

repository.ub.ac.id

UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK KASAR DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA IN VITRO

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

Oleh :

**ALFAITAH LAUVA
NIM. 125080507111020**



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



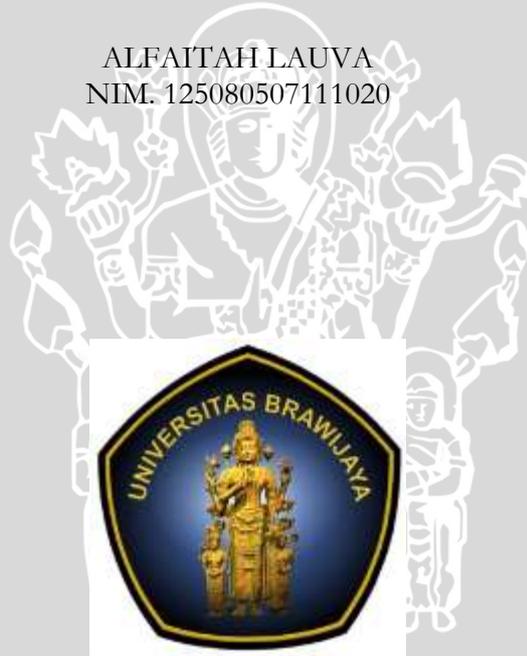
UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK KASAR DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus*)
TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA *IN VITRO*

ARTIKEL 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 :

ALFAITAH LAUVA
NIM. 125080507111020



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016

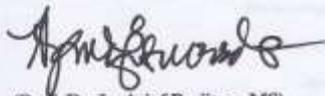
ARTIKEL SKRIPSI

UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK KASAR DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA *IN VITRO*

Oleh :
ALFAITAH LAUVA
NIM. 125080507111020

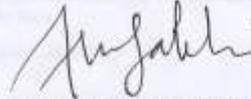
telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 02 Agustus 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I



(Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS)
NIP. 19550213 198403 1 001
Tanggal : 18 AUG 2016

Dosen Pembimbing II



(M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc)
NIP. 19860717 201504 1 001
Tanggal : 18 AUG 2016



(Dr. Ir. Atang Wahyu Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal : 18 AUG 2016

UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK KASAR DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA *IN VITRO*

Alfaitah Lauva¹, Arief Prajitno², M. Fakhri²

ABSTRAK

Pseudomonas fluorescens merupakan kendala utama dalam produksi air tawar di Indonesia. Kenikir (*C. caudatus*) adalah tanaman obat yang telah diketahui mempunyai aktivitas antibakterial seperti flavonoid, saponin dan minyak atsiri dan bersifat ramah lingkungan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menjelaskan pengaruh pemberian ekstrak daun kenikir (*C. caudatus*) terhadap pertumbuhan *P. fluorescens* dan untuk menentukan dosis terbaik dalam menghambat pertumbuhan *P. fluorescens*. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 2 kontrol. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun kenikir (*C. caudatus*) dengan dosis berbeda (10 ppt, 20 ppt, 30 ppt, 40 ppt dan 50 ppt) dapat menghambat *P. fluorescens* dengan rata-rata diameter zona hambat yaitu $(4,61 \pm 0,76 \text{ mm} - 10,82 \pm 0,28 \text{ mm})$. Peningkatan dosis ekstrak menghasilkan zona hambat yang semakin meningkat. Dosis ekstrak sebesar 50 ppt merupakan dosis efektif yang dapat menghambat aktivitas *P. fluorescens* dalam penelitian ini. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *C. caudatus* merupakan alternatif yang potensial untuk mengendalikan *P. fluorescens* dalam budidaya ikan air tawar.

Kata kunci: *Pseudomonas fluorescens*, ekstrak kasar daun kenikir, zona hambat

¹ Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang

² Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang

Effectiveness Test Of Raw Extract Kenikir Leaf (*Cosmos caudatus*) To *Pseudomonas fluorescens* By *In Vitro*

Alfaitah Lauva¹, Arief Prajitno², M. Fakhri²

Abstract

Pseudomonas fluorescens is known as the main problem in fresh water production in Indonesia. Kenikir (*C. Caudatus*) is a natural medicinal plant which has been known to have antibacterial activity such as saponin, flavonoid and atsiri oil that are environmentally friendly. The purpose of this study was to explain the effect of *C. caudatus* leaves on the growth of *P. fluorescens* and to determine the best dose to inhibit the growth of *P. fluorescens*. The method which can be used is experimental method by using the research design of Completely Randomized Design (RAL) with 5 treatment and 2 control. The results showed that ethanol extract of *C. caudatus* at various doses (10 ppt, 20 ppt, 30 ppt, 40 ppt and 50 ppt) exhibited anti- *P. fluorescens* activity with inhibition zone diameters in the range of $(4,61 \pm 0,76 \text{ mm} - 10,82 \pm 0,28 \text{ mm})$. Increasing extract dose results to increased the inhibition zone. The extract dose of 20 ppt exhibited effective anti- *P. fluorescens* activity in this study. These results suggested that *C. caudatus* is a potential source of alternative substance for controlling *P. fluorescens* in fresh water fishculture.

Keyword: *Pseudomonas fluorescens*, Raw extract Kenikir leaf, resistivity

¹ Student of Fisheries and Marine Science Faculty, University of Brawijaya Malang

² Lecturer of Fisheries and Marine Science Faculty, University of Brawijaya Malang

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam meningkatkan produksi perikanan, salah satu penyebab utama gagalnya kegiatan

budidaya ikan adalah adanya penyakit. Munculnya gangguan penyakit pada kegiatan budidaya ikan merupakan resiko yang harus diantisipasi. Seringkali penyakit yang menyerang

dapat menyebabkan kematian masal pada ikan budidaya. Timbulnya penyakit dapat disebabkan karena kondisi perairan yang kurang baik, kualitas pakan yang kurang, maupun kualitas induk yang kurang baik (Afrianto dan Liviawaty, 2005). Menurut Mastan (2013), *Pseudomonas fluorescens* biasanya ditemukan dalam air, tanah dan pada tubuh ikan. Bakteri ini merupakan patogen budidaya yang dapat menginfeksi banyak spesies ikan, termasuk ikan koi India, ikan mas dan ikan flounder Jepang. Infeksi *Pseudomonas* pada ikan menyebabkan penyakit *Red Skin*, yang terjadi sepanjang tahun terutama ketika ikan terluka oleh penanganan yang kurang tepat serta luka fisik selama transportasi. Karena kurangnya sarana yang efektif untuk pengendalian penyakit yang sering menyebabkan kematian yang tinggi, sehingga dapat menyebabkan kerugian yang besar.

Permasalahan penyakit yang disebabkan bakteri patogen dapat diatasi dengan pemberian antibiotik untuk menghilangkan penyakit. Akan tetapi penggunaan antibiotik yang berkepanjangan dapat berdampak, yaitu bertambahnya jenis bakteri yang resisten terhadap antibiotik dan 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 tetapi murah, tidak menyebabkan resisten terhadap bakteri dan ramah lingkungan. Berdasarkan permasalahan tersebut, maka diperlukan suatu obat alternatif sebagai antibakteri untuk menggantikan penggunaan antibiotik yang lebih aman untuk lingkungan serta tidak bersifat resisten terhadap bakteri. Salah satu alternatif pemecahannya yaitu dengan

menggunakan obat tradisional (Sumino, Supriyadi, dan Wardianto, 2013).

Indonesia memiliki banyak jenis tanaman yang berpotensi sebagai obat, salah satunya yaitu kenikir. Menurut Hariana (2013), daun kenikir merupakan bahan alami memiliki memiliki potensi antibakteri karena mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri. Senyawa aktif tersebut dapat mengganggu permeabilitas membran sel, mengganggu pembentukan peptidoglikan (dinding sel), mendenaturasi protein dan inaktivasi enzim pada sel bakteri (Harborne, 1987; Robinson, 1995; Ajizah, 2004; Parhusip, 2006).

1.2 Rumusan Masalah

Penyakit merupakan salah satu kendala dalam kegiatan budidaya dan salah satu penyebabnya yaitu adanya patogen penyakit seperti bakteri *P. fluorescens* merupakan salah satu bakteri yang menimbulkan berbagai penyakit pada ikan air tawar. Penggunaan antibiotik serta obat – obat kimia untuk mengatasi hal tersebut dapat bersifat resisten terhadap bakteri serta dapat membahayakan lingkungan perairan. Oleh karena itu diperlukan suatu bahan alami sebagai pengganti antibiotik yang lebih aman bagi lingkungan perairan yaitu dengan menggunakan ekstrak kasar daun kenikir (*C. caudatus*) yang mengandung senyawa flavonoid dan saponin yang merupakan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan latar belakang di atas maka didapatkan perumusan masalah sebagai berikut:

- Apakah pemberian ekstrak kasar daun kenikir (*C. caudatus*) dengan dosis yang berbeda dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* ?
- Berapakah dosis yang tepat terhadap pemberian ekstrak kasar daun kenikir (*C.*

caudatus) untuk menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

- Untuk mengetahui pengaruh ekstrak kasar daun kenikir (*C. caudatus*) dalam menghambat bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*.
- Untuk mengetahui dosis terbaik ekstrak kasar daun kenikir (*C. caudatus*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang dapat diambil dari penelitian ini antara lain:

H₀ :Pemberian ekstrak kasar daun kenikir (*C. caudatus*) dengan dosis yang berbeda tidak mempengaruhi daya hambat dari bakteri *P. fluorescens*

H₁ :Pemberian ekstrak kasar daun kenikir (*C. caudatus*) dengan dosis yang berbeda dapat mempengaruhi daya hambat dari bakteri *P. fluorescens*.

1.5 Tempat dan Waktu

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

2. MATERI DAN METODE PENELITIAN

2.1 Materi Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain blender, gunting, gelas ukur, corong, *autoclave*, timbangan analitik, timbangan digital, *micropipette*, lemari pendingin, *hot plate*, cawan petri, *Laminar Air Flow* (LAF), jarum *osse*, toples kaca, vortex, tabung reaksi, rak tabung, erlemeyer, pinset, inkubator, jarum *osse*, oven,

bunsen, *sprayer*, bunsen, *Rotary Vacuum Evaporat...* (RVE), *blue tip*, spatula, nampan, cawan petri, vortex, toples kaca, botol film.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun kenikir (*C. caudatus*) yang diperoleh dari Kabupaten Batu, Jawa Timur sebanyak 1 kg, bakteri *P. fluorescens* yang diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Jawa Tengah, *Pseudomonas Selective Agar* (PSA), *Tryptic Soy Agar* (TSA), alkohol 70%, DMSO 10%, etanol 96%, akuades, spirtus, kertas saring, tali, *aluminium foil*, koran, kertas cakram ukuran 6 mm, kertas label, kapas, tisu,

2.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Adapun perlakuan tersebut adalah sebagai berikut:

- 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

Parameter utama dalam penelitian ini adalah diameter daya hambat bakteri *P. fluorescens* (mm), sedangkan parameter penunjang dalam penelitian ini adalah suhu inkubasi, pH media dan lama waktu perendaman kertas cakram.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Kenikir

Proses pembuatan ekstrak kasar daun kenikir dimulai dengan mendapatkan daun kenikir dari Balai Medika Tanaman Obat Batu, Jawa Timur sebanyak 1 kg. Selanjutnya, dikeringkan dengan cara dioven, suhu yang digunakan pada saat pengovenan yaitu 40 – 50°C, lalu dilakukan proses penggilingan dengan

menggunakan blender, setelah itu dilakukan persiapan perendaman (maserasi) serbuk daun kenikir sebanyak 200 gram dimaserasi dalam larutan etanol 96% sebanyak 1 liter dengan perbandingan 1 : 5 selama 3 x 24 jam dilakukan pada suhu kamar. Selanjutnya larutan yang sudah didapat kemudian disaring menggunakan kertas saring, lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* (RVE) dan didapatkan ekstrak daun kenikir berupa pasta sebanyak 13, 87 gram.

Prosedur maserasi Menurut Dwiyanti, Ibrahim dan Trimulyono (2014), mencuci bersih daun kenikir segar sebanyak 10 kg lalu dikeringkan dan dibolak-balik secara berkala. Daun kenikir kering kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk halus (*simplisia*). *Simplisia* dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sampai 3 kali masing-masing selama 24 jam. Perbandingan antara *simplisia* dan pelarut yaitu 1:3. Filtrat dan ampas dipisahkan. Filtrat dikumpulkan untuk di evaporasi menggunakan *Rotary Vacuum Evaporator* (RVE).

Pembuatan Media

A. *Pseudomonas Selective Agar* (PSA)

Media PSA ditimbang sebanyak 7 gram dengan menggunakan timbangan digital, kemudian dilarutkan dalam 280 ml aquades. Selanjutnya media dimasukkan dalam Erlenmeyer dan dipanaskan diatas *hot plate* sampai tercampur rata, erlenmeyer ditutup dengan kapas/*aluminium foil*, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit media selanjutnya dituang ke cawan petri. Media yang tidak langsung digunakan dapat di simpan dalam lemari pendingin.

B. *Tryptic Soy Broth* (TSB)

TSB merupakan media yang digunakan untuk kultur bakteri *P. fluorescens*. Langkah awal yang dilakukan yaitu menghomogenkan 1,5 gram TSB ke dalam 10 ml akuades di dalam

erlenmeyer, lalu ditutup kapas dan *aluminium foil* kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah sterilisasi selesai media dibiarkan dingin karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.

2.3.2 Pemiakan Bakteri *P. fluorescens*

Pebiakan bakteri *P. fluorescens* pada media TSB dilakukan dengan disiapkan larutan media TSB sebanyak 10 ml pada erlenmeyer yang telah dingin. Lalu jarum *osse* dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum ose disentuhkan kebiakan murni *P. fluorescens* kemudian dicelupkan ke dalam larutan TSB. Ditunggu hingga 12-24 jam dalam inkubator pada suhu 33°C. Setelah 24 jam, media TSB akan berubah menjadi keruh yang menandakan bahwa bakteri telah tumbuh, lalu dicocokkan kekeruhannya berdasarkan kepadatan bakteri pada Mc. Farland. Hasil dari Mc Farland yaitu 10⁸ sel/ml.

2.3.3 Uji Cakram

Pelaksanaan uji cakram ini dimulai dengan menyiapkan cawan petri yang sudah terdapat media PSA sebanyak 0,8 gram. Selanjutnya menyiapkan berbagai dosis ekstrak kasar daun kenikir yang akan diujikan untuk mengetahui daya hambatnya.

Uji cakram selanjutnya dilakukan penanaman bakteri pada media PSA dengan menggunakan metode sebar kemudian diratakan pada seluruh permukaan media agar hingga merata. Direndam kertas cakram steril ukuran 6 mm ke dalam ekstrak kasar daun kenikir (*C. candatus*) selama 15 menit berdasarkan dosis perlakuan yang telah ditentukan, kemudian kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak kasar daun kenikir (*C. candatus*) ditiriskan dan diletakkan pada permukaan lempeng agar. Jarak kertas cakram dengan tepi cawan petri tidak

boleh kurang dari 15 mm. Jika jumlah kertas cakram lebih dari satu, maka jarak antar cakram tidak boleh kurang dari 24 mm dan saat meletakkan kertas cakram tidak boleh bergeser, karena mengurangi validasi pengukuran.

Dibaca hasil setelah diinkubasi pada suhu ruang 33°C selama 24 jam dengan mengukur diameter daya hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong digital. Penanaman bakteri ini dilakukan pada *laminar air flow* dengan kondisi yang tetap steril agar tidak terkontaminasi.

Analisa Data

Berdasarkan hasil uji daya hambat (zona bening) ekstrak kasar daun kenikir terhadap bakteri *P. fluorescens* maka dilakukan analisis secara statistik dengan menggunakan sidik ragam atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur atau uji F.

Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan perbedaan antar dua perlakuan. Kemudian untuk mengetahui hubungan antar perlakuan dengan diameter zona hambat digunakan uji polynomial orthogonal yang memberikan keterangan mengenai pengaruh keterangan terbaik.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Uji Cakram

Untuk mengetahui daya antibakterial dari ekstrak maka dilakukan uji daya hambat dengan menggunakan kertas cakram. Daya hambat atau zona bening ditunjukkan dengan tidak ditumbuhinya bakteri *P. fluorescens* di sekitar kertas cakram yang sudah direndam oleh ekstrak dengan dosis yang berbeda-beda. Adanya zona bening ini diduga karena ekstrak memiliki

senyawa antibakterial yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Penelitian ini menggunakan dosis antara lain A (10 ppt), B (20 ppt), C (30 ppt), D (40 ppt) dan E (50 ppt). Penentuan dosis ini didasarkan pada penelitian pendahuluan. Dari kelima dosis yang diujikan menunjukkan adanya zona bening disekitar kertas cakram yang telah direndam dengan ekstrak kasar daun kenikir.

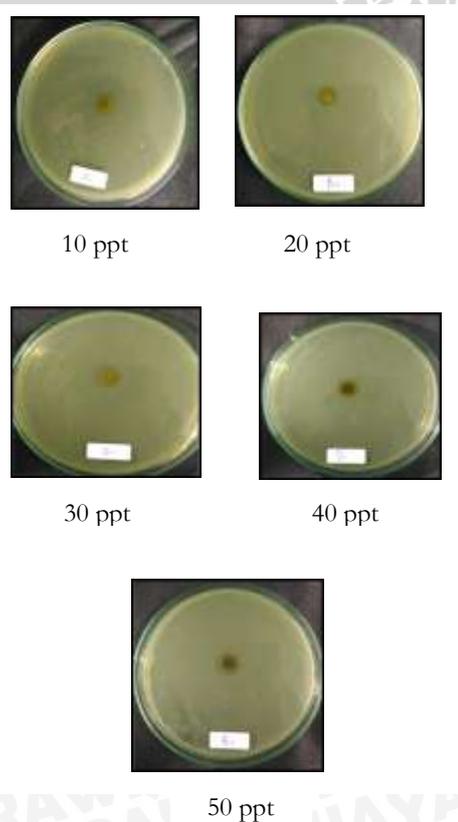
Pada penelitian ini didapatkan hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yang diukur dalam satuan mm rata-rata diameter daya hambat disajikan pada Tabel 1 dan gambar hasil uji cakram pada Gambar 1.

Perlakuan	Ulangan			Total (mm)	Rata-rata (mm)
	1	2	3		
A (10 ppt)	3,74	5,06	5,05	13,85	4,61±0,76
B (20 ppt)	6,69	6,63	7,96	21,28	7,09±0,75
C (30 ppt)	7,4	8,42	8,02	23,84	7,94±0,51
D (40 ppt)	9,06	8,62	9,2	26,88	8,96±0,30
E (50 ppt)	10,69	10,63	11,16	32,48	10,82±0,29
Total				118,33	

Tabel 1. Hasil Rata-Rata Pengamatan Zona Bening

Tabel di atas menunjukkan hasil pengukuran diameter daya hambat ekstrak kasar daun kenikir terhadap bakteri *P. fluorescens*. Hasil rata-rata diameter daya hambat terbesar yaitu pada perlakuan E (50 ppt) sebesar $10,82 \pm 0,29$ mm, dan hasil rata - rata diameter daya hambat terendah pada perlakuan A (10 ppt) yaitu sebesar $4,61 \pm 0,76$ mm. Berdasarkan uji daya hambat ekstrak kasar daun kenikir dapat dilihat bahwa semakin tinggi perlakuan yang diberikan, maka zona hambat atau zona bening yang terbentuk semakin melebar. Pernyataan tersebut sesuai dengan pendapat Katno, Sari dan Agus (2009), diameter zona bening atau zona hambat yang

dihasilkan oleh suatu ekstrak berbanding lurus dengan jumlah dosis ekstrak yang digunakan, sehingga perbedaan besar kecilnya zona bening atau zona hambat yang dihasilkan masing - masing dosis berbanding dengan jumlah bahan aktif yang digunakan. Menurut Purwanto (2015), selain faktor dosis, jenis bahan antimikroba juga menentukan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri. Perbedaan besarnya hambatan untuk masing – masing dosis dapat disebabkan oleh perbedaan besar kecilnya dosis, banyak sedikitnya kandungan zat aktif antimikroba yang terkandung dalam ekstrak, kecepatan difusi bahan antimikroba ke dalam medium dan inkubasi, pH lingkungan, komponen media, ukuran inokulum, waktu inkubasi dan aktivitas metabolik mikroorganismenya.



Gambar 1. Gambar diameter daya hambat bakteri *P. fluorescens* (Dokumen Pribadi, 2016).

Hasil pengukuran diameter daya hambat dengan menggunakan jangka sorong digital setelah diinkubasi selama 24 jam. Penghambatan bakteri yang terjadi dimungkinkan karena adanya reaksi suatu senyawa kimia sebagai antibakteri. Senyawa flavonoid merupakan salah satu senyawa kimia yang terkandung dalam daun kenikir. Flavonoid mempunyai aktivitas antibakteri karena flavonoid mempunyai kemampuan berinteraksi dengan DNA bakteri dan menghambat fungsi membran sitoplasma bakteri dengan mengurangi fluiditas dari membran dalam dan membran luar sel bakteri. Akhirnya terjadi kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri membran dan membran tidak berfungsi sebagaimana mestinya, termasuk untuk melakukan perlekatan dengan substrat. Hasil interaksi tersebut menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom. Ion hidroksil secara kimia menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi sehingga menimbulkan efek toksik terhadap sel bakteri (Sudirman, 2014). Menurut Inneke, Rumengan, Rumampuk, Rimper dan Losung (2005), menyatakan bahwa respon hambat dari suatu bahan aktif dapat diklasifikasikan pada respon hambatan yang disajikan pada Tabel 2 sebagai berikut:

Tabel 2. Klasifikasi Respon Hambatan Menurut Inneke *et al.*, (2005)

No.	Diameter zona bening	Respon Hambatan
1.	< 5 mm	Lemah
2.	5 – 10 mm	Sedang
3.	11 – 20 mm	Kuat
4.	21 - 30 mm	Sangat kuat

Berdasarkan data, diketahui bahwa pada perlakuan A (10 ppt), B (20 ppt), C (30 ppt), D (40 ppt), E (50 ppt), termasuk kedalam klasifikasi

respon hambatan lemah karena hasil rata - rata zona bening yang dihasilkan < 5 mm. Kemudian dilanjutkan dengan perhitungan sidik ragam untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan. Hasil sidik ragam pengaruh pemberian ekstrak kasar daun kenikir dengan dosis yang berbeda terhadap bakteri *P. fluorescens* dapat dilihat pada Tabel 3.

Sumber Keragaman	Jumlah	Kuadrat	Tengah	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	63,36	15,84	50,11**	3,48	5,99
Acak	10	3,16	0,31			
Total	14					

Tabel 3. Hasil Perhitungan Sidik Ragam Diameter Daya Hambat Bakteri *P. fluorescens*. Keterangan : ** = Berbeda Sangat Nyata

Pada tabel sidik ragam didapatkan hasil bahwa uji daya hambat ekstrak kasar daun kenikir (*C. caudatus*) terhadap bakteri *P. fluorescens* berbeda sangat nyata. Hal ini dikarenakan nilai F hitung lebih besar dari pada nilai F 5% dan F 1% atau nilai dari 50,11 lebih besar dari nilai 3,48 dan 5,99. Maka H_0 ditolak yang berarti perlakuan tersebut berbeda sangat nyata. Selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, hasil perhitungan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	E	Notasi
A	4,61	-	-	-	-	-	a
B	7,09	2,48**	-	-	-	-	b
C	7,94	3,33**	0,85*	-	-	-	b
D	8,96	4,35**	1,67**	1,02*	-	-	c
E	10,82	6,21**	3,73**	2,88**	1,86**	-	d

Keterangan :

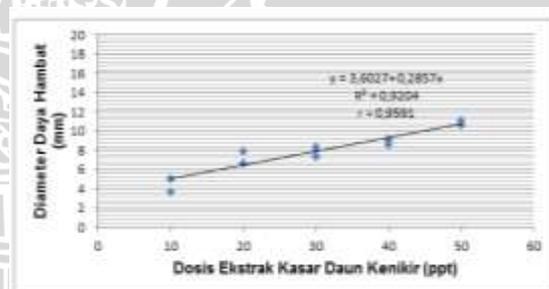
ns : tidak berbeda nyata

* : berbeda nyata

** : berbeda sangat nyata

Pada uji BNT (Tabel) didapatkan hasil bahwa perlakuan A (10 ppt) tidak memberi

pengaruh yang signifikan terhadap seluruh perlakuan sehingga diberi notasi a. Perlakuan B (20 ppt) memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata terhadap perlakuan A (10 ppt) sehingga diberi notasi b. Perlakuan C (30 ppt) berpengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A tetapi tidak berpengaruh terhadap perlakuan B, maka diberi notasi b. Perlakuan D (40 ppt) memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A dan B, dan memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap perlakuan C sehingga diberi notasi c. Sedangkan perlakuan E (50 ppt) memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap seluruh perlakuan sehingga diberi notasi d. Untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji yaitu daya hambat bakteri *P. fluorescens*, maka dilakukan uji polinomial orthogonal. Hasil perhitungan uji polinomial orthogonal yang berupa grafik disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Hubungan Daya Hambat antar Perlakuan Ekstrak Kasar Daun Kenikir (*C. caudatus*) terhadap Bakteri *V. harveyi*.

Berdasarkan Gambar 2 mengenai grafik hubungan zona hambat dosis ekstrak kasar daun kenikir terhadap bakteri *P. fluorescens* menghasilkan grafik hubungan secara linier dengan persamaan $y = 3,6027 + 0,2857x$ dengan koefisien nilai determinasi (R^2) sebesar 0,9204. Semakin besarnya dosis yang digunakan (10 ppt, 20 ppt, 30 ppt, 40 ppt, 50 ppt) akan diikuti dengan semakin besar zona hambat, hal ini

dikarenakan dengan dosis yang semakin tinggi akan diikuti oleh tingginya kandungan ekstrak kasar daun kenikir, hal ini sesuai dengan pendapat Katno, Sari dan Agus (2009), diameter zona bening atau zona hambat yang dihasilkan oleh suatu ekstrak tergantung dengan jumlah dosis ekstrak yang digunakan, semakin tinggi dosis yang digunakan maka jumlah bahan aktif juga semakin banyak sehingga akan berpengaruh terhadap besarnya diameter zona bening atau zona hambat. Besarnya zona bening atau zona hambat karena adanya jumlah kandungan dari bahan aktif yang terdapat pada suatu dosis yang digunakan semakin tinggi.

3.2 Parameter Penunjang

Pada penelitian ini parameter penunjang yang digunakan adalah suhu pada saat proses inkubasi, pH media dan lama perendaman kertas cakram. Proses pertumbuhan bakteri setelah ditanam dan diberi perlakuan dalam penelitian ini adalah di inkubasi selama 24 jam. Selama masa inkubasi tersebut, suhu yang digunakan adalah 33°C, pada suhu tersebut bakteri *P. fluorescens* sudah dapat tumbuh dengan baik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Prajitno (2005), suhu optimum yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio* berkisar antara 30°C - 35°C. Sedangkan pada suhu 40°C dan 45°C bakteri tidak dapat tumbuh serta pada suhu 55°C bakteri akan mengalami kematian.

Parameter penunjang yang kedua yaitu pH, merupakan parameter lingkungan yang harus diperhatikan untuk menunjang pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*. Hasil pengukuran pH pada media PSA menggunakan pH paper menunjukkan pH media sebesar 7. Hal ini didukung oleh pernyataan Pelczar dan Chan (2008), pada umumnya, pH optimum pada pertumbuhan bakteri yaitu 6,5 dan 7,5.

Parameter penunjang selanjutnya yaitu lama

perendaman kertas cakram. Ukuran kertas cakram yang digunakan yaitu 6 mm. Lama perendaman kertas cakram ini bertujuan agar ekstrak kasar daun kenikir (*C. caudatus*) benar-benar menyerap sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* dengan baik. Lama perendaman kertas cakram pada penelitian ini adalah 15 menit. Hal ini didukung oleh pernyataan Mutschler (1991), 15 menit merupakan waktu yang optimal karena ekstrak sudah menyerap dengan sempurna dalam kertas cakram, sehingga dapat disimpulkan bahwa pada waktu 15 menit adalah lama perendaman terbaik untuk mengetahui daya hambat bakteri *P. fluorescens* selama inkubasi.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak daun kenikir berpengaruh sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* dan didapatkan dosis efektif dari pemberian ekstrak kasar daun kenikir (*C. caudatus*) sebesar 50 ppt.

4.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan untuk menggunakan ekstrak kasar daun kenikir (*C. caudatus*) sebagai obat alami untuk menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* dengan dosis efektif yaitu 50 ppt, dan perlu dilakukan penelitian lanjutan secara *in vivo*

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto E., Liviawaty E. 2005. Penyakit Ikan. Swadaya. Jakarta. 220 hlm.
- Dwiyanti, W., I. Muslimin dan G. Trimulyono. 2014. Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* secara *in vitro*. LenteraBio. **3** (1): 1-5.

- Harborne JB, 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit.
- Hariana, A. 2013. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya. Jakarta. 411 hlm.
- Hatmanti, A. 2003. Penyakit Bakterial Pada Budidaya Krustasea serta Cara Penanganannya. *Oseana*. **28** (3): 1-10.
- Inneke, F.M., Rumengan, N.D Rumampuk, J. Rimper dan F. Losung. 2014. Produksi dan Uji Aktivitas Antimikroba Senyawa Bioaktif yang Diekstrak dari Rotifer (*Brachionus rotundiformis*) Strain Lokal. *Jurnal LPPM Bidang Sain dan Teknologi*. **1** (1): 1-15.
- Katno., S. Haryanti dan A. Triyono. 2009. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Sembung (*Blumea balsamifera*(L.) DC.) terhadap Pertumbuhan Mikroba *E. coli*, *S. aureus* dan *C. albicans*. *Jurnal Tanaman Obat Tradisional*. **2** (1): 33 – 36.
- Mastan, S.A. 2013. Pseudomonas Septicemia in *Labeo Rohita* (Ham.) and *Cyprinus Carpio* (Linn.) in Andra-Natural Occurrence and Artificial Challenge. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. **5** (2): 564-568.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat*. Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi. ITB. Bandung. 205 hlm.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S Chan. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Uji Press. Jakarta. 443 hlm.
- Prajitno, A. 2005. *Diktat Kuliah Parasit dan Penyakit Ikan*. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 104 hlm.
- Purwanto, Sigit. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma matabatricum* L.) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Keperawatan Sriwijaya*. **2** (2):1-9.
- Sudirman, T. A. 2014. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara *in vitro*. *Skripsi*. FKG Universitas Hasanuddin. Makassar. 66 hlm.
- Sumino, Supriyadi A, Wardiyanto. 2013. Efektivitas Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) untuk Pengobatan Infeksi *Aeromonas salmonicida* pada Ikan Patin (*Pangasionodon hypophthalmus*). *Jurnal Sain Veteriner*. **31**(1) : 126-421.

