

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana*) TERHADAP BAKTERI *Vibrio harveyi* SECARA IN VITRO

SKRIPSI

Oleh:

**DESSYANA INTAN AISYAH
NIM. 165080500111037**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

2020



PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana*) TERHADAP BAKTERI *Vibrio harveyi* SECARA IN VITRO

SKRIPSI

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

Oleh:

**DESSYANA INTAN AISYAH
NIM. 165080500111037**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG
2020**



SKRIPSI
PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana*) TERHADAP BAKTERI *Vibrio harveyi* SECARA *IN VITRO*

Oleh:
DESSYANA INTAN AISYAH
NIM. 165080500111037

Telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 1 Juli 2020
dan telah memenuhi syarat

Menyetujui,
Dosen Pembimbing 1

(Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS)
NIP. 19550213 198403 1 001
TANGGAL: 7/20/2020

Menyetujui,
Dosen Pembimbing 2

(Ir. Ellana Sanoesi, MP)
NIP. 19630924 199802 2 002
TANGGAL: 7/20/2020

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP



(Dr. Ir. M. Firdaus, MP.)
NIP. 19680919 200501 1 001
TANGGAL: 7 / 22 / 2020

IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* Secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Dessyana Intan Aisyah

NIM : 165080500111037

Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING

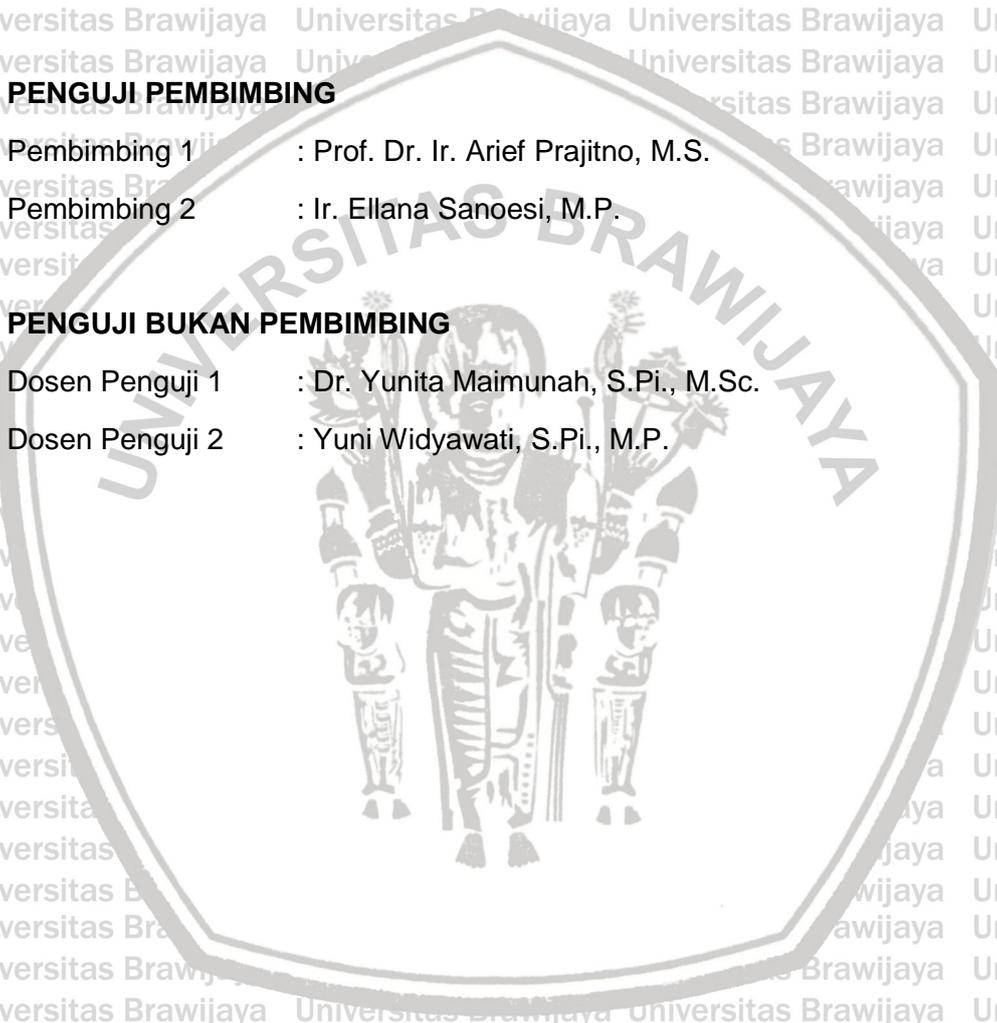
Pembimbing 1 : Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, M.S.

Pembimbing 2 : Ir. Ellana Sanoesi, M.P.

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Dosen Penguji 1 : Dr. Yunita Maimunah, S.Pi., M.Sc.

Dosen Penguji 2 : Yuni Widyawati, S.Pi., M.P.



RINGKASAN

DESSYANA INTAN AISYAH. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* Secara *In Vitro* (dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS** dan **Ir. Ellana Sanoesi, MP**)

Budidaya atau akuakultur adalah salah satu subsektor dalam ruang lingkup bidang perikanan dan kelautan. Prospektifnya pasar untuk ikan dapat dilihat dari terus meningkatnya jumlah dan makin sadarnya konsumen untuk mengkonsumsi ikan. Salah satu penyebab utama gagalnya kegiatan budidaya adalah faktor penyakit. Penyakit adalah segala bentuk penyimpangan yang dapat menyebabkan ikan merasa terganggu kehidupannya. Penyakit meliputi infeksi dan bukan infeksi. Penyakit infeksi merupakan masalah utama, yang meliputi penyakit-penyakit yang disebabkan oleh virus, bakteri, fungi, dan parasit. Penyakit vibriosis disebabkan oleh bakteri *Vibrio* spp. bakteri ini termasuk dalam famili Vibrionaceae yang mempunyai tubuh berbentuk batang dan mempunyai kemampuan untuk bergerak karena dilengkapi dengan flagel. Bakteri *Vibrio harveyi* secara umum ada di lingkungan sebagai bakteri saprofit, terutama di lingkungan perairan laut. Penanggulangan penyakit yang disebabkan *V. harveyi* dapat menggunakan bahan kimia dan antibiotik. Antibiotik dapat menyembuhkan penyakit akibat infeksi bakteri, dan penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat meningkatkan resistensi bakteri terhadap antibiotik. Resistensi antibiotik terjadi ketika bakteri penyebab infeksi tidak mati saat diberikan terapi antibiotik, yang diakibatkan karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat. Solusi dari permasalahan tersebut yaitu dengan penggunaan bahan-bahan alami sebagai zat imunostimulan dan antibakterial. Tanaman bidara yang dikenal dengan nama latin *Ziziphus mauritiana* merupakan salah satu tanaman yang memiliki banyak manfaat. Tanaman bidara memiliki kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, karotenoid, alkaloid, fenol, kuercetin, metil ester, terpenoid, saponin dan lain sebagainya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun bidara (*Z. mauritiana*) terhadap bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Parasit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Desember 2019-Februari 2020.

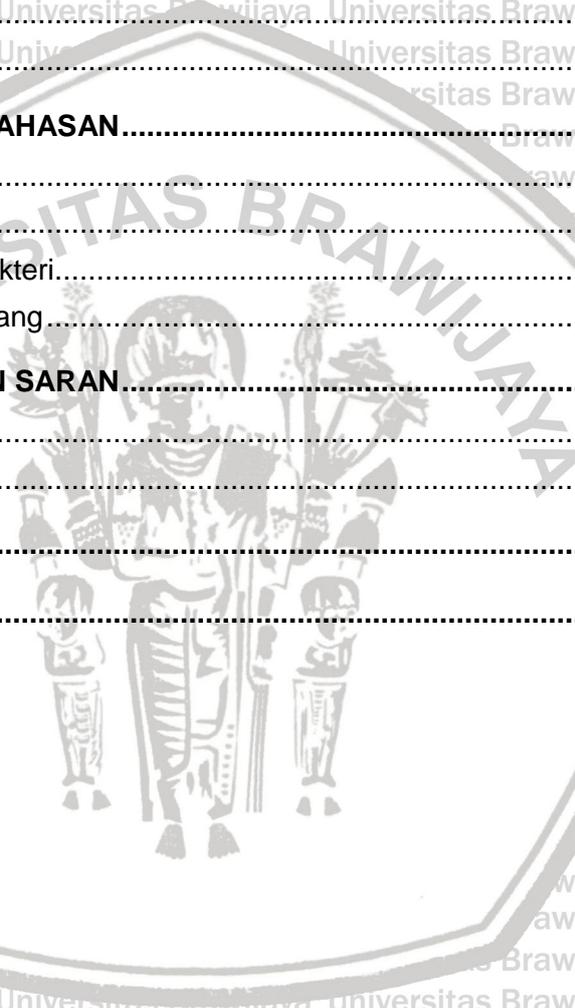
Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen merupakan metode penelitian yang menguji hipotesis berbentuk hubungan sebab-akibat melalui manipulasi variabel independen dan menguji perubahan yang diakibatkan oleh manipulasi. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 5 perlakuan dosis ekstrak kasar daun bidara (*Z. mauritiana*) yaitu 10 ppm, 60 ppm, 110 ppm, 160 ppm, dan 210 ppm. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali ulangan. Dosis terendah ekstrak kasar mulai menghambat pertumbuhan bakteri adalah perlakuan dosis 10 ppm dengan zona bening 8,58 mm sedangkan tertinggi pada perlakuan dosis 210 ppm dengan zona bening 9,99 mm. Penelitian ini menunjukkan pola linier dengan persamaan $y=8.48x+0.006993$ dan koefisien $R^2 = 0,811337$. Ekstrak kasar daun bidara (*Z. mauritiana*) bersifat bakteristatik dimana dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar daun bidara (*Z. mauritiana*) efektif digunakan sebagai alternatif antibakteri terhadap bakteri *V. harveyi*.

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan	6
1.4 Hipotesis.....	6
1.5 Kegunaan	6
1.6 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian.....	6
2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Biologi Tanaman Bidara (<i>Z. mauritiana</i>).....	7
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	7
2.1.2 Habitat dan Penyebaran.....	8
2.1.3 Kandungan dan Manfaat.....	9
2.2 Biologi Bakteri <i>V. harveyi</i>	10
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	10
2.2.2 Habitat dan Penyebaran	12
2.2.3 Pertumbuhan Bakteri	12
2.2.4 Infeksi Bakteri	14
2.3 Aktivitas Antibakteri	15
2.4 Uji Bakteri secara <i>In Vitro</i>	15
2.5 Ekstraksi.....	17
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	19
3.1 Materi Penelitian.....	19



3.1.1 Alat Penelitian.....	19
3.1.2 Bahan Penelitian.....	20
3.2 Metode Penelitian.....	21
3.3 Teknik Pengambilan Data.....	22
3.4 Rancangan Penelitian.....	22
3.5 Prosedur Penelitian.....	24
3.5.1 Persiapan Penelitian.....	24
3.5.2 Pelaksanaan Penelitian.....	27
3.6 Parameter Uji.....	28
3.7 Analisis Data.....	29
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1 Identifikasi Bakteri.....	30
4.2 Uji Cakram.....	31
4.3 Mekanisme Antibakteri.....	36
4.4 Parameter Penunjang.....	39
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN.....	47



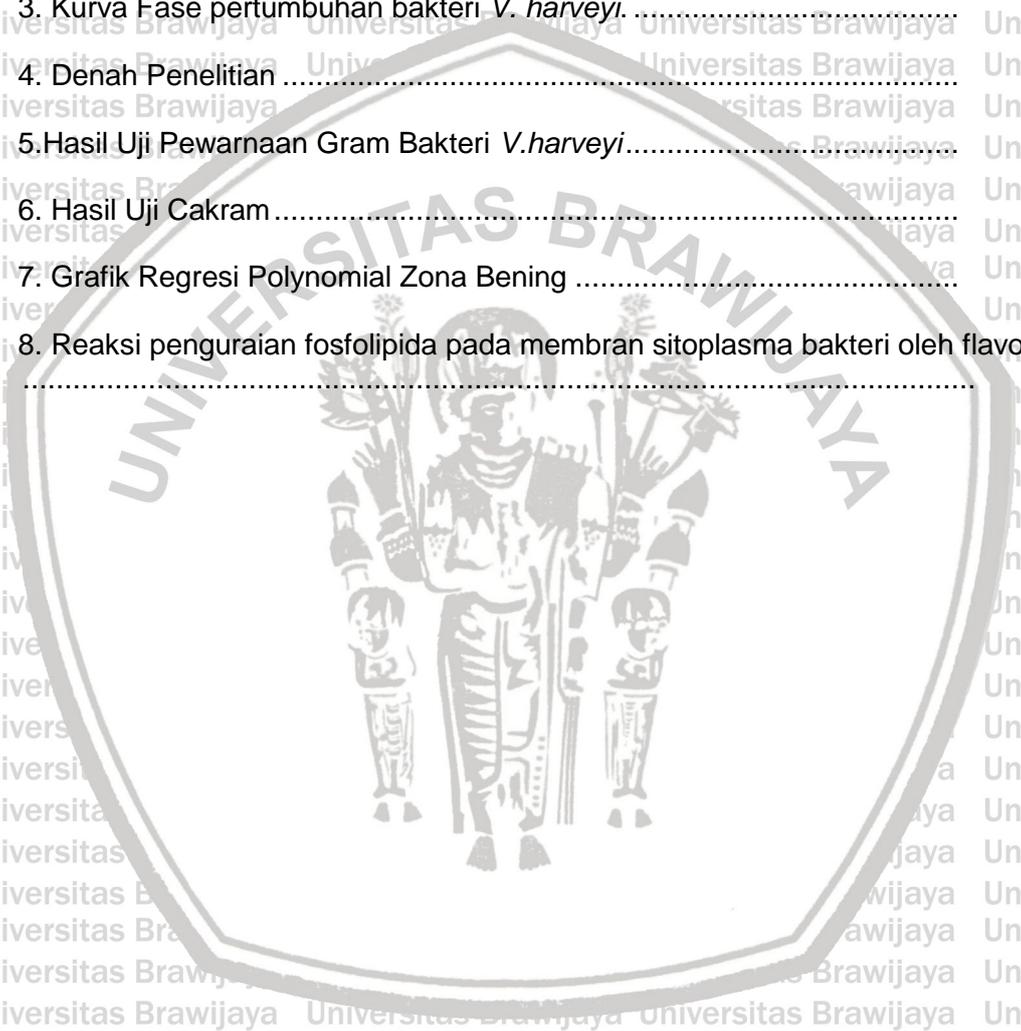
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat-alat Penelitian.....	19
2. Bahan-Bahan Penelitian.....	20
3. Klasifikasi Respon Hambatan.....	32
4. Data Rerata Hasil Pengukuran Zona Bening (mm).....	33
5. Analisa Sidik Ragam.....	33
6. Uji Beda Nyata Terkecil.....	34



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun Bidara (<i>Z. mauritiana</i>).....	8
2. Bakteri <i>V. harveyi</i>	11
3. Kurva Fase pertumbuhan bakteri <i>V. harveyi</i>	13
4. Denah Penelitian.....	24
5. Hasil Uji Pewarnaan Gram Bakteri <i>V.harveyi</i>	30
6. Hasil Uji Cakram.....	31
7. Grafik Regresi Polynomial Zona Bening.....	35
8. Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon.....	37



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

Halaman

1. Alat dan Bahan yang Digunakan.....	47
2. Hasil Uji Fitokimia Daun Bidara (<i>Z. mauritiana</i>).....	57
3. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>V. harveyi</i>	58
4. Kegiatan Penelitian.....	59
5. Hasil Uji Cakram Daun Bidara Terhadap Bakteri <i>V. harveyi</i>	62
6. Perhitungan Ekstrak Dosis Uji.....	64
7. Analisa Data Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Bidara (<i>Z. mauritiana</i>) terhadap Aktivitas Zona Bening Bakteri <i>V. harveyi</i> Secara <i>In Vitro</i>	66



1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Negara Indonesia yang terkenal dengan perairan luas, dapat dipergunakan sebagai lahan perikanan sangat besar baik itu air laut, air payau, dan air tawar. Hal ini tentu saja merupakan potensi yang besar dalam pengembangan budidaya perikanan untuk mendukung upaya pemulihan dan pembangunan perekonomian Indonesia. Pembangunan di bidang perikanan tetap diarahkan pada peningkatan kontribusi subsektor perikanan dalam menanggulangi berbagai permasalahan nasional, seperti menjamin tersedianya bahan pangan hewan, peningkatan devisa negara, menciptakan lapangan kerja, dan kesempatan mendapatkan pendapatan petani ikan dan lingkungan hidup lainnya (Jayanti, Antara dan Ginarsa, 2013).

Sektor perikanan memiliki peranan strategis dalam pembangunan nasional. Dilihat dari potensi sumberdaya alam yang dimiliki, Indonesia dikenal sebagai negara maritim terbesar di dunia karena memiliki potensi kekayaan sumberdaya perikanan yang relatif besar. Sektor perikanan juga menyerap banyak tenaga kerja, seperti dari kegiatan penangkapan, budidaya, pengolahan, distribusi dan perdagangan. Oleh karena itu, pembangunan sektor perikanan tidak dapat diabaikan oleh pemerintah Indonesia (Triarso, 2012).

Menurut Kusdiantoro, Fahrudin, Wisudo dan Juanda (2019), produksi perikanan tangkap pada tahun 2018 sebesar 7.248.297 ton, sedangkan produksi perikanan budidaya mencapai 17.248.384 ton. Sejak tahun 2010 hingga tahun 2018 produksi perikanan tangkap meningkat sebesar 3,99% per tahun sedangkan pada perairan laut sebesar 4,02% per tahun, lebih kecil dibandingkan perikanan budidaya pada periode yang sama mencapai 14,16%. Namun, berdasarkan nilai produksi, hasil perikanan tangkap lebih tinggi dibandingkan perikanan budidaya

dimana mencapai 16 juta rupiah per ton untuk perikanan tangkap dan perikanan budidaya sekitar 9 juta rupiah per ton.

Budidaya atau akuakultur adalah salah satu subsektor dalam ruang lingkup bidang perikanan dan kelautan. Budidaya memegang peranan penting dalam mata rantai agribisnis sebagai sumber penghasil protein hewani, khususnya komoditas perikanan. Pengembangan budidaya perikanan yang didukung oleh berbagai fasilitas merupakan suatu potensi bagi pembangunan sektor perikanan dan kelautan di Indonesia. Potensi besar dalam bidang perikanan dan kelautan yang dimiliki oleh Bangsa Indonesia sudah seharusnya dikelola dengan baik dan benar guna menopang pembangunan ekonomi negara, kesejahteraan masyarakat, serta juga meningkatkan kualitas sumber daya manusia melalui ketersediaan protein ikan yang kaya akan kandungan gizi untuk kesehatan dan kecerdasan (Kurniawan, 2012).

Budidaya udang memberikan kontribusi yang besar bagi produksi sektor perikanan Indonesia. Pada tahun 2002, ekspor produksi udang Indonesia pernah mencapai 50% dari seluruh ekspor perikanan dan menempati urutan lima besar 2 dalam komoditas ekspor non migas (Felix, Nugroho, Silalahi, dan Octavia, 2011).

Usaha pengembangan budidaya udang tidak dapat terlepas dari adanya penyakit. Penyakit merupakan kendala utama dalam usaha pengembangan usaha budidaya karena dapat menimbulkan kematian relatif tinggi. Akibat serangan penyakit pada budidaya udang, produksi budidaya udang nasional mengalami penurunan dari 409.590 ton pada tahun 2008 menjadi 338.060 ton di tahun 2009. Salah satu jenis penyakit yang dapat menyebabkan kematian masal pada udang budidaya adalah vibriosis. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri genus *Vibrio* seperti *V. harveyi*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* dan *V. penaeicida* (Utami, Sarjito dan Desrina 2016).

Salah satu penyebab utama gagalnya kegiatan budidaya adalah faktor penyakit. Munculnya gangguan penyakit pada budidaya merupakan risiko yang harus selalu diantisipasi. Sering kali penyakit yang menginfeksi dapat menyebabkan kematian masal budidaya. Penyakit adalah segala bentuk penyimpangan yang dapat menyebabkan ikan merasa terganggu kehidupannya.

Atau penyakit sebagai suatu keadaan fisik, kimia, biologis, morfologi, dan atau fungsi yang mengalami perubahan dari kondisi normal karena penyebab dari dalam (internal) dan luar (eksternal). Adapun pengertian lain yaitu kondisi tidak normal karena terjadi penurunan kemampuan ikan secara bertahap untuk mempertahankan fungsi fisiologisnya. Ikan menjadi tidak normal disebabkan oleh dirinya sendiri atau pengaruh lingkungan di sekitarnya (Afrianto, Liviawaty, Jamaris dan Hendy, 2015).

Penyakit meliputi infeksi dan bukan infeksi. Penyakit infeksi merupakan masalah utama, yang meliputi penyakit-penyakit yang disebabkan oleh virus, bakteri, fungi, dan parasit. Sakit dapat pula sebagai akibat dari keadaan defisiensi atau malnutrisi, atau sebab-sebab lain (Arwin, Ijong dan Tumbol 2016). Penyakit bakterial pada ikan dapat disebabkan oleh beberapa jenis bakteri, seperti *Streptococcus* sp., *Vibrio* sp., *Pseudomonas* sp. dan *Aeromonas* sp. Jenis penyakit bakteri ini dapat menyebabkan penyakit sistematik yang menimbulkan kematian ikan yang tinggi. Salah satu spesies dalam kelompok ini yang paling banyak menyebabkan penyakit dan kematian pada budidaya krustasea adalah *V. harveyi*. Bakteri ini merupakan penyebab penyakit kunang-kunang atau penyakit berpendar, karena krustasea yang terinfeksi akan terlihat terang dalam keadaan gelap (malam hari). Pada dasarnya bakteri ini bersifat oportunistik dan akan menjadi patogen jika pada media pemeliharannya terjadi guncangan secara drastik, seperti perubahan suhu, pH, salinitas dan faktor lainnya (Hatmanti, 2003).

Penyakit vibriosis disebabkan oleh bakteri *Vibrio* spp. bakteri ini termasuk dalam famili Vibrionaceae yang mempunyai tubuh berbentuk batang dan mempunyai kemampuan untuk bergerak karena dilengkapi dengan flagel. Ada tiga jenis bakteri *Vibrio* yang diidentifikasi menginfeksi ikan-ikan laut, termasuk kerapu yaitu *V. alginolyticus*, *V. parahaepolyticus*, dan *V. harveyi*. Bakteri *Vibrio* sp. tergolong bakteri yang paling ganas menginfeksi ikan-ikan laut budidaya. Diantara beberapa strain patogen bakteri vibrio tersebut, *V. harveyi* yang paling sering menimbulkan kematian masal (Ghufran, Kordi dan Tamsil, 2010).

Bakteri *V. harveyi* secara umum ada di lingkungan sebagai bakteri saprofit, terutama dilingkungan perairan laut. Beberapa strain *V. harveyi* mampu berkembang dari sifat saprofitik menjadi patogen dan beberapa merupakan patogen murni dan mampu menjadi penyebab tunggal penyakit. Perbedaan tingkat virulensi *V. harveyi* ditentukan oleh faktor genetik setiap strain. Pada beberapa kasus, aktivitas fage berperan besar meningkatkan patogenitas strain bakteri vibrio (Kurniawan dan Susianingsih, 2014).

Penanggulangan penyakit yang disebabkan *V. harveyi* dapat menggunakan bahan kimia dan antibiotik. Antibiotik dapat menyembuhkan penyakit akibat infeksi bakteri, tetapi penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat meningkatkan resistensi bakteri terhadap antibiotik. Resistensi antibiotik terjadi ketika bakteri penyebab infeksi tidak mati saat diberikan terapi antibiotik, yang diakibatkan karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat. Ketika antibiotik digunakan secara berlebihan bakteri dapat mengembangkan cara-cara baru untuk melawan antibakteri, sehingga bakteri yang bertahan menjadi lebih kuat dan terus bertambah banyak dan semakin berbahaya (Kurniawan dan Aryana, 2015).

Solusi dari permasalahan tersebut yaitu dengan penggunaan bahan-bahan alami sebagai zat imunostimulan dan antibakterial. Bahan-bahan alami memiliki beberapa keunggulan dibanding bahan yang lain yaitu dapat dibuat dengan teknik

yang sederhana, pembuatan untuk pemakaian dalam jangka waktu lama, lebih mudah dan praktis penggunaannya, serta tidak menimbulkan kerusakan lingkungan (Wahjuningrum, Hasanah dan Rahman 2016)

Tanaman bidara yang dikenal dengan nama latin *Ziziphus mauritiana* merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat. Tanaman bidara memiliki kandungan antara lain protein, kalsium, zat besi, magnesium, vitamin, senyawa aktif seperti flavonoid, karotenoid, alkaloid, fenol, kuercetin, metil ester, terpenoid, saponin dan lain sebagainya (Chairunnisa, Wartini dan Suhendra, 2019). Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Taufiq (2018), daun bidara dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dan *Escherichia coli*. Selain itu daun bidara juga berfungsi sebagai antikanker seperti pada penelitian yang telah dilakukan oleh Jannah (2018). Berdasarkan hal tersebut, diperlukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak kasar daun bidara terhadap bakteri *V. Harveyi* secara *In vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Salah satu penyebab utama gagalnya kegiatan budidaya adalah faktor penyakit. Munculnya gangguan penyakit pada budidaya merupakan risiko yang harus selalu diantisipasi. Sering kali penyakit yang menginfeksi dapat menyebabkan kematian masal budidaya. Penyakit adalah segala bentuk penyimpangan yang dapat menyebabkan ikan merasa terganggu kehidupannya.

Penyakit infeksi merupakan masalah utama yang meliputi penyakit-penyakit yang disebabkan oleh virus, bakteri, fungi, dan parasit. Penyakit vibriosis disebabkan oleh bakteri *Vibrio* spp. Bakteri *V. harveyi* secara umum ada di lingkungan sebagai bakteri saprofit, terutama di lingkungan perairan laut. Penanggulangan penyakit yang disebabkan *V. harveyi* dapat menggunakan bahan kimia dan antibiotik.

Antibiotik dapat menyembuhkan penyakit akibat infeksi bakteri, dan penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat meningkatkan resistensi bakteri terhadap

antibiotik. Solusi dari permasalahan tersebut yaitu dengan penggunaan bahan-bahan alami sebagai zat imunostimulan dan antibakterial. Tanaman bidara merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai alternatif penggunaan antibiotik berbahan alami.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun bidara (*Z. mauritiana*) terhadap bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*.

1.4 Hipotesis

H_0 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun bidara (*Z. mauritiana*) dengan dosis berbeda tidak berpengaruh terhadap bakteri *V. harveyi*.

H_1 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun bidara (*Z. mauritiana*) dengan dosis berbeda berpengaruh terhadap bakteri *V. harveyi*.

1.5 Kegunaan

Penelitian ini berguna untuk mengetahui manfaat ekstrak kasar daun (*Z. mauritiana*) dengan dosis yang berbeda sebagai antibakteri terhadap bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*.

1.6 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya,

Malang pada bulan 1 Desember 2019 – 29 Februari 2020

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Tanaman Bidara (*Z. mauritiana*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Abalaka, Mann dan Adeyemo (2011), klasifikasi tanaman bidara

adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Ordo	: Rosales
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Famili	: Rhamnaceae
Genus	: <i>Ziziphus</i>
Spesies	: <i>Z. mauritiana</i>

Z. mauritiana adalah sejenis semak atau pohon berduri berukuran kecil

hingga sedang, tunggal atau multi-batang, dan hampir seluruh daun dari tanaman

ini berwarna hijau (Gambar 1), tetapi tanaman ini juga dapat mengalami gugur

pada musim kemarau. Ukurannya sangat bervariasi, tingginya bisa mencapai 12

m dan diameter 30 cm. Memiliki batang berwarna abu-abu gelap, hitam pudar atau

kemerahan dengan celah vertikal panjang dan berserat didalamnya. Tanaman ini

memiliki cabang-cabang menyebar di ujungnya, sebagian besar bagian-bagian

dari tanaman ini berduri (Dubey, Dubey, Sridhar dan Jayaveera, 2011).

Z. mauritiana adalah semak berduri dengan daun berwarna hijau atau

pohon kecil setinggi 15 m dengan diameter batang 40 cm atau lebih. Memiliki

batang berwarna abu-abu gelap atau hitam. Memiliki daun berwarna hijau

mengkilat yang berbentuk bulat dengan sedikit berlekuk pada dasarnya dan

berukuran sekitar 2,5-6 x 1,5-5 cm (Goyal, Nagori, Sasmal, 2012).



Gambar 1. Daun Bidara (*Z. mauritiana*)
(Abalaka, Mann dan Adeyemo, 2011)

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Bidara (*Z. mauritiana*) adalah tanaman khas dari Tegal yang termasuk dalam famili *Rhamnaceae*. Berdasarkan hasil pengamatan, saat ini tercatat sebanyak 30 tanaman bidara tersebar di daerah Tegal. Sebagian dari mereka tumbuh di daerah pesisir, yaitu Desa Panggung, Muarareja dan Pesurungan Kidul. Desa Panggung adalah bagian dari wilayah Tegal Timur, sedangkan desa-desa lain adalah bagian dari kecamatan Tegal Barat. Secara umum, bidara tumbuh di halaman-halaman rumah dan di pinggir-pinggir jalan (Rahayu, Dewi dan Bodijantoro, 2018).

Menurut Wake, Soeprbowati dan Jumari (2018), *Z. mauritiana* dapat hidup hingga ketinggian mencapai 1500 m dengan kisaran suhu ekstrim hingga 50°C sehingga dikategorikan sebagai spesies terkuat yang dapat bertahan dan bertahan hidup dari salinitas dan kekeringan serta genangan air. Menurut peneliti dari Australia, *Z. Mauritiana* mampu tumbuh dalam varietas tanah apa pun.

Genus *Ziziphus* dari famili *Rhamnaceae* umumnya dikenal sebagai golongan tanaman yang memiliki duri. Terdapat sekitar 100 spesies yang didistribusikan di daerah tropis dan subtropis di dunia. Distribusi geografis dan iklim yang luas merupakan indikasi bahwa terdapat keragaman genetik yang perlu diidentifikasi. Asia Selatan dan Asia Tenggara adalah pusat distribusi dari

genus *Ziziphus* ini (Singh, Devanshi, Sharma, Singh, Singh, Koundal, dan Singh, 2007).

Tanaman bidara adalah sejenis pohon kecil yang selalu hijau, penghasil buah yang tumbuh didaerah afrika utara dan tropis serta asia barat, tumbuh di Israel di lembah-lembah sampai ketinggian 500 mdpl. Khususnya di Indonesia tanaman ini banyak tumbuh di daerah Sumbawa (Nusa Tenggara Barat) (Bintoro, Ibrahim dan Situmeang 2017).

2.1.3 Kandungan dan Manfaat

Tanaman bidara secara keseluruhan mengandung beberapa senyawa seperti flavonoid, alkaloid, glikosida, saponin, resin, polifenol, mucilago dan vitamin (Hidajati dan Rokhmania, 2019). Menurut Chairunnisa, Wartini dan Suhendra (2019), tanaman bidara memiliki banyak kandungan yang bermanfaat antara lain protein, kalsium, zat besi, magnesium, vitamin, senyawa aktif seperti flavonoid, karotenoid, alkaloid, fenol, kuercetin, metil ester, terpenoid, saponin dan lain sebagainya. Saponin tergolong senyawa glikosida kompleks yakni metabolit sekunder yang terdiri dari senyawa hasil proses kondensasi suatu gula dengan suatu senyawa hidroksil organik yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan gula (glikon) dan non-gula (aglikon). Saponin juga berfungsi sebagai zat antibakteri, antijamur, antioksidan, dan antiinflamasi. Senyawa saponin yang terkandung pada daun bidara dapat diperoleh melalui ekstraksi.

Menurut Lumbanraja, Wartini dan Suhendra (2019), tanaman bidara kaya akan manfaat karena memiliki kandungan saponin triterpen yang terdapat pada bagian daunnya tanaman bidara mengandung senyawa saponin triterpen yang diidentifikasi melalui uji warna. Penambahan pereaksi Lieberman Burchard (LB) pada simplisia daun bidara menghasilkan cincin berwarna cokelat keunguan yang menunjukkan bahwa terdapat saponin triterpene. Saponin merupakan golongan senyawa glikosida yang mempunyai rasa sepat dan memiliki aktivitas antibakteri.

Berdasarkan aglikonnya saponin terdiri dari dua jenis yaitu saponin steroid dan saponin triterpen. Senyawa saponin mudah larut dalam air dan memiliki karakteristik berupa buih, sehingga ketika digojog dengan air akan terbentuk buih yang stabil.

Tanaman bidara memiliki kandungan fenolat dan flavonoid yang kaya akan manfaat. Senyawa fenolat adalah senyawa yang mempunyai sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksi, senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan yang memiliki ciri sama, yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil (Kusriani, Nawawi dan Matcher, 2015). Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mampu mentransfer sebuah elektron kepada senyawa radikal bebas. Flavonoid terbentuk pada tumbuhan dari asam amino aromatik fenilalanin, tirosin dan malonat. Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi (Haeria, Hermawati, dan Pine, 2016).

2.2 Biologi Bakteri *V. harveyi*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi bakteri *V. harveyi* menurut Garrity, Julia dan Timothy (2004), adalah sebagai berikut:

Kingdom : Prokaryota

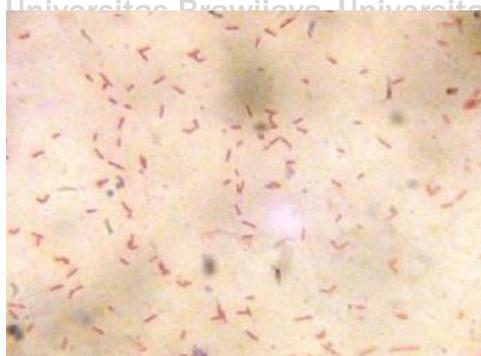
Divisi : Bacteria

Ordo : Eubacteriales

Family : Vibrionaceae

Genus : *Vibrio*

Spesies : *V. harveyi*



Gambar 2. Bakteri *V. harveyi* (Luthfy, Kusdiyantini dan Budiharjo 2015)

Menurut Rusdi, Sususnantri dan Yusuf (2015), bakteri *V. harveyi* (Gambar 2) mempunyai bentuk tubuh batang dan mempunyai kemampuan untuk bergerak karena dilengkapi dengan flagel. Utami, Sarjito dan Desrina (2016), menambahkan bahwa bakteri *V. harveyi* adalah bakteri gram negatif berbentuk batang dengan ukuran (1,0-1,6 x 0,5-0,7 μm). Bakteri *V. harveyi* mempunyai ciri-ciri koloni berwarna putih sampai hijau pada media *Thiosulphate Citrate Bile Salt* (TCBS), dengan diameter 15-17 mm dan pada pusat koloni berwarna hijau tua. Karakteristik lain bakteri *V. harveyi* adalah bersifat patogen oportunistik, yaitu organisme yang dalam keadaan normal ada di lingkungan pemeliharaan yang berkembang menjadi patogen apabila kondisi lingkungan dan inangnya memburuk.

Menurut Evan (2009), bakteri *V.harveyi* bersifat gram negatif, sel tunggal berbentuk batang pendek yang bengkok (koma) atau lurus, motil, oksidase positif, tidak membentuk H₂S, tidak membentuk gas dari fermentasi terhadap glukosa, tumbuh pada media TCBS, dan mempunyai flagella pada salah satu kutub selnya.

Hidayat (2014) menambahkan *Vibrio* adalah genus bakteri gram negatif, sel tunggal berbentuk batang pendek yang bengkok (koma), berukuran panjang 1,4–5,0 μm dan lebar 0,3–1,3 μm , bersifat motil dan mempunyai flagel polar dan secara khas ditemukan pada air laut. *Vibrio* bersifat anaerob fakultatif, yaitu dapat hidup

baik dengan atau tanpa oksigen. Semua anggota jenis *Vibrio* adalah motil (bergerak) dan mempunyai kutub flagella dengan sarung pelindung.

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Bakteri *V. harveyi* umumnya hidup di air laut dan payau, terutama air dangkal serta musim dimana temperatur air menjadi tinggi ditemukan juga di habitat-habitat akuatik, sebagian pada air laut, lingkungan estuari dan berasosiasi dengan hewan laut (Agustina dan Marlan, 2014). Menurut Chatterjee dan Haldar (2012), bakteri *V. harveyi* termasuk ke dalam jenis bakteri gram negatif yang dapat dijumpai di ekosistem laut, estuari maupun kolam budidaya. Permasalahan bakteri *Vibrio* sering dialami oleh para pembudidaya udang sistem intensif di wilayah Indonesia, Thailand, Filipina dan beberapa Negara Asia Tenggara lainnya.

V. harveyi adalah bakteri gram negatif, bercahaya yang tersebar luas di lingkungan laut. Organisme ini telah muncul sebagai patogen berbahaya bagi hewan laut. Misalnya, organisme telah dilaporkan sebagai patogen utama udang penaeid yang dibudidayakan, terutama di Indonesia, Amerika Selatan dan Asia. Selain itu, *V. harveyi* telah dikaitkan dengan penyakit pada ikan bersirip dan tiram mutiara (Zhang, Meaden, dan Austin, 2001).

2.2.3 Pertumbuhan Bakteri

Bakteri memiliki permukaan yang luas sesuai dengan perbandingan volume tubuhnya. Oleh karena itu, bakteri akan cepat memperoleh makanan dari lingkungannya, baik secara difusi maupun mekanisme transport aktif. Pertumbuhan bakteri berlangsung sangat cepat. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri yaitu suhu, ketersediaan makananan, pH, konsentrasi ionik, serta oksigen, khususnya untuk bakteri aerob obligat. Pertumbuhan bakteri berlangsung sangat cepat dalam kondisi normal, bakteri membelah diri menjadi dua setiap 20 menit. Kurva pertumbuhan dibagi menjadi

empat fase, yaitu fase lag (permulaan), fase logaritma (pembiasaan cepat), fase stasioner (diperlambat dan fase penurunan (kematian) (Sudjadi dan Laila, 2006).

Menurut Harti (2015), Pertumbuhan bakteri terbagi 4 fase yaitu:

1) Fase lag atau fase permulaan

Kecepatan pertumbuhan nol atau > 0 (tidak maksimum) disebut juga fase adaptasi. Tidak ada penambahan populasi, tetapi penambahan substansi intraseluler sehingga ukuran sel bertambah.

2) Fase log (logaritma) atau fase eksponensial

Kecepatan pertumbuhan mencapai maksimum. Massa dan jumlah sel bertambah secara eksponensial dengan waktu generasi sebagai konstanta, sehingga pertumbuhan akan seimbang, yaitu sel membelah dengan kecepatan konstan serta aktivitas metabolisme konstan, biakan dalam keadaan homogen dengan pertumbuhan sel pada kecepatan dan interval sama.

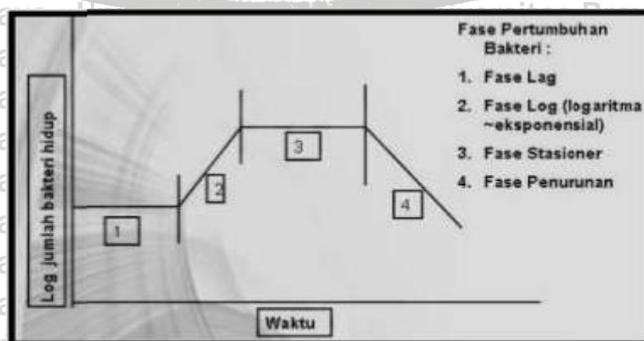
3) Fase tetap maksimum atau fase statis (stasioner)

Kecepatan pertumbuhan mulai menurun, terjadi akumulasi metabolit. Jumlah sel hidup tetap, namun terjadi pengurangan nutrisi maka jumlah total sel mati dan hidup tetap serta akumulasi metabolit.

4) Fase kematian atau fase penurunan

Laju kematian secara eksponensial dan terjadi penurunan populasi sel-sel hidup hingga mencapai 0. Kurva fase pertumbuhan bakteri *V. harveyi* disajikan

pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva Fase pertumbuhan bakteri *V. harveyi* (Harti, 2015).

2.2.4 Infeksi Bakteri

Menurut Ilmiah, Sukenda, Widanarni dan Harris (2012), proses infeksi bakteri *Vibrio* diawali oleh proses interaksi dengan pelekatan atau adesi pada permukaan sel inang, yang diikuti dengan masuknya bakteri ke dalam sel, kemudian dilanjutkan dengan tahap invasi dan penyebaran lokal atau sistemik dalam tubuh inang. Tahap terakhir adalah pengeluaran dari tubuh inang, mulai dari tahap pelekatan hingga tahap perusakan inang, mikroorganisme menggunakan faktor virulensi antara lain oleh pili yang mengakibatkan mikroorganisme dapat bertahan dalam tubuh inang dan menimbulkan kerusakan.

Patogenitas *V. harveyi* tergantung pada konsentrasinya pada suatu waktu tertentu. Penyakit yang disebabkan *V. harveyi* adalah lesi mata, gastro-enteritis, vaskulitis dan vibriosis berpendar. Vibriosis berpendar ini merupakan penyebab kematian utama, khususnya pada budidaya udang. Infeksi *V. harveyi* awalnya masuk melalui mulut, membentuk plak, menyebar ke alat gerak kemudian menyebabkan kehilangan fungsi dan degradasi alat gerak. Infeksi *Vibrio* ini dapat terjadi pada semua fase (telur sampai indukan) dan banyak menyebabkan kasus kematian organisme budidaya sampai 100% (Kusumaningrum, Thessiana dan Financia G, 2015).

Menurut Wijayanti, Dwinitasari, Febryani, Harpeni dan Wardiyanto (2018), gejala klinis yang timbul baik secara morfologi maupun tingkah laku. Perubahan morfologi berupa perubahan warna tubuh menjadi memerah, kaki jalan memerah, serta ekor memerah yang disertai dengan nekrosis. Terjadi perubahan warna pada insang dan hepatopankreas menjadi kecoklatan, udang menyala dalam gelap, hingga terjadi kematian. Adapun perubahan tingkah laku yang dialami udang berupa berkurangnya nafsu makan, pergerakannya menjadi pasif dan cenderung berenang mendekati sumber oksigen (*aerasi*) disertai hilang keseimbangan.

2.3. Aktivitas Antibakteri

Menurut Siregar, Sabdono dan Pringgenies (2012), berdasarkan cara kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi bakterisidal dan bakteriostatik. Antibakteri bakteriostatik adalah zat yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan antibakteri bakterisidal adalah zat yang bekerja mematikan bakteri.

Aktivitas senyawa antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar *paper disc*. Faktor-faktor yang mempengaruhi ukuran daerah penghambatan yaitu sensitivitas organisme, medium kultur, kondisi inkubasi, dan kecepatan difusi agar.

Sedangkan faktor-faktor yang mempengaruhi kecepatan difusi agar meliputi konsentrasi mikroorganisme, komposisi media, suhu inkubasi, dan waktu inkubasi.

Menurut Kusmiyati dan Agustini (2007), mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Menurut Riwandi, Aspriyanto, Budiarti (2014), mekanisme antibakteri bekerja dengan mengganggu proses respirasi sel, menghambat aktivitas enzim bakteri, menekan terjemahan dari regulasi produk gen tertentu, dan menghalangi sintesis normal dinding sel bakteri. Sintesis yang tidak normal menyebabkan tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada di luar sel, maka terjadi kerusakan dinding sel bakteri yang akan menyebabkan kebocoran sel bakteri.

2.4. Uji Bakteri secara *In Vitro*

Menurut Sulistiyowati dan Siswati (2011), uji potensi antibakteri digunakan untuk menilai kemampuan suatu bahan dalam menghambat pertumbuhan bakteri

secara in vitro. Ada 2 metode yang digunakan dalam uji ini yaitu metode dilusi dan metode difusi.

1). Metode Dilusi

Metode dilusi terdapat dua macam cara yaitu dilusi cair dan dilusi padat.

Prinsip metode dilusi cair adalah pengenceran terhadap bahan uji sehingga di peroleh beberapa konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi bahan uji ditam bah suspensi bakteri dalam media. Metode dilusi padat, tiap konsentrasi bahan uji dicampur dengan media agar, lalu ditanami bakteri kemudian diinkubasi.

Pada metode ini yang diamati adalah ada tidaknya pertumbuhan bakteri, atau jika mungkin tingkat kesuburan dari pertumbuhan bakteri yaitu dengan cara menghitung jumlah koloninya. Cara ini dapat digunakan untuk menentukan kadar hambat minimal (KHM) ataupun kadar bunuh minimal (KBM). Metode dilusi cair memiliki kelebihan yaitu terciptanya permukaan yang luas sehingga kontak antara bahan uji dan bakteri lebih tinggi, selain itu lebih ekonomis dan lebih mudah pelaksanaannya. Kelemahannya dengan adanya serial pengenceran maka konsentrasi bahan uji yang diperoleh pada percobaan terbatas hanya pada konsentrasi tertentu saja, sehingga ada kemungkinan daya hambat bakteri sebenarnya dapat diperoleh pada konsentrasi yang lebih rendah.

(2) Metode Difusi

Kertas cakram yang telah dibubuhkan sejumlah tertentu antimikroba ditempatkan pada media yang telah ditanami organisme yang akan diuji secara merata. Tingginya konsentrasi dari antimikroba ditentukan oleh difusi dari cakram dan pertumbuhan organisme uji dihambat penyebarannya sepanjang difusi antimikroba (terbentuk zona jernih disekitar cakram), sehingga bakteri tersebut merupakan bakteri yang sensitif terhadap antimikroba (Soleha, 2015).

Parameter yang digunakan pada penentuan aktivitas antibakteri yaitu zona bening yang terbentuk. Zona bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri

terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona bening. Diameter zona bening diukur dalam satuan milimeter (mm) (Rastina, Sudarwanto dan Wientarsih, 2015).

2.5 Ekstraksi

Menurut Hidayah, Hisan, Solikin, Irawati dan Mustikaningtyas (2016), ekstraksi merupakan suatu proses yang bertujuan untuk memisahkan komponen-komponen yang diinginkan dari suatu tanaman sehingga didapatkan senyawa aktif dengan kemurnian tinggi. Proses ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya jenis pelarut, perbandingan pelarut dengan bahan ekstraksi, suhu, tekanan dan waktu ekstraksi serta komponen bioaktif tumbuhan. Jika kondisi suhu dan temperatur sama, maka jenis pelarut dan komponen senyawa kimia yang terdapat pada tanaman adalah dua faktor penting yang menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Hasil ekstraksi maserasi diperoleh ekstrak pekat berbentuk pasta.

Menurut Tambun, Limbong, Pinem dan Manurung (2016), ekstraksi merupakan metode pemisahan suatu zat berdasarkan pelarut yang tepat, baik itu pelarut organik atau pelarut anorganik. Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan suatu pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloida, flavanoida, dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dengan cara ekstraksi yang tepat. Ekstraksi merupakan metode pemisahan suatu zat berdasarkan pelarut yang tepat, baik itu pelarut organik atau pelarut anorganik.

Salah satu contoh teknik ekstraksi adalah maserasi, maserasi merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur

ruangan. Pada proses perendaman, sampel tumbuhan akan mengalami pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik (Handayani dan Nurcahyanti, 2015). Ekstraksi pelarut dilakukan dengan cara dingin (maserasi). Proses ekstraksi dengan teknik maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruang. Keuntungan cara ini mudah dan tidak perlu pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai (Susanty, dan Bachmid, 2016).



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1 dan

Lampiran 1(a).

Tabel 1. Alat - alat Penelitian

No.	Alat	Kegunaan
1.	Autoklaf	Sebagai alat untuk mensterilkan peralatan yang akan digunakan
2.	Pinset	Sebagai alat untuk meletakkan kertas cakram pada media yang ada pada cawan petri
3.	<i>Blue Tip</i>	Sebagai wadah untuk mengambil larutan dalam skala kecil
4.	Jangka Sorong	Sebagai alat untuk mengukur diameter zona bening.
5.	Bunsen	Sebagai alat untuk mencegah terjadinya kontaminasi pada saat perlakuan.
6.	Cawan Petri	Sebagai tempat uji cakram
7.	Erlenmeyer	Sebagai tempat pembuatan media.
8.	Gelas Ukur	Sebagai alat untuk mengukur larutan.
9.	<i>Hotplate</i>	Sebagai alat pemanas media
10.	Inkubator	Sebagai alat inkubasi sampel
11.	Jarum ose	Sebagai alat untuk peremajaan bakteri.
12.	Botol Film	Sebagai wadah ekstrak dan dosis ekstrak
13.	Kulkas	Sebagai tempat penyimpanan bahan pada suhu dingin.
14.	LAF (<i>Laminary Air Flow</i>)	Sebagai tempat dilakukannya perlakuan.
15.	Mikropipet 100-1000 μ l	Sebagai alat untuk mengambil bahan yang berbentuk cairan.
16.	Mikroskop	Sebagai alat untuk identifikasi bakteri.
17.	Nampan	Sebagai tempat meletakkan alat sebelum digunakan.
18.	<i>Object glass</i>	Sebagai alat untuk meletakkan isolate bakteri.
19.	Destruksor	Sebagai alat untuk mendestruksi alat-alat yang sudah digunakan.
20.	Pipet tetes	Sebagai alat mengambil larutan.
21.	<i>Rotary evaporator</i>	Sebagai alat untuk memisahkan ekstrak dengan methanol 80%.
22.	Spatula	Sebagai alat untuk mengambil bahan.

Tabel 1. (Lanjutan)

No.	Alat	Kegunaan
24.	Tabung reaksi	Sebagai tempat untuk peremajaan bakteri.
25.	Timbangan analitik	Sebagai alat untuk menimbang bahan dengan ketelitian 10^{-3} .
26.	Timbangan digital	Sebagai alat untuk menimbang bahan dengan ketelitian 10^{-2} .
27.	Toples	Sebagai tempat yang digunakan untuk maserasi.
28.	Triangle	Sebagai alat untuk meratakan bakteri saat penanaman pada cawan.
29.	Vortex mixer	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan.
30.	Yellow Tip	Sebagai wadah untuk mengambil larutan dalam skala kecil.

3.1.2 Bahan Penelitian

Adapun bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini seperti disajikan pada Tabel 2 dan Lampiran 1(b).

Tabel 2. Bahan-Bahan Penelitian

No.	Bahan	Kegunaan
1.	Alkohol 70%	Sebagai bahan sterilisasi.
2.	Alumunium foil	Sebagai penutup seluruh bagian toples pada saat proses maserasi.
3.	Akuades	Sebagai bahan pelarut.
4.	Bakteri <i>V. Harveyi</i>	Sebagai bakteri yang akan digunakan pada perlakuan.
5.	Daun Bidara (<i>Z.mauritiana</i>)	Sebagai bahan yang digunakan untuk ekstraksi.
6.	DMSO 10%	Sebagai pelarut ekstrak.
7.	Methanol 80%	Sebagai bahan pelarut.
8.	Kapas	Sebagai penutup alat yang akan disterilisasi.
9.	Kertas cakram	Sebagai bahan untuk mengetahui zona bening dari ekstrak yang digunakan.
10.	Kertas bekas	Sebagai bahan pembungkus peralatan yang akan disterilisasi.
11.	Kertas Label	Sebagai penanda.
12.	Kertas Saring	Sebagai penyaring bahan setelah maserasi.
13.	Larutan iodin	Sebagai larutan yang memperkuat warna.

Tabel 2. (Lanjutan)

No.	Bahan	Kegunaan
14.	Larutan <i>Crystal violet</i>	Sebagai pewarna utama yang berwarna ungu.
15.	Larutan Safranin	Sebagai pewarna sekunder yang berwarna merah saat pewarnaan gram.
16.	Masker	Sebagai penutup bagian mulut dan hidung agar tidak terjadi kontaminasi pada saat perlakuan.
16.	Plastik	Sebagai bahan untuk menyimpan petri pada saat diinkubator.
17.	<i>Plastic wrap</i>	Sebagai pembungkus botol sampel dan cawan petri.
18.	Spirtus	Sebagai bahan bakar bunsen.
19.	TSA	Sebagai media agar.
20.	TSB	Sebagai media cair.
21.	TCBSA	Sebagai media uji cakram.
22.	Tisu	Sebagai pembersih alat yang telah digunakan.
23.	<i>Lateks</i>	Sebagai pelindung tangan untuk mencegah kontaminasi.
24.	Karet gelang	Sebagai pengikat toples pada saat maserasi
25.	NaCl	Sebagai larutan pengenceran

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Yusuf (2017), penelitian eksperimen merupakan satu-satunya penelitian yang lebih akurat/teliti dibandingkan dengan tipe penelitian yang lain, dalam menentukan relasi hubungan sebab akibat. Hal itu dimungkinkan karena dalam penelitian eksperimen peneliti berdaya dapat melakukan pengawasan (kontrol) terhadap variabel bebas baik sebelum penelitian maupun selama penelitian. Disamping itu, dapat pula diminimalkan pengaruh komponen lain yang diduga akan memengaruhi hasil penelitian, seperti pengaruh lingkungan di sekitar responden penelitian. Atau, dapat pula dikatakan bahwa melalui penelitian eksperimen, peneliti mampu dan dapat memanipulasi variabel bebas dan mengatur situasi penelitian dengan benar sehingga dapat mengungkapkan faktor-faktor sebab dan akibat.

Metode eksperimen merupakan metode penelitian yang menguji hipotesis berbentuk hubungan sebab-akibat melalui pemanipulasian variabel independen dan menguji perubahan yang diakibatkan oleh pemanipulasian. Efek dari manipulasi disebut *variable dependen*. Selama pemanipulasian perlakuan, peneliti melakukan kontrol terhadap variabel luar (*extraneous variable*) agar perubahan yang terjadi benar-benar akibat pemanipulasian, bukan disebabkan variabel lainnya. Jadi, penelitian eksperimen harus mengandung unsur kelompok kontrol, kelompok perlakuan dan intervensi perlakuan (Wasis, 2006).

3.3 Teknik Pengambilan Data

Teknik pengambilan data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, dengan cara observasi langsung. Menurut Susanto dan Sukadi (2011), observasi adalah pengamatan secara langsung berguna untuk memperoleh informasi yang diperlukan dengan cara melakukan pengamatan dan pencatatan dengan peninjauan langsung ke lapang. Observasi merupakan salah satu teknik pengumpulan data yang cukup efektif untuk mempelajari suatu sistem. Observasi adalah pengamatan langsung terhadap suatu kegiatan yang sedang dilakukan.

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen. RAL merupakan rancangan yang paling sederhana jika dibandingkan dengan rancangan-rancangan lainnya. Dalam rancangan ini tidak terdapat lokal kontrol, sehingga sumber keragaman yang diamati hanya perlakuan dan galat saja. Oleh karena itu RAL umumnya cocok digunakan kondisi lingkungan, alat, bahan dan mediana homogen. Kondisi ini hanya dicapai di ruang-ruang terkontrol seperti di laboratorium dan di rumah kaca (*green house*). Data yang terkumpul dari hasil pengukuran dianalisis dengan

menggunakan uji analisis varian pada taraf signifikan 5% jika ada pengaruh maka dianjurkan dengan uji BNT (Natsir, 2015). Penelitian ini menggunakan metode RAL yang masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Adapun model percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah (Vratama, Helmizuryani dan Muslimin, 2013)

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

Keterangan:

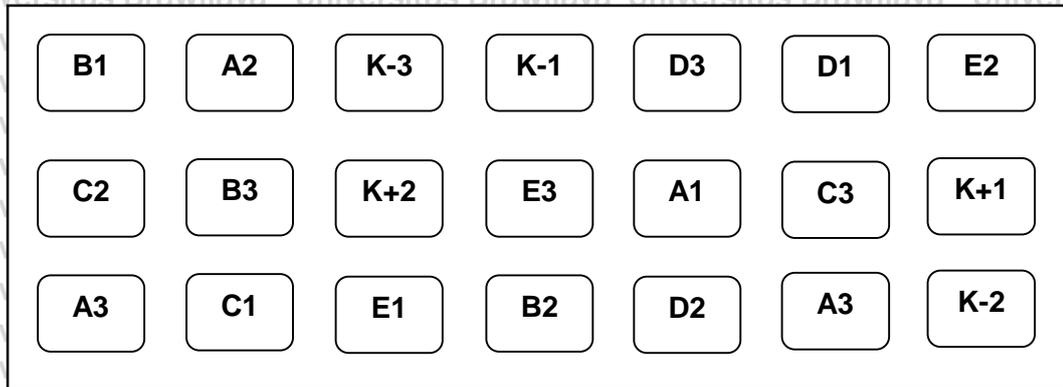
- Y_{ij} : respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke- i dan ulangan ke- j
- μ : nilai tengah umum
- T_i : pengaruh perlakuan ke- i
- E_{ij} : pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke- i dan ulangan ke- j

Pada penelitian ini menggunakan variabel bebas berupa pemberian ekstrak kasar daun bidara (*Z.mauritiana*) dengan perbedaan dosis yang diberikan.

Dasar penelitian ini adalah penelitian sebelumnya untuk mengetahui pengaruh dosis yang diberikan terhadap daya hambat yang tepat dalam penggunaan daun bidara. Perlakuan dalam penelitian ini adalah sebanyak 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan 2 kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Sehingga tiap perlakuan dapat dilihat pada denah yang disajikan pada Gambar 4. Berikut merupakan dosis yang digunakan pada masing-masing perlakuan:

- Perlakuan A: Bakteri *V. harveyi* dengan pemberian ekstrak daun bidara (*Z.mauritiana*) dengan dosis 10 ppm.
- Perlakuan B: Bakteri *V. harveyi* dengan pemberian ekstrak daun bidara (*Z.mauritiana*) dengan dosis 60 ppm.
- Perlakuan C: Bakteri *V. harveyi* dengan pemberian ekstrak daun bidara (*Z.mauritiana*) dengan dosis 110 ppm.
- Perlakuan D: Bakteri *V. harveyi* dengan pemberian ekstrak daun bidara (*Z.mauritiana*) dengan dosis 160 ppm.

- Perlakuan E: Bakteri *V. harveyi* dengan pemberian ekstrak daun bidara (*Z.mauritiana*) dengan dosis 210 ppm.
- Kontrol (+): Pemberian antibiotik *oxytetracycline* dengan dosis 31,2 ppm
- Kontrol (-): Menggunakan kertas cakram tanpa pemberian apapun



Gambar 4. Denah Penelitian

Keterangan:

- A,B,C,D,E : Perlakuan
- K(+): Kontrol Positif
- K(-): Kontrol Negatif
- 1,2,3 : Ulangan

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Menurut Hendrawati dan Utomo (2017), sterilisasi dilakukan guna menghilangkan semua jenis organisme yang hidup pada alat dan bahan yang digunakan serta agar terbebas dari kontaminasi. Proses ini dilakukan dengan cara memanaskan sampai temperatur 121°C, selama waktu 15 menit dengan tekanan 1 atm. Salah satu contoh alat untuk melakukan sterilisasi adalah *Autoclave*.

b. Sterilisasi Tempat Perlakuan

Tempat yang digunakan untuk melakukan perlakuan penelitian juga harus dalam keadaan steril untuk menghindari kontaminasi. Tempat yang digunakan yaitu LAF (*Laminary Air Flow*). Sterilisasi LAF dilakukan dengan menyalakan lampu ultraviolet (UV) selama 15 menit sebelum digunakan kemudian pintu LAF

ditutup. Selanjutnya, lampu UV dimatikan, pintu LAF dibuka, lalu dihidupkan lampu LAF dan permukaan LAF disterilkan dengan etanol 70% (Herdwiani, Leviana, Sari, Yolanda, Rica, Zahra, Ikawati, Hertiani dan Khoirunisa, 2014).

c. Pembuatan Ekstrak

Proses pembuatan ekstrak dimulai dengan menyiapkan daun bidara dalam bentuk basah seberat 10 kg. Kemudian daun bidara yang didapatkan dikeringkan dibawah sinar matahari hingga mongering dengan berat kering 7 kg. Didapatkan daun bidara dalam bentuk kering, selanjutnya daun bidara tersebut dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Sebelumnya daun bidara telah dipotong-potong untuk mempermudah proses penghalusan. Kemudian daun bidara masuk ke tahap maserasi atau perendaman.

Serbuk daun bidara dicampur dengan pelarut methanol 80% dengan perbandingan 1:5. Hal tersebut dikarenakan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Abdallah (2016), pelarut methanol dapat digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam daun bidara. Senyawa-senyawa yang terkandung didalam daun bidara dapat dilihat pada hasil uji fitokimia daun bidara yang terdapat pada Lampiran 2. Serbuk daun bidara kering ditimbang seberat 500 gram dimasukkan ke dalam toples dan ditambahkan pelarut methanol 80% kemudian dihomogenkan dengan diaduk menggunakan spatula. Toples di tutup dengan alumunium foil dan plastik hitam agar methanol tidak menguap. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan larutan dengan endapannya. Setelah terpisah, hasil larutannya kemudian diuapkan, proses penguapan ini menggunakan alat yang disebut *rotary evaporator*. Setelah diuapkan, maka dihasilkan ekstrak daun bidara dalam bentuk pasta sebanyak 22,1 gram. Kemudian pasta diencerkan menggunakan DMSO 10% untuk perlakuan dosis yang diinginkan.

d. Pembuatan Media**1) Media TSA (*Tryptic Soy Agar*) Miring**

Menurut Muljono, Fatimawati dan Manampiring (2016), media TSA ditimbang sebanyak 0,28 gram, dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan NaCl. Kemudian dilarutkan dengan aquades, dipanaskan diatas *hot plate* yang bertujuan agar media homogen. Selanjutnya media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi, dibiarkan pada suhu ruangan selama \pm 30 menit sampai media memadat pada kemiringan 30°. Media agar miring digunakan untuk inokulasi bakteri.

2) Media Cair TSB (*Tryptic Soy Broth*)

Menurut Rubianto, Riauaty dan Lukistyowati (2016), media *Tryptic Soy Broth* digunakan sebagai kultur bakteri. Pembuatan media TSB (*Triptic Soya Broth*) dicampurkan dengan aquades sesuai dengan perbandingan yang ditentukan oleh media TSB 30 g/l aquades. Kemudian ditambahkan NaCl dan dipanaskan hingga mendidih di atas *hot plate*. Setelah mendidih, disterilisasikan terlebih dahulu dalam *autoclave* bersuhu 121° C dengan tekanan 1 atm selama 30 menit.

3) Media TCBS (*Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose*)

Media TCBS digunakan untuk media selektif menumbuhkan bakteri *V. harveyi*. TCBS mengandung Oxbile dan sodium thiosulphate untuk menghambat bakteri gram positif dan enterobakteria sedangkan gula sukrosa sebagai penanda ada tidaknya bakteri yang memiliki kemampuan untuk menfermentasi sukrosa (Alawiyah, Budiharjo dan Suprihadi, 2017).

e. Bakteri *V. harveyi*

Isolat bakteri *V.harveyi* didapatkan dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Laboratorium Uji Jepara. Isolat bakteri yang telah didapatkan

diremajakan kembali pada media agar miring TSA dalam tabung reaksi. Hasil uji biokimia disajikan pada Lampiran 3.

f. Peremajaan Bakteri *V. harveyi*

Peremajaan bakteri *V. harveyi* menggunakan media TSA miring. Bakteri *V. harveyi* didapatkan dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Jawa Tengah. Stok bakteri diremajakan dengan menginokulasi kembali isolat bakteri pada media agar miring secara zigzag. Kemudian diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 32°C selama 24 jam (Nurjanna dan Fajrihanif, 2010).

g. Kultur Bakteri *V. harveyi*

Menurut Puspitarani, Satyantini dan Kusdarwati (2016), isolat bakteri yang telah berhasil diidentifikasi kemudian dikultur pada media TSB (*Tryptic Soy Broth*). Jarum ose dipijarkan diatas bunsen, kemudian diambil bakteri sebanyak 1 gores pada media agar miring. Selanjutnya jarum ose yang terdapat bakteri dimasukkan kedalam media TSB, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 32°C.

3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Identifikasi Bakteri

Menurut Arbaeyah Yoswaty dan Elizal (2017), pewarnaan Gram dilakukan bertujuan untuk membedakan bakteri Gram positif atau Gram negatif. Sampel yang akan diidentifikasi dengan pewarnaan Gram diambil dengan menggunakan jarum ose steril, lalu dioleskan pada *objek glass*. Selanjutnya sampel diberi 1 tetes larutan *crystal violet* dan diamkan selama 1 menit lalu dibilas dengan akuades dan dikering anginkan. Setelah itu larutan *iodin* ditetaskan pada sampel dengan perlakuan yang sama seperti sebelumnya. Kemudian sampel ditetaskan larutan alkohol dan digoyangkan selama 15 detik. Lalu ditetesi lagi dengan larutan *safranin*, dan diamkan selama 15 detik lalu dicuci dengan akuades dan ditutup dengan *cover glass*. Dilakukan pengamatan di bawah mikroskop perbesaran 10 x

100. Jika berwarna ungu artinya bakteri gram positif. Namun jika berwarna merah jambu atau kemerahmerahan maka sampel tersebut tergolong bakteri gram negatif.

b. Uji Cakram

Menurut Mulyadi, Wiryanti dan Ria (2013), kertas cakram dicelupkan ke dalam larutan sampel sampai merata di seluruh permukaan cakram dengan berbagai macam konsentrasi yang telah disiapkan. Selanjutnya dituang media yang telah disterilkan ke dalam petridish, media yang telah dingin dan memadat di tanami bakteri. Bakteri yang di tanam diratakan hingga seluruh permukaan.

Kemudian cakram tersebut diletakkan dalam media yang telah ditanami bakteri dan dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 32°C. Berdasarkan pernyataan Prihardini dan Kristianingsih (2016), kertas Cakram yang telah direndam dalam masing-masing konsentrasi diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditumbuhi bakteri. Aktivitas antibakteri yang dimiliki masing-masing minyak atsiri diamati berdasarkan diameter zona bening (zona bening) yang terbentuk di sekeliling kertas cakram. Hasil diukur menggunakan jangka sorong. Mulyadi, Wuryanti dan Ria (2013) menambahkan, zona bening yang terbentuk pada media yang telah diinokulasi bakteri disekitar cakram kertas yang di celupkan sampel menunjukkan aktivitas penghambatan dari sampel terhadap bakteri uji.

Pencelupan cakram kertas ke dalam larutan sampel sampai merata di seluruh permukaan cakram kertas.

3.6 Parameter Uji

Pelaksanaan penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak kasar daun bidara terhadap aktivitas zona bening bakteri *V. harveyi* secara *in vitro* memiliki parameter uji yang terdiri dari parameter utama dan parameter penunjang.

- Parameter utama

Parameter utama dalam penelitian pengaruh pemberian ekstrak kasar daun bidara terhadap bakteri *V. harveyi* yaitu daerah hambatan berupa zona bening yang diukur dengan menggunakan kertas cakram yang dinyatakan dalam mm (milimeter).

- Parameter penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian pengaruh pemberian ekstrak kasar daun bidara terhadap bakteri *V. harveyi* yaitu suhu inkubasi untuk menumbuhkan bakteri *V. harveyi*.

3.7 Analisis Data

Berdasarkan hasil uji daya hambat (zona bening) ekstrak kasar daun bidara terhadap aktivitas zona bening bakteri *V. harveyi* maka dilakukan analisa data secara statistik dengan menggunakan analisa keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Uji ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon daya hambat (zona bening) yang diukur atau uji F. apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yaitu untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Kemudian untuk mengetahui hubungan antar perlakuan dengan diameter daya hambat (zona bening) digunakan uji *polynomial orthogonal* yang memberikan keterangan mengenai pengaruh yang terbaik.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri *V. harveyi* dengan cara pewarnaan gram didapatkan hasil bahwa, bakteri *V. harveyi* tergolong dalam bakteri gram negatif. Hal tersebut karena bakteri gram negatif tidak dapat mempertahankan kompleks warna kristal violet dengan alkohol saat proses pewarnaan. Hasil pewarnaan gram yang dilakukan secara mikroskopik dengan perbesaran 1000x menunjukkan warna merah. Berikut dapat disajikan hasil pewarnaan gram bakteri *V. harveyi* pada Gambar 5 berikut :



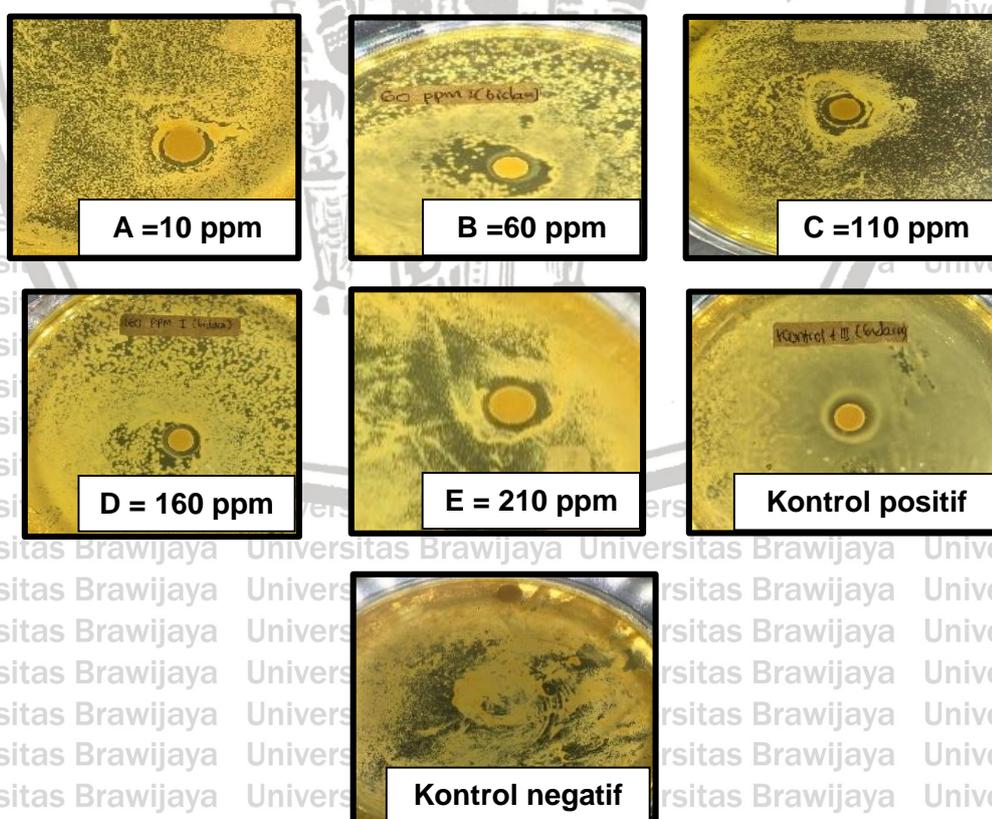
Gambar 5. Hasil Uji Pewarnaan Gram Bakteri *V.harveyi* (perbesaran 1000x)

Berdasarkan pernyataan Hidayat (2015), untuk mengetahui jenis bakteri yang dihasilkan maka dilakukan identifikasi secara mikroskopik yaitu dengan pewarnaan gram. Uji gram ini dilakukan untuk mengelompokkan bakteri berdasarkan reaksi kimia yang terbagi menjadi dua yaitu Gram positif dan Gram negatif yang menggunakan larutan pewarna gram (*Gram staining*). Proses pewarnaan Gram yang telah dilakukan akan menghasilkan bentuk morfologi dari bakteri tersebut. Ketika sel bakteri yang terdapat pada kaca objek ditambahkan dengan pewarna Kristal violet yang bewarna ungu, maka sel bakteri akan menyerap pewarna tersebut. Interaksi antara sel bakteri dengan kristal violet akan semakin kuat dengan ditambahkan lugol. Ketika dicuci dengan alkohol, bakteri

Gram positif akan tetap mengikat kompleks kristal violet-lugol sehingga menjadi berwarna ungu. Sedangkan bakteri Gram negatif akan kehilangan kompleks kristal violet lugol karena lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram negatif lebih tipis sehingga menjadi tidak berwarna. Ketika ditambahkan dengan safranin yang berwarna merah maka bakteri Gram negatif akan menyerapnya sedangkan bakteri Gram positif tidak akan menyerap pewarna lagi.

4.2. Uji Cakram

Uji cakram dilakukan untuk mengetahui antibakteri yang terkandung dalam ekstrak daun bidara (*Z. mauritiana*). Kertas cakram dimasukkan ke dalam ekstrak daun bidara (*Z. mauritiana*) dengan dosis yang berbeda pada masing-masing perlakuan dengan waktu perendaman kertas cakram selama kurang lebih 15 menit kemudian diinkubasi selama 24 jam. Berikut adalah hasil zona bening yang disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Hasil Uji Cakram

Uji cakram dilakukan dengan menggunakan 5 dosis ekstrak daun bidara yaitu 10 ppm, 60 ppm, 110 ppm, 160 ppm dan 210 ppm, kontrol positif dan kontrol negatif. Hasil yang didapat selama pengamatan adalah pada perlakuan A dengan dosis 10 ppm didapatkan ukuran rata-rata zona bening sebesar 8,58 mm.

Perlakuan B dengan dosis 60 ppm didapatkan ukuran rata-rata zona bening sebesar 8,79 mm. Perlakuan C dengan dosis 110 ppm didapatkan hasil rata-rata zona bening sebesar 9,39 mm. Perlakuan D dengan dosis 160 ppm mendapat rata-rata zona bening sebesar 9,48 mm. Perlakuan E dengan dosis 210 ppm mendapat rata-rata ukuran zona bening sebesar 9,99 mm.

Menurut Syamsul, Supomo, Wijaya dan Nugroho (2015), klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri dapat dilihat sebagai berikut:

Tabel 3. Klasifikasi Respon Hambatan

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

Berdasarkan Tabel 4. perbandingan respon zona bening di atas, maka dapat dianalisa hasil daya hambat daun bidara (*Z. mauritiana*) terhadap *V. harveyi*.

Perlakuan A (10 ppm) rata-rata berada pada 5-10 mm. Hasil dari perlakuan A (10 ppm) adalah memiliki respon sedang. Perlakuan B (60 ppm) rata-rata berada berada pada 5-10 mm. Hasil dari perlakuan B (60 ppm) adalah memiliki respon sedang. Perlakuan C (110 pmm) rata-rata berada pada 5-10 mm. Hasil dari perlakuan C (110 ppm) adalah memiliki respon sedang. Perlakuan D (160 ppm) rata-rata berada pada 5-10 mm. Hasil dari perlakuan D (210 ppm) adalah memiliki respon sedang. Perlakuan E (210 ppm) berada pada 10-19 mm. Hasil dari perlakuan E (210 ppm) adalah memiliki respon sedang.

Dari hasil yang didapatkan kemudian dilakukan pengukuran rerata zona bening yang dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 4. Data Rerata Hasil Pengukuran Zona Bening (mm)

Perlakuan	P			Total	Rerata \pm SD
	1	2	3		
A	9,13	8,27	8,35	25,75	8,58 \pm 0,48
B	8,77	8,85	8,75	26,37	8,79 \pm 0,05
C	9,55	9,15	9,46	28,16	9,39 \pm 0,21
D	9,35	9,44	9,65	28,44	9,48 \pm 0,15
E	9,61	10,02	10,33	29,96	9,99 \pm 0,36
				138,68	

Tabel 5. menunjukkan bahwa perlakuan E (210 ppm) memiliki zona rerata zona bening yang paling tinggi yaitu 9,99 mm. Rerata zona bening terendah ditunjukkan oleh perlakuan A (10 ppm) yaitu 8,58 mm. Berdasarkan pernyataan Rahmawati, Sudjarwo dan Widodo (2014), diameter zona bening terlihat dari zona bening di sekitar lubang. Jika semakin luas zona bening maka semakin besar suatu bahan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Selanjutnya dilakukan analisa sidik ragam untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Berikut adalah Tabel analisa sidik ragam yang disajikan pada **Tabel 6**

Tabel 5. Analisa Sidik Ragam Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Bidara Terhadap Bakteri *V.harveyi*

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	3,81	0,95	11,163**	3,48	5,99
Acak	10	0,85	0,09			
Total	14					

Keterangan:

** : berbeda sangat nyata

Berdasarkan tabel perhitungan analisa sidik ragam diatas menunjukkan bahwa ekstrak daun bidara (*Z. mauritiana*) memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi*. Hal ini dikarenakan nilai F hitung yaitu 11,163 lebih besar dari pada nilai F tabel 5% (3,48) dan F tabel 1%

(5,99). Perbedaan masing-masing perlakuan terhadap daya hambat zona bening bakteri didukung dengan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) didapatkan untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan dapat dilihat pada **Tabel 7**.

Tabel 6. Uji Beda Nyata Terkecil Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Bidara Terhadap Bakteri *V.harveyi*

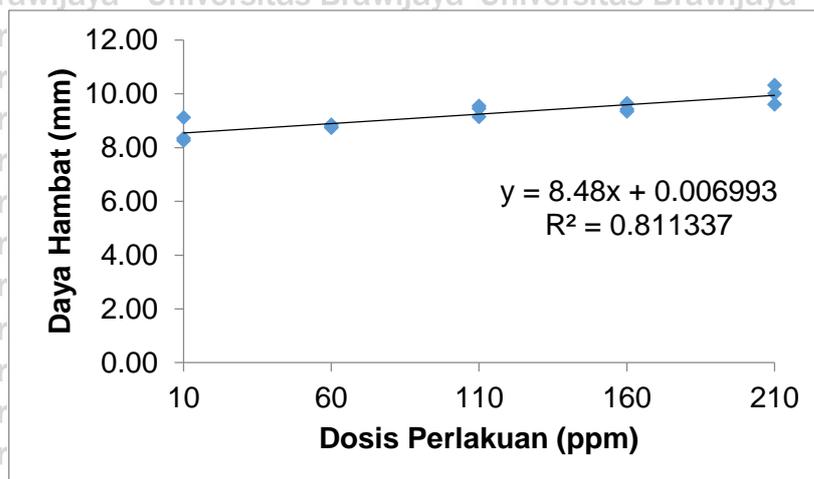
Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	E	Notasi
		8,58	8,79	9,39	9,48	9,99	
A	8,58	-					a
B	8,79	0,21 ^{ns}	-				a
C	9,39	0,80*	0,60*	-			b
D	9,48	0,90*	0,69*	0,09 ^{ns}	-		c
E	9,99	1,40*	1,20*	0,60*	0,51 ^{ns}	-	c

Keterangan :

ns : tidak berbeda nyata

* : berbeda nyata

Hasil uji BNT pada Tabel 7 menunjukkan bahwa perlakuan A tidak memberikan nilai yang signifikan antar perlakuan sehingga diberi notasi a. perlakuan B tidak berbeda nyata terhadap perlakuan A sehingga diberi notasi a. perlakuan C memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap perlakuan B sehingga diberi notasi b. Perlakuan D tidak berbeda nyata terhadap perlakuan C sehingga diberi notasi c dan perlakuan E tidak berbeda nyata terhadap perlakuan D sehingga diberi notasi c. Dapat dianalisa bahwa pada perlakuan A dengan dosis 10 ppm sudah mulai menunjukkan adanya pertumbuhan dari bakteri *V. harveyi* dimana ditunjukkan dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Berdasarkan hasil penelitian tersebut didapatkan grafik regresi *polynomial orthogonal* zona bening yang dihasilkan dengan perlakuan yang berbeda disajikan pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Grafik Regresi Polynomial Zona Bening

Berdasarkan Gambar 7. terlihat bahwa penambahan dosis pada perlakuan ekstrak daun bidara (*Z. mauritiana*) terhadap zona bening menunjukkan pola linier dengan persamaan $y=8,48x + 0,006993$ dan koefisien $R^2 = 0,811337$. Pada dosis 10 ppm hingga 210 ppm grafik mengalami peningkatan pada hasil zona bening.

Peningkatan zona bening dipengaruhi oleh bertambahnya dosis yang diberikan pada perlakuan. Semakin tinggi dosis yang diberikan, maka semakin besar zona bening yang dihasilkan karena kandungan senyawa aktifnya juga lebih banyak.

Hal ini sesuai dengan pernyataan Rastina, Sudarwanto, dan Wientarsih (2015), bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, maka semakin besar pula diameter zona bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram. Selain faktor konsentrasi, jenis bahan antimikroba yang dihasilkan juga menentukan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan hasil penelitian dapat dikatakan bahwa ekstrak kasar daun bidara memiliki senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri

V. harveyi dan bersifat bakteriostatik. Antibiotik *oxytetracycline* juga bersifat bakteriostatik atau menghambat pertumbuhan bakteri, akan tetapi antibakteri *oxytetracycline* dapat mengakibatkan bakteri menjadi resisten dan berkembang lebih cepat jika digunakan secara terus menerus (Juwana, 1990). Menurut Dewi

dan Wijayanti (2017), mekanisme bakteriostatik yakni dengan menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Hal ini ditunjukkan dengan adanya penambahan antimikroba pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikroba didapatkan jumlah sel total maupun sel hidup yang sama. Adapun dikatakan bakteriostatik karena pada saat pengamatan 24 jam dimana sudah mulai menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *V.harveyi* dan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram namun setelah 48 jam tidak menunjukkan adanya peningkatan zona bening di sekitar kertas cakram dan zona bening semakin mengecil. Sesuai dengan pendapat Anwar dan Arwie (2019) dalam penelitiannya yang menggunakan daun bidara bahwa dari hasil pengamatan penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun Bidara memiliki aktivitas senyawa antimikroba karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* seperti yang terlihat pada pembentukan zona bening pada permukaan media yang ditumbuhi biakan *Staphylococcus aureus*. Pringgenies, Setyati, Wibowo dan Djunaedi (2020) menambahkan mekanisme bakteriostatik yakni dengan menghambat sintesis protein dan mengikat ribosom, sedangkan untuk mekanisme bakterisidal dengan cara mencegah pertumbuhan dan menyebabkan kematian, akan tetapi tidak menyebabkan sel dari bakteri tersebut menjadi lisis

4.3 Mekanisme Antibakteri

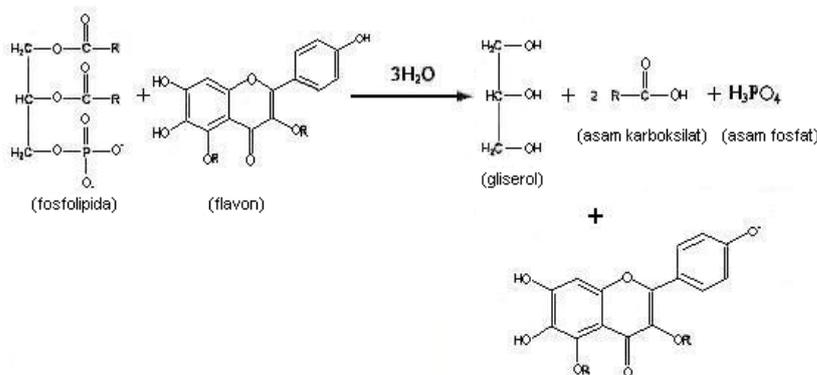
Uji fitokimia ekstrak daun bidara bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif flavonoid, alkaloid, tannin, saponin dan fenol. Berdasarkan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan terhadap ekstrak daun bidara menunjukkan hasil positif mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, dan fenol.

Bontjura, Waworuntu dan Siagian (2015) berpendapat bahwa sebagai antibakteri flavonoid dapat bekerja dengan cara menghambat sintesis asam

nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi.

Flavonoid juga dapat merusak permeabilitas dari dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Dalam menghambat fungsi membrane sel, flavonoid bekerja dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel serta diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler.

Flavonoid juga dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat.



Gambar 8.Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon (Prajitno, 2007)

Gambar 8 menunjukkan reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon. Pada perusakan membran sitoplasma, ion H⁺ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian (Prajitno,2007).

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme antibakteri alkaloid adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan Hal ini menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan terjadi kematian pada sel tersebut (Kurniawan dan Aryana, 2015). Siregar, Sabdono dan Pringgenies (2012) menambahkan, keaktifan biologis dari senyawa alkaloid ini disebabkan karena adanya gugus basa yang mengandung nitrogen. Apabila mengalami kontak dengan bakteri maka gugus basa akan bereaksi dengan senyawa-senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri sebagai penyusun inti sel yang merupakan pusat pengaturan segala kegiatan sel. Reaksi ini terjadi karena secara kimia suatu senyawa yang bersifat basa akan bereaksi dengan senyawa asam dalam hal ini adalah asam amino karena sebagian besar asam amino telah beraksi dengan gugus basa dari senyawa alkaloid.

Menurut Carolia dan Noventi (2015), senyawa tanin memiliki mekanisme kerja yakni dengan adanya daya antibakteri yang dimiliki dengan cara memprepitasi protein. Sebagai antibakteri, tannin memiliki efek melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik. Adapun mekanismenya adalah dengan menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Alamsyah, Widowati dan Sabono (2014) menambahkan, mekanisme kerja tanin yakni dengan mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga permeabilitas dari dinding sel bakteri tersebut akan terganggu. Mekanisme kerja saponin menurut Dhuha, Bodhi dan Kojung (2016) yakni dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga membran sel menjadi tidak stabil dan mengakibatkan hemolisis sel. Sebagai antibakteri, saponin bekerja dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar.

Saponin merupakan senyawa yang bersifat antibakteri dengan bekerja efektif pada bakteri gram positif.

Senyawa fenol memiliki mekanisme yang berbeda pada konsentrasi rendah dan konsentrasi tinggi. Mekanisme fenol sebagai antibakteri pada konsentrasi rendah dan konsentrasi tinggi menurut Putri, Hasanah dan Kusumaningrum (2016) adalah pada konsentrasi rendah senyawa fenol dapat merusak membran sitoplasma dan dapat menyebabkan kebocoran inti sel. Pada konsentrasi tinggi, senyawa fenol akan berkoagulasi dengan protein seluler. Aktivitas tersebut sangat efektif ketika bakteri dalam fase pembelahan dimana lapisan fosfolipid di sekitar sel sedang dalam kondisi yang sangat tipis. Hal tersebut mengakibatkan fenol dapat dengan mudah merusak isi sel.

4.4 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang digunakan dalam penelitian ini adalah suhu inkubasi bakteri *V. harveyi* selama penelitian berlangsung, suhu sendiri merupakan faktor utama yang sangat penting dalam penunjang laju pertumbuhan bakteri. Suhu inkubasi bakteri *V. harveyi* yang digunakan selama penelitian adalah 32°C yang masih dapat dikatakan suhu optimum dalam kondisi biakan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Prajitno (2007), suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio* spp berkisar antara 30-35°C. sedangkan pada suhu 4°C dan 45°C bakteri tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55°C akan mati.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

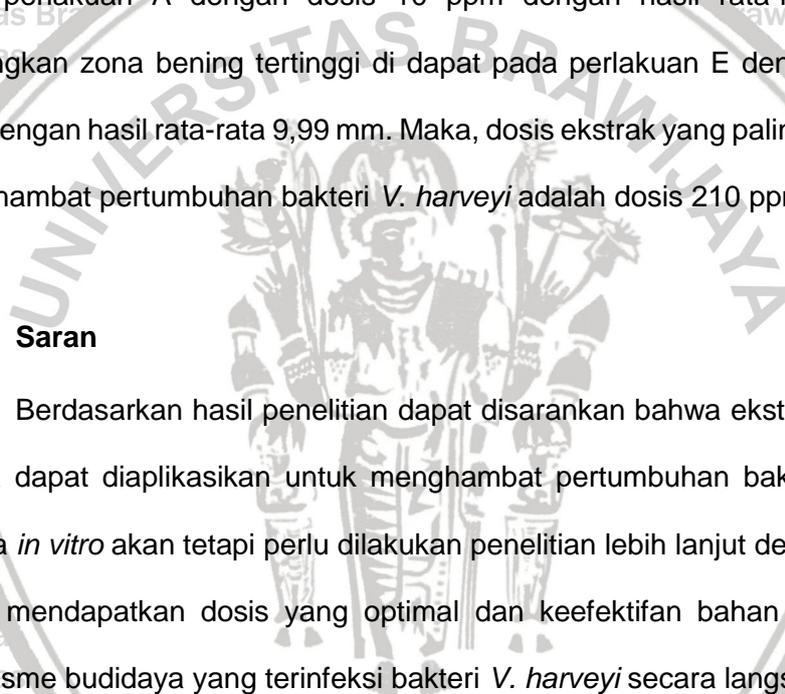
5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh ekstrak kasar daun bidara (*Z. mauritiana*) terhadap aktivitas zona bening dari bakteri *V. harveyi* dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun bidara (*Z. mauritiana*) memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi* dengan cara menghambat pertumbuhannya dan bersifat bakteriostatik. Zona bening terendah didapatkan pada perlakuan A dengan dosis 10 ppm dengan hasil rata-rata 8,58 mm.

Sedangkan zona bening tertinggi di dapat pada perlakuan E dengan dosis 210 ppm dengan hasil rata-rata 9,99 mm. Maka, dosis ekstrak yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* adalah dosis 210 ppm.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan bahwa ekstrak kasar daun bidara dapat diaplikasikan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro* akan tetapi perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan uji *in vivo* untuk mendapatkan dosis yang optimal dan keefektifan bahan tersebut pada organisme budidaya yang terinfeksi bakteri *V. harveyi* secara langsung.



DAFTAR PUSTAKA

- Abalaka, M., Mann, A dan Adeyem, S. O. 2011. Studies on in-vitro antioxidant and free radical scavenging potential and phytochemical screening of leaves of *Ziziphus mauritiana* L. and *Ziziphus spinachristi*. *Journal of Medical Genetics and Genomics*. **3**(2): 28-34.
- Abdallah, E. M., E. R. Elsharkawy dan A. Ed-dra. 2016. Biological activities of methanolic leaf extract of *Ziziphus mauritiana*. *Pharmaceutical Communication*. **9**(4): 605-614.
- Afrianto, E., E. Liviawaty, Z. Jamaris dan Hendi. 2015. Penyakit Ikan. Penebar Swadaya. Yogyakarta. 220 hlm.
- Agustina, S. S. dan Marlan. 2014. Identifikasi tingkat serangan bakteri yang menginfeksi komoditi rumput laut di perairan Teluk Tolo dan Teluk Tomini Kabupaten Banggai Sulawesi Tengah. *Jurnal Balik Diwa*. **5**(2): 34-39.
- Alamsyah, H. K., I. Widowati dan A. Sabdono. 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut *sargassum cinereum* (j.g. Agardh) dari perairan pulau panjang jepara terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*. **3**(2): 69-78.
- Alawiyyah, T., A. Budiharjo dan A. Suprihadi. 2017. Isolasi, enumerasi dan deteksi molekuler gen *toxR* pada bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dari tambak udang vannamee di Rembang. *Jurnal Biologi*. **6**(3): 96-102
- Anwar, A. Y dan D. Arwie. 2019. Uji bioaktivitas ekstrak daun bidara bidara (*Ziziphus mauritiana lam*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Panrita Husada*. **4**(1): 49-57.
- Arbaeyah, D.Yoswaty dan Elizal. 2017. Test of antibacterial activity of sea cucumbar extract (*Holothuria scabra*) against growth of *Vibrio harveyi* bacteria on tiger shrim p (*Penaeus monodon*). *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau*. **4**(2): 1-9.
- Arwin, M., F. G. Ijong dan R. Tumbol. 2016. Karakteristik *Aeromonas hydrophila* yang di isolasi dari ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Aquatic Science & Management*. **4**(2): 52-55.
- Bintoro, A., A. M. Ibrahim dan B. Situmeang. 2017. Analisis dan identifikasi senyawa saponin dari daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.). *Jurnal ITEKIMIA*. **2**(1): 84-94.
- Bontjura, S., O. A. Waworuntu dan K. V. Siagian. 2015. Uji efek antibakteri ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap bakteri *streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **4**(4): 96-101.
- Carolia, N dan W. Noventi. 2015. Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) sebagai Alternatif Terapi *Acne vulgaris*. *Majority*. **5**(1): 140-145
- Chairunnisa, S., N. M. Wartini dan L. Suhendra. 2019. Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*

- L.) sebagai sumber saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. **7**(4): 551-560.
- Chatterjee, S. and S. Haldar. 2012. Vibrio related diseases in aquaculture and development of rapid and accurate identification methods. *J Marine Sci Res Dev*. 1-7.
- Dewi, S. E. N. dan J. Wijayanti. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak lamun (*Cymodocea rotundata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Saintek Perikanan*. **13**(1): 1-6.
- Dhuha, S., W. Bodhi dan N. Kojong. 2016. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun lamun (*Syringodium isoetifolium*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Ilmiah farmasi*. **5** (1): 231-237.
- Dubey, R., K. Dubey, C. Sridhar dan K. N. Jayaveera. 2011. Human vaginal pathogen inhibition studies on aqueous, methanolic and saponins extracts of stem barks of *Ziziphus mauritiana*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. **2**(3): 659-663.
- Evan, Y. 2011. Uji ketahanan beberapa strain larva udang galah (*macrobrachium rosenbergii* de man) terhadap bakteri *vibrio harveyi*. *Skripsi*. IPB. 44 hlm.
- Felix, F., T.T. Nugroho, S. Silalahi dan Y. Octavia. 2011. Skrining Bakteri *Vibrio* sp Asli Indonesia Sebagai Penyebab Penyakit Udan Berbasis Tehnik 16S Ribosomal DNA. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. **3**(2):85-99.
- Garrity, G. M., J. A. Bell and T. G. Lilburn. 2004. Taxonomic outline of the prokaryotes Bergey's Manual of systematic bacteriology, second edition. Bergey's Manual Trust. **5**: 1-399.
- Ghufran, M., H. Kordi dan A. Tamsil. 2010. Pembenuhan Ikan Laut Ekonomis Secara Buatan. Lily Publisher: Yogyakarta. 190 hlm.
- Goyal, M., B. P. Nagori dan D. Sasmal. 2012. Review on ethnomedicinal uses, pharmacological activity and phytochemical constituents of *Ziziphus mauritiana* (*Z. jujuba* Lam., non Mill). *Spatula DD*. **2**(2): 107-166.
- Grandiosa, R. 2010. Efektifitas Penggunaan Larutan Filtrat Jintan Hitam (*N. Sativa*) Dengan Konsentrasi Berbeda Terhadap Pertumbuhan Bakteri *A. Hydrophila* Secara in vitro dan Uji Toksisitasnya Terhadap Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Laporan Penelitian Mandiri*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjajaran. Jatinangor 17 hlm.
- Haeria, Hermawati dan A. T. U. Pine. 2016. Penentuan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal*. **1**(2): 57-61.
- Handayani, P. A dan H. Nurcahyanti. 2015. Ekstraksi minyak atsiri daun zodia (*evodia suaveolens*) dengan metode maserasi dan distilasi air. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*. **4**(1) 1-7.
- Harti, A. S. 2015. Mikrobiologi Kesehatan. CV. Andi Offset: Yogyakarta. 274 hlm.
- Hatmanti, A. 2003. Penyakit bakterial pada budidaya krustasea serta cara penanganannya. *Oseana*. **28**(3): 1-10.

Hendrawati, Y. T. dan S. Utomo. 2017. Optimasi suhu dan waktu sterilisasi pada kualitas susu segar di Kabupaten Boyolali. *Jurnal Teknologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta*. **9(2)**: 97-102.

Herdwiani, W., F. Leviana, Sari, Yolanda, Rica, Zahra, Z. Ikawati, T. Hertiani dan A. Khoirunisa. 2014. Uji keamanan dan uji aktivitas sitotoksik minyak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. **1(2)**: 47-57.

Hidajati, N dan A. N. Rokhmana. 2019. Antioxidant and phytochemical test of ziziphus mauritiana ethanol extract. *Atlantis Highlights in Chemistry and Pharmaceutical Sciences*. **1**: 47-49.

Hidayah, N., A. K. Hisan, A. Solikin, Irawati dan D. Mustikaningtyas. 2016. Uji efektivitas ekstrak *Sargassum muticum* sebagai alternatif obat bisul akibat aktivitas *Staphylococcus aureus*. *Journal of Creativity Students*. **1 (1)** : 1-9.

Hidayat, A. S. 2015. Isolasi dan identifikasi bakteri *Vibrio* sp. dari kerapu sunu (*Plestropomus leopardus*). *Jurnal Teknosains*. **8(2)**: 209-216.

Ilmiah, Sukenda, Widanarni dan E. Harris. 2012. Isolasi dan karakterisasi *Vibrio* patogen pada ikan kerapu macan *Epinephelus fuscoguttatus*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **11(1)**: 28-37.

Jannah, M. 2018. Uji aktivitas antikanker ekstrak dan fraksi daun bidara laut (*Ziziphus mauritiana* L.) terhadap sel kanker payudara (T47D) melalui metode MTT. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Maliki Malang.

Jayanti, N. K. A., M. Antara dan I. W. Ginarsa. 2013. Bauran pemasaran lobster air tawar pada kelompok petani agro crayfish di Denpasar. *E-Jurnal Agribisnis dan Agrowisata*. **2 (2)**: 62 – 70.

Juwana, S. 1990. Tinjauan tentang kebiasaan menggunakan antibiotik dalam dosis pencegahan pada hatchery. *Oseana*. **15(3)**: 93-105.

Kurniawan, A. 2012. Penyakit Akuatik. Bangka Belitung: UBB Press. 225 hlm.

Kurniawan, K., dan E. Susianingsih. 2014. Mekanisme infeksi antibakteri *Vibrio harveyi* terhadap gambaran histopatologi udang windu. *Prosiding Forum Inovasi Akuakultur*. 985-993.

Kurniawan, B., dan W.F. Aryana. 2015. Binahong (*Cassia Alata* L) As Inhibitor Of *Escherichiacoli* Growth. *J. MAJORITY*. **4(4)**:1-5

Kusdiantoro, A. Fahrudin, S. H. Wisudo dan B. Juanda. 2019. Kinerja pembangun perikanan tangkap di Indonesia. *Bulletin Ilmiah Marina Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan*. **5(2)**: 69-84.

Kusmiyati dan N. W. S. Agustini. 2007. Uji aktivitas senyawa akntibakteri dari mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Biodiversitas*. **8(1)**: 45-53.

Kusriani, H., A. Nawawi dan E. Machter. 2015. Penetapan kadar senyawa fenolat total dan aktivitas antioksidan ekstrak daun, buah dan biji bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). *PROSIDING*. **1(1)**: 311-318.

Kusumaningrum, P. D., L. Thessiana dan N. Financia G. 2015. Sistem sterilisasi bakteri *vibrio harveyi* menggunakan Radioisotop cobalt-60 untuk budidaya udang. *JURNAL KELAUTAN NASIONAL*. **10**(3): 125-137.

Lumbanraja, I. M., M. M. Wartini dan L. Suhendra. 2019. Pengaruh jenis pelarut dan ukuran partikel bahan terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) Sebagai sumber saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen*. **7**(4): 541-550.

Luthfy, AN., E. Kusdiyantini dan A. Budiharjo. 2015. Bioprospeksi bakteri yang berasosiasi dengan lamun *Enhalus acoroides* dan *Syringodium isoetifolium* sebagai penghasil senyawa antibakteri. *Jurnal Biologi*. **4**(4): 28-36.

Muljono, P., Fatimawali, dan A. E. Manampiring. 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun mayana jantan (*Coleus atropurpureus* Benth) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus* Sp. dan *Pseudomonas* Sp. *Jurnal e-Biomedik*. **4**(1): 164-172.

Mulyadi, M., Wuryanti, dan R.S . Purbowatiningrum. 2013. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang- Alang (*Imperata cylindrica*) Dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Chem Info*. **1**(1): 35-42.

Natsir, N. A. 2015. Uji ekstrak cabai rawit sebagai pestisida nabati untuk mengendalikan hama ulat titik tumbuh pada tanaman sawi biologi sel. *Jurnal Biology Science & Education*. **4**(1): 50-60.

Ngajow, M., J.Abidjulu dan V. S. Kamu. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal Mipa Unsrat*. **2**(2): 128-132.

Nurjanna dan A. Fajrihanif. 2010. Penentuan bakteri *sulfat reducing bacteria* (srb) dan *sulfur oxidizing bacteria* (sob) dengan menggunakan pelarut yang berbeda. *Media Akuakultur*. **5**(1): 47-50.

Prajitno, A. 2007. Uji sensitifitas flavonoid rumput laut (*Euclidean cottoni*) sebagai bioaktif alami terhadap bakteri *Vibrio harveyi*. *Jurnal Protein*. **15**(2): 66-71.

Prihardini dan I. Kristianingsih. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Dan Ekstrak Etanol Bunga Kamboja Putih (*Plumeria acuminata* L.) Terhadap *Eschericia coli*. *Prosiding*. **3** : 215-233.

Pringgenies, D., W. A. Setyati, D. S. Wibowo dan A. Djunaedi. 2020. Aktivitas antibakteri ekstrak jeruju *Acanthus ilicifolius* terhadap bakteri multi drug resistant. *Jurnal Kelautan Tropis*. **23**(2): 145-156.

Puspitarani, A., W. H. Satyantini dan R. Kusdarwati. 2016. Pengaruh pemberian ekstrak air panas *spirulina platensis* pada pakan terhadap kelangsungan hidup dan total hemosit udang vaname setelah diinfeksi dengan *vibrio harveyi*. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. **5**(3): 92-99.

Putri, R. R., R. Hasanah dan I. Kusumaningrum. 2016. Uji aktivitas antibakteri dan uji fitokimia ekstrak daun mangrove *Sonneratia alba*. *J. Aquawarman*. **2**(1): 43-50.

- Rahayu, E. S., N. K. Dewi dan F. P. N. H. Bodijantoro. 2018. Profile of *Elaeocarpus grandiflorus* and *Ziziphus mauritiana* as identity plants of Salatiga and Tegal towns, Central Java Province, Indonesia. *International Conference on Mathematics, Science and Education*. **983**: 1-8.
- Rahmawati N., E. Sudjarwo dan E. Widodo. 2014. Uji aktivitas antibakteri ekstrak herbal terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. **24**(3): 24-31.
- Rastina, M. Sudarwanto dan I. Wientarsih. 2015. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas sp.* *jurnal Kedokteran Hewan*. **9**(2): 185-188.
- Riwandy, A., D. Aspriyanto, L.Y. Budiarti. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans in vitro*. *Jurnal Kedokteran Gigi*. **2**(1): 60-64.
- Rubianto, R., M. Riauaty dan I. Lukistyowati. 2016. Histopatology of mystus nemurus of liver that immersed with curcuma xanthorrhiza roxb extract and were infected by *Edwardseilla tarda*. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau*. **3**(2): 1-11.
- Rusdi, M., Susisusantri dan G. Yusuf. 2015. Efek kitosan dari cangkang kepiting lunak (*Scylla olivaceae*) terhadap bakteri *Vibrio harveyi*. *JF FIK UINAM*. **3**(2): 59-63.
- Singh, A. K., Devarinshi, A. Sharma., R. Singh., B. Singh., K. R. Koundal dan N. K. Singh. 2017. Assessment of genetic diversity in *Ziziphus mauritiana* using inter-simple sequence repeat markers. *J. Plant Biochemistry & Biotechnology*. **16**: (1), 35-40.
- Siregar A. F., A. Sabdono dan D. Pringgenies. 2012. Potensi antibakteri ekstrak rumput laut terhadap bakteri penyakit kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal of Marine Research*. **1**(2): 152-160.
- Soleha, T. U. 2015. Uji kepekaan terhadap antibiotik. *Jurnal Kedokteran*. **5**(9): 119-123.
- Sudjadi, B. dan S. Laila. 2006. Biologi Sains dan Kehidupan. Yudhistira: Jakarta. 161 hlm.
- Sulistiyowati, Y dan A. S. Siswati. 2011. Uji potensi antibakteri *Sodium ascorbyl phosphate* terhadap *Propionibacterium acnes in vitro*. *Mutiara Medika*. **11**(1): 8-13.
- Susanto, G. dan Sukadi. 2011. Sistem informasi rekam medis pada rumah sakit umum daerah (RSUD) Pacitan berbasis web base. *Journal Speed – Sentra Penelitian Engineering dan Edukasi*. **3**(4): 18-24.
- Susanty dan F. Bachmid. 2016. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap kadar fenolik dari ekstrak tongkol jagung (*Zea mays L.*). *KONVERSI*. **5** (2) : 87-93.

- Syahidah, A., Saad C. R., Daud H. M. and Abdelhadi Y. M. 2015. Status and potential of herbal applications in aquaculture: A review. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. **14**(1): 27-44.
- Syamsul, E. K., Supomo., H. Wijaya., B. A. Nugroho. 2015. Formulasi Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana*) Dalam Sediaan Krim Anti Acne. *Traditional Medacine Journal*. **20** (3) : 149-157.
- Tambun, R., H. P. Limbong., C. Pinem dan E. Manurung. 2016. Pengaruh ukuran partikel, waktu dan suhu pada ekstraksi fenol dari lengkuas merah. *Jurnal Teknik Kimia*. **5** (4) : 53 – 56.
- Taufiq. 2018. Aktifitas efek antimikroba ekstrak etanol daun bidara laut (*Ziziphus mauritiana* lam.) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kesehatan*. **2**(1): 1-8.
- Triarso, I. 2012. Potensi dan peluang pengembangan usaha perikanan tangkap di Pantura Jawa Tengah. *Jurnal Saintek Perikanan*. **8**(1): 65-73.
- Utami, W., Sarjito dan Desrina. 2016. Pengaruh salinitas terhadap efek infeksi *Vibrio harveyi* pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **5**(1): 82-90.
- Vratama, C. J., Helmizuryani dan B. Muslimin. 2013. Uji perbedaan sumber penyinaran terhadap perubahan warna dan pertumbuhan ikan mas koki (*Carrasius auratus*). *Fiseries*. **2**(1): 26-30.
- Wahjuningrum, D., M. Hasanah dan Rahman. 2016. Efikasi daun sembukan *Paederia foetida* untuk pencegahan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan nila. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **15**(2): 108-116.
- Wake, I. A. M. S., T. R. Soeprowati dan Jumari. 2018. The invasive alien plants threatened the balance of ecosystem in conservative area in Ontoloe Island, Flores Indonesia. *Journal of Physics: Conference Series*. **1025**: 1-10.
- Wasis. 2006. Pedoman Riset Praktis untuk Profesi Perawat. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 231 hlm.
- Wijayanti, A., N. Dwinitasari, U. Febriyani, E. Harpeni. Wardiyanto. 2018. Analisis Uji Tantang Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Yang Diberi Bakteri Probiotik *Bacillus* sp. D2.2 Dan Ekstrak Ubi Jalar Sebagai Sinbiotik. *Biospecies*. **11**(2): 63-71.
- Yusuf, A.M. 2017. Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan Penelitian Gabungan. Kencana: Jakarta. 480 hlm.
- Zhang, X-H., P.G. Meaden and B. Austin. 2001. Duplication of Hemolysin Genes in a Virulent Isolate of *Vibrio harveyi*. *Applied and Environmental Microbiology*. **67**: 3161-3167

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan yang Digunakan

a. Alat



Vortex Mixer



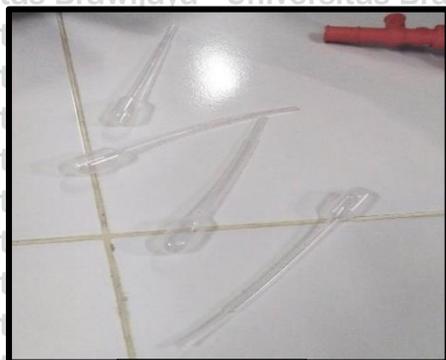
Timbangan Analitik



Botol Sprayer



Rotary Evaporator



Pipet Tetes



Yellow Tip

Lampiran 1 a. (Lanjutan)



Kulkas



Mikroskop



Mikropipet



Inkubator

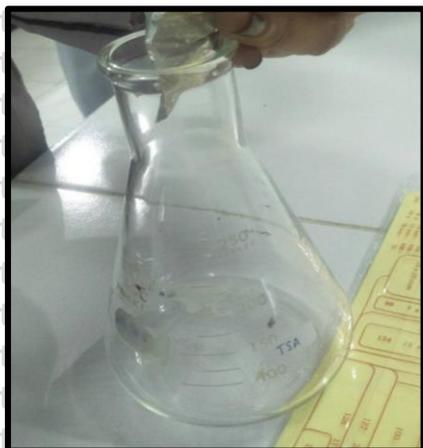


Gelas Ukur

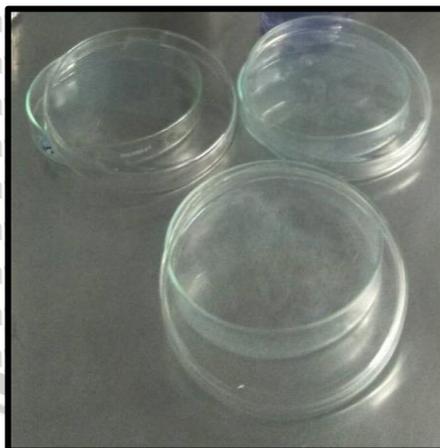


Pipet Volume dan Bola Hisap

Lampiran 1 a. (Lanjutan)



Erlenmeyer



Cawan Petri



Bunsen



Beaker Glass



Korek Api



Triangle

Lampiran 1 a. (Lanjutan)



Jangka Sorong



Toples Kaca



Tabung Reaksi



Nampan



Spatula



Laminary Air Flow

Lampiran 1 a. (Lanjutan)



Botol Film



Jarum Ose



Hotplate



Blue Tip



Pinset



Destruktor



Lampiran 1 a. (Lanjutan)



Corong



Rak Tabung Reaksi



Lampiran 1. (Lanjutan)

b. Bahan



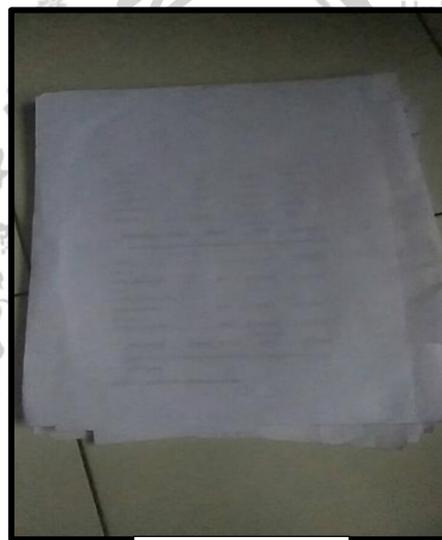
Alumunium Foil



Bakteri *V. harveyi*



Tisu



Kertas Bekas

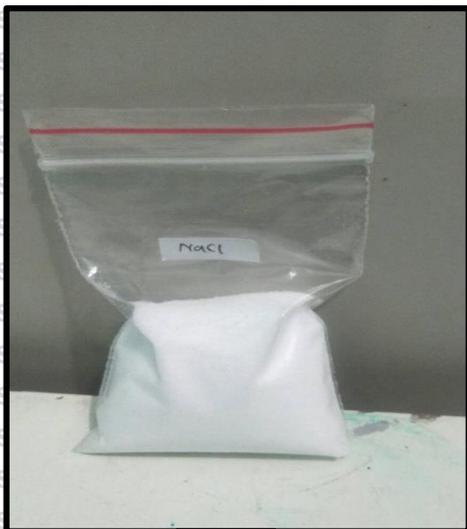


Masker



Alkohol 70%

Lampiran 1 b. (Lanjutan)



NaCl



Lateks



Aquades



Daun Bidara



Kertas Cakram



DMSO 10%

Lampiran 1 b. (Lanjutan)



Methanol



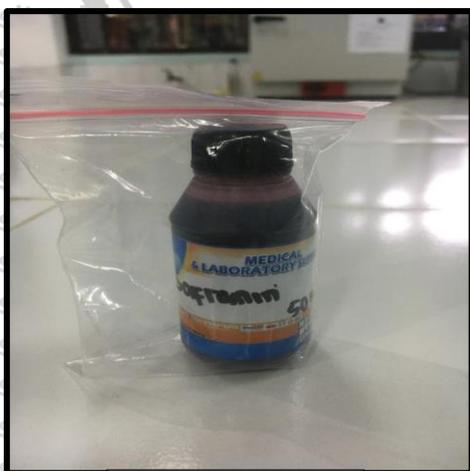
Kapas



Kertas Saring



Kertas Label

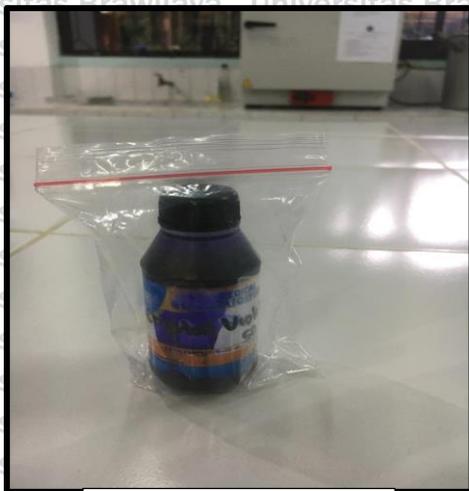


Larutan Safranin



Larutan Lugol

Lampiran 1 b. (Lanjutan)



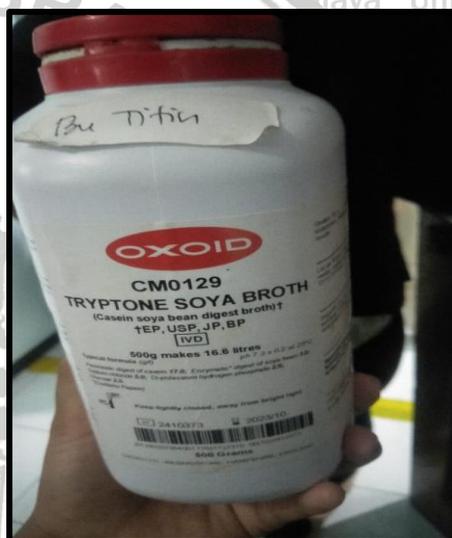
Larutan Kristal Violet



Plastik Wrap



Spiritus



Tryptone Soya Broth



Tryptic Soy Agar



TCBS Agar

Lampiran 2. Hasil Uji Fitokimia Daun Bidara (*Z. mauritiana*)



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA
 Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396 Batu
KOTA BATU 65313

Nomor : 074 / 18D / 102.7 / 2020
 Sifat : Biasa
 Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

- Identitas Pemohon
 - Nama : Septia Dwi Listiya
 - NIM : 165080501111058
 - Instansi : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
 - Alamat Instansi : Malang
- Identitas Sampel
 - Nama daerah sampel : Bidara
 - Nama latin : *Ziziphus mauritiana*
 - Bagian sampel : Daun
 - Bentuk sampel : Ekstrak
 - Pelarut : Metanol
 - Tanggal penerimaan : 10 Februari 2020
 - Tanggal pemeriksaan : 13 Februari 2020
- Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Jingga, Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Positif
2.	Alkaloid	Meyer	Endapan Putih
		Dragendrof	Endapan Jingga
		Bouchardat	Endapan Cokelat
3.	Tanin	Cokelat Kehitaman, Biru Kehitaman	Positif
4.	Saponin	Busa Permanen	Positif
5.	Fenol	Cokelat Kehitaman, Biru Kehitaman	Positif
- Lampiran

Nama Sampel	Flavonoid	Alkaloid		
		Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Ekstrak Daun Bidara (<i>Ziziphus mauritiana</i>)				
Nama Sampel	Tanin	Saponin		Fenol
		Fenol		
Ekstrak Daun Bidara (<i>Ziziphus mauritiana</i>)				
- Pustaka
 - Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1978. "Materia Medika Indonesia", Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 17 Februari 2020
 An. Ka. UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu
 Kepala Seksi Pelayanan Laboratorium Herbal



Nisa Diah Kusanti, S.Farm., Apt.
 NIP. 19900430 201403 2 002



Lampiran 3. Hasil Uji Biokimia Bakteri *V. harveyi*



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

Alamat surat: PO Box 1 Jepara , Kantor: Jl. Cik Lanang – Bulu Jepara 59418
 Telp. : (0291) 591125, Faximili : (0291) 591724
www.bbpbapiepara.djpb.kkp.go.id ; Email : bbpbapjpr@gmail.com



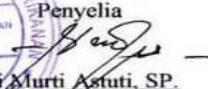
HASIL UJI BIOKIMIA

Hal : Uji biokimia Identifikasi Bakteri
 Asal : Lab. Mikrobiologi
 Alamat : BBAPAP Jepara
 Jenis contoh : Isolat bakteri
 Metode : Cowan and stell's, Manual for Identification of medical bacteria
 Hasil :

Uji Bio Kimia	Isolat <i>Vibrio harveyi</i>
Swaming	—
Growth with 0% NaCl	—
Arginine decarboxilase	—
Lysine decarboxilase	+
Ornithine decarboxilase	+
Nitrat reduced	+
Oxidase	+
Gas from Glucose	—
Indol	+
ONPG	+
VP	—
Resisten to :	
0/129 10 µg	+
0/129 150 µg	—
ampicillin 10 µg	+
Starch Hydrolysis	+
Urea Hydrolysis	+
Acid from :	
L-arabinose	—
Arbutin	+
Salicin	+
Sucrose	+
Xylose	—
Growth on :	
Ethanol	—
Propanol	—

Lab. Mikrobiologi BBPBAP Jepara

Penyelid



Sri Murti Astuti, SP.





Lampiran 4. Kegiatan Penelitian

A. Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Bidara (*Z. mauritiana*)



Daun Bidara (*Z. mauritiana*)



Dikeringkan dan
diblender



Ditimbang
serbuk daun
bidara



Proses meserasi



Diberi methanol



Dimasukkan
ke dalam
toples



Proses
penyaringan



Proses evaporasi



Didapatkan
hasil ekstrak
daun bidara

Lampiran 4. (Lanjutan)

B. Peremajaan Bakteri *V. harveyi*



Ditimbang media TSA



Ditimbang NaCl



Ditambahkan Aquadest



Dimiringkan media dengan kemiringan 30°



Dimasukkan ke dalam autoklaf untuk



Dipanaskan diatas hotplate



Diambil bakteri dari isolat murni



Di gorengkan kedalam media



Diinkubasi selama 24 jam

Lampiran 4. Lanjutan

C. Pelaksanaan Uji Cakram



Dimasukkan media TCBS pada cawan



Dilakukan pengenceran pada media TSB dan di vortex



Dimasukkan bakteri dan diratakan dengan triangle



Masukkan kertas cakram ke cawan petri



Dimasukkan kertas cakram dalam ekstrak dan diamkan selama 15 menit



Proses pembuatan dosis ekstrak bidara



Diinkubasi selama 24 jam



Hasil, dan diukur zona bening menggunakan jangka sorong

Lampiran 5. Hasil Uji Cakram Daun Bidara (*Z. mauritiana*) Terhadap Bakteri *V. harveyi*

• Perlakuan Dosis 10 ppm



Ulangan 1



Ulangan 2



Ulangan 3

• Perlakuan Dosis 60 ppm



Ulangan 1



Ulangan 2



Ulangan 3

• Perlakuan Dosis 110 ppm



Ulangan 1



Ulangan 2



Ulangan 3

• Perlakuan Dosis 160 ppm



Ulangan 1



Ulangan 2

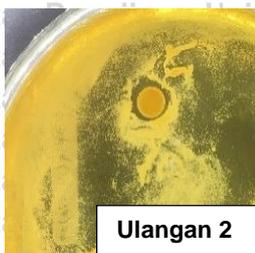


Ulangan 3

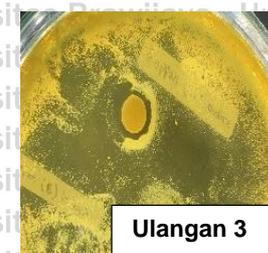
• Perlakuan Dosis 210 ppm



Ulangan 1



Ulangan 2

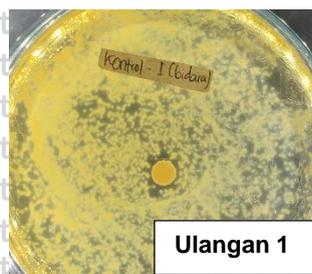


Ulangan 3

- **Perlakuan Kontrol Positif**



- **Perlakuan Kontrol Negatif**



Lampiran 6. Perhitungan Ekstrak Dosis Uji

Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak dosis uji yaitu DMSO 10%, adapun perhitungan dosis yang digunakan sebagai berikut:

a. Dosis 5000 ppm

Pembuatan dosis 5000 ppm merupakan dosis stok ekstrak kasar daun bidara tertinggi yang digunakan dalam pembuatan dosis 10 – 210 ppm.

Pembuatan stok ekstrak sebesar 5000 ppm dengan rumus berikut:

$$5000 \text{ ppm} = \frac{25 \text{ mg ekstrak kasar}}{5 \text{ ml (0,5 DMSO 100\% + 4,5 aquadest steril)}}$$

b. Dosis 0 ppm

Pembuatan dosis 0 ppm adalah perlakuan tanpa adanya campuran dari ekstrak kasar daun bidara.

c. Dosis 10 ppm

$$\begin{aligned} V1 \times N1 &= V2 \times N2 \\ 1,5 \text{ ml} \times 10 &= V2 \times 5000 \\ V2 &= 0,003 \text{ ml} \\ \text{DMSO 10 \%} &= 1,5 \text{ ml} - 0,003 \text{ ml} = 1,497 \text{ ml} \end{aligned}$$

d. Dosis 60 ppm

$$\begin{aligned} V1 \times N1 &= V2 \times N2 \\ 1,5 \text{ ml} \times 60 &= V2 \times 5000 \\ V2 &= 0,018 \text{ ml} \\ \text{DMSO 10 \%} &= 1,5 \text{ ml} - 0,018 \text{ ml} = 1,482 \text{ ml} \end{aligned}$$

e. Dosis 110 ppm

$$\begin{aligned} V1 \times N1 &= V2 \times N2 \\ 1,5 \text{ ml} \times 110 &= V2 \times 5000 \\ V2 &= 0,033 \text{ ml} \\ \text{DMSO 10 \%} &= 1,5 \text{ ml} - 0,033 \text{ ml} = 1,467 \text{ ml} \end{aligned}$$

f. Dosis 160 ppm

$$\begin{aligned} V1 \times N1 &= V2 \times N2 \\ 1,5 \text{ ml} \times 160 &= V2 \times 5000 \\ V2 &= 0,048 \text{ ml} \\ \text{DMSO 10 \%} &= 1,5 \text{ ml} - 0,048 \text{ ml} = 1,452 \text{ ml} \end{aligned}$$



Lampiran 6. (Lanjutan)

g. Dosis 210 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\
 1,5 \text{ ml} \times 210 &= V_2 \times 5000 \\
 V_2 &= 0,063 \text{ ml} \\
 \text{DMSO } 10 \% &= 1,5 \text{ ml} - 0,063 \text{ ml} = 1,437 \text{ ml}
 \end{aligned}$$



Lampiran 7. Analisa Data Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Bidara (*Z. mauritiana*) terhadap Aktivitas Zona Hambat Bakteri *V. harveyi* Secara *In Vitro*

• **Data Rerata Zona Bening**

Perlakuan	P			Total	Rerata ± SD
	1	2	3		
A	9,13	8,27	8,35	25,75	8,58 ± 0,48
B	8,77	8,85	8,75	26,37	8,79 ± 0,05
C	9,55	9,15	9,46	28,16	9,39 ± 0,21
D	9,35	9,44	9,65	28,44	9,48 ± 0,15
E	9,61	10,02	10,33	29,96	9,99 ± 0,36
				138,68	

Perhitungan :

a. Faktor Koreksi (FK) = $\frac{G^2}{N}$
 $= \frac{138,68^2}{15}$
 $= 1282,14$

b. Jumlah Kuadrat (JK total) = $\sum x_i^2 - FK$
 $= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + E3^2) - FK$
 $= (9,13^2 + 8,27^2 + 8,35^2 + \dots + 9,99^2) - 1282,14$
 $= 1286,8068 - 1282,14$
 $= 4,66$

c. JK Perlakuan = $\frac{\sum (\sum x_i)^2}{r} - FK$
 $= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2 + TE^2)}{3} - FK$
 $= \frac{25,75^2 + 26,37^2 + 28,16^2 + 28,44^2 + 29,96^2}{3} - 1282,14$
 $= 3,81$

d. JK Acak = JK Total - JK Perlakuan
 $= 4,66 - 3,81$
 $= 0,85$



Lampiran 7. (Lanjutan)

e. db Total = $(n \times r) - 1$
 $= (5 \times 3) - 1$
 $= 14$

f. db Perlakuan = $n - 1$
 $= 5 - 1$
 $= 4$

g. db Galat = db Total - db Perlakuan
 $= 14 - 4$
 $= 10$

• **Tabel Analisa Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	3,81	0,95	11,163**	3,48	5,99
Acak	10	0,85	0,09			
Total	14					

Keterangan:

** : berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil analisa sidik ragam di atas menunjukkan bahwa nilai F hitung (11,163) lebih besar dari F tabel 5%, maka dilakukan uji nilai tengah (rata-rata) antar perlakuan atau disebut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

a. SED = $\sqrt{\frac{2 \times \text{KT acak}}{\text{ulangan} (r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,09}{3}} = 0,24$

b. BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED
 $= 2,228 \times 0,24$
 $= 0,53$

c. BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED
 $= 3,106 \times 0,24$
 $= 0,74$

Lampiran 7. (Lanjutan)

• **Tabel Anova Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	E	Notasi
		8,58	8,79	9,39	9,48	9,99	
A	8,58	-					a
B	8,79	0,21 ^{ns}	-				a
C	9,39	0,80*	0,60*	-			b
D	9,48	0,90*	0,69*	0,09 ^{ns}	-		c
E	9,99	1,40*	1,20*	0,60*	0,51 ^{ns}	-	c

Keterangan :

^{ns} : Tidak berbeda nyata

* : Berbeda nyata

• **Tabel Uji Polynomial Orthogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A	25,75	-2	2	-1	1
B	26,37	-1	-1	2	-4
C	28,16	0	-2	0	6
D	28,344	1	-1	-2	-4
E	29,96	2	2	1	1
Q= Σ(ci*Ti)		10,49	0,29	0,07	5,43
Hasil Kuadrat		10	14	10	70
Kr= (Σci ²)*r		30	42	30	210
JK=Q ² /Kr		3,67	0,0	0,00	0,14
JK REGRESI		3,67			

• **Tabel Sidik Ragam Regresi**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	3,67			3,48	5,99
Linier	1	3,67	3,67	42,98	**	
Kuadratik	1	0,00	0,00	0,02	ns	
Kubik	1	0,00	0,00	0,00	ns	
Kuartik	1	0,14	0,14	1,65	ns	
Acak	10	0,85	0,09	1	ns	
Total	14	8,33				

Keterangan :

* = Berbeda nyata

** = Berbeda sangat nyata

ns = Tidak berbeda nyata



Lampiran 7. (Lanjutan)

KT Linier

$$= \frac{JK \text{ Linier}}{db \text{ Linier}}$$

$$= \frac{3,67}{1}$$

$$= 3,67$$

KT Kuadratik

$$= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{db \text{ Kuadratik}}$$

$$= \frac{0,00}{1}$$

$$= 0$$

KT Kubik

$$= \frac{JK \text{ Kubik}}{db \text{ Kubik}}$$

$$= \frac{0,00}{1}$$

$$= 0$$

KT Kuartik

$$= \frac{JK \text{ Kuartik}}{db \text{ Kuartik}}$$

$$= \frac{0,14}{1}$$

$$= 0,14$$

KT Acak

$$= \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,85}{10}$$

$$= 0,085$$

F hitung linier

$$= \frac{KT \text{ Linier}}{KT \text{ Acak}}$$

$$= \frac{3,67}{0,09}$$

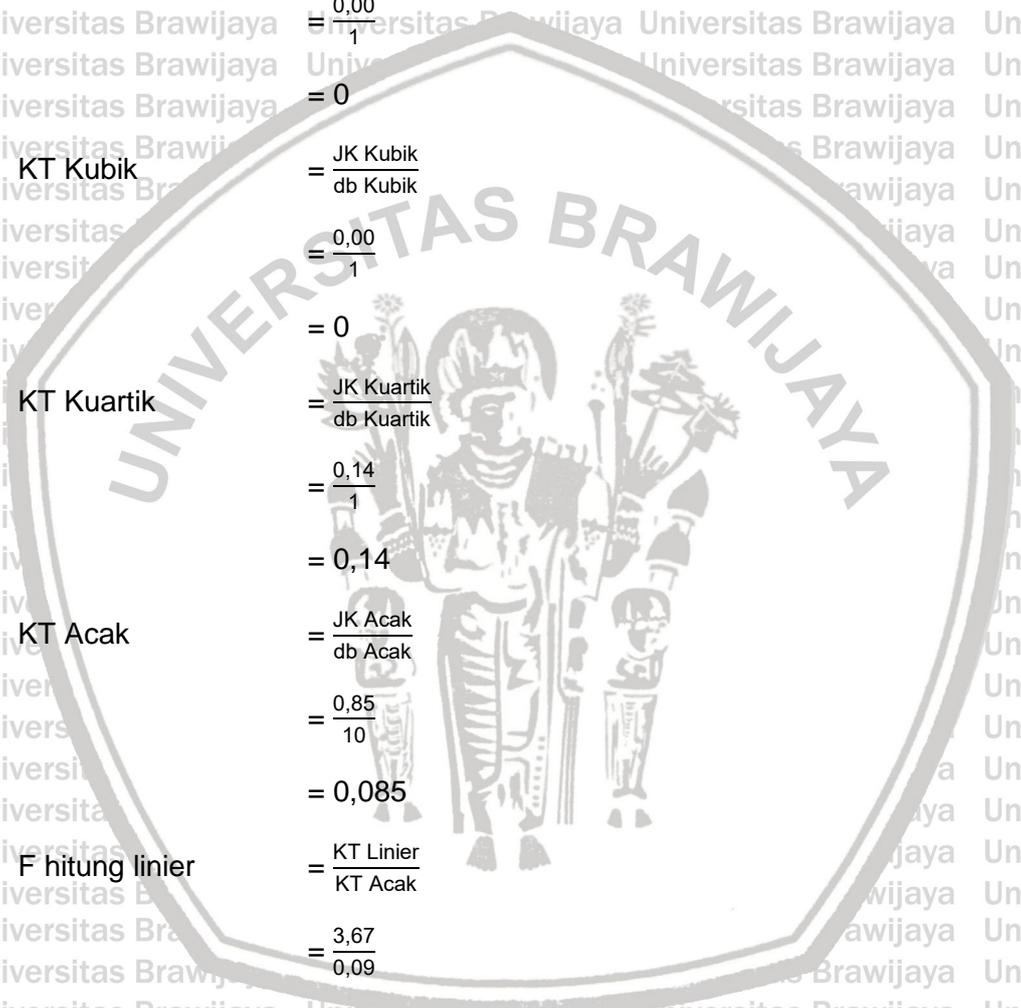
$$= 40,77$$

F hitung kuadratik

$$= \frac{KT \text{ Kuadratik}}{KT \text{ acak}}$$

$$= \frac{0,00}{0,09}$$

$$= 0$$



Lampiran 7. (Lanjutan)

$$F \text{ hitung kubik} = \frac{KT \text{ Kubik}}{KT \text{ acak}} = \frac{0,00}{0,09} = 0$$

$$F \text{ hitung kuarik} = \frac{KT \text{ Kuartik}}{KT \text{ acak}} = \frac{0,14}{0,09} = 1,5$$

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{3,67}{3,67 + 0,85} = 0,81$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,00}{0,00 + 0,85} = 0$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,00}{0,00 + 0,95} = 0$$

Berdasarkan perhitungan diatas nilai F hitung linier sangat berbeda nyata, hal ini menunjukkan bahwa nilai F hitung regresi linier lebih besar dibandingkan dengan nilai regresi kuadratik dan nilai regresi kubik. Berdasarkan hasil tersebut, maka laju kurva yang digunakan adalah kurva linier. Langkah selanjutnya yaitu menghitung persamaan linier.



Lampiran 7. (Lanjutan)

• Tabel Persamaa Linier

X	Y	XY	X ²
10	9.13	91.3	100
10	8.27	82.7	100
10	8.35	83.5	100
60	8.77	526.2	3600
60	8.85	531	3600
60	8.75	525	3600
110	9.55	1050.5	12100
110	9.15	1006.5	12100
110	9.46	1040.6	12100
160	9.35	1496	25600
160	9.44	1510.4	25600
160	9.65	1544	25600
210	9.61	2018.1	44100
210	10.02	2104.2	44100
210	10.33	2169.3	44100
ΣX 1650	ΣY 138.68	ΣXY 15779.3	ΣX² 256500
Rerata 110	9.25		

Perhitungan :

$$\begin{aligned}
 B_1 &= \frac{\sum XY - (\sum X \cdot \sum Y) / n}{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}} \\
 &= \frac{15779,3 - (1650 \cdot 138,68) / 15}{256500 - \frac{(1650)^2}{15}} \\
 &= \frac{15779,3 - 15.254,8}{256500 - 181500} \\
 &= \frac{524,5}{75000} \\
 &= 0,006993
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 B_0 &= \bar{y} - b_1 \bar{x} \\
 &= 9,25 - (0,006993 \cdot 110)
 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned}
 &= 9,25 - 0,76923 \\
 &= 8,48 \\
 \text{Persamaan linier : } y &= b_0 + b_1 x \\
 &= b_0 + b_1 x \\
 &= 8,48 + 0,006993x
 \end{aligned}$$

Lampiran 7. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 R^2 &= \frac{\text{JK Regresi}}{\text{JK Total Terkolerasi}} \\
 &= \frac{\text{JK Regresi}}{\text{JK Regresi} + \text{JK Acak}} \\
 &= \frac{3,67}{3,67 + 0,85} \\
 &= 0,81194
 \end{aligned}$$

• Grafik Hubungan Zona Hambat Antar Perlakuan Estrak Daun Bidara (*Z. mauritiana*) Terhadap Bakteri *V. harveyi*

