukur	Sebagai wadah untuk mengukur media
11.	Gunting	Sebagai alat pemotong benang
12.	Hotplate	Sebagai alat untuk memanaskan media
13.	Inkubator	Sebagai tempat untuk menyimpan bakteri
14.	Jangka sorong	Untuk mengukur zona hambat
15.	Jarum osse	Untuk mengambil bakteri dari media
16.	Laminar Air Flow (LAF)	Untuk preparasi bahan – bahan mikrobiologi dan sebagai tempat penanaman bakteri agar tidak terkontaminasi dengan udara luar

No.	Alat	Kegunaan
17.	Lemari pendingin	Untuk menyimpan ekstrak dan bahan
18.	Mikropipet	Untuk mengambil larutan dalam skala kecil
19.	Pinset	Untuk meletakkan kertas cakram pada cawan
20.	Pipet volume	Untuk mengambil larutan dalam skala besar
21.	Rak tabung reaksi	Sebagai wadah tabung reaksi
22.	<i>Rotary vacuum</i>	Sebagai alat untuk memisahkan ekstrak dengan ethanol 96 %
23.	Oven	Sebagai alat pengering
24.	Spatula	Untuk menghomogenkan larutan
25.	Sprayer	Sebagai wadah alkohol
27.	Tabung reaksi	Sebagai wadah untuk peremajaan bakteri
28.	Timbangan analitik	Sebagai alat untuk menimbang media PSA dan TSB padat
29.	Toples kaca	Sebagai wadah untuk ekstraksi meniran (maserasi)
30.	Vortex	Alat untuk menghomogenkan larutan

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan – bahan yang digunakan pada penelitian tentang uji sensitivitas ekstrak kasar daun meniran pada bakteri *P. fluorescens* disajikan pada Tabel 2 dan gambar dapat dilihat pada Lampiran 2.

Tabel 2. Bahan – Bahan Penelitian

No	Bahan	Kegunaan
1.	Daun Meniran (<i>P. niruri</i>)	Sebagai ekstrak yang diuji daya hambatnya
2.	Bakteri <i>P. fluororecens</i>	bahan yang diuji sensitivitasnya
3.	Kertas label	Sebagai penanda untuk berbagai bahan
4.	Alkohol 70 %	Sebagai bahan aseptis
5.	PSA (<i>Pseudomonas Selective Agar</i>)	Sebagai media bakteri
6.	TSB (<i>Tryptitone Soy Broth</i>)	Sebagai media cair bakteri

No	Alat	Kegunaan
7.	Tali	Untuk mengikat alat-alat saat sterilisasi
8.	Lap kering	Untuk memegang Erlemeyer saat dipanaskan
9.	DMSO 10%	Sebagai pelarut ekstrak
10.	Kertas/ Koran	Sebagai pembungkus cawan saat sterilisasi
11.	Kapas	Sebagai penutup Erlemeyer dan tabung reaksi saat sterilisasi
12.	Tissue	Untuk membersihkan bahan yang basah
13.	Ethanol 96 %	Sebagai pelarut ekstrak saat maserasi
14.	Kertas saring	Untuk menyaring ekstrak setelah maserasi
15.	Akuades	Sebagai pelarut media
16.	Aluminium Foil	Sebagai penutup toples saat maserasi
17.	Spiritus	Sebagai bahan bakar bunsen
18.	Kertas Cakram	Sebagai bahan yang digunakan untuk mengetahui pengaruh ekstrak terhadap bakteri atau untuk mengetahui zona hambat yang terbentuk

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen yaitu menurut Atmodjo (2011), adalah untuk mengetahui hubungan sebab – akibat dengan memanipulasikan satu (lebih) variabel pada satu (lebih) kelompok eksperimen dan membandingkannya dengan kelompok lain yang tidak mengalami manipulasi atau untuk mengetahui hubungan sebab – akibat satu atau lebih kondisi perlakuan dan membandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan.

3.3 Pengambilan Data

Pengambilan data yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan metode observasi, yaitu pengamatan objek secara langsung, dan melakukan pencatatan dari hasil pengamatan. Menurut Iskandar (2007), observasi adalah

pengamatan secara langsung kegiatan yang sedang dilakukan. Saat melakukan observasi dapat pula melakukan validasi terhadap informasi yang diberikan pada saat wawancara pengumpulan data dengan mengamati langsung berdasarkan sumber – sumber yang ada.

3.4 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL merupakan rancangan paling sederhana dan hendaknya merupakan prioritas utama di dalam memilih rancangan lingkungan, kecuali ada alasan – alasan tertentu yang tidak mungkin menggunakan rancangan ini. Karena yang diperhatikan hanya penggolongan terhadap macam perlakuan saja, maka RAL ini hanya bisa digunakan bila kita yakin bahwa kondisi percobaan benar – benar homogen. Kondisi yang dimaksud tidak hanya menyangkut lingkungan fisik tetapi juga pelaksanaan percobaan itu sendiri (saat pengamatan dan tindakan pemeliharaan lain) (Sugito, 2009).

Model untuk RAL menurut Sastrosupadi (2002) adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

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 galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Variable bebas pada penelitian ini yaitu perlakuan pemberian ekstrak kasar daun meniran (*P. niruri*) dengan perlakuan menggunakan perbedaan dosis ekstrak kasar daun meniran (*P. niruri*). Pengamatan dilakukan berdasarkan pengukuran besar zona hambat yang muncul pada medium agar padat dengan satuan millimeter (mm). tingkat dosis yang dipakai dalam pengukuran ini adalah 5

perlakuan 3 ulangan beserta kontrol positif dan kontrol negatif. Tabel 3 perlakuan dapat dilihat sebagai berikut:

Tabel 3. Perlakuan dalam penelitian

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A	A1	A2	A3
B	B1	B2	B3
C	C1	C2	C3
D	D1	D2	D3
E	E1	E2	E3

Keterangan :

A : Perlakuan dosis ekstrak kasar daun meniran 10 ppt

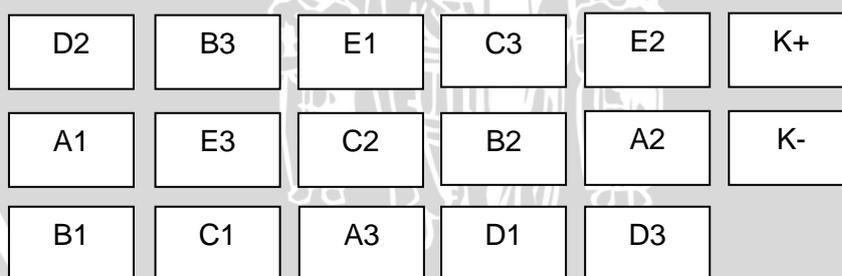
B : Perlakuan dosis ekstrak kasar daun meniran 20 ppt

C : Perlakuan dosis ekstrak kasar daun meniran 30 ppt

D : Perlakuan dosis ekstrak kasar daun meniran 40 ppt

E : Perlakuan dosis ekstrak kasar daun meniran 50 ppt

Denah penelitian disajikan pada Gambar 3 berikut ini :



Gambar 3. Denah Uji Cakram

Keterangan :

K : Kontrol positif (+) dan kontrol negatif (-)

A - E : Perlakuan

1-3 : Ulangan

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

A. Sterilisasi Alat dan Bahan

Pada penelitian ini dilakukan sterilisasi alat dan bahan guna membunuh bakteri yang tidak diinginkan dan prosesnya adalah sebagai berikut :

- Alat – alat yang akan digunakan dalam penelitian dicuci bersih menggunakan sabun cuci dan dikeringkan, lalu dibungkus kertas dan siap disterilisasi.
- Dituang air secukupnya ke dalam *autoclave* sampai elemen terendam, kemudian alat yang telah dibungkus kertas dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat.
- 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 klep uap yang berada di bagian atas tutup *autoclave*.
- Tombol OFF ditekan, dibuka tutup klep uap sampai tekanan menunjukkan angka nol, lalu dibuka penutup *autoclave*, kemudian barulah alat dan bahan yang sudah disterilkan dapat diambil.
- Alat – alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan atau lemari, sedangkan untuk bahan – bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

B. Sterilisasi Tempat Perlakuan

Tempat yang digunakan untuk penelitian juga disterilkan agar tidak terkontaminasi. Dalam melakukan kegiatan apapun yang berkaitan dengan penelitian harus selalu dalam keadaan steril. Sterilisasi pada peneliti menggunakan alkohol 70%, untuk tempat perlakuan dilakukan dengan cara

penyinaran sinar UV pada lamir air flow, sedangkan untuk alat – alat dan media disterilisasi dengan menggunakan autoclave selama 15 menit yang sebelumnya alat – alat tersebut telah dibungkus dengan kertas atau koran, untuk media TSB dan PSA wadah ditutup menggunakan kapas.

C. Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Meniran (*P. niruri*) dan Penentuan Dosis

Pada proses pembuatan ekstrak kasar daun meniran (*P. niruri*) yang harus dilakukan terlebih dahulu disiapkan daun meniran segar kemudian dikeringkan dan dihaluskan menggunakan blender. Diambil serbuk daun meniran sebanyak 200 gram dengan cara ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik.

Proses persiapan perendaman (maserasi) dilakukan dengan cara diambil serbuk daun meniran sebanyak 200 gr/L dan dimasukkan ke dalam toples kaca kemudian dimaserasi dengan ethanol 96% selama 24 jam dalam suhu kamar dengan kondisi toples kaca yang dibungkus aluminium foil. Larutan yang didapat kemudian disaring menggunakan kertas saring lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* dengan menggunakan suhu 55°C sehingga dihasilkan ekstrak kasar daun meniran sebanyak 18,96 gram dengan tekstur yang kental.

Menurut Asare, Bugyei, Sittie, Gyan, Adjie, Addo, Wiredu and Nyarko (2012), persiapan proses ekstraksi *Phyllanthus niruri* yaitu sebanyak 500 gram bahan tanaman kering yang telah digiling dilarutkan dengan pelarut ethanol 2,5 liter dengan proses maserasi selama 24 jam. Campuran disaring dengan kertas saring Whatman No. 1 kemudian dosisnya dipadatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 55°C. Dosis yang dipadatkan guna untuk menghilangkan pelarutnya.

D. Peremajaan Bakteri

Pada peremajaan bakteri menggunakan media agar miring PSA dan prosesnya adalah sebagai berikut :

- Ditimbang 0,8 gram PSA untuk satu media
- Dimasukkan ke dalam erlemeyer yang berisi 20 ml akuades, lalu diaduk hingga tercampur merata
- Erlemeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil kemudian disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit
- Tuang media PSA steril pada 2 tabung reaksi dengan masing-masing 10 ml, kemudian miringkan tabung reaksi hingga media PSA kering
- Diambil 1 ose biakan bakteri murni dan digoreskan pada masing – masing media PSA miring secara zig – zag
- Tutup tabung reaksi dengan kapas dan aluminium foil, kemudian inkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu 33°C.

E. Pembuatan Media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*)

Pada penelitian ini menggunakan bakteri *P. fluorescens* maka media yang digunakan adalah media PSA dan prosesnya adalah sebagai berikut :

- PSA dengan dosis 40 : 1000
- Ditimbang 16 gram PSA
- Dimasukkan ke dalam Erlemeyer yang berisi 400 ml akuades, lalu diaduk hingga tercampur merata
- Erlemeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil kemudian disterilkan dalam autoclave dengan suhu 21°C selama 15 menit
- Dituang pada cawan petri tunggu hingga dingin dan disimpan pada lemari pendingin dan diberi label.

F. Pembuatan Media TSB (*Tryptic Soy Broth*)

Pada Penelitian ini dilakukan pembuatan media TSB cair yang berguna untuk mengkultur bakteri *P. fluorescens* dan prosesnya adalah sebagai berikut :

- TSB dengan dosis 30 : 1000

- Larutan TSB disiapkan sebanyak 0,9 gram dalam Erlemeyer sebanyak 30 ml, lalu diaduk hingga merata
- Erlemeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil kemudian disterilkan dalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit
- Larutan yang akan dipakai dibiarkan dingin hingga mencapai suhu 30°C karena bakteri akan mati jika ditanam pada media yang terlalu panas
- Masukkan larutan TSB ke dalam 3 tabung reaksi masing – masing 10 ml
- Diambil 1 ose inokulan bakteri dari agar miring kemudian di masukkan ke dalam larutan TSB dalam tabung reaksi.
- Ditutup media TSB tersebut dengan kapas dan alumunium foil dan diinkubasi selama 12 – 24 jam pada suhu 37°C.
- Pada 24 jam media TSB akan berubah menjadi lebih keruh yang menandakan bahwa bakteri telah tumbuh, kemudian dilihat kepadatannya berdasarkan kepadatan bakteri pada Mc. Farland.
- Kepadatan bakteri yang digunakan pada penelitian ini yaitu 10^7 sel/cfu. Bakteri dari media TSB diambil 1 ml dan diencerkan dengan Nafis sebanyak 9 ml sehingga didapatkan bakteri dengan kepadatan 10^7 sel/cfu. Kepadatan bakteri 10^7 sel/cfu didapatkan dengan cara mencocokkan kepadatan bakteri pada media cair TSB dengan Mc. Farland berdasarkan kekeruhannya.

3.5.2 Penentuan Dosis Ekstrak Kasar Daun Meniran (*P. niruri*) pada Uji

Difusi Kertas Cakram

Penentuan dosis ekstrak kasar daun meniran dalam penelitian ini menggunakan dosis 10 ppt, 20 ppt, 30 ppt, 40 ppt dan 50 ppt dengan ditambahkan larutan DMSO 10% sebagai pelarut atau pengencernya dengan pencampuran sebagai berikut

- Dosis 10 ppt
Ekstrak kasar daun meniran ditimbang sebanyak 0,15 gram dan ditambahkan DMSO sebesar 2,85 ml sehingga menghasilkan 3 ml ekstrak kasar daun meniran dengan dosis 10 ppt.
- Dosis 20 ppt
Ekstrak kasar daun meniran ditimbang sebanyak 0,3 gram dan ditambahkan DMSO sebesar 2,7 ml sehingga menghasilkan 3 ml ekstrak kasar daun meniran dengan dosis 20 ppt.
- Dosis 30 ppt
Ekstrak kasar daun meniran ditimbang sebanyak 0,45 gram dan ditambahkan DMSO sebesar 2,55 ml sehingga menghasilkan 3 ml ekstrak kasar daun meniran dengan dosis 30 ppt.
- Dosis 40 ppt
Ekstrak kasar daun meniran ditimbang sebanyak 0,6 gram dan ditambahkan DMSO sebesar 2,4 ml sehingga menghasilkan 3 ml ekstrak kasar daun meniran dengan dosis 40 ppt.
- Dosis 50 ppt
Ekstrak kasar daun meniran ditimbang sebanyak 0,75 gram dan ditambahkan DMSO sebesar 2,25 ml sehingga menghasilkan 3 ml ekstrak kasar daun meniran dengan dosis 50 ppt.

3.5.3 Pelaksanaan Penelitian dengan Metode Uji Cakram

Pada tahap ini metode yang digunakan dalam uji cakram adalah menggunakan metode tebar yaitu sebagai berikut :

- Disiapkan cawan petri yang telah terdapat media PSA.
- Disiapkan dosis ekstrak kasar daun meniran untuk uji cakram.

- Penanaman bakteri pada media PSA dilakukan dengan cara mengambil biakan bakteri dari media TSB dengan menggunakan mikropipet 1000 μL , kemudian diteteskan dalam media agar sebanyak 1 tetes dan diratakan pada seluruh permukaan media agar menggunakan triangle.
- Kertas cakram steril direndam ke dalam ekstrak daun meniran selama 15 menit berdasarkan dosis yang telah ditentukan.
- Kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak kasar daun meniran ditiriskan dan diletakkan ditengah permukaan lempeng agar.
- Dibaca hasil setelah diinkubasi pada suhu ruang 33°C selama 24 jam dan 48 jam dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram jangka sorong.

3.5.4 Parameter Uji

Parameter uji terdiri dari parameter utama dan penunjang. Parameter utama yaitu diameter daerah hambatan yang diukur dengan menggunakan kertas cakram yang dinyatakan dengan mm ditambah daerah bidang yang ada disekeliling kertas cakram. Parameter penunjangnya adalah suhu inkubasi yaitu pada 33 °C.

3.5.5 Analisis 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) pada tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dan 99% ($\alpha = 0,01$). Hal ini digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter ukur (uji f atau sidik ragam). Jika data sidik ragam memperlihatkan pengaruh berbeda nyata maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT). Selanjutnya untuk mengetahui hubungan atau regresi antara perlakuan dilakukan uji polynomial orthogonal.

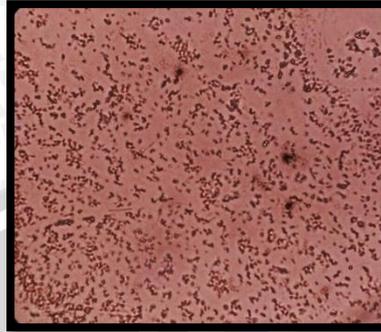
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi Bakteri *P. fluorescens*

Identifikasi bakteri dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *P. fluorescens*. Pada penelitian ini metode yang digunakan untuk identifikasi bakteri adalah dengan pewarnaan gram. Menurut Kismiyati, Subekti, Wahid dan Kusdarwati (2009), identifikasi bakteri meliputi pemeriksaan morfologi, pewarnaan gram, dan uji biokimia antara lain adalah uji O/F, uji oksidase, uji katalase, uji motilitas. Identifikasi bakteri dilakukan dalam beberapa uji antara lain pengamatan morfologi koloni bakteri. Pengamatan morfologi koloni bakteri dilakukan setelah mendapatkan biakan murni meliputi warna, bentuk, tepian koloni, permukaan koloni, dan struktur dalam koloni, kemudian pewarnaan gram bertujuan untuk menentukan apakah bakteri tersebut dikelompokkan bakteri gram positif atau gram negatif dengan cara suspensikan bakteri dengan ose lalu diletakkan pada objek dan difiksasi, ditetesi dengan larutan gram A yang mengandung Kristal violet, kemudian tetesi dengan larutan gram B yang mengandung lugol, tetesi dengan larutan gram C yang mengandung alkohol dan yang terakhir tetesi dengan larutan gram D yang mengandung safranin.

Menurut Pratita dan Putra (2012), pada pewarnaan gram reagen yang digunakan ada 4 jenis yaitu Kristal violet, iodin, alkohol dan safranin. Bakteri gram positif akan mempertahankan warna ungu dan Kristal violet sehingga ketika diamati dengan mikroskop akan menunjukkan warna ungu, sedangkan bakteri gram negatif tidak dapat mempertahankan warna ungu dari kristal violet tetapi zat warna safranin dapat terserap pada dinding sel sehingga pada saat dilihat menggunakan mikroskop akan memperlihatkan warna merah. Hasil pewarnaan

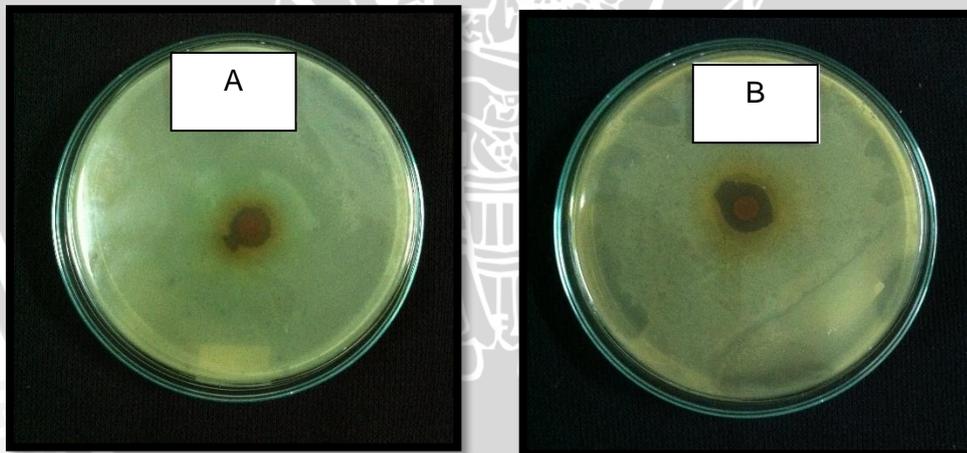
gram didapat bahwa bakteri *P. fluorescens* adalah bakteri gram negatif yang disajikan pada Gambar 4 dan hasil uji biokimia disajikan pada Lampiran 5.

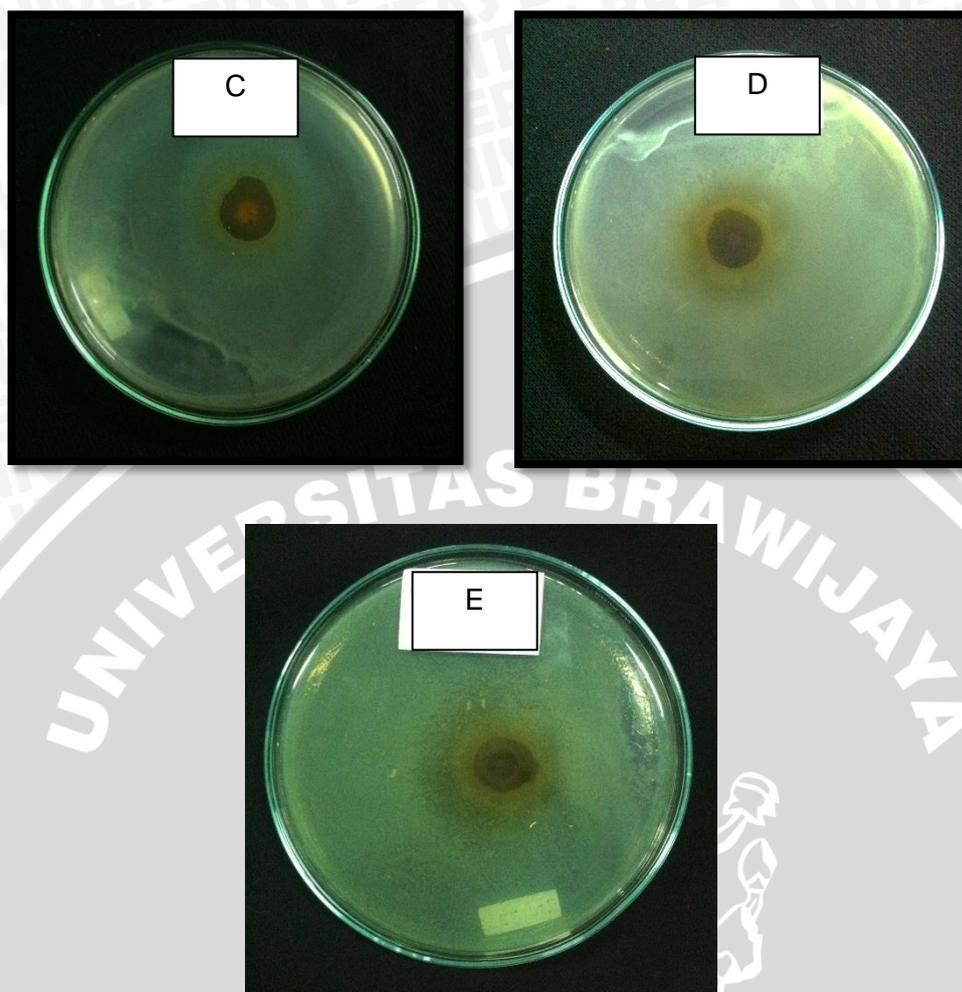


Gambar 4. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri *P. fluorescens* dengan perbesaran 10x

4.2 Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Meniran (*P. niruri*) Terhadap Bakteri *P. fluorescens* secara *In Vitro*

Berdasarkan hasil penelitian mengenai uji sensitivitas ekstrak kasar daun meniran (*P. niruri*) terhadap pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro* di dapat dokumentasi zona hambat yang disajikan pada Gambar 5.





Keterangan :

Perlakuan A Dosis 10 ppt

Perlakuan B Dosis 20 ppt

Perlakuan C Dosis 30 ppt

Perlakuan D Dosis 40 ppt

Perlakuan E Dosis 50 ppt

Gambar 5. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Meniran (*P. niruri*) terhadap bakteri *P. fluorescens*.

Pada penelitian diperoleh hasil uji sensitivitas bakteri *P. fluorescens* yaitu tidak adanya pertumbuhan bakteri tersebut disekeliling kertas cakram yang sebelumnya telah direndam dengan ekstrak daun meniran pada dosis yang

berbeda – beda. Diameter pada zona hambat dipengaruhi oleh dosis yang diberikan pada tiap perlakuan. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka zona hambat yang dihasilkan semakin besar, semakin rendah dosis yang diberikan maka diameter zona hambat semakin kecil, namun pada dosis tertinggi pada perlakuan E sebesar 50 ppt terjadi penurunan besarnya zona hambat. Menurut Darwis, Romauli dan Kasrina (2013), penurunan daya hambat bakteri dimungkinkan karena adanya perbedaan kecepatan difusi ekstrak. Dosis tinggi dapat menyebabkan kemampuan difusi zat antibakteri rendah karena dosis ekstrak terlalu pekat, hal ini menyebabkan ekstrak sulit berdifusi secara maksimal ke dalam media yang mengandung bakteri.

Pada Gambar 5 menjelaskan bahwa perlakuan D dengan dosis sebesar 40 ppt merupakan hasil tertinggi sedangkan perlakuan A dengan dosis sebesar 10 ppt merupakan hasil terendah. Hal tersebut dipengaruhi oleh jumlah dari bahan aktif pada ekstrak yang meresap ke dalam kertas cakram.

Kemudian menurut Davis dan Stout (1971), klasifikasi respon daya hambat disajikan pada Tabel 4 berikut ini.

Tabel 4. Klasifikasi Respon Daya Hambat

Diameter Zona Bening	Respon Hambatan Pertumbuhan
< 5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
>10-20 mm	Kuat
>20-30 mm	Sangat Kuat

Berdasarkan Tabel 4 di atas bahwa respon daya hambat ekstrak kasar daun meniran terhadap bakteri *P. fluorescens* dengan dosis yang berbeda – beda didapat hasil rata – rata pengukuran diameter zona hambat semua perlakuan termasuk ke dalam kategori sedang karena memiliki diameter terkecil sebesar 5,44 mm pada perlakuan A (10 ppt) dan diameter terbesar pada perlakuan D (20 ppt)

sebesar 7,54 mm. Hasil perhitungan rata – rata zona bening pada masing – masing dosis yang berbeda dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Rata – Rata Zona Hambat Bakteri *P. fluorescens*

Perlakuan	Ulangan (mm)			Total	Rerata	±SD
	1	2	3			
A	5,31	5,91	5,11	16,33	5,44	0,42
B	7,30	6,77	6,42	20,49	6,83	0,44
C	6,93	6,89	7,52	21,34	7,11	0,35
D	7,08	7,68	7,87	22,63	7,54	0,41
E	7,93	7,24	7,32	22,49	7,50	0,38
Jumlah				103,28		

Pada Tabel 5 dapat dilihat bahwa perlakuan dengan dosis tertinggi terjadi penurunan nilai rata – rata zona hambat yaitu pada perlakuan E dengan nilai sebesar 7,50 mm. Berbeda 0,04 dari diameter terbesar atau pada perlakuan D. Kemudian untuk mengetahui pengaruh perbedaan perlakuan ekstrak kasar daun meniran terhadap zona hambat maka dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 6 dan perhitungan lengkapnya pada Lampiran 3.

Tabel 6. Sidik Ragam Zona Hambat Bakteri *P. fluorescens*

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	8,82	2,21	13,67**	3,48	5,99
Acak	10	1,61	0,16			
Total	14	10,44				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata

Pada Tabel 6 didapatkan hasil bahwa uji sensitivitas ekstrak kasar daun meniran terhadap bakteri *P. fluorescens* berbeda sangat nyata. Hal ini dikarenakan nilai F. hitung lebih besar daripada nilai F 5% dan F 1%. Maka H_0 ditolak yang berarti perlakuan tersebut berbeda sangat nyata, bahwa penggunaan ekstrak kasar daun meniran terhadap dosis yang berbeda – beda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*. Komponen dari meniran yang bersifat imunomodulator adalah senyawa flavonoid yang

mampu meningkatkan sistem imun (kekebalan tubuh) sehingga dapat menangkal serangan virus, bakteri atau mikroba lainnya (Sudewo, 2012) dan menurut Sudarno, Setiorini dan Suprpto, (2011), daun meniran dapat digunakan sebagai antibakteri karena pada meniran mengandung bahan-bahan antibakteri seperti flavonoid, fenol, tannin dan alkaloid. Flavonoid bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak dinding sel dan membran sitoplasma, selain itu juga dapat mencegah pembelahan bakteri sehingga bakteri tidak dapat berkembangbiak. Pada senyawa fenol dapat menyebabkan denaturasi protein kemudian Tannin dapat membunuh pertumbuhan bakteri karena menyebabkan membrane sel bakteri mengkerutkan membran sitoplasma yang menyebabkan perubahan permeabilitas dan Alkanoid bekerja sebagai antibakteri dengan cara merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh (Heyne, 1987 *dalam* Sudarno *et. al* 2011).

Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang disajikan pada Tabel 7 berikut ini dan perhitungan lengkapnya pada Lampiran 3.

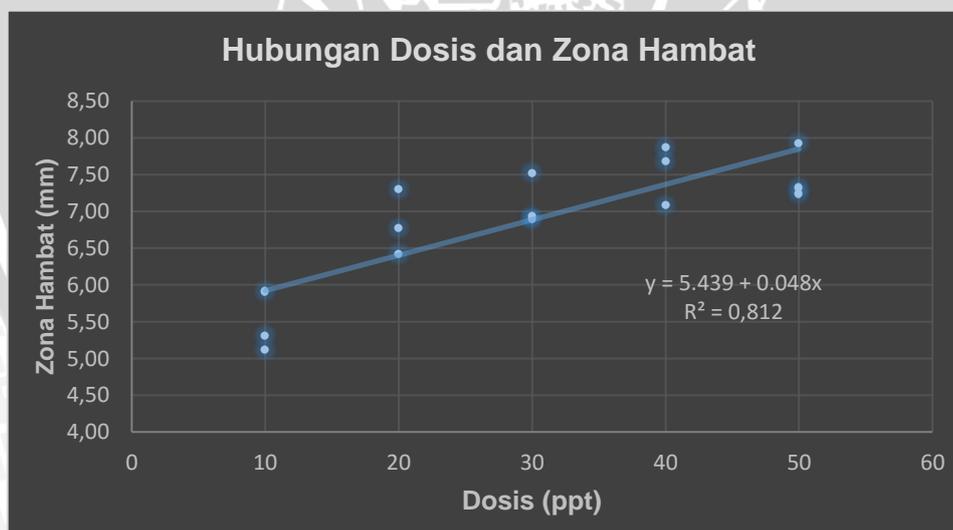
Tabel 7. Uji BNT Ekstrak Kasar Daun Meniran (*P. niruri*) terhadap Bakteri *P. fluorescens*

Perlakuan	Rerata	A	B	C	E	D	Notasi
		5,44	6,83	7,11	7,50	7,54	
A	5,44	-	-	-	-	-	a
B	6,83	1,3867**	-	-	-	-	b
C	7,11	1,6700**	0,2833 ^{ns}	-	-	-	b
E	7,50	2,0533**	0,6667 ^{ns}	0,3833 ^{ns}	-	-	b
D	7,54	2,1000**	0,7133 ^{ns}	0,4300 ^{ns}	0,0467 ^{ns}	-	b

Keterangan :

- (^{ns}) : Tidak berbeda nyata
- (*) : Berbeda nyata
- (**) : Berbeda sangat nyata

Pada Tabel 7 didapat bahwa perlakuan A (10 ppt) tidak berbeda nyata terhadap semua perlakuan dan oleh karena itu perlakuan A diberi notasi a. Sedangkan perlakuan B (20 ppt), C (30 ppt), D (40 ppt) dan E (50 ppt) masing-masing memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A, namun tidak memiliki pengaruh yang berbeda terhadap masing – masing perlakuan, maka diberi notasi yang sama yaitu b. Dari data di atas terlihat bahwa perlakuan D (40 ppt) merupakan dosis terbaik dan efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*. Akan tetapi perlakuan B (20 ppt) telah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* sedangkan pada dosis 50 ppt yaitu pada perlakuan E terjadi penurunan nilai diameter. Untuk mengetahui bentuk hubungan regresi antar perlakuan dengan zona hambat maka perlu dilakukan uji polinomial orthogonal. Hasil perhitungan uji polinomial orthogonal berupa grafik yang disajikan pada Gambar 6 berikut ini dan perhitungan dari uji tersebut disajikan pada Lampiran 3.



Gambar 6. Grafik Hubungan Zona Hambat antar Perlakuan Ekstrak Kasar Daun Meniran (*P. niruri*) Terhadap Bakteri *P. fluorescens*

Berdasarkan Gambar 6 grafik hubungan zona hambat antar perlakuan ekstrak kasar daun meniran terhadap bakteri *P. fluorescens* menunjukkan perpotongan garis secara linier dengan persamaan $y = 5,439 + 0,048x$ dan nilai

koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,812. Hasil penelitian mengenai uji sensitivitas ekstrak kasar daun meniran terhadap bakteri *P. fluorescens* menghasilkan sifat bakterisidal pada bakteri *P. fluorescens*. Hal ini diketahui setelah proses inkubasi selama 48 jam terlihat bahwa zona hambat sebagian besar mengalami peningkatan. Menurut Makfoeld, Marseno dan Hastuti (2002), bakterisidal atau bactericidal adalah suatu zat yang dapat membunuh bakteri. Berikut adalah data rata-rata diameter dari hasil proses inkubasi pada 24 jam dan 48 jam yang disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Data Rata-rata Diameter Inkubasi Pada 24 Jam dan 48 Jam

No.	Perlakuan	Rata – Rata (mm)	
		24 Jam	48 Jam
1.	A (10 ppt)	5,28	5,44
2.	B (20 ppt)	6,28	6,83
3.	C (30 ppt)	6,73	7,11
4.	D (40 ppt)	7,36	7,54
5.	E (50 ppt)	7,52	7,50

4.3 Suhu Inkubator Selama inkubasi Bakteri *P. fluorescens*

Pada penelitian ini parameter penunjang yang digunakan adalah suhu inkubasi. Suhu pada inkubator menjadi faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Menurut Arwiyanto *et. al.* (2007), *P. fluorescens* memerlukan oksigen untuk tumbuh (aerob). Semua isolat *P. fluorescens* dapat tumbuh pada kisaran suhu 20 – 41 °C dengan pertumbuhan terbaik pada suhu 30 °C.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian uji sensitivitas ekstrak kasar daun meniran terhadap *P. fluorescens* secara *In Vitro* diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak kasar daun meniran memberikan pengaruh terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* didapat hasil terbaik pada dosis 40 ppt yaitu pada perlakuan D. Dari hasil uji BNT diketahui bahwa dosis optimal ekstrak kasar meniran untuk menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* berkisar antara 20 – 40 ppt. Dikarenakan pada dosis 10 ppt tidak memberikan pengaruh nyata (tidak berbeda nyata) dan pada dosis 50 ppt terjadi penurunan diameter zona hambat.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian uji sensitivitas ekstrak kasar daun meniran terhadap *P. fluorescens* disarankan untuk menggunakan dosis yang berada pada kisaran 20 – 40 ppt karena pada dosis tersebut ekstrak kasar daun meniran mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, Eddy., E. Liviawaty., Z. Jamaris dan Hendi. 2015. Penyakit Ikan. Penebar Swadaya : Jakarta. 218 hlm
- Arwiyanto, T., Y.M.S Maryudani dan N. Azizah. 2007. Sifat –Sifat Fenotipik *Psbeuodomonas fluorescens*, Agenzia Pengendalian Hayati Penyakit Lincih Pada Tembakau Temanggung. *Biodiversitas*. **8** (2) : 147 – 151.
- Asara, G.A., K. Bugyei., A. Sittie., E.S. Yahaya., B. Gyan., S. Adjie., P. Addo., E.K. Wiredu., D.N. Adjie and A.K. Nyarko. 2012. Genotoxicity, cytotoxicity and toxicological evaluation of whole plant extracts of the medicinal plant *Phyllanthus niruri* (Phyllanthaceae). *Genetics and Molecular Research*. **11** (1) : 100-111
- Atmodjo, J. 2011. Jenis Metode Penelitian. Universitas Mercubuana : Jakarta. 19 hlm.
- Cahyono, B. 2001. Budidaya Ikan di Perairan Umum. Kanisiun: Yogyakarta. 93 hlm.
- Darwis, W., M. Romauli dan Kasrina. 2013. Uji Efektivitas Daun Iler-iler *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Konservasi Hayati*. **9** (2) : 55-59.
- Davis, W. W dan T. R. Stout. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. America Society for Microbiology. **22** (4) : 659-665.
- Ghufran, M dan K. Kordin. 2004. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. Rineka Cipta : Jakarta.190 hlm.
- Harmita dan M. Radji. 2006. Buku Ajar Analisa Hayati Edisi 3. Penerbit Buku Kedokteran EGC : Jakarta. 41 hlm.
- Iskandar, E. 2007. Sistem Pakar Untuk Diagnose Penyakit ISPA Menggunakan Metode Faktor Kepastian. *Jurnal ilmiah STMIK GI MDP*. **3** (1) : 9-16.
- Kardinan, A dan F. Kusuma. 2004. Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami. Agro Media Pustaka : Depok. 60 hlm.
- Kartasapoetra, G. 1992. Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat. Rineka Cipta : Jakarta. 84 hlm.
- Kismiyati, S., R. W. N. Subekti., R. Yusuf dan Kusdarwati. 2009. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Gram Negatif Pada Luka Ikan Maskoki (*Carassius auratus*) Akibat Infestasi Ektoparasit *Argulus* Sp. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **1** (2) : 129 – 34.
- Lesmana, D.S. 2003. Mencegah dan Menanggulagi Penyakit Ikan Hias. Penebar Swadaya. Jakarta. Hlm 80.

- Makfoeld, D., D. Marseno dan Hastuti, P. 2002. Kamus Istilah Pangan dan Nutrisi. Kanisius : Yogyakarta. 389 hlm.
- Mulyadi, Moh., Wuryanti dan P. Ria. 2013. Dosis Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-alang (*Imperata cylindrica*) Dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. **1** (1) : 35-42
- Reksono, B., P. Hamdani dan Yuniarti. 2012. Pengaruh Padat Tebar *Grracilaria* sp. Terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) Pada Budidaya Sistem Polikultur. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **3** (3) : 41-49.
- Permadi, Adi. 2008. Membuat Kebun Tanaman Obat. Pustaka Bunda : Jakarta. 128 hlm.
- Prajitno, A. 2005. Diktat Parasit dan Penyakit Ikan. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya : Malang. 105 hlm.
- Pratita, M. Y dan S. R. Putra. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Mata Air Panas di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi. *Jurnal Teknik Pomits*. **1** (1) : 1-5.
- Ratnawati, A., P. Uni dan Kurniasih. 2013. Hispatologis Dengan *Edwardsiella tarda* Sebagai Penyebab Kematian Ikan Mas koki (*Crassius auratus*): Postulat Koch. *Jurnal Sain Veteriner*. **31** (1) : 55-65
- Sastrosupadi, A. 2002. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Penerbit Kanisius : Yogyakarta. 276 hlm.
- Siegrist, J. 2010. Pseudomonas a Communicative Bacteria. *Microbiology Focus*. **2** (4) : 1-8.
- Soenanto, Hardi. 2009. Resep Sembuhkan Hipertensi, Asam Urat dan Obesitas. PT. Gramedia : Jakarta. 161 hlm.
- Sudarno., F. Setiorini dan Suprpto. 2011. Efektifitas Ekstrak Tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri*) Sebagai Antibakteri *Edwardsiella tarda* Secara *In Vitro*.
- Sudewo, B. 2012. Basmi Kanker Dengan Herbal. Visi media : Jakarta. 107 hlm.
- Sugito, Yogi. 2009. Metodologi Penelitian Metode Percobaan dan Penulisan Karya Ilmiah. UB Press : Malang. 175 hlm.
- Sumino., A. Supriyadi dan Wardiyanto. 2013. Infeksi *Aeromonas salmonicida* Pada Ikan Patin (*Pangasioniodon hypophthalmus*). *Jurnal Sain Veteriner*. **31**(1) : 79-88.
- Susanto, H. 1990. Budidaya Ikan di Pekarangan. Penebar Swadaya : Jakarta. 151 hlm.

Susanto, K dan R. Widayati. 2002. Memelihara Ikan. Penebar Swadaya : Jakarta. 82 hlm.

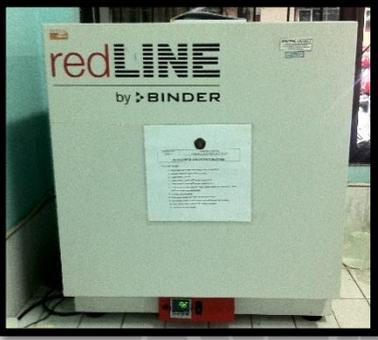
Thomas. 1992. Tanaman Obat Tradisional. Kanisius : Yogyakarta : 123 hlm.

Utami, P. 2003. Tanaman Obat Untuk Mengatasi Rematik. PT. Agromedia Pustaka Redaksi Pesona : Depok. 85 hlm.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat – Alat Penelitian

No.	Gambar Alat	Nama Alat
1.		<p>Rotary Evaporator</p>
2.		<p>Inkubator</p>
3.		<p>Oven</p>
4.		<p>Autoclave untuk destruksi</p>

Lampiran 1. (Lanjutan)

<p>5.</p>		<p>Autoclave untuk alat dan bahan</p>
<p>6.</p>		<p>Rak tabung reaksi</p>
<p>7.</p>		<p>Toples kaca</p>
<p>8.</p>		<p>Erlemeyer</p>

Lampiran 1. (Lanjutan)

<p>9.</p>		<p>Gelas ukur</p>
<p>10.</p>		<p>Cawan petri</p>
<p>11.</p>		<p>Corong</p>
<p>12.</p>		<p>Bunsen</p>
<p>13.</p>		<p>Botol film</p>

Lampiran 1. (Lanjutan)

<p>14.</p>		<p>Blue tip dan Beaker glass</p>
<p>15.</p>		<p>Jarum osse</p>
<p>16.</p>		<p>Mikro pipet</p>
<p>17.</p>		<p>Hotplate</p>
<p>18.</p>		<p>Jangka sorong</p>

Lampiran 1. (Lanjutan)

19.		Timbangan
20.		Lemari pendingin



Lampiran 2. Bahan-Bahan Penelitian

No	Gambar Bahan	Nama Bahan
1.		Ekstrak Daun Meniran
2.		Isolat murni bakteri <i>P. flurorecens</i>
3.		PSA (<i>Pseudomonas Selective Agar</i>)
4.		Aquadess

Lampiran 2. (Lanjutan)

<p>5.</p>		<p>Spiritus</p>
<p>6.</p>		<p>Alkohol 70 %</p>
<p>7.</p>		<p>Ethanol 96 %</p>
<p>8.</p>		<p>Tali</p>

9.		Tali dan Plastik
10		TSB (Tryptitone Soy Broth)



Lampiran 3. Analisis Data Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Meniran (*P. niruri*) terhadap Diameter Hambatan (mm) Bakteri *P. fluorescens* Secara *In Vitro*

- Data Rata – rata Diameter Hambatan (mm) Bakteri *P. fluorescens*

Perlakuan	Diameter (mikron)			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A	5,31	5,91	5,11	16,33	5,44	0,42
B	7,30	6,77	6,42	20,49	6,83	0,44
C	6,93	6,89	7,52	21,34	7,11	0,35
D	7,08	7,68	7,87	22,63	7,54	0,41
E	7,93	7,24	7,32	22,49	7,50	0,38
	Jumlah			103,28		

Perhitungan :

1. JK

FK	711,12
JK Total	10,44
JK Perlakuan	8,82
JK Acak	1,61

a) Faktor Koreksi (FK)

$$= \frac{G^2}{N}$$

$$= \frac{103,28^2}{15}$$

$$= 711,12$$

b) Jumlah Kuadrat (Total)

$$= \sum x_{ij}^2 - FK$$

$$= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + E3^2) - FK$$

$$= (5,31^2 + 5,91^2 + 5,11^2 + \dots + 7,32^2) - 711,12$$

$$= (28,19 + 34,92 + 26,11 + \dots + 53,58) - 711,12$$

$$= 721,554 - 711,12$$

$$= 10,44$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

c) Jumlah Kuadrat (Perlakuan)

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\sum(\sum X_i)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2 + TE^2}{r} - FK \\
 &= \frac{16.33^2 + 20.49^2 + 21.34^2 + 22.63^2 + 22.49^2}{3} - 711,12 \\
 &= 8,82
 \end{aligned}$$

d) JK Galat

$$\begin{aligned}
 &= JK \text{ Perlakuan} - JK \text{ Total} \\
 &= 10,44 - 8,82 = 1,62
 \end{aligned}$$

e) db Total

$$\begin{aligned}
 &= (n \times r) - 1 \\
 &= (5 \times 3) - 1 = 14
 \end{aligned}$$

f) db Perlakuan

$$\begin{aligned}
 &= n - 1 \\
 &= 5 - 1 = 4
 \end{aligned}$$

g) db Galat

$$\begin{aligned}
 &= db \text{ Total} - db \text{ Perlakuan} \\
 &= 14 - 4 = 10
 \end{aligned}$$

2. Tabel Analisa Keragaman

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	8,82	2,21	13,67**	3,48	5,99
Acak	10	1,61	0,16			
Total	14	10,44				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata

Lampiran 3. (Lanjutan)

Karena F hitung lebih besar dari F tabel maka diperoleh hasil berbeda sangat nyata. Sehingga dilanjutkan uji BNT

- Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\pi (\text{Ulangan})}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \times (0,16)}{3}} = 0,328 \end{aligned}$$

$$\text{BNT 5\%} = T \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 0,7306$$

$$\text{BNT 1\%} = T \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 1,0392$$

- Tabel Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	E	D	Notasi
		5,44	6,83	7,11	7,50	7,54	
A	5,44	-	-	-	-	-	a
B	6,83	1,3867**	-	-	-	-	b
C	7,11	1,6700**	0,2833 ^{ns}	-	-	-	b
E	7,50	2,0533**	0,6667 ^{ns}	0,3833 ^{ns}	-	-	b
D	7,54	2,1000**	0,7133 ^{ns}	0,4300 ^{ns}	0,0467 ^{ns}	-	b

Keterangan :

- ns : Tidak berbeda nyata
 (*) : Berbeda nyata
 (**) : Berbeda sangat nyata

Urutan perlakuan terbaik dari uji BNT adalah D, E, C, B – A.

- Tabel Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total (T _i)	Pembanding (C _i)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A	16.33	-2	2	-1	1
B	20.49	-1	-1	2	-4
C	21.34	0	-2	0	6
D	22.63	1	-1	-2	-4
E	22.49	2	2	1	1

Lampiran 3. (Lanjutan)

$Q = \sum C_i \times T_i$		14.46	-8.16	1.88	-5.62
$Kr = (\sum C_i^2) \times r$	-	30	42	30	210
JK Regresi = Q^2/Kr	-	6.9697	1.5854	0.1178	0.1504

• Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	4	8,8233	2,2058			
- Linier	1	6,9697	6,9697	43,21**		
- Kuadratik	1	1,5854	1,5854	9,83*		
- Kubik	1	0,1178	0,1178	0,73 ^{ns}	4,96	10,04
- Kuartik	1	0,1504	0,1504	0,93 ^{ns}		
2. Acak	10	1,6131	0,1613			
Total	14					

ns : Tidak berbeda sangat nyata

** : Berbeda sangat nyata

* : Berbeda nyata

Karena regresi linier memiliki perbedaan sangat nyata, maka kurva pada penelitian ini berupa kurva linier. Maka disusunlah kurva linier dengan persamaan $y = b_0 + b_1 \cdot X$

X	Y	X.Y	X ²
10	5,31	53,10	100
10	5,91	59,10	100
10	5,11	51,10	100
20	7,30	146,00	400
20	6,77	135,40	400
20	6,42	128,40	400
30	6,93	207,90	900
30	6,89	206,70	900
30	7,52	225,60	900
40	7,08	283,20	1600
40	7,68	307,20	1600
40	7,87	314,80	1600
50	7,93	396,50	2500
50	7,24	362,00	2500
50	7,32	366,00	2500
Σx	Σy	Σxy	Σx^2
450	103,28	3243	16500



Lampiran 3. (Lanjutan)

rerataX	rerata Y
30	6,89

$$b_i = \frac{S_{xy} - ((S_x \cdot S_y)/n)}{S_x^2 - ((S_x)^2/n)}$$

$$= \frac{72,3}{750}$$

$$= 0,048$$

$$b_o = \text{Rerata Y} - (b_i \cdot \text{Rerata X})$$

$$= 6,89 - (0,048 \cdot 30)$$

$$= 5,439$$

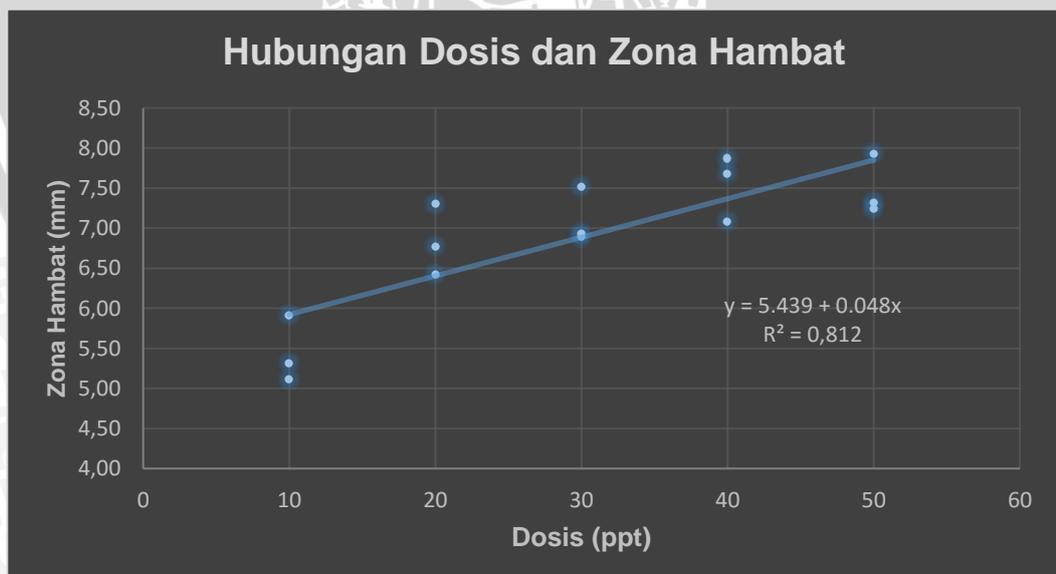
$$\text{Persamaan linier } y = b_o + b_i \cdot x \longrightarrow 5,439 + 0,048x$$

$$R^2 = \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK Linier} + \text{JK acak}}$$

$$= \frac{6,9697}{6,9697 + 1,6131}$$

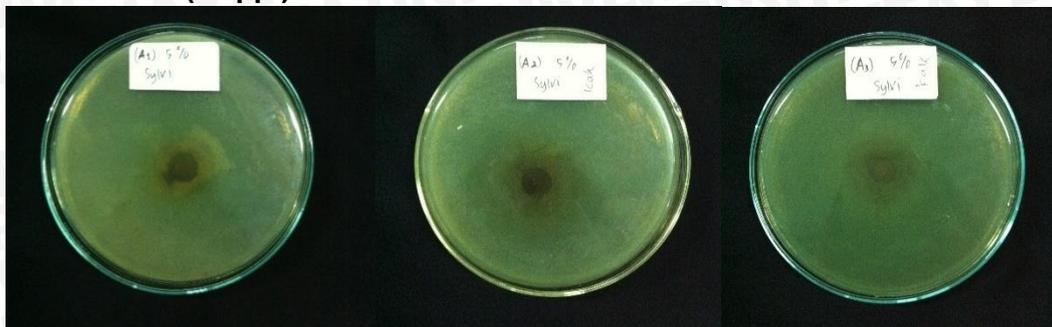
$$= 0,8120$$

- Grafik Uji Sensitivitas Ekstrak Kasar Daun Meniran (*P. niruri*) Terhadap Bakteri *P. fluorescens* Secara *In Vitro*



Lampiran 4. Hasil Uji Cakram Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Meniran (*P. niruri*) Terhadap Bakteri *P. fluorescens*

Perlakuan A (10 ppt)

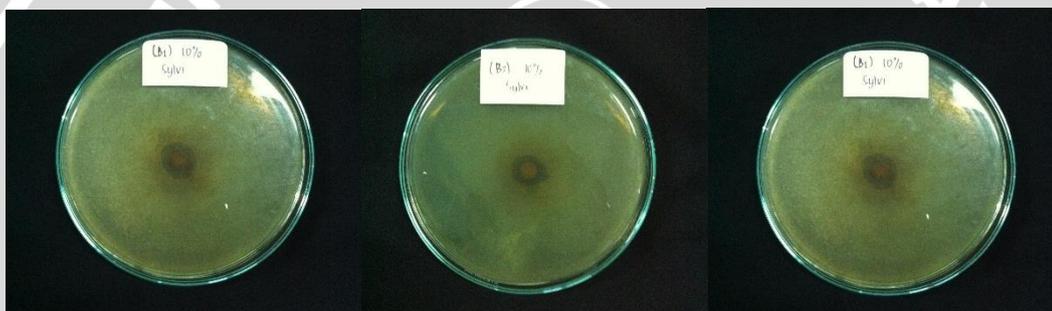


A1

A2

A3

Perlakuan B (20 ppt)

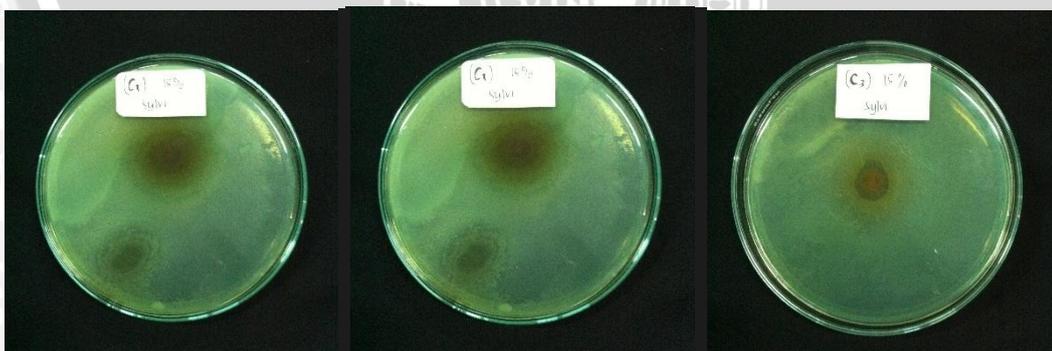


B1

B2

B3

Perlakuan C (30 ppt)



C1

C2

C3

Lampiran 4. (Lanjutan)

Perlakuan D (40 ppt)

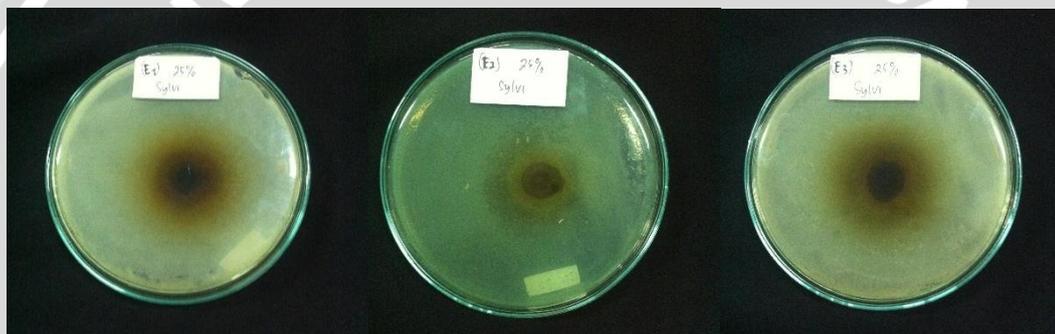


D1

D2

D3

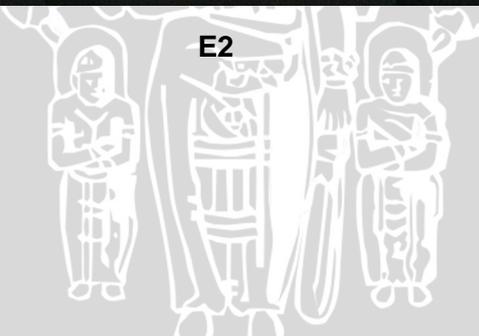
Perlakuan E (50 ppt)



E1

E2

E3



Lampiran 5. Hasil Uji Biokimia Bakteri *P. fluorescens*



KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN
 DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA
 BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA AIR PAYAU
 LABORATORIUM UJI BBPBAP JEPARA
 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° C	+

Lab. Mikrobiologi BBPBAP Jepara

Perveina

 Sri Murti Astuti, SP.

