PENGARUH EKSTRAK KASAR DAUN KELOR *(Moringa oleifera)* TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA IN VITRO

SKRIPSI

PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

OLEH :

TIARA NUR FADLIA

125080501111056

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

PENGARUH EKSTRAK KASAR DAUN KELOR *(Moringa oleifera)* TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas hydrophila* 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 :
TIARA NUR FADLIA

125080501111056

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016

SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK KASAR DAUN KELOR *(Moringa oleifera)* TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA *IN VITRO*

Oleh:
TIARA NUR FADLIA
NIM. 125080501111056

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 29 Juli 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
Tanggal :

Menyetujui,
Dosen Penguji

Ir. Ellana Sanoesi, MP
NIP. 19630924 199803 1 002
Tanggal : 16 AUG 2016

Dosen Pembimbing I

Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS.
NIP. 19611106 198602 2 001
Tanggal : 16 AUG 2016

Dosen Pembimbing II

Ir. Heny Suprastyani, MS.
NIP. 19620904 198701 2 001
Tanggal : 16 AUG 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS.
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal : 16 AUG 2016

PERNYATAAN ORISINILITAS

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

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakkan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 29 Juli 2016

Mahasiswa

TIARA NUR FADLIA

NIM.125080501111056

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT karena atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi dengan judul "Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Kelor *(Moringa oleifera)* Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*". Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

Penulis menyadari di dalam penulisan masih banyak terdapat kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi kemajuan bersama dan semoga laporan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 29 Juli 2016

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

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

- Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkah dan limpahan rahmat-Nya laporan ini dapat terselesaikan dengan tepat waktu.
- Keluargaku tercinta: Yusuf Shoderun (Bapak), Juhriyah (Mama), Siti Nur Asiyah Jamil (Ummy), Shoderun (Mbah Kakung), Sangadiyah (Mbah Uti), Ikvina Rukhil Amani (Adik Ikvi) dan Agni Wafiatul Khidqia (Adik Ani) yang telah memberikan doa, motivasi, dan dukungan materiil selama ini.
- Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS dan Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan masukan selama pelaksanaan dan penyusunan laporan.
- Ir. Ellana Sanoesi MP, selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan masukan berupa kritik dan saran yang membangun agar penelitian ini menjadi lebih baik.
- Ibu Titin selaku laboran Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan yang senantiasa selalu memberikan bantuan dengan ikhlas serta arahan dan saran kepada penulis selama kegiatan penelitian berlangsung.
- Teman – teman Mustawafika Irini, Ismaila Kuswandini, Siti Purnamawati, Intan Permatasari, Ananda Hayyu Nurani, Githa Mardhiyah, Lamria Habeahan, Endar Riyani, Ro'i Fahreza, Livia Sari Milala, Anisa El Kamelia dan Riski Mardhatillah Fitri yang telah banyak mendukung dan memberi banyak saran dalam penyusunan skripsi ini.
- Teman – teman Aquasean BP 2012 yang namanya tidak dapat disebutkan satu persatu yang memberikan motivasi penuh bagi penulis.

Penulis menyadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, laporan skripsi ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu penulis memohon maaf apabila terdapat kesalahan dalam penyusunan laporan ini serta mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi pembaca.

Malang, 29 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

PERNYATAAN ORISINALITAS ii
UCAPAN TERIMA KASIH iii
DAFTAR ISI v
DAFTAR GAMBAR vi
DAFTAR TABEL vi
DAFTAR LAMPIRAN ix
1. PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Kerangka Pemikiran 3
1.3 Tujuan Penelitian 4
1.4 Hipotesis 5
1.5 Kegunaan Penelitian 5
1.6 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian 5
2. TINJAUAN PUSTAKA 6
2.1 Biologi Daun Kelor *(Moringa oleifera)* 6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Daun Kelor *(M. oleifera)* 6
2.1.2 Habitat dan Penyebaran Kelor *(M.oleifera)* 7
2.1.3 Komponen Kimia Daun Kelor (*M. oleifera)* 8
2.1.4 Manfaat Daun Kelor 9
2.2 Biologi Bakteri *Aeromonas hydrophila* 10
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri *A. hydrophila* 10
2.2.2 Habitat dan Penyebaran Bakteri *A. hydrophila* 11
2.3 Ekstraksi 12
2.4 Uji MIC *(Minimum inhibitory concentration)* 13
2.5 Uji Cakram 13
2.6 Antibakteri 14
3. METODE PENELITIAN 15
3.1 Waktu dan Tempat 15
3.2 Alat dan Bahan 15
3.3 Rancangan Penelitian 16
3.4 Prosedur Penelitian 18
3.4.1 Persiapan Penelitian 18
3.4.1.1 Pembuatan ekstrak daun kelor *(M.oleifera)* 18
3.4.1.2 Sterilisasi alat dan bahan 20

3.4.1.3 Pembuatan media TSA *(Tryptic soy agar)* 21
3.4.1.4 Pembuatan media NB *(Nutrien broth)*.....21
3.4.1.5 Pembuatan media agar untuk uji cakram.....22
3.4.1.1 Pembuatan media MHB (*Mueller Hinton Broth*) 22
3.4.1.1 Peremajaan bakteri *A. hydrophila*.....23
3.4.1.1 Kultur bakteri *A. hydrophila*.....23
3.4.1.1 pembuatan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^7 23
3.4.2 Uji Aktivitas Antibakteri.....24
3.4.1.1 Uji MIC *(minimum inhibitory concentration)*.....24
3.4.1.1 Uji Cakram.....27
3.4 Parameter Uji.....28
3.4.2 Parameter utama 28
3.4.2 parameter penunjang 28
3.4 Analisis Data.....28
4. HASIL DAN PEMBAHASAN 29
4.1 Uji MIC *(Minimum inhibitory concentration)* 29
4.2 Uji Cakram.....31
4.3 Parameter Penunjang.....37
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....38
5.1 Kesimpulan.....38
5.2 Saran.....38
DAFTAR PUSTAKA.....39
LAMPIRAN 41

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

1. Pohon, Biji, Daun dan Bunga Kelor *(M. oleifera)* 7
2. Bakteri *A. hydrophila* 11
3. Denah Rancangan Penelitian.....18
4. Hasil Uji MIC *(Minimum inhibitory concentration)* 30
5. Hasil Uji Cakram 32
6. Hubungan Pengaruh Dosis Ekstrak Kasar Daun Kelor *(M. oleifera)* Terhadap Diameter Zona Bening 35

DAFTAR TABEL

1. Alat yang digunakan dalam Penelitian.....15
2. Bahan yang digunakan dalam Penelitian 16
3. Standar Mc. Farland.....24
4. Skala Log pada perlakuan dosis ekstrak kasar yang berbeda beda.....26
5. Hasil Pengamatan Uji MIC *(Minimum inhibitory concentration)* 29
6. Hasil Pengamatan Zona Bening.....33
7. Analisa Sidik Ragam.....33
6. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) 34

DAFTAR LAMPIRAN

1 Alat – alat Penelitian 42
2. Bahan – bahan Penelitian 46
3. Proses Permbuatan Ekstrak Daun Kelor *(M. oleifera)* 47
4. Skema Kerja Uji MIC *(Minimum inhibiting concentration)* 48
5. Skema Kerja Uji Cakram 49
6. Perhitungan Statistik Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Daun Kelor *(M. oleifera)* 50

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sektor perikanan telah mengalami kemajuan yang pesat sehingga diharapkan menjadi salah satu sektor tumpuan ekonomi nasional di masa yang akan datang. Hal ini dikarenakan masyarakat Indonesia dan juga dunia telah menganggap ikan telah menjadi salah satu komoditas penting. Konsumsi ikan masyarakat global mengalami peningkatan yang disebabkan oleh: a) meningkatnya jumlah penduduk serta pendapatan masyarakat dunia; b) meningkatnya popularitas makanan sehat sehingga terjadi perubahan pola konsumsi daging dari pola *red meat* ke *white meat*; c) adanya globalisasi sehingga menuntut makanan yang bersifat universal; dan d) ada banyak hewan yang merupakan sumber protein hewani selain ikan yang terjangkit penyakit sehingga ikan menjadi pilihan alternatif terbaik (Adam, 2012).

Budidaya merupakan salah satu cara untuk meningkatkan kuantitas produksi sumberdaya ikan yang efisien baik secara ekonomi maupun biologi, namun wabah dan penyakit menjadi kendala utama yang dapat membatasi hasil produksi (Dias *et al.,* 2016). Dalam rangka menjamin produksi sektor perikanan agar sesuai dengan target yang ditetapkan, perlu adanya cara untuk mengatasi wabah dan penyakit. Pada dasarnya serangan wabah penyakit terjadi karena tidak seimbangnya interaksi antara ikan, lingkungan yang tidak mendukung dan berkembangnya organisme patogen (Kordi, 2004).

Bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah bakteri patogen oportunistik yang menginfeksi berbagai jenis ikan air tawar diantaranya *Catfish*, *Cyprinidae*, *Cichlidae, Rainbow trout*, *Salmonidae,* katak, siput dan udang. Bakteri *A. hydrophila* tergolong pada kelompok bakteri dengan tingkat virulensi tinggi. Ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* umumnya mengalami gejala berupa

pendarahan yang luas dibagian permukaan kulit (*Haemorrhagic septicemia*) yang kemudian diikuti dengan luka terbuka *(ulcer)* dibagian tubuh hingga jaringan. Selain itu, pada beberapa jenis ikan dapat menyebabkan gejala klinis seperti sirip ekor dan punggung rontok, pembengkakan perut berisi cairan kemudian diikuti dengan kematian (Mangunwardoyo *et al.,* 2010).

Dalam menangani serangan patogen pada ikan, para petani dan pengusaha ikan biasanya menggunakan senyawa kimia dan antibiotik. Namun, timbul masalah baru berupa meningkatnya resistensi berbagai bakteri patogen terhadap berbagai jenis antibiotik dan senyawa kimia tersebut karena kurang tepatnya konsentrasi dan dosis yang digunakan. Selain itu, penggunaan antibiotik juga di klaim berdampak buruk terhadap lingkungan budidaya dan manusia yang mengonsumsi ikan tersebut (Mulyani *et al.,* 2013). Residu antibiotik yang terdapat pada produk makanan yang berasal dari ternak dapat membahayakan bagi kesehatan manusia yang mengkonsumsinya, karena dapat menyebabkan reaksi alergi dan reaksi resistensi (Yuningsih, 2005). Oleh karena itu, perlu adanya alternatif senyawa antibakteri berasal dari alam yang ramah lingkungan, murah dan mudah didapat dalam rangka untuk menanggulangi resistensi antibiotik tersebut.

Menurut pendapat Wulandari *et al.,* (2014), Cara alternatif untuk mencegah dan mengobati penyakit adalah dengan memanfaatkan tanaman obat karena dapat meminimalisir timbulnya efek samping yang merugikan. Salah satu tanaman yang potensial sebagai antibakteri adalah kelor (*Moringa oleifera*).

Di Indonesia khususnya kawasan pedesaan tumbuhan kelor sudah dikenal secara luas, tetapi belum dimanfaatkan secara maksimal dalam kehidupan. Tanaman kelor banyak ditanam sebagai pagar hidup, ditanam di sepanjang ladang atau tepi sawah, berfungsi sebagai tanaman penghijau. Selain itu tanaman kelor juga dikenal sebagai tanaman obat berkhasiat dengan

memanfaatkan seluruh bagian dari tanaman kelor mulai dari daun, kulit batang, biji, hingga akarnya (Nugraha, 2013).

Brilhante *et al.,* (2015) menyatakan bahwa setiap bagian dari tumbuhan kelor memiliki banyak manfaat baik pada bidang industri maupun bidang medis. Banyak literatur menyebutkan kelor memiliki potensi farmakologis, salah satunya aktivitas antimikroba yang didapat dari ekstrak polong, bunga, daun, batang dan biji. Ekstrak dari polong, bunga dan daun kelor *(M. oleifera)* menunjukkan hasil aktivitas antimikroba lebih efektif dibanding dengan bagian tumbuhan kelor yang lain.

Bukar *et al.,* (2010) melaporkan bahwa bagian tanaman kelor yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri adalah daun. Pada bagian daun, kelor memiliki banyak senyawa antimikroba yang berupa saponin, tanin, alkaloid dan flavonoid yang memiliki mekanisme kerja dengan merusak membran sel bakteri.

Menurut Rohyani *et al.,* (2013) pada uji fitokimia, daun kelor diketahui mengandung menghasilkan metabolit sekunder beragam senyawa kimia berupa flavonoid, alkanoid, steroid, tanin, saponin antrakuinon, antracena dan terpenoid yang dapat berfungsi sebagai senyawa antibakteri. Berdasarkan pada informasi tersebut maka diduga ekstrak kasar daun kelor (*M. oleifera*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila.*

1.2 Kerangka Pemikiran

Sektor perikanan merupakan sektor penting yang diharapkan dapat menjadi salah satu tumpuan perekonomian nasional di masa yang akan datang (Adam, 2012). Salah satu upaya yang digunakan untuk menjamin peningkatan produksi perikanan adalah budidaya intensif. Usaha budidaya intensif dalam prakteknya, menghadapi banyak kendala yang dapat menghambat produktivitasnya salah satu kendala tersebut yaitu serangan penyakit bakterial.

Serangan penyakit ikan dapat berasal dari parasit, jamur, bakteri dan virus. Pada dasarnya serangan wabah penyakit tersebut disebabkan oleh tidak seimbangnya interaksi antara ikan, lingkungan yang tidak mendukung serta berkembangnya organisme patogen (Kordi, 2004). Untuk menangani serangan penyakit bakterial ini baik para petani ikan maupun pengusaha banyak menggunakan berbagai senyawa kimia dan antibiotik. Namun kemudian timbul permasalahan berupa resistensi bakteri terhadap antibiotik dikarenakan penggunaan dengan dosis/konsentrasi yang tidak sesuai. Selain itu, dilaporkan bahwa antibiotik yang digunakan dalam usaha perikanan dapat meninggalkan residu yang berbahaya baik pada lingkungan maupun pada kesehatan manusia yang mengkonsumsinya sehingga diperlukan adanya pengobatan alternatif berasal dari alam yang ramah lingkungan, murah, aman bagi kesehatan serta mudah didapat.

Daun kelor (*M. oleifera*) diketahui mengandung beragam senyawa kimia berupa flavonoid, alkanoid, steroid, tanin, saponin antrakuinon, antracena dan terpenoid yang merupakan senyawa antibakteri (Rohyani *et al.,* 2013). Berhubungan masalah tersebut maka didapat rumusan masalah pada penelitian ini yaitu :

- Apakah pemberian ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak kasar daun kelor *(M. oliefera)* terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro.*

1.4 Hipotesis

H0 : diduga pemberian ekstrak kasar daun kelor (*M. oliefera*) tidak memberikan pengaruh terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophilla*.

H1 : diduga pemberian ekstak kasar daun kelor (*M oliefera*) memberikan pengaruh terhadap daya hambat bakteri *A hydrophilla.*

1.5 Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terhadap pembaca terutama pelaksana usaha budidaya air tawar sehingga dapat berkontribusi pada dunia perikanan yang ramah lingkungan untuk mengatasi serangan bakteri *A. hydrophila.*

1.6 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pasasit Dan Penyakit Ikan Universitas Brawijaya Malang pada bulan 12 Februari 2016 – 13 Maret 2016

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Daun Kelor *(Moringa oliefera)*

2.1.1 Klasifikasi Dan Morfologi Daun Kelor *(M. Oleifera)*

Tanaman kelor *M. oleifera* merupakan salah satu jenis tumbuhan asli sub-Himalaya di India, Pakistan, Banglades, dan Afganistan. Tanaman kelor termasuk pohon yang mudah tumbuh, telah banyak digunakan oleh penduduk asli Roma, Yunani, dan Mesir. Saat ini telah banyak tumbuhan perenial dengan kualitas kayu rendah, tetapi beberapa negara menggunakan kelor sebagai obat tradisional dan penggunaan industri khususnya bidang kosmetik. *M. oleifera* merupakan tumbuhan penting di India, Etiopia, Filipina, dan Sudan serta tumbuh di bagian barat, timur, dan selatan Afrika, Asia tropis, Amerika Latin Karibia, Florida, dan Pulau Pasifik (Fahey, 2005).

Menurut Nugraha (2013), klasifikasi tumbuhan kelor *(M. oleifera)* adalah sebagai berikut:

Regnum : Plantae
Division : Spermatophyta
Subdivisio : Angiospermae
Classis : Dicotyledoneae
Subclassis : Dialypetalae
Ordo : Rhoeadales (Brassicales)
Familia : Moringaceae
Genus : Moringa
Species : *M. oleifera*

Adapun morfologi tumbuhan kelor baik batang, biji, daun dan bunga dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1. Pohon, Biji, Daun dan Bunga Kelor *M. oleifera (*Trubus, 2013)

Tanaman kelor termasuk pada jenis perdu dengan tinggi pohon mencapai 10 meter, jenis batang lunak dan rapuh, daun berbentuk bulat telur sebesar ujung jari yang tersusun majemuk. Tumbuhan kelor memiliki bunga berwarna putih, buah segitiga dengan panjang buah mencapai 30 cm, dapat hidup dengan baik didataran rendah maupun dataran tinggi (Haslinah, 2012).

2.1.2 Habitat dan Penyebaran Kelor *(M. oleifera)*

Tanaman kelor merupakan perdu dengan tinggi mencapai 10 meter, berbatang lunak dan rapuh, dengan daun sebesar ujung jari berbentuk bulat telur dan tersusun majemuk. Tanaman ini berbunga sepanjang tahun berwarna putih,

buah berisi segitiga dengan panjang mencapai 30 cm, tumbuh subur mulai dari dataran rendah hingga ketinggian 700 m diatas permukaan laut. Menurut sejarah tanaman ini berasal dari kawasan Himalaya dan India, kemudian menyebar ke kawasan disekitarnya hingga mencapai benua Afrika dan Asia (Haslinah, 2012).

Tanaman kelor awalnya banyak tumbuh dikawasan India, namun kini kelor dapat ditemukan diwilayah beriklim tropis. Dibeberapa Negara kelor menjadi komoditas penting seperti India, Etiopia. Filipina dan Sudan serta tumbuh di benua Afrika, kawasan Asia yang memiliki iklim tropis, Amerika Latin, Karibia, Florida dan Pulau Pasifik (Fahey, 2005).

2.1.3 Komponen Kimia Daun Kelor *(M. oleifera)*

Daun kelor *(M. oleifera)* merupakan tanaman obat tradisional berkhasiat dikenal di daerah Lombok. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada daun kelor terdiri dari berbagai senyawa kimia diantaranya berupa flavonoid, alkaloid, Steroid, tanin, saponin, antrakuinon dan terpenoid beragam senyawa tersebut dikenal sebagai senyawa antibakteri (Rohyani *et al.,* 2015).

Tanaman kelor mengandung banyak zat kimia diantaranya berupa minyak behen (*edible oil*) merupakan salah satu jenis minyak komersial yang dikenal tahan terhadap ketengikan karena mengandung antioksidan yang tinggi sehingga tidak mudah teroksidasi dan tahan terhadap bau tengik, minyak terbang, emulsin, alkaloida, serta vitamin A, B1, B2, dan C. Selain itu kelor juga mengandung lebih dari 90 antioksidan alami terbaik. Memiliki sumber serat terbaik, kandungan betakarotine mencapai 4 kali lipat lebih besar dari wortel juga terdapat bahan minyak omega 3 dan klorofil (Wahyuni *et al.,*2013).

Setiap senyawa kimia antibakteri memiliki cara yang berbeda dalam menghambat atau mematikan mikroorganisme. Beberapa jen is senyawa tersebut memiliki cara kerja mengubah struktur dinding sel atau membran sel,

menghambat sintesis komponen vital selular hingga mengubah keadaan fisik sel (Pelezar dan Chan 1988). Mekanisme kerja antibakteri senyawa flavonoid adalah dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri serta diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Mekanisme kerja antibakteri senyawa tanin adalah dengan cara menghambat kerja enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Mekanisme kerja antibakteri senyawa saponin adalah dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga menyebabkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel sehingga senyawa intraseluler keluar (Sumatri, *et al.* 2009).

2.1.3 Manfaat Daun Kelor

Menurut Fithriyah (2013), tanaman kelor dibudidayakan dibanyak negara termasuk Indonesia. Setiap bagian tumbuhan kelor dimanfaatkan baik daun, bunga, polong batang serta buah. untuk dimanfaatkan berbagai bagian tumbuhannya. Dibeberapa daerah, daun kelor dimanfaatkan sebagai sayuran sedangkan bagian lain seperti bunga dan polong dikenal sebagai tanaman obat secara turun-temurun.

Tanaman kelor *(M. oleifera)* merupakan salah satu tanaman perdu yang memiliki efek farmakologis sebagai analgetik, antiinflamasi, antipiretik dan antiskorbut sehingga sering digunakan untuk mengurangi demam (Yanti, 2010).

Menurut Sulistyawati, *et al.* (2009), berbagai penelitian menunjukan bahwa tanaman kelor juga mengandung senyawa – senyawa yang berpotensi sebagai antiinflamasi, antifungi, antikanker, hepatoprotektif serta antioksidan.

Menurut Mulyani, *et al.* (2013), tanaman kelor dimanfaatkan untuk berbagai kegunaan diantaranya sebagai bahan pengobatan tradisional, tanaman pagar desinfektan, pelumas dan industri khususnya kosmetik. Kelor juga

dimanfaatkan sebagai obat tradisional sebagai obat hepatitis karena mengandung zat kimia, seperti minyak behen (*edible oil*) yang dikenal sebagai minyak yang tahan terhadap ketengikan serta memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, minyak terbang (sejenis minyak atsiri yang merupakan kelompok minyak nabati berwujud cairan kental pada suhu ruang namun bersifat mudah menguap sehingga biasanya memiliki aroma khas jenis minyak ini banyak digunakan sebagai bahan baku wewangian atau minyak gosok untuk pengobatan), emulsin, alkaloida, memiliki rasa pahit namun tidak beracun serta vitamin A, B1, B2, dan C. Selain itu kelor juga mengandung lebih dari 90 nutrisi 48 jenis antioksidan, 36 senyawa antiinflamasi yang terbentuk secara alami. Banyak penelitian yang mengungkapkan bahwa tanaman kelor disebut memiliki kandungan antioksidan alami terbaik, memiliki sumber serat terbaik, kandungan betakarotine 4 kali lipat lebih besar dari wortel juga terdapat bahan minyak omega 3 dan klorofil.

2.2 Biologi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* adalah bakteri patogen yang menginfeksi berbagai jenis ikan air tawar diantaranya *Catfish*, *Cyprinidae*, *Cichlidae, Rainbow trout*, *Salmonidae,* katak, siput dan udang air. Bakteri *A. hydrophila* termasuk pada kelompok bakteri yang memiliki tingkat virulensi tinggi. Ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* umumnya mengalami gejala berupa pendarahan yang luas dibagian permukaan kulit (*Haemorrhagic septicemia*) yang kemudian diikuti dengan luka terbuka *(ulcer)* dibagian tubuh hingga jaringan. Selain itu, pada beberapa jenis ikan dapat menyebabkan gejala klinis seperti sirip ekor dan punggung rontok, pembekakan perut berisi cairan kemudian diikuti dengan kematian (Mangunwardoyo, *et al.* 2010).

Menurut Holt, *et al.* (1998), klasifikasi dari bakteri *A hydrophila* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Filum : Protophyta

Kelas : Scizomycetes

Ordo : Pseudomonadales

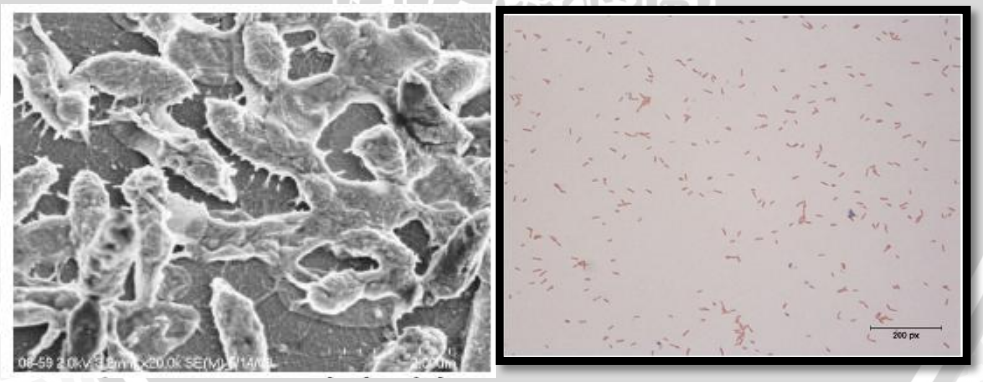
Famili : Pseudomonaceae

Genus : Aeromonas

Spesies : *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri yang memiliki karakteristik berupa bakteri gram negatif, bersifat aerob fakultatif, oksidase fakultatif, jenis motil bakterium, bakteri ini berdapat di lingkungan aquatik, bersifat patogen oportunistik dan salah satu flora mikroba yang terletak di gastrointestinal pada ikan yang sehat (Laith dan Najiah, 2013).

Adapun morfologi dari bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 : Bakteri *A. hydrophila* (Laith dan Najiah, 2013)

2.2.2 Habitat dan Penyebaran Bakteri *A. hydrophila*

A. hydrophila merupakan bakteri yang biasa ditemukan pada perairan tawar. Bakteri ini dapat bertahan dalam lingkungan aerob maupun anaerob. *A. hydrophila* mampu tumbuh pada kisaran pH 4,7 – 11. Bakteri ini bersifat motil dengan flagela tunggal yang ada disalah satu ujungnya, memiliki bentuk batang

hingga kokus dengan ujung membulat, fakultatif anaerob dan bersifat mesofillik dengan suhu optimum berkisar antara 20-30^{o}C (Haryani,2012). Mengacu pada pendapat *Dias et al.* (2016), *A. hydrophila* merupakan bakteri yang memiliki toleransi besar terhadap salinitas sehingga dapat hidup diperairan tawar, estuari maupun laut.

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan komponen zat aktif suatu bahan dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses ekstraksi dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh bagian-bagian tertentu dari bahan yang mengandung komponen-komponen aktif (Harborne, 1987).

Harborne, (1987) mengelompokkan metode ekstraksi menjadi dua, yaitu ekstraksi sederhana dan ekstraksi khusus. Ekstraksi sederhana terdiri atas:

a. Maserasi, yaitu metode ekstraksi dengan cara meredam sampel dalam pelarut dengan atau tanpa pengadukan
b. Perkolasi, yaitu metode ekstraksi secara berkesinambungan;
c. Reperkolasi, yaitu perkolasi dimana hasil perklorasi digunakan untuk melarutkan sampel di dalam perkulator sampai senyawa kimianya terlarut;
d. Diakolasi, yaitu perkolasi dengan penambahan tekanan udara.

Ekstraksi khusus terdiri atas:

a. Sokletasi, yaitu metode ekstraksi secara berkesinambungan untuk melarutkan sampel kering dengan menggunakan pelarut bervariasi;
b. Arus balik, yaitu metode ekstraksi secara berkesinambungan dimana sampel dan pelarut saling bertemu melalui gerakan aliran yang berlawanan;
c. Ultrasonik, yaitu metode ekstraksi dengan menggunakan alat yang menghasilkan frekuensi bunyi atau getaran antara 25-100 KHz.

Metode ekstraksi maserasi pada prinsipnya dilakukan dengan cara memasukkan bagian simplisia dengan derajat yang cocok ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan penyari bagian, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya sambil diaduk sekali-kali setiap hari lalu diperas dan ampasnya dimaserasi kembali dengan cairan yang digunakan untuk mengambil ekstrak. Penyarian diakhiri setelah pelarut tidak berwarna lagi, lalu dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan pada tempat yang tidak bercahaya, setelah dua hari lalu endapan dipisahkan (Dirjen POM, 1986).

2.4 Uji MIC (*Minimal Inhibitory Concentration)*

Kerentanan suatu mikroorganisme terhadap senyawa antimikroba dapat ditentukan menggunakan 2 teknik yaitu teknik tabung *(tube dilution)* atau teknik cawan piringan kertas *(paper disk plate)*. Teknik ini digunakan untuk menentukan jumlah terkecil senyawa antimikroba yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan organisme yang dilakukan secara *in vitro*. Jumlah ini kemudian disebut sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM) atau *minimal inhibitory concentration* (MIC). Metode cawan piringan kertas dilakukan dengan cara piringan –piringan kertas kecil yang diresapi obat yang berbeda-beda dalam jumlah tertentu diletakkan pada permukaan cawan yang telah di inokulasi (Pelezar dan Chan, 1988).

2.5 Uji Cakram

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan merupakan uji cakram Kirby-Bauer atau dikenal juga dengan sebutan metode cakram kertas. Prosedur dari uji cakram adalah cakram kosong yang akan digunakan dipanaskan dalam oven dengan suhu 70^{o}C selama 15 menit kemudian kertas cakram dicelupkan dalam larutan uji selanjutnya didiamkan selama 15 menit baru diletakkan dalam permukaan media uji yang telah ditumbuhi bakteri. Langkah selanjutnya media

diinkubasi dengan suhu 37^{o}C selama 18-24 jam. Langkah terakhir dari uji cakram adalah pengukuran zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram menggunakan penggaris milimeter (Noverita, *et al.,* 2009)

2.6 Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasakan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesisi protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Secara umumAktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks, *et al.* 2005).

Antibakteri secara umum dapat diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri. Terdapat banyak faktor yang mempengaruhi kerja antibakteri diantaranya berupa Konsentrasi atau intensitas zat antibakteri, Jumlah mikroorganisme, suhu, spesies mikroorganisme, adanya bahan organik dan tingkat keasaman (Pelezar dan Chan, 1988).

3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan 12 Februari – 13 Maret 2016 di Laboratorium Ilmu Kelautan dan Laboratorium Parasit Dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

3.2 Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1. beberapa alat yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 1.

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian

No	Alat	Fungsi
Ekstraksi		
1	Gunting	Memotong sampel
2	Blender	Menghaluskan sampel
3	Timbangan digital	Menimbang sampel
4	Corong	Memasukan pelarut
5	Elemeyer	Wadah maserasi
6	Gelas ukur	Mengukur larutan
7	Rotary evaporator	Alat untuk ekstraksi
8	Spatula	Menghomogenkan larutan
9	Botol vial	Menyimpan hasil ekstrak
10	Lemari pendingin	Menyimpan sampel
Uji Antibakteri		
11	Autoklaf	Tempat sterilisasi
12	Timbangan digital	Menimbang bahan dan ekstrak
13	Vortex mixer	Menghomogenkan larutan
14	Tabung reaksi	Tempat larutan suspensi dan kultur bakteri
15	Gelas ukur	Mengukur larutan
16	Elemeyer	Tempat larutan
17	Mikropipet	Mengambil larutan dalam skala kecil
18	Jarum ose	Menginokulasi bakteri
19	Sendok bahan	Mengambil bahan
20	Bunsen	Pengkondisian aseptis
21	Washing bootle	Menyimpan aquades
22	Rak tabung reaksi	Tempat tabung reaksi
23	Inkubator	Menyimpan bakteri dan media
24	Jangka sorong	Mengukur diameter zona hambat
25	Pinset	Mengambil paper disk dari larutan
26	Cawan petri	Tempat media tumbuh bakteri
27	Timbangan analitik	Menimbang sampel
28	Pipet volume	Mengambil larutan

Lanjutan Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian

No	Alat	Fungsi
29	Nampan	Meletakan alat dan bahan
30	*Sprayer*	Pengkondisian aseptis
31	Spektofotometer	Mengukur absorpsi sampel
32	*Hot plate*	Memanaskan media
33	*Laminary Air Flow*	Pengkondisian aseptis

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2. Beberapa gambar bahan yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Lampiran 2.

Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam penelitian

No	Bahan	Fungsi
Ekstraksi		
1	Daun kelor (*M. oleifera*)	Sampel yang akan diekstraksi
2	Etanol	Pelarut saat maserasi
3	Kertas saring (whatman)	Sebagai penyaring filtrat dan residu
4	Alumunium foil	Penutup larutan
5	Kertas label	Penanda
Uji Antibakteri		
6	Kertas label	Penanda bahan
7	Kapas	Menutup tabung, elemeyer dan pipet saat sterilisasi
8	Kertas	Menutup alat saat sterilisasi
9	Tali	Mengikat alat saat sterilisasi
10	Alumunium foil	Menutup larutan
11	Alkohol 70%	Pengkondisian aseptis
12	Kertas cakram	Uji daya hambat
13	Tisue	Pembersih
14	Bakteri *A. hydrophila*	Sebagai bakteri uji
15	TSA (*Tryptic soy agar*)	Sebagai media agar
16	NA (*nutrient agar*)	Sebagai media biakan bakteri cair
17	MHB	Sebagai media cair saat uji MIC (*minimum inhibition concentration*)
18	Na-Fisiologis	Sebagai larutan isotonik
19	DMSO *(dimethyl-sulfoxide)*	Untuk melarutkan ekstrak daun kelor
20	Spirtus	Sebagai bahan bakar bunsen
21	Plastik Wrap	Untuk membungkus cawan petri pada saat inkubasi

3.3 Rancangan Penelitian

Jenis Penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Menurut Jaedun (2011), penelitian eksperimental umumnya

digunakan dalam penelitian yang bersifat laboratoris. Definisi dari penelitian eksperimental adalah penelitian yang sengaja dilakukan untuk pengetahui pengaruh pemberian suatu perlakuan terhadap subjek penelitian. Penelitian eksperimental dilakukan karena pada variabel yang belum ada data – datanya. Sehingga perlu dilakukan proses manipulasi dengan menggunakan perlakuan tertentu.

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Menurut Sastrosupadi (2000), Rancangan acak lengkap (RAL) merupakan rancangan penelitian yang digunakan untuk percobaan yang memiliki media atau tempat percobaan yang homogen, sehingga rancangan ini banyak digunakan pada percobaan yang dilakukan di laboratorium, rumah kaca dan peternakan. Adapun model untuk RAL adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + €_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

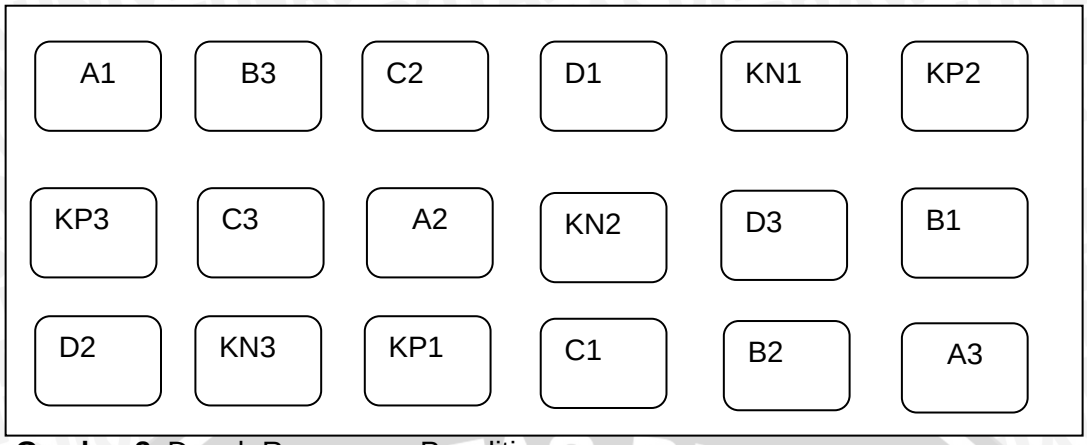
μ = nilai tengah umum

T_i = pengaruh perlakuan ke-i

$€_{ij}$ = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Rancangan pada penelitian ini berupa rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 2 kontrol (kontrol positif dan kontrol negatif) yang masing – masing dilakukan sebanyak 3 kali ulangan..

Denah rancangan penelitian ini disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Denah Rancangan Penelitian

Keterangan :

Perlakuan A : Bakteri *A. hydrophila* ditanam pada media diberi ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* dengan dosis 75 ppm

Perlakuan B : Bakteri *A. hydrophila* ditanam pada media diberi ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* dengan dosis 100 ppm

Perlakuan C : Bakteri *A. hydrophila* ditanam pada media diberi ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* dengan dosis 125 ppm

Perlakuan D : Bakteri *A. hydrophila* ditanam pada media diberi ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* dengan dosis 150 ppm

Kontrol Positif : Ekstrak kasar daun kelor tanpa penambahan bakteri

Kontrol Negatif : Bakteri *A. hydrophila* ditanam pada media tanpa diberi ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera).*

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

3.4.1.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor *(M. oleifera)*

Proses ekstraksi daun kelor *(M. oleifera)* dilakukan menggunakan metode maserasi berdasarkan pada penelitian Saputra *et al.,* (2013) yaitu perendaman daun kelor (*M. oleifera*) menggunakan pelarut etanol 70%. Pelarut etanol

digunakan karena etanol memiliki ketetapan dielektrik yang rendah yaitu sebesar 24,3. Ketetapan dielektrik menunjukkan tingkat kepolaran pelarut semakin tinggi tingkat ketetapan dielektrik suatu larutan maka semakin tinggi juga tingkat kepolarannya. Metode ekstraksi maserasi dengan menggunakan larutan ekstraksi berupa etanol 70% dengan perbandingan 1:6 memiliki hasil rendemen yang paling tinggi. Proses pembuatan ekstrak daun kelor *(M. oleifera)* dapat dilihat pada Lampiran 3. sedangkan langkah – langkah proses ekstraksi maserasi daun kelor (*M. oleifera*) adalah sebagai berikut:

1. Daun dicuci terlebih dahulu kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.
2. Daun dihaluskan dengan menggunakan *blender* sampai halus dan menjadi serbuk.
3. Daun yang sudah halus ditimbang sebanyak 100 gram.
4. Daun yang halus kemudian dicampur etanol 70% sebanyak 600 gram (1:6) dalam beaker glas 1000 ml kemudian ditutup menggunakan alumunium foil.
5. Daun yang telah dicampur dengan pelarut didiamkan selama 72 jam (maserasi).
6. Daun yang sudah dimaserasi disaring menggunakan kertas saring whatman no 41 sehingga diperoleh filtrat dan residu.
7. Filtrat yang dihasilkan kemudian dievaporasi menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50^{o}C hingga pelarut menguap
8. Hasil ekstraksi dikerik kemudian diletakkan pada botol vial.
9. Hasil ekstraksi ditimbang.
10. Hasil rendemen (*yield*) dihitung dengan menggunakan rumus:

$$Rendemen = \frac{Berat\ Kering}{Ekstrak\ yang\ dihasilkan} \times 100\%$$

11. Ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) yang dihasilkan disimpan dalam freezer hingga saat digunakan untuk uji antibakteri.

Daun kelor *(M. oleifera)* yang digunakan pada penelitian ini memiliki berat basah sebesar 1.600 g, dikeringkan dan dihaluskan menghasilkan berat kering 400 g sehingga didapat persentase berat kering sebesar 25%. Daun kelor yang telah dihaluskan diambil sebanyak 400 g direndam dalam etanol 70% sebanyak 2.400 ml menghasilkan ekstrak kasar sebesar 7,32 g sehingga didapat persentase rendemen sebesar 1,83%.

3.3.1.2 Sterilisasi Alat Dan Bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu untuk menghindari adanya kontaminasi mikroorganisme. Jenis sterilisasi yang digunakan yaitu uap air panas dan tekanan tinggi. Autoklaf merpakan alat yang esensial dala setiap laboratorium mikrobiologi dan pada umumnya autoklaf dijalankan pada tekanan 15 lb/in^2 pada suhu 121^{o}C (Pelezar dan Chan, 1988).

Adapun proses sterilisasi alat dan bahan menggunakan autoklaf adalah sebagai berikut :

1. Alat dan bahan yang akan disterilisasi dibungkus menggunakan koran dan diikat menggunakan benang. Khusus untuk tabung elemeyer dan tabung reaksi bagian atas ditutup menggunakan kapas.
2. Autoklaf diisi menggunakan air secukupnya kemudian alat yang akan disterilisasi dimasukkan lalu autoklaf ditutup rapat.
3. Saklar dinyalakan kemudian tombol sirine berwarna merah ditarik hingga batas lampu yang berwarna merah.
4. Ditunggu selama 15 menit. Setelah alarm berbunyi, saklar dimatikan.
5. Ditunggu hingga termometer dan nanometer menunjukkan angka 0

6. Saklar listrik dimatikan lalu autoklaf dibuka.
7. Alat yang telah disterilisasi kemudian disimpan dalam inkubator sedangkan bahan disimpan di lemari pendingin.

3.4.1.3 Pembuatan Media TSA *(Tryptic Soy Agar)*

Pembuatan media pertumbuhan bakteri TSA *(Tryptic Soy Agar)* dilakukan sebelum proses peremajaan bakteri. Adapun langkah kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut :

a. Media TSA ditimbang menggunakan timbangan digital sebanyak 2 gr.
b. Media dimasukkan kedalam tabung elemeyer.
c. Media dilarutkan dalam aquades 50 ml lalu dihomogenkan.
d. Media dimasukkan kedalam 5 buah tabung reaksi. Masing-masing tabung reaksi diisi menggunakan 10 ml media.
e. Tabung reaksi ditutup menggunakan kapas kemudian dibungkus alumunium foil dan diikat menggunakan tali.
f. Media TSA disterilisasi menggunakan autoklaf dan dibiarkan hingga hangat.
g. Tabung reaksi yang berisi media dimiringkan hingga kemiringan 30^{o}.
h. Media ditunggu hingga menjadi padat.

3.4.1.4 Pembuatan Media NB *(Nutrient Broth)*

Media NB *(Nutrient broth)* merupakan media biakan bakteri cair yang akan digunakan untuk kultur bakteri. Adapun proses pembuatan media NB adalah sebagai berikut:

a. Media ditimbang menggunakan timbangan digital sebanyak 0,40 gr
b. Media dimasukkan dalam elemeyer
c. Media dicampur dengan aquade sebanyak 50ml lalu dihomogenkan
d. Media yang sudah homogen ditutup menggunakan kapas kemudian dibungkus alumunium foil dan diikat menggunakan tali

e. Media disterilisasi menggunakan autoklaf dan dibiarkan hingga hangat.

3.3.1.5 Pembuatan Media Agar Untuk Uji Cakram

Media agar yang digunakan untuk uji cakram adalah TSA (*Tryptic soy agar*). Adapun proses pembuatan media TSA adalah sebagai berikut:

a. Media TSA ditimbang menggunakan timbangan digital.
b. Media dimasukkan dalam elemeyer.
c. Media dicampur dengan aquades kemudian dihomogenkan.
d. Elemeyer ditutup kapas, dibungkus menggunakan alumunium foil dan diikat menggunakan tali.
e. Media disterilisasi menggunakan autoklaf.
f. Media ditunggu hingga hangat kemudian dituang pada cawan petri.
g. Media ditunggu hingga padat.

3.3.1.6 Peremajaan Bakteri *A. hydrophila*

Peremajaan bakteri bertujuan untuk memperbanyak jumlah stok bakteri agar cukup untuk diuji daya hambatkan terhadap ekstrak daun kelor *(M. oleifera)*. Isolat bakteri *A. hydrophila* kemudian di perbanyak dengan metode agar miring menggunakan media TSA yang telah dibuat. Hal pertama yang dilakukan yaitu:

a. Media TSA yang telah dibuat sebelumnya disiapkan terlebih dahulu.
b. Bakteri *A. hydrophila* yang akan digunakan diambil menggunakan jarum ose dari stok bakteri.
c. Isolat bakteri *A. hydrophila* digores pada permukaan media agar miring menggunakan jarum ose.
d. Tutup mulut tabung reaksi dengan kapas, bungkus dengan *plastic wrap* dan *aluminium foil* dan ikat dengan tali lalu masukkan ke dalam inkubator, tunggu hingga 24 jam lalu pindahkan ke dalam kulkas dengan suhu 10°C.

3.3.1.7 Kultur Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri uji yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) adalah bakteri *A. hydrophila*. Adap un langkah kulturnya adalah sebagai berikut:

a. Media NB (*Nutrient broth*) yang akan digunakan sebagia media kultur disiapkan terlebih dahulu.
b. Bakteri *A. hydrophila* yang telah diremajakan diambil menggunakan jarum ose lalu dicelupkan pada media NB.
c. Media disimpan dalam inkubator dengan suhu 30^{o}C selama 24 jam.

3.3.1.8 Pembuatan Bakteri *A. hydrophila* Dengan Kepadatan 10^7

Menurut Mangunwardoyo *et al.*, (2010) menyatakan bahwa pada kepadatan bakteri *A. hydrophila* 10^7 cfu/mL ikan akan mengalami *haemoragic* dan terjadi necrosis pada bagian hati, ginjal dan limpa kemudian diikuti dengan kematian.

Kepadatan bakteri A. hydrophila 10^7 diperoleh dengan langkah sebagai berikut:

a. Kultur murni bakteri *A. hydrophila* yang berada di media agar miring disiapkan terlebih dahulu.
b. Bakteri *A. hydrophila* diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi Na-fisiologis 10 ml kemudian di vortex.
c. Kekeruhan bakteri disamakan dengan kekeruhan McFarland 0,5 yang merupakan formula yang terdiri atas asam belerang 1% dan barium clorida 1% yang disetarakan dengan 10^8 cfu/mL penilaian kekeruhan menggunakan spectofotometer dengan panjang gelombang 540-600 nm (Standar McFarland). Kekeruhan McFarland 0,5 menurut Hastari (2012), merupakan kekeruhan yang terdiri dari campuran Barium Klorida 1% dan Asam Sulfat 1% dengan perbandingan 99,5 : 0,5 selain tingkat kekeruhan 0,5 standar

McFarland juga terdapat berbagai tingkat kekeruhan. Adapun standar Mc. Farland yang tersedia di pasaran menurut Whitman dan MacNair (2010) disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 4. Standar Mc.Farland yang Tersedia dipasaran

Standar McFarland		
No	Komposisi	Kepadatan sel ($x10^8$)
1	0,1 ml Barium Klorida dalam 9,9 ml Asam Sulfat	3
2	0,2 ml Barium Klorida dalam 9,8 ml Asam Sulfat	6
3	0,3 ml Barium Klorida dalam 9,7 ml Asam Sulfat	9
4	0,4 ml Barium Klorida dalam 9,6 ml Asam Sulfat	12
5	0,5 ml Barium Klorida dalam 9,5 ml Asam Sulfat	15
6	0,6 ml Barium Klorida dalam 9,4 ml Asam Sulfat	18
7	0,7 ml Barium Klorida dalam 9,3 ml Asam Sulfat	21
8	0,8 ml Barium Klorida dalam 9,2 ml Asam Sulfat	24
9	0,9 ml Barium Klorida dalam 9,1 ml Asam Sulfat	27
10	1 ml Barium Klorida dalam 9 ml Asam Sulfat	30

Sumber : Whitman dan MacNair (2010)

d. Disiapkan tabung reaksi berisi Na-fisiologis dengan volume 9 ml.

e. Bakteri *A. hydrophila* dengan kekeruhan 10^8 diambil sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi berisi Na-fisiologis 9 ml yang telah disiapkan sebelumnya.

f. Didapat kekeruhan bakteri *A. hydrophila* 10^7.

3.4.2 Uji Aktivitas Antibakteri

3.4.2.1 Uji MIC (*Minimum Inhibitoring Concentration*)

Skema uji MIC dapat dilihat pada Lampiran 4. Adapun langkah dari uji MIC (*Minimum inhibitoring concentration*) adalah sebagai berikut:

a. Media kultur bakteri berupa NB steril disiapkan terlebih dahulu.

b. Ekstrak kasar daun kelor (*M. oleifera*) dilarutkan menggunakan pelarut dimethyl-sulfoxide (DMSO) 10% berfungsi untuk melarutkan senyawa tidak larut air seperti ekstrak tanaman agar dapat digunakan.
c. Ekstrak dilarutkan dengan DMSO 10% hingga sesuai dengan dosis perlakuan. Dosis yang digunakan dalam penelitian pendahuluan ini yaitu 0 ppm, 0,01 ppm, 0,1 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 1.000 ppm dan 10.000 ppm ekstrak daun kelor.
d. Metode pengenceran yang digunakan untuk menggencerkan ekstrak kelor yaitu metode pengenceran berseri. Adapun langkah yang harus dilakukan untuk membuat ekstrak dengan dosis 10.000 ppm adalah dengan mencairkan sebanyak 10 mg ekstrak daun kelor dalam 10 ml DMSO 10%. Untuk mendapat dosis 1.000 ppm adalah dengan cara mengambil 1 ml larutan ekstrak 10.000 ppm kemudian dicampur dengan 9 ml DMSO 10%. Cara untuk mendapatkan konsentrasi 100 ppm adalah dengan mengambil 1 ml larutan ekstrak 1.000 ppm kemudian dilarutkan dalam 9 ml DMSO 10%. Cara untuk mendapatkan 10 ppm adalah dengan cara melarutkan 1 ml larutan ekstak 100 ppm dalam 9 ml DMSO 10% kemudian cara tersebut dilanjutkan hingga didapat konsentrasi terkecil yaitu 0,01 ppm.
e. Setiap tabung reaksi diberi bakteri sebanyak satu goresan jarum ose.
f. Media kemudian disimpan dalam inkubator dengan suhu 32^{o}C dengan waktu 24 jam.
g. Media dicek tingkat kekeruhan dan absorpsinya menggunakan spektofotometer.

Berikut merupakan Skala log yang digunakan pada uji MIC *(Minimum inhibitory concentration)* pemberian ekstrak daun kelor *(M. oleifera)* terhadap bakteri *A. hydrophila* pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4 sebagai berikut:

Tabel 4. Skala Log pada perlakuan dosis ekstrak yang berbeda-beda

No	Konsentrasi	Absorbansi	Warna
1	1000 ppm	2,113	Bening
2	100 ppm	1,568	Bening
3	10 ppm	1,333	Keruh
4	1 ppm	1,350	Keruh
5	0,1 ppm	1,287	Keruh
6	0,01 ppm	1,336	Keruh
7	Kontrol (+)	1,790	Bening
8	Kontrol (-)	1,511	Keruh

Keterangan :

Tabung No. 2 = Konsentrasi 100 ppm ekstrak daun kelor *(M. oleifera)* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*

Setelah didapat hasil pengukuran menggunakan spektofotometer didapat hasil bening untuk pertama kali pada pemberian dosis ekstrak kasar daun kelor sebesar 100 ppm dengan nilai absorbansi 1,568. Hal ini menunjukkan bahwa dosis pemberian ekstrak kasar daun kelor dengan dosis 100 ppm telah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* namun, terdapat selisih nilai absorbansi yang cukup jauh sehingga memungkinkan dosis dibawah 100 ppm mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* sehingga perlu dilakukan uji MIC kedua. Adapun langkah untuk uji MIC kedua adalah sebagai berikut :

a. Media kultur bakteri berupa NB steril disiapkan terlebih dahulu.
b. Ekstrak kasar daun kelor (*M. oleifera*) dilarutkan menggunakan pelarut dimethyl-sulfoxide (DMSO) 10% berfungsi untuk melarutkan senyawa tidak larut air seperti ekstrak tanaman agar dapat digunakan.

c. Ekstrak dilarutkan dengan DMSO 10% hingga sesuai dengan dosis perlakuan. Dosis yang digunakan dalam uji MIC kedua ini yaitu 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 900 ppm, 100 ppm dan 110 ppm ekstrak daun kelor.
d. Setiap tabung reaksi diberi bakteri sebanyak satu goresan jarum ose.
e. Media kemudian disimpan dalam inkubator dengan suhu 32^{o}C dengan waktu 24 jam.
f. Media dicek tingkat kekeruhan dan absorpsinya menggunakan spektofotometer.

3.3.2.2 Uji cakram

Setelah mengetahui dosis ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) yang sesuai, dilanjutkan dengan uji cakram. Adapun skema uji cakram disajikan pada Lampiran 4. sedangkan prosedur dari uji cakram adalah sebagai berikut :

a. Media TSA yang telah ditempatkan dalam cawan petri disiapkan terlebih dahulu.
b. Kertas cakram dicelupkan dalam ektrak kasar daun kelor (*M. oleifera*) sesuai perlakuan. Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak kasar daun kelor dengan dosis 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm dan 150 ppm serta perlakuan kontrol positif berupa penggunaan antibakteri komersial tetracyclin dengan konsentrasi 1000 ppm sedangkan untuk kontrol negatif hanya menggunakan aquadest steril.
c. Bakteri *A. hydrophila* ditebar diseluruh permukaan cawan petri dengan metode oles menggunakan *cotton swap*.
d. Kertas cakram kemudian direndam selama 10 – 15 menit dalam larutan ekstrak daun kelor *(M. oleifera)*

e. Media yang telah berisi kertas cakram dan bakteri diinkubasi dalam suhu 30^{o}C selama 24 jam.
f. Media yang telah diinkubasi diukur lingkar zona hambatnya menggunakan jangka sorong.

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini berupa hasil penelitian yaitu hasil zona bening yang terbentuk pada saat uji antibakteri cakram pada media yang telah ditumbuhi bakteri *A. hydrophila.*

2.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang pada penelitian ini yaitu lama perendaman kertas cakram pada ektrak kasar daun kelor (*M. oleifera*).

3.6 Analisis Data

Data penelitian yang telah didapat kemudian melalui uji statistik sesuai dengan rancangan percobaan yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL). Jika data menunjukan berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mendapatkan perlakuan terbaik.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji MIC *(Minimum Inhibitory Concentration)*

Uji MIC *(Minimum inhibitory concentration)* dilakukan dengan menggunakan berbagai dosis berbeda hal ini bertujuan untuk mengetahui dosis ekstrak daun kelor *(M. oleifera)* yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila.* Setelah dilakukan pengamatan menggunakan spektofotometer maka didapat hasil uji MIC yang menunjukkan perbedaan absorbansi pada setiap perlakuan. Hasil uji MIC disajikan pada Tabel 5 sebagai berikut:

Tabel 5. Hasil Pengamatan Uji MIC Menggunakan Spektofotometer

No	Konsentrasi	Absorbansi	Warna
1	110 ppm	0,563	Bening
2	100 ppm	0,553	Bening
3	90 ppm	0,512	Bening
4	80 ppm	0,509	Bening
5	70 ppm	0,431	Bening
6	60 ppm	0,389	Keruh
7	50 ppm	0,386	Keruh
8	40 ppm	0,343	Keruh
9	Kontrol (+)	0,449	Bening
10	Kontrol (-)	0,711	Keruh

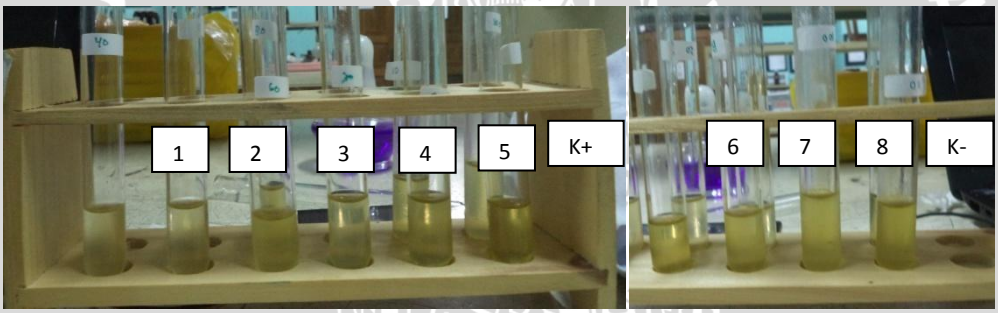
Keterangan :

Tabung No. 3 = Konsentrasi 70 ppm ekstrak daun kelor *(M. oleifera)* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*

Berdasarkan pada Tabel 5 mengenai hasil absorbansi setiap perlakuan yang diujikan menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor *(M. oleifera)* dengan dosis 70 ppm menghasilkan absorbansi yang paling mendekati kontrol positif dan

menjadi bening untuk pertama kali. Hal ini menunjukkan bahwa dosis 70 ppm merupakan dosis terkecil yang diperlukan untuk menghambat bakteri *A. hydrophila.* Mengacu pada pendapat Niswah (2014), uji MIC dengan dilakukan dengan menggunakan medium agar atau *suspensi broth* biasanya metode delusi agar dilakukan dengan cara medium diinokulasi dengan mikroorganisme uji kemudian dicampur dengan larutan uji. Pada metode ini, medium yang terdapat sampel uji kemudian dibandingkan dengan kontrol yang tidak diinokulasi mikrooganisme dan kontrol yang tidak dicampur dengan larutan uji. Pertumbuhan mikroorganisme pada metode ini ditandai dengan adanya kekeruhan pada sumur plat.

Hasil uji MIC disajikan pada Gambar 4 sebagai berikut:



Gambar 4. Hasil uji MIC *(Minimum Inhibitoring Concentation)* dari dosis terendah pada tabung nomor 1 hingga dosis tertinggi pada tabung nomor 8 kemudian tabung K+ sebagai kontrol positif dan K- sebagai kontrol negatif.

Selain pengamatan menggunakan spektofotometer, dilakukan juga pengamatan warna. Berdasarkan pengamatan perubahan warna, tabung ekstrak daun kelor *(M. oleifera)* dengan dosis 70 ppm menghasilkan warna bening pertama kali. Pada pengamatan menggunakan spektofotometer pemberian ekstrak daun kelor dengan dosis 70 ppm memiliki nilai absorbansi paling mendekati kontrol positif dan memiliki nilai dibawah kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun kelor dengan dosis 70 ppm merupakan dosis terkecil untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila.*

4.2 Uji Cakram

Uji cakram dilakukan untuk mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak daun kelor *(M. oleifera)* terhadap bakteri *A. hydrophila* dengan menggunakan berbagai dosis yang berbeda. Adapun perlakuan yang digunakan pada uji cakram yaitu permberian dosis ekstrak kasar daun kelor sebesar 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm serta perlakuan kontrol (positif dan negatif).

Hasil pengamatan zona bening selama penelitian menunjukkan pada setiap perlakuan terdapat zona bening yang terbentuk. Diameter zona bening setiap perlakuan berbeda dipengaruhi oleh perbedaan dosis yang diberikan, semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin besar zona bening yang terbentuk. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Brooks *et al.,* (2005) menyatakan bahwa perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi disebabkan karena perbedaan besarnya zat aktif yang terkandung pada konsentrasi tersebut. Semakin besar suatu konsentrasi, semakin besar pula komponen zat aktif yang terkandung didalamnya, sehingga zona hambat yang terbentuk juga berbeda tiap konsentrasi.

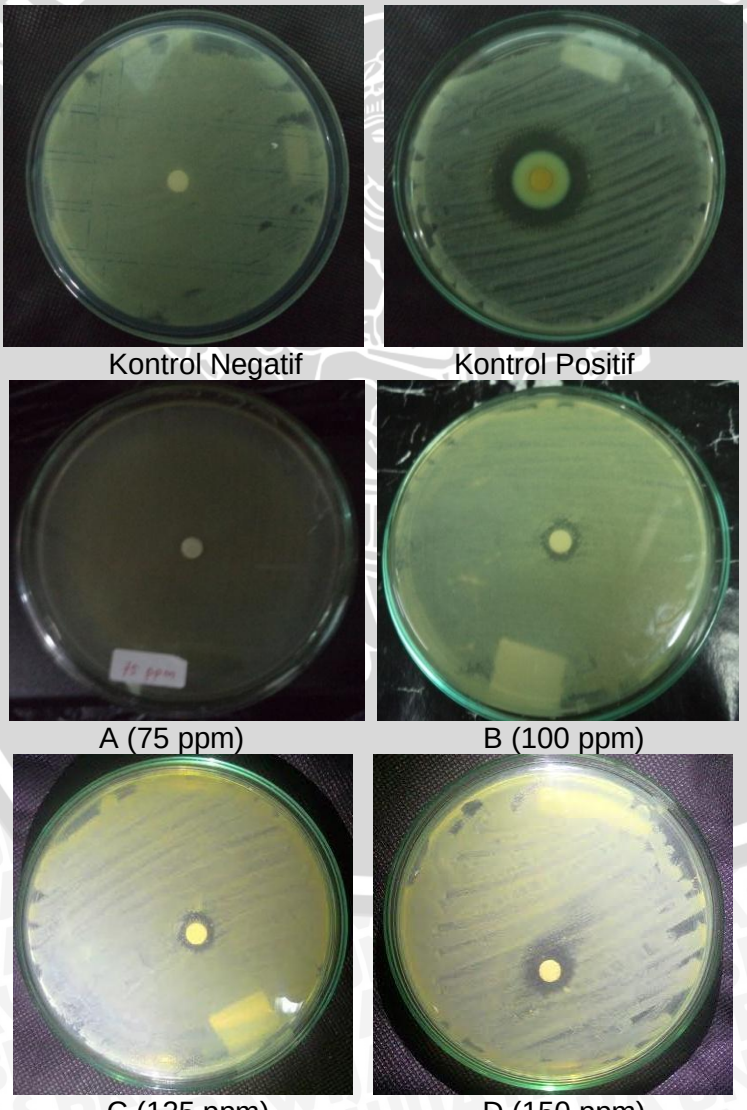
Menurut Lathifah (2008), menyatakan bahwa respon daya hambat berupa zona bening yang terbentuk dapat diklasifikasikan menjadi 4 respon yang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Kategori penghambatan antibakteri berdasarkan pada zona bening

Diameter zona bening (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
> 20	Sangat Kuat
10-20	Kuat
5-10	Sedang
<5	Lemah

Sumber : Lathifah (2008)

Berdasarkan pada Tabel 6 mengenai respon daya hambat suatu senyawa antibakteri terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri dapat ditentukan bahwa respon hambatan ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* terhadap bakteri *A. hydrophila* dengan dosis 75 ppm dan 100 ppm dapat dikatakan rendah karena memiliki diameter zona bening kurang dari 5 mm sedangkan untuk dosis 125 ppm dan 150 ppm dapat dikatakan sedang karena memiliki diameter zona bening diantara 5-10 mm. Adapun hasil uji daya hambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* yang telah diberi ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* disajikan pada Gambar 5:



Gambar 5. Hasil uji cakram

Hasil uji cakram dari ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* dengan menggunakan empat perlakuan dosis dan tiga kali ulangan. Adapun perlakuan dosis yang diberikan yaitu dosis 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm dan 150 ppm didapatkan hasil pengukuran diameter zona bening pada setelah 24 jam dapat dilihat pada Tabel 7 dan perhitungan statistik zona bening setelah pemberian ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* dapat dilihat pada Lampiran 6.

Tabel 7. Hasil Pengamatan Zona Bening setelah pemberian ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* terhadap bakteri *A. hydrophila*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± Standar Deviasi
	1	2	3		
A (75 ppm)	2,92	2,3567	3,3467	8,6234	2,8745 ± 0,4966
B (100 ppm)	3,7433	4,5267	4,92	13,19	4,3967 ± 0,5990
C (125 ppm)	7,81	7,02	6,3033	21,1333	7,0444 ± 0,7536
D (150 ppm)	9,02	9,3833	9,3033	27,7066	9,2355 ± 0,1909

Berdasarkan Tabel 7 mengenai hasil pengamatan zona bening yang didapatkan didapatkan hasil rerata terendah pada perlakuan A berupa pemberian dosis 75 ppm dengan nilai 2,8745 ± 0,4966 dan hasil tertinggi pada perlakuan D berupa pemberian dosis 150 ppm dengan nilai rata – rata 9,2355 ± 0,1909. Selanjutnya dilakukan analisa sidik ragam untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan. Hasil analisa sidik ragam dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Analisa Sidik Ragam Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Kelor *(M. oleifera)*

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F. Hit	F5%	F 1%
Perlakuan	**3**	71,5463	23,8488	78,8492**	**4,07**	**7,59**
Acak	**8**	2,4197	0,3025			
Total	**11**	73,9660				

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata

Hasil analisa sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun kelor memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* sehingga perlu dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf 5% (kepercayaan 95%) maupun taraf 1% (kepercayaan 99%) untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan. Hasil uji BNT disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) zona bening setelah pemberian ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera).*

Rerata	A	B	C	D	Notasi
	2,8745	4,3967	7,0444	9,2355	
A (**2,8745**)	**-**				**a**
B (**4,3967**)	1,5222*	**-**			**b**
C (**7,0444**)	4,1700**	2,6478**	**-**		**c**
D (**9,2355**)	6,3611**	4,8389**	2,1911**	**-**	**d**

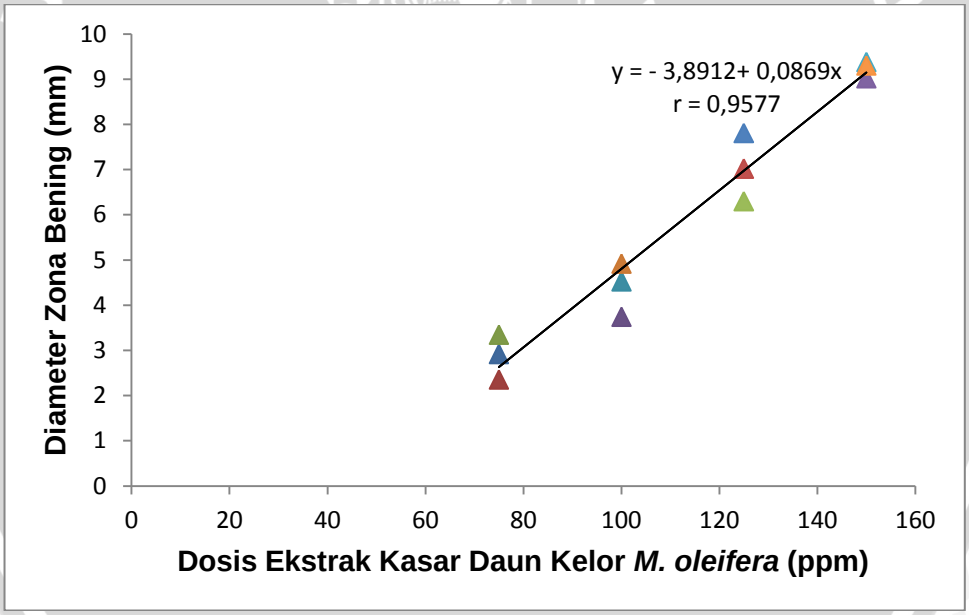
Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata
* = Berbeda nyata
ns = Tidak berbeda nyata

Uji beda nyata terkecil (BNT) menunjukkan hasil perlakuan A berupa pemberian ekstrak kasar daun kelor dengan dosis 75 ppm tidak memberikan nilai yang signifikan antar perlakuan sehingga diberi notasi a. perlakuan B berupa pemberian dosis ekstrak kasar daun kelor dengan dosis 100 ppm memberikan hasil berbeda nyata sehingga diberi notasi b. Perlakuan C berupa pemberian dosis ekstrak kasar daun kelor dengan dosis 125 ppm memberikan hasil berbeda sangat nyata sehingga diberi notasi C dan perlakuan D berupa pemberian dosis ekstrak kasar daun kelor dengan dosis 150 ppm memberikan hasil berbeda sangat nyata sehingga diberi notasi d.

Berdasarkan pada perbedaan notasi yang dihasilkan pada uji beda nyata terkecil (BNT) maka dapat diartikan bahwa dosis yang berbeda menunjukkan respon daya hambat bakteri *A. hydrophila* yang berbeda pula. Perbedaan

respon daya hambat pada setiap dosis perlakuan disebabkan oleh adanya kandungan zat aktif yang berbedapada setiap perlakuan yang diberikan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Brooks *et al.,* (2005) menyatakan bahwa perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi disebabkan karena perbedaan besarnya zat aktif yang terkandung pada konsentrasi tersebut. Semakin besar suatu konsentrasi, semakin besar pula komponen zat aktif yang terkandung didalamnya, sehingga zona hambat yang terbentuk juga berbeda tiap konsentrasi.

Adapun grafik pola hubungan pemberian ekstrak daun kelor *(M. oleifera)* terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* disajikan pada Gambar 6 sebagai berikut :



Gambar 6. Hubungan antara pemberian ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* dengan diameter zona bening

Berdasarkan pada grafik yang ditunjukkan pada Gambar 6 mengenai hubungan antara pemberian ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* maka didapat hasil penelitian ini menghasilkan pola hubungan antara pemberian ekstrak kasar daun kelor

(M. oleifera) terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* berupa grafik regresi dengan pola linier yang memiliki persamaan y = -3,8912 + 0,0869x dengan nilai koefisiensi korelasi sebesar 0,9786 dan nilai koefisiensi determinasi sebesar 0,9576. Diameter zona bening yang terbentuk berbanding lurus dengan pertambahan dosis ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* hal ini dibuktikan dengan pertambahan diameter rata – rata zona bening meningkat seiring dengan pertambahan dosis ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* dimulai dengan dosis 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm dan 150 ppm.

Diameter zona bening yang terbentuk berbanding lurus dengan penambahan dosis ekstrak kasar daun kelor yang dberikan hal ini diakibatkan oleh bertambahnya kandungan zat aktif seiring dengan pertambahan dosis perlakuan yang diberikan. Hal ini sesuai dengan pendapat Brooks *et al.,* (2005) menyatakan bahwa perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi disebabkan karena perbedaan besarnya zat aktif yang terkandung pada konsentrasi tersebut. Semakin besar suatu konsentrasi, semakin besar pula komponen zat aktif yang terkandung didalamnya, sehingga zona hambat yang terbentuk juga berbeda tiap konsentrasi.

Hasil penelitian uji daya hambat menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* menghasilkan sifat antimikroba berupa bakteriostatik terhadap bakteri *A. hydrophila*. Menurut Utami (2011), secara garis besar, antimikroba dibagi menjadi dua jenis yaitu bakteriostatik dan baktersida. Antimikroba yang bersifat bakteriostatik merupakan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri sedangkan antimikroba yang bersifat bakterisida merupakan senyawa yang dapat membunuh bakteri.

Bahan aktif yang diduga menjadi senyawa yang sangat berperan penting menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* adalah flavonoid dan asam fenol. Menurut pendapat Waterman *et al.,* (2014), daun kelor banyak digunakan

pada bidang medis sebagai terapi kondisi akut dan kronis. Daun kelor berperan sebagai antibakteri, antiinflamasi dan antioksidan karena banyak mengandung senyawa flavonoid dan asam fenol. Atmoko dan Ma'ruf (2009) menyatakan bahwa metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai obat diantaranya berupa senyawa alkaloid, steroid, terpenoid serta flavonoid atau fenolik. Flavonoid merupakan komponen aktif yang dapat digunakan sebagai antimikroba dan antivirus.

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Flavonol dan flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai respon terhadap mikroba, sehingga secara *in vitro* flavonoid efektif dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Senyawa ini dikatakan sebagai antimikroba karena memiliki kemampuan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut melalui ikatan hidrogen serta dinding sel mikroba sehingga menyebabkan membran bakteri rusak. Sifat lipofitik pada flavonoid membuat membran mikroba menjadi rusak (Haryani, 2012).

3.4.2 Parameter Penunjang

Parameter pendukung pada penelitian ini adalah lama perendaman kertas cakram dalam larutan ekstrak daun kelor *(M. oleifera)* dengan dosis yang berbeda yaitu kurang lebih 15 menit. Lama perendaman tersebut bertujuan agar ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* dapat terserap dengan maksimal. Hal ini sesuai dengan pendapat Wiyanto (2010), menyatakan bahwa lama waktu perendaman kertas cakram selama 15 menit bertujuan agar bahan aktif yang akan diujikan dapat terserap dalam kertas cakram sehingga dapat digunakan untuk menghambat bakteri pada saat penelitian.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan pada hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* berpengaruh sangat nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dilihat dari diameter zona bening yang dihasilkan oleh semua perlakuan yang telah dilakukan pada saat penelitian. Diameter zona bening yang dihasilkan semakin meningkat berbanding lurus dengan dosis yang digunakan. Perlakuan A dengan dosis 75 ppm memiliki ukuran diameter terendah dengan ukuran diameter zona bening 2,8745 mm sedangkan perlakuan D dengan dosis 150 ppm memiliki ukuran diameter tertinggi dengan ukuran diameter zona bening 9,3033 mm. Hubungan antara diameter zona bening dan dosis pemberian ekstrak daun kelor memiliki pola linier memiliki persamaan y = -3,8912 + 0,0869x dengan nilai koefisiensi korelasi sebesar 0,9786. Ekstrak kasar daun kelor memiliki sifat antibakteri bakteriostatik yaitu menghambat pertumbuhan bakteri.

5.2 Saran

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun kelor *(M. oleifera)* berpengaruh sangat nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dengan dosis terendah sebesar 75 ppm namun perlu ada penelitian secara *in vivo* untuk untuk membuktikan keefektifan pemberian ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila.*

DAFTAR PUSTAKA

Adam. L.2012. Kebijakan Pengembangan Perikanan Berkelanjutan (Studi Kasus: Kabupaten Wakatobi, Provinsi Sulawesi Tenggara Dan Kabupaten Pulau Morotai, Provinsi Maluku Utara). *Jurnal perikanan dan kelautan.* **2**(2):115-126.

Brooks, G. F., J. S. Butel, dan S. A. Morse. 2005. *Medical Microbiology.* McGraw Hill: New York. Hal 226 .

Brillhante, R.S.N., Sales, J.A., Sampaio, C.M.D.S., Barbosa, F.G., Paiva, M.D.A.N., Guedes, G.M.D.M., Alecar, L.P.D., Ponte,Y.B.D., Bandeira, T.J.P.G.B., Moreira, J.L.B., Branco, D.S.C.M.C., Neto, W.A.P., Cordeiro. R.A., Sidrim, J.J.C and M.F.G Rocha.2015. *Vibrio spp* from *Macrobranchium amazonicum* Prawn Farming are Inhibited by Moringa Oleifera Extracts. *Asian Pasitic Journal Of Tropical Medicine.* **8**(11): 919-922.

Departemen kesehatan RI, dirjen POM. 1986. Pedoman pelaksanaan uji klinik obat tradisional.jakarta. departemen kesehatan.

Fahey, J.W. 2005. Moringa oleifera: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties Part 1. *Trees for life Journal*: 1-21

Fithriyah. N. 2013. Analisis α- tokoferol (vitamin E) pada minyak biji kelor (*Moringa oleifera* lamk.) Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Skripsi. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi Universitas Islam Negeri Jakarta : Jakarta.

Haslinah. A. 2012. Pengaruh Perbandingan Koagulasi Biji Kelor Dan Aluminium Sulfat Pada Proses Penjernihan Air Sungai. *ILTEK.* **7**(13) : 995-999.

Harborne J.B. 1987. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Terbitan Kedua. Diterjemahkan oleh Dr. Kasasih Padmawinata dan Dr. Iway Soediro. Bandung : Institut Teknologi Bandung.

Holt, J.G., N.R Kneg, P.H.A Sneath J.S Haley and S.T William.1998. Bergey's Manual of Determinant 40 Bacteriolgy. Ninth Edition. Wiliam and Wilkins A. Waterly Company, USA.

Jaedun. A. 2011. Metode Penelitian Eksperimen.*diktat pelatihan penulisan ilmiah LPMP Daerah Istimewa Yogyakarta.*

Kordi K. 2004. Penanggulangan Hama Penyakit Ikan. PT Rhineka Cipta : Jakarta.

Laith, A.R dan Najiah. 2013. *Aeromonas hydrophila* Antimikrobial Susceptibility and hystopathology of isolates from deseased catfish, Clarias gariepinus (Burchell). *Journal Aquaculture Reset Developement*. **5**(2): 1-7.

Mangunwardoyo. W., Ismayasari, R dan E. Riani. 2010. Uji patogenitas dan virulensi *Aeromonas hydrophila* stanier pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) melalui postulat koch. *Jurnal Riset Akuakultur*. **5**(2): 245-255.

Mulyani. Y., Bachtiar, E dan M.U. Kurnia A. 2013. Peranan Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Mangrove Terhadap Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Jurnal Akuatika.* **4**(1): 1-9.

Noverita., Fitria, D dan E. Sinaga. 2009. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit Daun dan Rimpang *Zingiber attensi* Val. *Jurnal Farmasi Indonesia.* **4**(4): 171-176.

Nugraha. A. 2013. Bioaktivitas Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap *Eschericia coli* Penyebab Kolibasilosis Pada Babi. Tesis. Program Magister Program Studi Kedokteran Hewan Program Pascasarjana Universitas Udayana : Denpasar

Pelezar M. J dan E.C.S Chan. 1988. Dasar – dasar Mikrobiologi. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press): Jakarta.

Saputra, I., Prihandini, G., Zullaikah, S dan M Rachimoellah. 2013. Ekstraksi Senyawa Bioactiv Dari Daun Moringa Oleifera. *Jurnal Teknik Pomits.**2***(1): 1-5.

Sastrosupadi. A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian Edisi Revisi. Penerbit Kanisius : Yogyakarta.

Sulistyawati. R., B.R.M. E. Delima dan E.K. Sari. 2009. Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Bioaktif Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Akademi Analis Farmasi Makanan Dan Minuman Al Islam : Yogyakarta.

Rohyani. IS., 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.

Trubus. 2013. Trubus info kit : 100 Plus Herbal Indonesia, Bukti Ilmiah & Racikan Vol : 11. PT Trubus Swadaya: Depok.

Yanti. M.L..2010. Uji Efek Antipiretik Infusa Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Pada Kelinci Putih Jantan Galur New Zealand. Skripsi.Fakultas Farmasi. Universitas muhammadiyah Surakarta : Surakarta.

Yuningsih. 2005. Keberadaan Residu Antibiotika Dalam Produk Peternakan (Susu dan Daging). Balai Penelitian Veteriner.

Wahyuni, S., Asrikan. M.A., Sabana, M.C.U., Sahara, W.N.U., Murtiningsih, T., dan R. Putriningru. 2013. Uji Manfaat Daun Kelor (*Moringa Aloifera Lamk*) Untuk Mengobati Penyakit Hepatitis B. *Jurnal KesMaDaSka* : 99-103.

Waterman, C., Cheng, B.M., Silva, P.R., Poulev, A., Dreifus, J., Lila, M.a and I. Raskin. Stable, Water Extrable Isothiocyanates From *Moringa oleifera* Leaves Attenuate Inflammation *In Vitro*. *Phytochemistry*. **103**: 114-122

Wulandari, D., Sarwiyono., dan P. Suryowardoyo. 2014. Daya Hambat Ekstrak Daun Kelor Dengan Pelarut Etanol Dan Dekok Daun Kelor *(Moringa Oleifera)* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Agalactiae* Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat – alat Penelitian

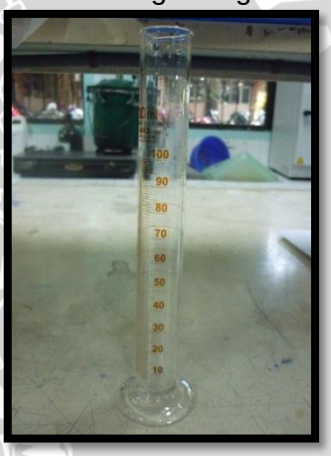
Gunting

Blender

Timbangan Digital

Corong

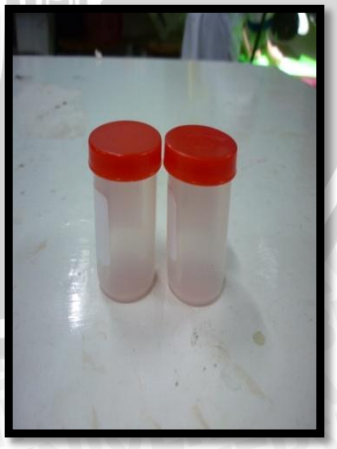
Elemeyer



Gelas Ukur

Rotary evaporator

Spatula



Botol Vial

Lampiran 1 (Lanjutan)

Lemari Pendingin

Autoklaf

Vortex Mixer

Tabung Reaksi

Mikropipet 100 – 1000 µl

Jarum Ose

Sendok Bahan

Bunsen

Washing Bottle

Lampiran 1 (Lanjutan)

Rak Tabung Reaksi

Inkubator

Jangka Sorong

Pinset

Cawan Petri

Blue tip

Laminary Air Flow

Hot plate

spektofotometer

Lampiran 1 (Lanjutan)

Pipet Volume

Nampan

Sprayer

Timbangan Analitik

Lampiran 2. Bahan – bahan Penelitian

Daun Kelor (*M. oleifera*)

Etanol 70%

Kertas Saring

Alumunium Foil

Kertas Label

Kapas

Kertas

Lampiran 2 (Lanjutan)

Tali

Bakteri *A. hydrophila*

Media NA *(Nutrient Agar)*

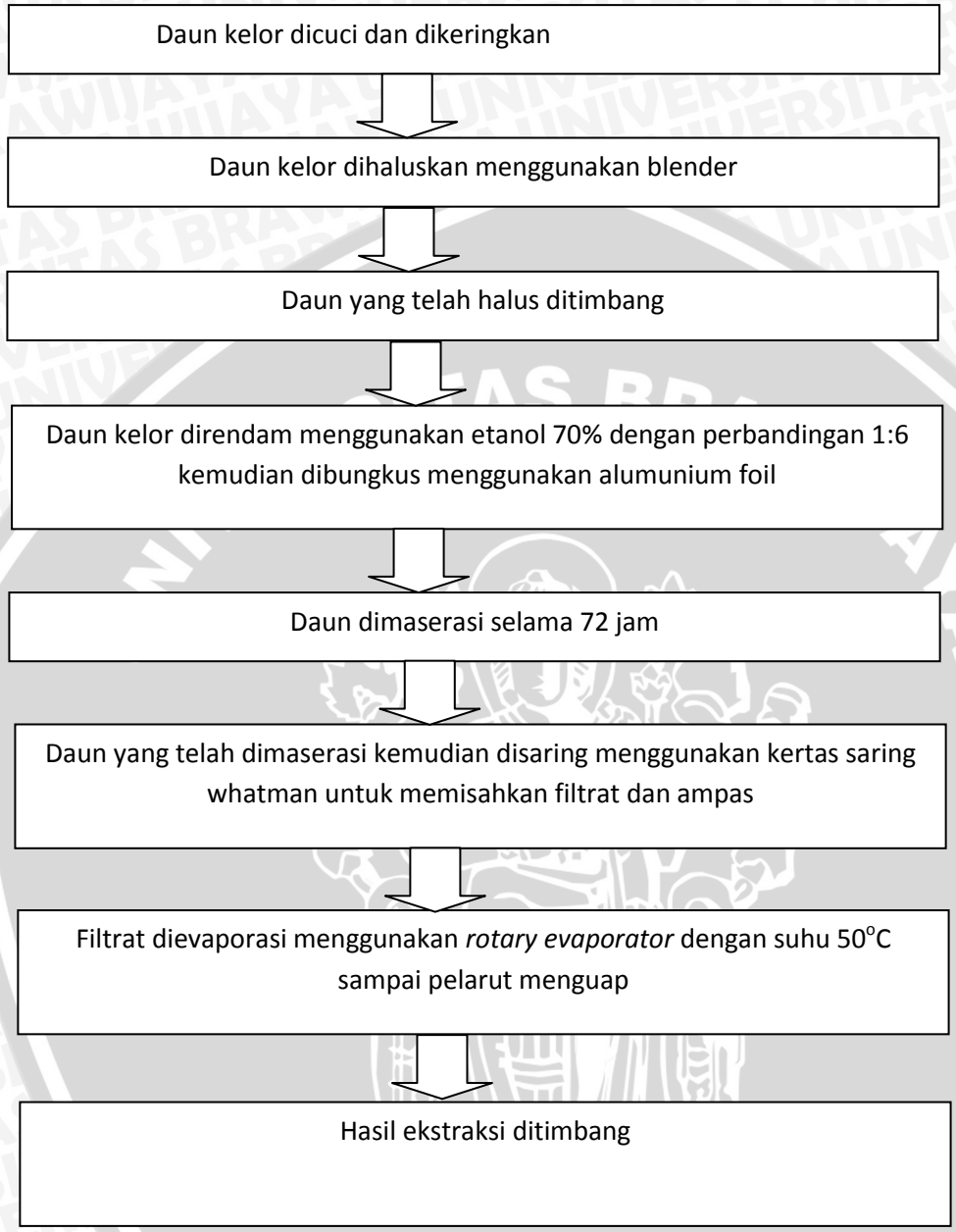
Media TSA*(Tryptic Soy Agar)*

Na-fisiologis

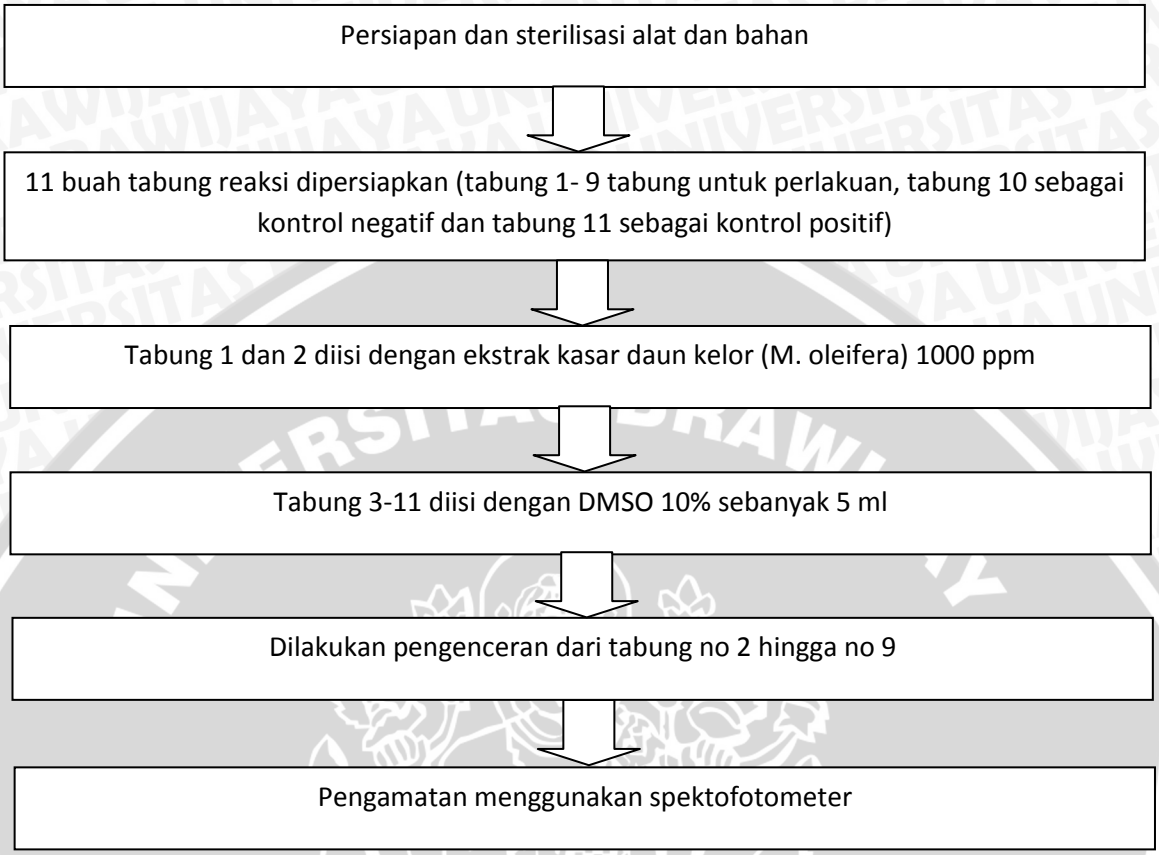
DMSO

Aquadest

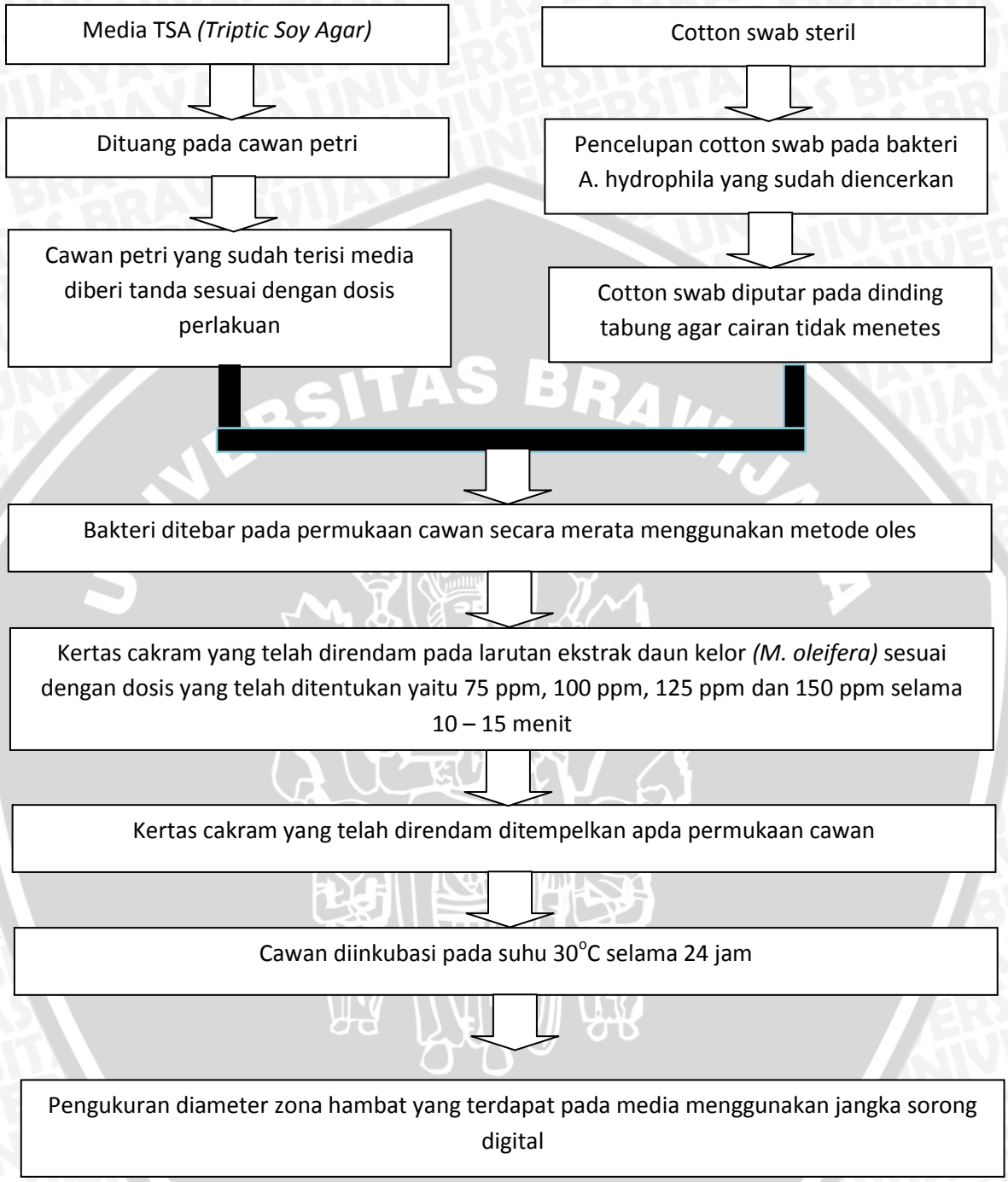
Lampiran 3. Proses Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Kelor



Lampiran 4. Skema Kerja uji MIC *(Minimum Inhibiting Concentration)*



Lampiran 5. Skema Kerja Uji Cakram



Lampiran 6. Perhitungan Statistik Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Kelor (*M. oleifera*)

Data Hasil Pengamatan Zona Bening setelah pemberian ekstrak kasar daun kelor *(M. oleifera)* terhadap bakteri *A. hydrophila*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± Standar Deviasi
	1	2	3		
A (75 ppm)	2,92	2,3567	3,3467	8,6234	2,8745 ± 0,4966
B (100 ppm)	3,7433	4,5267	4,92	13,19	4,3967 ± 0,5990
C (125 ppm)	7,81	7,02	6,3033	21,1333	7,0444 ± 0,7536
D (150 ppm)	9,02	9,3833	9,3033	27,7066	9,2355 ± 0,1909

Perhitungan		
FK		415,9907
JK TOTAL	**$(A1^2+A2^2+A3^2+.... + D3^2)$- FK**	73,9660
JK PERLAKUAN	$\frac{\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - FK$	71,5463
JK ACAK	**JK total – JK perlakuan**	2,4197
KT ACAK	**JK/db Acak**	0,3025
KT PERLAKUAN	**JK/db Perlakuan**	23,8488

Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	**db**	**JK**	**KT**	**F. Hit**	**F 5%**	**F 1%**
Perlakuan	**3**	71,5463	23,8488	78,8492**	**4,07**	**7,59**
Acak	**8**	2,4197	0,3025			
Total	**11**	73,9660				

F 5% < F.hitung> F 1% = berbeda sangat nyata

Keterangan :

** = Berbeda sangat nyata

Lampiran 6 (Lanjutan)

Perhitungan Uji BNT

SED	$\sqrt{\frac{2 \text{ X } KT\ acak}{3}}$	0,7332
BNT 5%	**T tabel 5% (db acak) x SED**	1,3638
BNT 1%	**T tabel 1% (db acak) x SED**	**2,1263**

Tabel Uji BNT

Rerata	A	B	C	D	Notasi
	2,8745	4,3967	7,0444	9,2355	
A (**2,8745**)	**-**				**a**
B (**4,3967**)	1,5222*	**-**			**b**
C (**7,0444**)	4,1700**	2,6478**	**-**		**c**
D (**9,2355**)	6,3611**	4,8389**	2,1911**	**-**	**d**

Keterangan :

ns : Tidak berbeda nyata

* : Berbeda nyata

** : Berbeda sangat nyata

Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	**kuadratik**	**Kubik**
A	8,6234	**-3**	**1**	**-1**
B	13,19	**-1**	**-1**	**3**
C	21,1333	**1**	**-1**	**-3**
D	27,7066	**3**	**1**	**1**
Q=∑Ci*Ti		**65,1929**	**2,0067**	**-4,7467**
Hasil kuadrat		**20**	**4**	**20**
Kr = (∑ci^2)*r		**60**	**12**	**60**
JK = Q^2/ Kr		**70,8352368**	**0,33557041**	**0,37551935**

Total JK regresi = 71,54633

Lampiran 6 (Lanjutan)

Tabel Analisa Keragaman

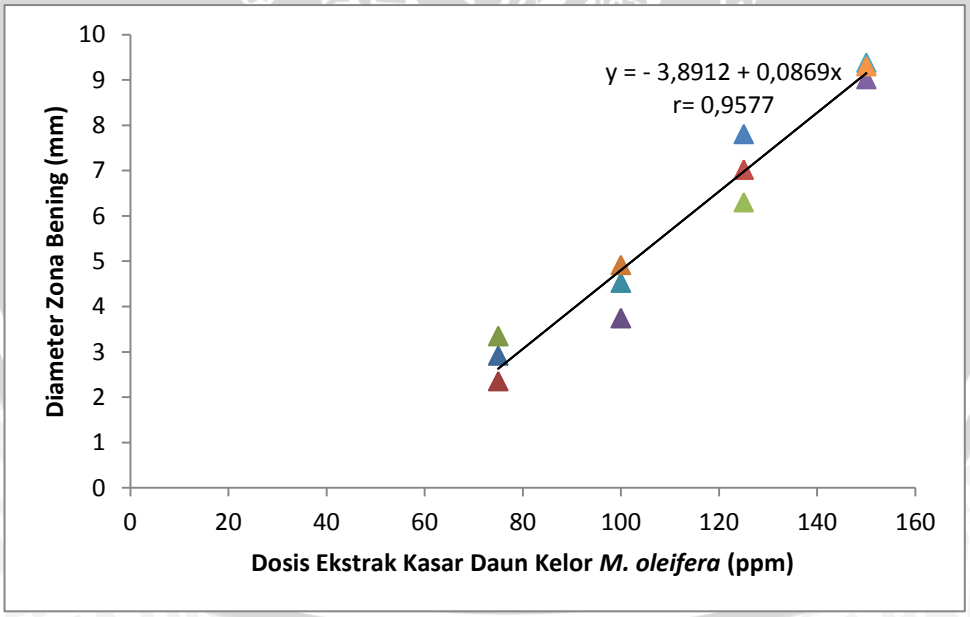
Sumber keragaman	Db	JK	KT	Fhitung	F 5%	F1%
Perlakuan	**3**	71,5463	**--**	**-**	**4, 07%**	**7,59%**
Linier	**1**	**70,8352368**	**70,8352368**	**234,1661****		
Kuadratik	**1**	**0,33557041**	**0,33557041**	**1,1093**		
Kubik	**1**	**0,37551935**	**0,37551935**	**1,2414**		
Acak	**8**	2,4197	**0,3025**			
Total	**11**					

R^2 Linier = JK linier / (JK Linier + JK Acak) = 0,9670

R^2 Kuadratik = JK kuadratik / (JK kuadratik + JK Acak) = 0,1218

R^2 Kubik = JK Kubik / (JK kubik + JK acak) = 0,1343

Nilai regresi linier lebih besar dibanding nilai regresi kuadratik dan nilai regresi kubik sehingga grafik yang dibuat berupa grafik linier.



Lampiran 6 (Lanjutan)

Tabel Nilai X dan Y pada Grafik Regresi Hubungan Dosis Ekstrak Kasar Daun Kelor *(M. oleifera)* Terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *A. hydrophila*

X	Y
75	2,92
75	2,3567
75	3,3467
100	3,7433
100	4,5267
100	4,92
125	7,81
125	7,02
125	6,3033
150	9,02
150	9,3833
150	9,3033

Keterangan :

X = konsentrasi ekstrak (ppm)

Y = Zona hambat (mm)