

**UJI SENSITIVITAS EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*)  
TERHADAP BAKTERI *Vibrio harveyi* SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh:

**INDRI WAHYU MAYLISA  
NIM. 17508050711020**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2021**



**UJI SENSITIVITAS EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*)  
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:

**INDRI WAHYU MAYLISA  
NIM. 175080507111020**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



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

**2021**

SKRIPSI

UJI SENSITIVITAS EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*)  
TERHADAP BAKTERI *Vibrio harveyi* SECARA *IN VITRO*

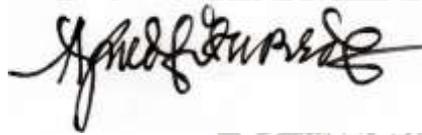
Oleh:

INDRI WAHYU MAYLISA

NIM. 175080507111020

Telah dipertahankan didepan penguji  
Pada tanggal 28 Juni 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Pembimbing 1



Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS

NIP. 19550213 198403 1 001

Tanggal:

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing 2



Budiarto, S.Pt., M.P., M.Sc

NIK. 201304 850718 1 001

Tanggal: 7 Juli 2021

Mengetahui:  
Ketua Jurusan  
Manajemen Sumberdaya Perairan



Dr. Ir. Muhamad Firdaus, M.P.

NIP. 19680919 200501 1001

Tanggal:

## IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : Uji Sensitivitas ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*)  
Terhadap bakteri *Vibrio harveyi* secara *In Vitro*

Nama : Indri Wahyu Maylisa

Nim : 175080507111020

Program Studi : Budidaya Perairan

### Penguji pembimbing

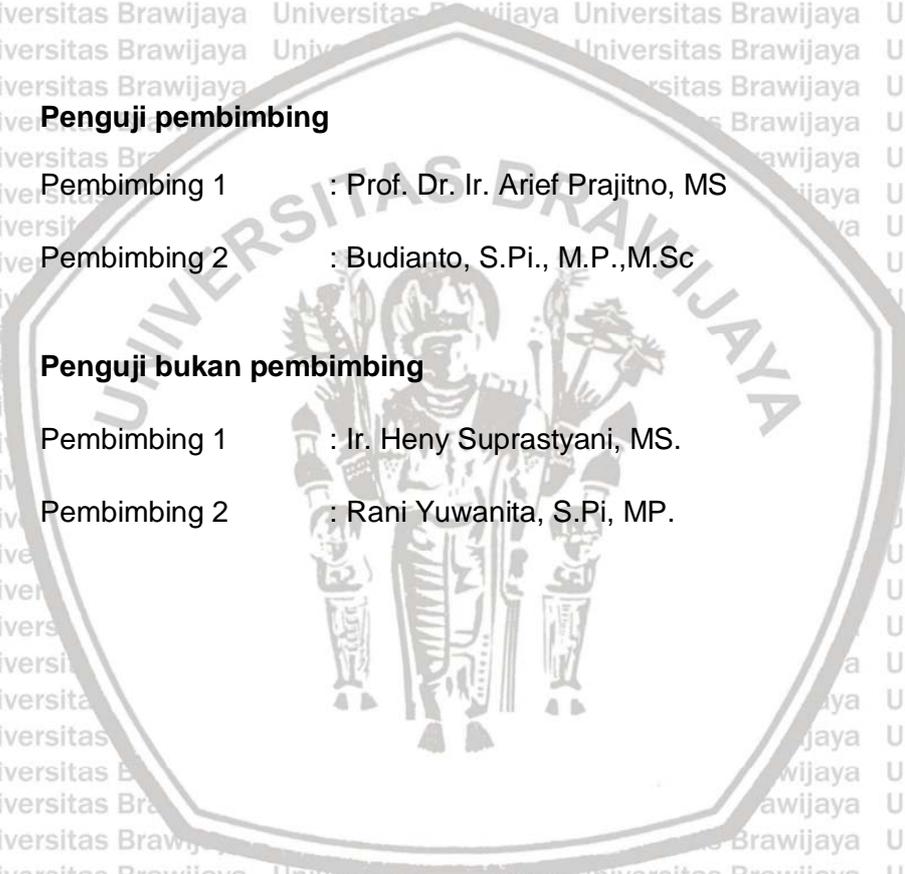
Pembimbing 1 : Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS

Pembimbing 2 : Budiarto, S.Pi., M.P., M.Sc

### Penguji bukan pembimbing

Pembimbing 1 : Ir. Heny Suprastyani, MS.

Pembimbing 2 : Rani Yuwanita, S.Pi, MP.



## UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Allah SWT atas segala nikmat dan karunianya selama kegiatan penelitian dan pengerjaan skripsi diberikan kelancaran
2. Dosen Pembimbing I Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS dan Dosen Pembimbing II Budiarto, S.Pi, MP. M.Sc yang senantiasa memberikan bimbingan, kritik serta saran selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini selesai.
3. Orang tua yang selalu memberikan support dan dukungan sehingga saya bisa sampai dititik ini
4. Teman-teman Aquaorca yang telah memberikan semangat

Malang, 2021

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## RINGKASAN

**Indri Wahyu Maylisa.** Uji sensitivitas ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap bakteri *Vibrio harveyi* secara *In vitro*. Dibawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS dan Budianto, S.Pi., M.P., M.Sc.

Banyak masalah yang terjadi dan menjadi penghambat dalam kegiatan budidaya udang. Salah satu masalah pembudidaya udang adalah penyakit. Penyakit pada udang dapat disebabkan oleh bakteri, jamur, virus dan berbagai jenis parasit yang selalu terdapat pada perairan. Penyakit udang antara lain disebabkan oleh bakteri patogen *Vibrio harveyi*. Bakteri *V. harveyi* umumnya bersifat *pathogen oportunistik*, yaitu apabila dalam keadaan lingkungan yang buruk akan berkembang dari sifat saprofitik menjadi patogenik. Metode yang aman dan efektif untuk mengobati penyakit ikan akibat bakteri tanpa menggunakan antibiotik yaitu dengan menggunakan bahan-bahan alami. Daun kelor memiliki kandungan senyawa seperti flavonoid, tanin dan saponin yang bisa dimanfaatkan sebagai antibakteri.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari – Maret 2021 di Laboratorium Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui sensitivitas daun kelor yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri alami bagi bakteri *V. harveyi*.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen untuk mengetahui perlakuan yang diberikan dalam kondisi terkendali. Rancangan yang digunakan dalam penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan dengan dosis masing-masing sebesar 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat zona bening setelah diinkubasi selama 24 jam. Hasil terendah pada dosis 50 ppm sebesar  $7.35 \pm 0.41$  mm, dosis 100 ppm  $7.78 \pm 0.31$  mm, dosis 150 ppm sebesar  $8.14 \pm 0.26$  mm, dosis 200 ppm  $8.67 \pm 0.35$  mm dan terbesar pada dosis 250 ppm sebesar  $9.57 \pm 0.49$  mm. Hasil grafik zona hambat menunjukkan grafik linear dengan persamaan regresi  $y = 0,0106 x + 6,39$  dan nilai determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,85. Hasil tersebut menunjukkan kurva linear yang berarti bahwa semakin tinggi dosis maka semakin besar pula zona hambat yang dihasilkan.

Kesimpulan hasil yang didapatkan pada penelitian ini bahwa daun kelor dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri alami karena dalam penelitian terdapat zona hambat yang dihasilkan. Zona hambat yang dihasilkan berkisar antara 7,35 mm hingga 9,57 mm dan zona hambat tersebut termasuk dalam kategori sedang. Hal tersebut diduga karena terdapat senyawa aktif yang terkandung dalam daun kelor seperti flavonoid, tanin dan saponin sehingga menghasilkan zona hambat. Aktifitas antibakteri pada daun kelor terhadap bakteri *V. harveyi* bersifat bakteriostatik atau menghambat.

## SUMMARY

**Indri Wahyu Maylisa.** Uji sensitivitas ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap bakteri *Vibrio harveyi* secara *In vitro*. Dibawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS dan Budianto, S.Pi., M.P., M.Sc.

Many problems occur and become obstacles in shrimp farming activities. One of the problems of shrimp farmers is disease. Diseases in shrimp can be caused by bacteria, fungi, viruses and various types of parasites that are always present in the waters. Shrimp disease, among others, is caused by the pathogenic bacterium *Vibrio harveyi*. *V. harveyi* bacteria are generally opportunistic pathogens, that is, if in bad environmental conditions, they will develop from saprophytic to pathogenic. A safe and effective method for treating fish diseases caused by bacteria without using antibiotics is by using natural ingredients. Moringa leaves contain compounds such as flavonoids, tannins and saponins that can be used as antibacterial.

The research was conducted in February – March 2021 at the Laboratory of the Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Universitas Brawijaya. The purpose of this study was to determine the sensitivity of Moringa leaves which can be used as natural antibacterials for *V. harveyi* bacteria.

This study uses an experimental method to determine the treatment given under controlled conditions. The design used in this study was a completely randomized design with 5 treatments and 3 replications with each dose of 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 150 ppm, 200 ppm and 250 ppm. The results showed that there was a clear zone after incubation for 24 hours. The lowest results at a dose of 50 ppm were  $7.35 \pm 0.41$  mm, a dose of 100 ppm was  $7.78 \pm 0.31$  mm, a dose of 150 ppm was  $8.14 \pm 0.26$  mm, a dose of 200 ppm was  $8.67 \pm 0.35$  mm and the largest at a dose of 250 ppm was  $9.57 \pm 0.49$  mm. The results of the inhibition zone graph show a linear graph with the regression equation  $y = 0.0106x + 6.39$  and the determination value ( $R^2$ ) is 0.85. These results show a linear curve which means that the higher the dose, the greater the inhibition zone produced.

The conclusions of the results obtained in this study that Moringa leaves can be used as natural antibacterial because in the study there is a resource zone produced. The inhibitory zone produced ranges from 7.35 mm to 9.57 mm and the inhibitory zone is included in the medium category. It is allegedly because there are active compounds contained in Moringa leaves such as flavonoids, tannins and saponins to produce a blocked zone. Antibacterial activity in Moringa leaves against *V. harveyi* bacteria is bacteriostatic or inhibiting.

**PERNYATAAN ORISINALITAS**

Dengan ini Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Indri Wahyu Maylisa

NIM : 175080507111017

Judul Skripsi : Uji sensitivitas ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*)

terhadap bakteri *Vibrio harveyi* secara *In Vitro*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa penulis skripsi ini berdasarkan hasil penelitian, pemikiran dan pemaparan asli dari saya sendiri, baik untuk naskah, tabel, gambar maupun ilustrasi lainnya yang tercantum sebagai bagian dari Skripsi. Jika terdapat karya/pendapat/penelitian dari orang lain, maka saya telah mencantumkan sumber yang jelas dalam daftar pustaka.

Demikian pernyataan ini saya buat, apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Brawijaya, Malang.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar tanpa adanya paksaan dari pihak manapun.

Malang, Maret 2021

Indri Wahyu Maylisa  
NIM. 175080507111020

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyajikan usulan proposal Skripsi yang berjudul

“Uji sensitivitas ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap bakteri *Vibrio harveyi* secara *In Vitro*” Penulis juga berterima kasih kepada Prof. Dr. Ir. Arief

Prajitno, MS. selaku dosen pembimbing I dan Budianto, S.Pi, MP, M.Sc selaku pembimbing II serta semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan usulan tersebut.

Penulis menyadari dalam penulisan usulan proposal Skripsi ini belum sempurna, oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun demi kesempurnaan usulan ini. Demikian penulis sampaikan terimakasih.

Malang, Maret 2021

Indri Wahyu Maylisa  
NIM. 175080507111020

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
IDENTITAS TIM PENGUJI.....	iii
RINGKASAN.....	vi
SUMMARY.....	vii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Manfaat.....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> ).....	6
2.1.1 Klasifikasi.....	6
2.1.2 Morfologi.....	6
2.1.3 Habitat dan Penyebaran.....	7
2.1.3 Kandungan senyawa aktif.....	8
2.2 Ekstraksi.....	9
2.3 <i>Vibrio harveyi</i> .....	11
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	11
2.3.2 Morfologi.....	11
2.3.3 Habitat dan Penyebaran.....	12
2.3.4 Infeksi bakteri <i>Vibrio harveyi</i> .....	13
2.3 Pertumbuhan bakteri.....	14
2.4 Uji sensitivitas bakteri secara <i>in vitro</i> .....	15
3. METODE PENELITIAN.....	17

3.1	Tempat, Waktu/ Jadwal Pelaksanaan.....	17
3.2	Alat dan Bahan.....	17
3.2.1	Alat Penelitian.....	17
3.2.2	Bahan Penelitian.....	18
3.3	Metode Penelitian.....	19
3.4	Pengambilan data.....	19
3.5	Rancangan penelitian.....	20
3.6	Prosedur Penelitian.....	22
3.6.1	Persiapan Penelitian.....	22
3.6.2	Pelaksanaan Penelitian.....	25
<b>4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>28</b>
4.1	Identifikasi Bakteri <i>V. harveyi</i> .....	28
4.2	Uji daya hambat.....	30
4.3	Mekanisme Antibakteri.....	37
4.4	Parameter penunjang penelitian.....	39
<b>5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>40</b>
5.1	Kesimpulan.....	40
5.2	Saran.....	40
	<b>Daftar Pustaka.....</b>	<b>41</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>47</b>



## DAFTAR GAMBAR

### Daftar Gambar

<b>Gambar 1.</b> Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> ).....	7
<b>Gambar 2.</b> <i>Vibrio harveyi</i> .....	12
<b>Gambar 3.</b> Fase pertumbuhan bakteri (1) Fase Lag, (2) Fase Logaritmik, (3) Fase Stasioner, (4) Fase kematian.....	14
<b>Gambar 4.</b> Klasifikasi respon hambatan.....	16
<b>Gambar 5.</b> Kerangka Konsep Penelitian.....	16
<b>Gambar 6.</b> Denah Penelitian.....	22
<b>Gambar 7.</b> Hasil pewarnaan <i>V. harveyi</i> dengan Pewarnaan Gram Perbesaran 1.000 x pada mikroskop cahaya.....	28
<b>Gambar 8.</b> Diameter Zona hambat atau Zona bening.....	31
<b>Gambar 9.</b> Grafik polynomial orthogonal zona hambat.....	35



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Alat penelitian.....	17
Tabel 2. Bahan-Bahan Penelitian.....	18
Tabel 3. Perlakuan dalam Penelitian.....	21
Tabel 4. Data hasil pengukuran rerata zona hambat.....	31
Tabel 5. Hasil sidik ragam zona hambat.....	32
Tabel 6. Tabel zona hambat.....	33
Tabel 7. Hasil uji BNT.....	34



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto alat penelitian.....	47
Lampiran 2. Foto bahan penelitian.....	49
Lampiran 3. Hasil Uji Fitokimia Daun kelor ( <i>Moringa oleifera</i> ).....	51
Lampiran 4. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>V. harveyi</i> . <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Lampiran 5. Foto kegiatan penelitian ..... <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Lampiran 6. Foto kegiatan penelitian (lanjutan).....	54
Lampiran 7. Perhitungan dosis ekstrak daun kelor .....	62
Lampiran 8. Analisis data zona hambat .....	64



## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Banyak masalah yang terjadi dan menjadi penghambat dalam kegiatan budidaya udang. Salah satu masalah pembudidaya udang adalah penyakit.

Menurut Rafiqie (2014), penyakit pada udang dapat disebabkan oleh bakteri, jamur, virus dan berbagai jenis parasit yang selalu terdapat pada perairan.

Ritonga, Suryanto dan Yunasfi (2014) menjelaskan infeksi viral dan infeksi bakterial adalah penyebab utama terjadinya kematian massal udang, baik pada saat pembenihan maupun pembesaran. Beberapa penyakit udang antara lain disebabkan oleh bakteri patogen yaitu *Pseudomonas spp.*, *Aeromonas spp.*, *Vibrio spp.*, *Leucothrix spp.* dan *Mycobacterium*. Salah satu agen penyakit tersebut yang sering menyerang udang adalah *vibriosis*. Menurut penelitian Umiliana, Sarjito dan Desrina (2016), beberapa jenis bakteri *vibriosis* yang menyebabkan penyakit pada udang yaitu *V. harveyi*, *V. parahaemoliticus*, *V. alginoliticus*, *V. anguillarum*.

Bakteri *V. harveyi* merupakan penyebab dari penyakit vibriosis, umumnya menyerang pada budidaya laut dan payau. Utami, Sarjito dan Desrina (2016), menjelaskan bahwa infeksi dari bakteri *V. harveyi* diketahui sebagai penyebab kematian massal dalam budidaya udang. *Vibrio* adalah bakteri yang dominan dan hidup di air tambak sebagai patogen fakultatif. Cahyadi, Satriani, Gusman dan Sabri (2019) menyebutkan bahwa bakteri *V. harveyi* umumnya bersifat *pathogen oportunistik*, yaitu apabila dalam keadaan lingkungan yang buruk akan berkembang dari sifat saprofitik menjadi patogenik. Bakteri *V. harveyi* adalah bakteri gram negatif berbentuk batang dengan ukuran (1,0 - 1,6 x 0,5 - 0,7  $\mu\text{m}$ ),

*fermentative*, dan memiliki flagel lateral pada salah satu ujung polarnya. Bakteri ini 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.

*Litopenaeus vannamei* atau udang vannamee adalah salah satu spesies yang sering terinfeksi bakteri *V. harveyi* (Yunarty, Anton dan Kurniaji, 2020).

Menurut Rudi, *et al.* (2019), Bakteri *V. harveyi* adalah bakteri gram negatif yang sangat berbahaya bagi budidaya udang. Serangan penyakit vibriosis pada tambak udang mengakibatkan kematian udang hingga mencapai 85%. Jarir, Anton, Yunarty, Fatmah, Jayadi dan Usman (2020), menjelaskan bahwa udang yang terinfeksi bakteri *V. harveyi* terjadi perubahan morfologi pada tubuh udang tersebut seperti warna tubuh yang memudar, *moulting*, *pleopod* dan tubuh yang memerah, *malanosis* pada karapas, nekrosis pada ekor dan telson, hepatopankreas yang berwarna kecoklatan disertai karapas yang meluna.

Adapun konsentrasi bakteri *V. harveyi* yang dapat menyebabkan kematian sebesar 100 % dalam uji terhadap tingkat mortalitas udang adalah sebesar  $10^7$  CFU/mL (Lestari *et al.*, 2018).

Hingga saat ini bahan yang sering digunakan untuk menanggulangi penyakit pada ikan budidaya adalah pengobatan dengan zat kimia atau antibiotik. Menurut Mohamad, *et al.* (2018), antibiotik yang sering digunakan pada *V. harveyi* adalah *doxycycline*, *oxytetracycline*, *chloramphenicol* dan *tetracycline*.

Xie, *et al.* (2020) menjelaskan bahwa *chloramphenicol* dengan dosis 30 µg menghasilkan zona bening sebesar 22 mm dapat digunakan untuk mencegah infeksi bakteri *V. harveyi*. Antibiotik diberikan melalui pakan, perendaman, atau penyuntikan, sehingga residu antibiotik dapat terakumulasi. Indriani, Prayitno dan Sarjito (2014), menjelaskan bahwa penggunaan antibiotik dalam jangka waktu lama akan berdampak negatif, diantaranya dapat menimbulkan resistensi

terhadap bakteri, memerlukan biaya yang cukup mahal dan dapat mencemari lingkungan. Saat ini terdapat metode yang aman dan efektif untuk mengobati penyakit ikan akibat bakteri tanpa menggunakan antibiotik yaitu dengan menggunakan bahan-bahan alami.

Bahan-bahan alami pada penelitian sebelumnya yang digunakan untuk menghambat bakteri *V. harveyi* diantaranya adalah daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) (Santi, Nur dan Kurnia, 2017). Aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh daun jambu biji diduga berasal dari senyawa yang terkandung didalamnya antara lain tanin dan flavonoid. Daun binahong juga dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri alami. Menurut penelitian Pratama, Prayitno dan Sarjito (2014), aktifitas antibakteri pada binahong dengan dosis 1000 ppm memiliki zona hambat 2,46 mm pada bakteri *V. harveyi*. Hal ini membuktikan bahwa senyawa aktif seperti flavonoid dan alkaloid pada daun binahong dapat berperan sebagai antibakteri. Penelitian lainnya yang menggunakan ekstrak tanaman dilakukan oleh Fitri, Kismiyati dan Mubarak (2018) dengan menggunakan daun api-api. Pertumbuhan koloni tidak terlihat pada konsentrasi 90%. Tidak ada pertumbuhan koloni pada konsentrasi tersebut menunjukkan ekstrak daun api-api memiliki aktifitas anti bakteri dan membunuh bakteri. Namun, terdapat juga tanaman yang berpotensi besar sebagai bahan pengobatan *V. harveyii* yaitu daun kelor (*Moringa oleifera*).

Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Oluduro (2011), telah menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor mampu menghambat beberapa jenis bakteri, seperti *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus mirabilis*, dan jamur *Aspergillus flavus*. Penelitian lainnya yang telah dilakukan oleh Dima, Fatimawali dan Lolo (2016) bahwa ekstrak daun kelor terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hal ini terlihat dari terbentuknya zona hambat. Savitri et al, (2018) menyebutkan daun

kelor mengandung senyawa antibakteri seperti saponin, triterpenoid, flavonoid dan tanin yang memiliki mekanisme kerja dengan merusak membran sel bakteri.

Berdasarkan informasi tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui sensitivitas daun kelor (*M. oleifera*) terhadap bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*.

## 1.2 Perumusan Masalah

Pembudidaya selama ini menggunakan antibiotik sebagai penanggulangan penyakit. Namun penggunaan antibiotik dengan jangka yang lama dapat menimbulkan resistensi terhadap bakteri dan mencemari lingkungan.

Oleh sebab itu diperlukan metode aman dan efektif untuk menanggulangi penyakit yaitu dengan bahan alami. Bahan alami yang dapat digunakan adalah daun kelor. Berdasarkan uraian tersebut maka diperlukan penelitian guna mengetahui sensitivitas ekstrak daun kelor terhadap bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*.

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui sensitivitas bakteri *V. harveyi* menggunakan ekstrak daun kelor secara *in vitro* melalui zona bening yang terbentuk.

## 1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

H0 : Ekstrak kasar daun kelor dengan dosis yang berbeda tidak sensitif terhadap bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*

H1 : Ekstrak daun kelor dengan dosis berbeda sensitif terhadap *V. harveyi* secara *in vitro*

### 1.5 Manfaat

Penelitian ini diharapkan berguna dalam memberikan informasi kepada pembudidaya tentang tanaman kelor yang dapat dimanfaatkan untuk menghambat atau membunuh bakteri *V. harveyi* dengan dosis yang efektif.



## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

#### 2.1.1 Klasifikasi

Daun kelor yang dalam bahasa latin disebut dengan *Moringa oleifera* awalnya banyak tumbuh di India, tetapi saat ini banyak ditemukan di daerah beriklim tropis. Menurut Wulandari, Santoso dan Purwanto (2017) Klasifikasi daun kelor sebagai berikut:

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)

Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)

Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)

Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)

Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)

Sub Kelas : Dilleniidae

Ordo : Capparales

Famili : Moringaceae

Genus : *Moringa*

Spesies : *Moringa oleifera* Lam

#### 2.1.2 Morfologi

Sandi., Sangadji dan Samudin (2019) menyatakan tanaman kelor memiliki akar tunggang, berwarna putih, biasanya bercabang atau serabut dan dapat mencapai kedalaman 5 – 10 meter. Akar ini berguna untuk membantu penyerapan air dalam tanah, serta membantu sebagai penyokong pertumbuhan tanaman kelor. Batang tanaman ini dapat tumbuh mencapai 12 meter, batang tidak terlalu keras, berkulit tipis, permukaan kasar, banyak percabangan dan arah

percabangan cenderung tegak atau agak miring dengan pertumbuhan lurus dan memanjang. Daun kelor berbentuk bulat, dengan ukuran relatif kecil, daun majemuk, tersusun selang seling, helai daun berwarna hijau muda dan biasanya digunakan sebagai obat tradisional. Bunga kelor berwarna putih kekuningkuningan dan memiliki pelepah bunga berwarna hijau. Buah kelor berbentuk segitiga memanjang berkisar antara 20 cm hingga 60 cm, berwarna hijau muda hingga kecoklatan. Biji kelor berbentuk bulat dan berwarna coklat kehitaman. Dalam satu biji ini akan terdapat beberapa (10 sampai dengan 20 biji) butir dalam buah.

Tanaman kelor menurut Santoso dan Parwata (2019), merupakan tanaman yang berasal dari sekitar Himalaya yaitu India, Pakistan, Bangladesh dan Afganistan. Tanaman ini tumbuh baik pada tanah berpasir. Kelor adalah tanaman berbentuk pohon dengan tinggi mencapai 8 meter. Batang berkayu, bulat, pertulangan menyirip ganjil, panjang 20-60 cm. Kelor juga termasuk jenis tumbuhan perdu berumur panjang berupa semak atau pohon dengan ketinggian 7-12 meter. Batangnya berkayu, tegak, berwarna putih kotor, berkulit tipis dan mudah patah. Cabangnya jarang dengan arah percabangan tegak atau miring serta cenderung



tumbuh lurus dan memanjang.

Sumber: Dani, Wahidah dan Syaifudin, 2019

**Gambar 1.** Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

### 2.1.3 Habitat dan Penyebaran

Kelor merupakan tanaman perdu yang berasal dari kaki gunung Himalaya, Asia Selatan dan timur laut Pakistan. Secara umum, parameter lingkungan yang dibutuhkan tanaman kelor menurut Widowati, Efiyati dan

Wahyuningtyas (2014) untuk tumbuh dengan baik adalah Iklim : Tropis atau sub-Tropis, Ketinggian : 0 - 2000 meter dpl , Suhu : 25 – 35 °C, Curah Hujan : 250 mm – 2000 mm per tahun, tipe tanah : berpasir atau lempung berpasir, PH Tanah : 5 – 9, Irigasi yang baik diperlukan jika curah hujan kurang dari 800 mm. Kelor dapat tumbuh pada daerah tropis dan subtropis pada semua jenis tanah dan tahan terhadap musim kering dengan toleransi terhadap kekeringan sampai 6 bulan.

Tanaman kelor, menurut sejarahnya berasal dari kawasan sekitar Himalaya dan India, kemudian menyebar ke kawasan disekitarnya hingga ke benua Afrika dan Asia Barat. Di beberapa negara di benua Afrika seperti Ethiopia, Sudan, Madagaskar, Somalia, Kenya dijadikan negara dengan program pemulihan tanah yang kering dan gersang dengan ditanam kelor karena tanaman kelor mudah tumbuh pada tanah kering dan gersang. Tanaman kelor di Indonesia mempunyai nama lokal yaitu kelor (Jawa, Sunda, Bali, Lampung), Kerol (Buru), Marangghi (Madura), Moltong (Flores), Kelo (Gorontalo), Keloro (Bugis), Kawano (Sumba), Ongge (Bima), Hau fo (Timor). Sejak zaman dahulu daun kelor telah diketahui memiliki berbagai manfaat khususnya untuk kesehatan (Rizkayanti, Wahid, Diah dan Jura, 2017).

### 2.1.3 Kandungan senyawa aktif

Tanaman kelor merupakan tanaman yang mengandung berbagai bahan aktif seperti tanin, flavonoid, saponin dan memiliki berbagai manfaat potensial (Meigara, Mudianta dan Martiningsih, 2016). Daun kelor juga mengandung zat nutrisi yang cukup tinggi, tidak hanya unggul dari segi kuantitatif tetapi juga dari segi kualitatif dibandingkan dengan kandungan daun tanaman lain.

Sudarwati dan Sumari (2016) menjelaskan bahwa daun kelor dapat dimanfaatkan sebagai obat pencahar, diterapkan sebagai tapal untuk luka,

dioleskan pada kening untuk sakit kepala, digunakan untuk kompres demam, sakit tenggorokan, mata merah dan infeksi telinga. Daun kelor mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid. Flavonoid diyakini dapat berperan sebagai antibakteri. Flavonoid sebagai antibakteri bekerja membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga dapat merusak membran sel bakteri. Sedangkan alkaloid dapat mengganggu komponen penyusun dinding sel (peptidoglikan) pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri.

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menyebabkan sel bakteri menjadi lisis. Dan Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel.

## 2.2 Ekstraksi

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan.

Menurut Mukhriani (2014), Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi juga merupakan proses pemisahan secara kimia dan fisika menggunakan pelarut yang sesuai. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, yaitu perpindahan mulai terjadi pada lapisan kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Ekstraksi dari tanaman dapat dilakukan dengan berbagai metode. Pada penelitian Laksmiani, Widiantara, Andyani dan Pawarrangan (2020), ekstraksi dari daun kelor dilakukan dengan menggunakan tiga metode yang berbeda yaitu maserasi, sokhletasi, dan refluks. Metode ekstraksi yang digunakan pada daun kelor adalah sebagai berikut :

#### a) Maserasi

Maserasi adalah salah satu ekstraksi yang banyak digunakan. Proses maserasi sangat menguntungkan dalam ekstraksi senyawa bahan alami karena dengan perendaman akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga senyawa aktif akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna. Selain itu proses maserasi dilakukan tanpa pemanasan sehingga tidak terjadi kerusakan pada senyawa aktif. Sebelum proses maserasi daun kelor dibersihkan dan dikeringkan. Setelah kering, daun kelor kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender (Meigaria, Mudianta dan Martiningsih 2016).

#### b) Refluks

Proses ekstraksi lainnya dilakukan dengan cara pemanasan (refluks). Refluks yaitu ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dan adanya pendingin balik. Ekstraksi dapat berlangsung dengan efisien dan senyawa dalam sampel secara lebih efektif dapat ditarik oleh pelarut (Susanty dan Bachmid, 2016).

#### c) Soxhlet

Soxhlet adalah salah satu metode ekstraksi yang dapat digunakan. Metode ekstraksi cara panas (soxhlet) berdasarkan penelitian Febriana dan Muflihah (2015) memiliki keuntungan berupa pelarut yang digunakan lebih sedikit (efisien bahan), waktu yang digunakan lebih cepat, sampel yang diekstraksi sempurna karena dilakukan berulang-ulang. Metode ekstraksi soxhlet selalu menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga ekstraksi lanjutan dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

## 2.3 Vibrio harveyi

### 2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi bakteri *Vibrio harveyi* menurut Zhang, He dan Austin (2020)

adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria

Phylum : Protrubacteria

Order : Vibrionales

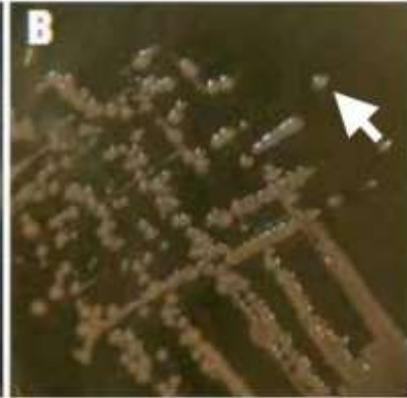
Family : Vibrionaceae

Genus : Vibrio

Spesies : *Vibrio Harveyi*

### 2.3.2 Morfologi

Bakteri *V. harveyi* menurut Utami, Sarjito dan Desrina (2016) merupakan bakteri gram negatif yang mempunyai kandungan peptidoglikan yang dapat menentukan bentuk sel serta memberikan kekakuan yang dibutuhkan untuk melindungi bakteri dari perobekan osmotik adalah bakteri gram negatif berbentuk batang dengan ukuran (1,0-1,6 x 0,5-0,7  $\mu\text{m}$ ), fermentatif dan memiliki flagel pada salah satu ujung polarnya. Bakteri ini 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.



Sumber : Bintari, Kawuri dan Dalem, 2016.

**Gambar 2.** *Vibrio harveyi*

### 2.3.3 Habitat dan Penyebaran

*Vibrio harveyi* termasuk bakteri gram negatif berbentuk batang panjang yang melengkung dan bersifat motil karena pergerakannya dikendalikan oleh flagela yang pendek, berbentuk batang yang melengkung (seperti tanda koma) terdapat tunggal atau kadang-kadang bersatu dalam bentuk S atau spiral. Bakteri *Vibrio harveyi* dapat tumbuh secara optimal pada suhu 30°C, salinitas antara 20-30 ppt dengan pH 7,0 dan bersifat anaerobik fakultatif, yaitu dapat hidup baik dengan atau tanpa adanya oksigen (Lestari, Julyantoro dan Suryaningtyas 2018).

Bakteri hidup di berbagai lingkungan, mulai dari tanah dan badan-badan air sampai pada bagian luar maupun dalam tubuh manusia serta hewan dan tanaman. Salah satunya adalah bakteri *Vibrio Harveyi*. Menurut Gusman dan Firman (2012), *Vibrio* ditemukan di hampir seluruh habitat, seperti air tawar, estuaria, air laut, tanah dan merupakan agen penyebab penyakit pada manusia, ikan dan *crustacea*. Masuknya *Vibrio* patogen dalam usaha budidaya udang di tambak dapat berasal dari air laut dan benar yang di gunakan. Induk udang yang berasal dari air laut positif membawa bakteri berpendar sehingga dapat menularkan pada benur (larva) dan akhirnya terbawa masuk ke tambak.

### 2.3.4 Infeksi bakteri *Vibrio harveyi*

Spesies *Vibrio* adalah teridentifikasi dengan baik sebagai agen penyebab wabah penyakit menular di budidaya udang, menyebabkan kerugian ekonomi yang serius bagi petani di bawah budidaya intensif melalui kematian. Salah satu spesies bakteri *vibriosis* yang sering menyerang pembudidaya adalah *V. harveyi*.

Yuarifka, *et al.* (2016) menjelaskan bahwa *Vibrio harveyi* merupakan salah satu bakteri patogen yang menginfeksi udang yang berada di perairan. Bakteri *V. harveyi* dapat ditemukan sebagai jenis bakteri yang berkemampuan sebagai patogen ketika mekanisme pertahanan inang diperlemah (patogen oportunistik) diseluruh permukaan air baik pada lingkungan air payau, tawar, dan laut. Beberapa penyakit infeksi *V. harveyi* yang menyerang udang diantaranya penyakit kunang-kunang (*luminescent vibriosis*), infeksi bakteri dalam darah (*septicemic vibriosis*) dan nekrosis. Penyakit ini dapat memusnahkan populasi udang dalam waktu 1-3 hari sejak gejala awal tampak sehingga penyakit ini berbahaya.

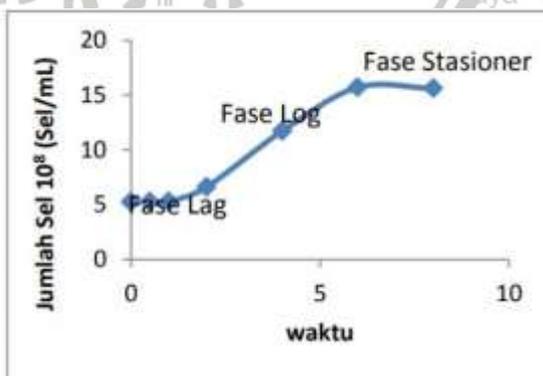
Bakteri *V. harveyi* diduga menginfeksi pasca larva udang Vaname dengan cara menempel pada eksoskeleton dan mengeluarkan bahan atau senyawa yang mendukung virulensinya. Menurut Donnenberg (2000) dalam Lestari, Julyantoro dan Suryaningtyas (2018), mekanisme infeksi bakteri patogen *V. harveyi* dimulai dengan masuknya bakteri *V. harveyi* kedalam tubuh kemudian berkembang biak secara berlebihan dan menyebabkan kerusakan pada jaringan dan sel. Mekanisme infeksi melibatkan faktor virulensi, yaitu motilitas, degradasi jaringan inang, dan perlindungan dari pertahanan inang. Sistem pertahanan tubuh udang merupakan sistem kekebalan non-spesifik tetapi kekebalan ini dapat dirangsang dengan penggunaan probiotik dan immunostimulan secara optimal.

### 2.3 Pertumbuhan bakteri

Pertumbuhan bakteri adalah pertambahan teratur semua komponen suatu organisme. Pertumbuhan bakteri memiliki 4 fase pertumbuhan yaitu : Fase Lag, Fase Logaritmik, Fase Stasioner dan Fase Kematian. Pertumbuhan akan sangat dipengaruhi oleh berbagai kondisi yang ada termasuk pengaruh dari lingkungan luar misalnya adanya sinar ultraviolet (Aryadi dan Dewi 2009).

Adapun fase – fase pertumbuhan bakteri Menurut Destriyana *et al.* (2013), terdiri dari 4 fase yaitu :

- a. Fase lag Fase lag merupakan fase dimana bakteri beradaptasi dengan lingkungannya dan mulai bertambah sedikit demi sedikit
- b. Fase logaritmik Fase logaritmik merupakan fase dimana pembiakan bakteri berlangsung paling cepat
- c. Fase stasioner Fase stasioner merupakan fase dimana jumlah bakteri yang berkembang biak sama dengan jumlah bakteri yang mengalami kematian
- d. Fase autolisis (kematian) Fase autolisis merupakan fase dimana jumlah bakteri yang mati semakin banyak, melebihi jumlah bakteri yang berkembang biak.



Sumber : Sharah, Karnila dan Desmelati, 2015

**Gambar 3.** Fase pertumbuhan bakteri (1) Fase Lag, (2) Fase Logaritmik, (3) Fase Stasioner, (4) Fase kematian.

## 2.4 Uji sensitivitas bakteri secara *in vitro*

Uji *in vitro* berdasarkan penelitian Ikrom *et al.* (2014), merupakan suatu metode uji pada media buatan yang sesuai dengan lingkungan optimal yang diperlukan oleh mikroba untuk tumbuh dan berkembangbiak. Uji tersebut dilakukan untuk melihat daya kerja ekstrak daun yang akan digunakan. Metode yang digunakan pada pengujian *in vitro* adalah metode difusi atau metode kertas cakram dan menggunakan metode dilusi. Pada metode difusi parameter yang diamati adalah zona hambat yang terbentuk, yaitu dengan mengukur diameter zona jernih di sekitar sumur dengan penggaris. Sedangkan sensitivitas merupakan zona hambat yang terjadi pada bakteri sedangkan resistensi merupakan zona hambat yang tidak terjadi terhadap bakteri.

Metode difusi cakram menurut Novita (2016) adalah metode yang paling sering digunakan dimana cara kerja difusi cakram yaitu antibakteri fraksi yang akan diuji diserapkan pada kertas cakram dan ditempelkan pada media agar yang telah dihomogenkan dengan bakteri kemudian diinkubasi sampai terlihat zona hambat didaerah sekitar cakram. Pada metode difusi cakram adanya aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram. Terbentuknya zona hambat menunjukkan adanya aktivitas terhadap antibakteri. Sifat aktivitas antibakteri ditentukan berdasarkan diameter zona hambat. Penentuan kriteria ini berdasarkan Davis dan Stout (1971) pada penelitian Novita (2016) menyebutkan bahwa kekuatan daya antibakteri yaitu 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang dan 5 mm atau kurang berarti lemah. Rerata diameter dari metode difusi cakram disajikan pada gambar berikut.

Diameter	Zona hambat
----------	-------------

> 20 mm	Sangat Kuat
10-20mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

Sumber : Novita, 2016

Gambar 4. Klasifikasi respon hambatan



## BAB III. METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat, Waktu/ Jadwal Pelaksanaan

Penelitian dilaksanakan pada Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Parasit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Februari – Maret 2021.

### 3.2 Alat dan Bahan

#### 3.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian aktifitas antibakteri ekstrak daun kelor terhadap bakteri *V. harveyi* disajikan pada Tabel 1. Dokumentasi alat penelitian yang digunakan disajikan pada Lampiran 1.

Tabel 1. Alat penelitian

No	Alat	Fungsi
1	<i>Autoclave</i>	Untuk mensterilisasi alat dan media yang akan digunakan
2	<i>Beaker glass</i>	Untuk wadah tabung yang akan disterilisasi
3	Blender	Untuk menghancurkan dan menghaluskan ekstrak daun kelor
4	Bola hisap	Untuk membantu pipet serologis mengambil larutan
5	Bunsen	Untuk mencegah terjadinya kontaminasi pada saat perlakuan
6	Cawan petri	Untuk wadah penkulturan bakteri
7	Corong	Untuk membantu dalam penuangan larutan agar tidak tumpah
8	Erlenmeyer	Untuk tempat pembuatan media
9	Gelas ukur	Untuk mengukur larutan
10	Gunting	Untuk memotong bahan yang akan Digunakan
11	<i>Hotplate</i>	Untuk alat pemanas media
12	Inkubator	Untuk wadah penyimpanan bakteri uji
13	Jangka sorong	Untuk mengukur zona bening daya hambat bakteri
14	Jarum ose	Untuk mengambil bakteri yang berada pada media
15	<i>Laminar Air Flow</i>	Untuk tempat preparasi bahan dan tempat pada saat menanam bakteri agar tidak mengalami kontaminasi dengan udara luar

No	Alat	Fungsi
16	Lemari pendingin	Untuk menyimpan ekstrak dan bahan yang akan digunakan
17	Mikropipet 100-1000 µl	Untuk mengambil larutan dengan skala kecil
29	Mikroskop	Untuk indentifikasi bakteri
30	Objek glass	Untuk meletakkan pewarnaan bakteri yang akan diamati dibawah mikroskop
26	Pinset	Untuk alat pengambil cakram
18	Pipet volume	Untuk mengambil larutan dalam volume tertentu
19	Rak tabung reaksi	Untuk wadah tabung reaksi
21	Rotary vacuum	Untuk alat memisahkan ekstrak dengan etanol
22	Spatula	Untuk alat mengaduk larutan agar homogeny
27	Sprayer	Untuk wadah alcohol
20	Tabung reaksi	Untuk tempat peremajaan bakteri dan uji MIC
23	Timbangan analitik	Untuk menimbang media dan ekstrak yang akan digunakan
24	Toples kaca	Untuk wadah maserasi ekstrak daun kelor
28	Triangle	Untuk alat meratakan bakteri pada saat penanaman pada cawan
25	Vortex	Untuk alat menghomogenkan larutan atau ekstrak

### 3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian aktifitas antibakteri ekstrak daun kelor terhadap bakteri *V. harveyi* disajikan pada Tabel 2.

Dokumentasi bahan penelitian yang digunakan disajikan pada Lampiran 2.

Tabel 2. Bahan-Bahan Penelitian

No	Bahan	Fungsi
1	Akuades	Sebagai pelarut media dan bahan saat proses evaporasi
2	Alkohol	Sebagai pengondisian aseptis
3	Aluminium foil	Sebagai penutup toples pada saat maserasi
4	Bakteri <i>V. harveyi</i>	Sebagai bakteri yang diuji pertumbuhannya
5	Daun kelor ( <i>Moringa Oleifera</i> )	Sebagai tanaman yang akan di ambil ekstrak daunnya
6	DMSO 100%	Sebagai pelarut ekstrak
7	Etanol 96%	Sebagai pelarut ekstrak saat maserasi
8	Kapas	Sebagai penutup erlenmeyer dan tabung reaksi saat dilakukan sterilisasi
9	Karet gelang	Sebagai mengikat toples pada saat Maserasi
10	Kertas bekas	Sebagai bahan untuk membungkus peralatan yang akan disterilisasi
11	Kertas cakram	Sebagai bahan yang di rendam dalam ekstrak dan diujikan ke bakteri untuk

No	Bahan	Fungsi
		mengetahui zona hambat
12	Kertas label	Sebagai pemberi tanda pada alat dan bahan setiap perlakuan
13	Kertas saring	Sebagai penyaring ekstrak setelah dilakukan maserasi
14	Larutan Iodin	Sebagai pemerkuat warna primer
15	Larutan kristal violet	Sebagai indikator warna primer
16	Larutan safranin	Sebagai indikator warna sekunder
17	NaCl	Sebagai bahan yang digunakan untuk pembuatan larutan NaFis
18	Plastik warp	Sebagai pembungkus dan merekatkan penutup cawan atau tabung reaksi
19	<i>Pseudomonas Selective Agar (PSA)</i>	Sebagai media padat untuk tempat pertumbuhan bakteri
20	Spirtus	Sebagai bahan bakar Bunsen
21	<i>Tryptitone Soy Broth (TSB)</i>	Sebagai media cair tempat pertumbuhan bakteri

### 3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Hastjarjo (2019) menjelaskan bahwa metode eksperimental adalah suatu penelitian yang melibatkan manipulasi variabel bebas dengan variabel terikat. Dalam suatu penelitian eksperimen peneliti dengan sengaja mengontrol dan memanipulasi kondisi yang menentukan kejadian dimana peneliti meneliti tersebut. Menurut Rifal dan Sinaga (2018), Metode eksperimental adalah metode terbaik mengungkapkan sebab akibat untuk melakukan percobaan yang dirancang dengan mengendalikan pengaruh variabel yang lain.

### 3.3 Pengambilan data

Terdapat dua teknik pengambilan data pada penelitian ini yaitu data primer dan sekunder. Data primer yang didapat meliputi hasil observasi, sedangkan data sekunder yaitu data atau informasi yang diperoleh dari sumber literasi. Menurut Srianis, Suarni dan Ujianti (2014) Observasi adalah pengamatan langsung terhadap suatu kegiatan yang sedang dilakukan sehingga memperoleh data dengan jalan mengadakan pengamatan dan pencatatan. Tujuan dari

observasi dimana pada penelitian kualitatif menghasilkan teori dan hipotesis sedangkan pada penelitian kuantitatif digunakan untuk menguji teori dan hipotesis.

### 3.4 Rancangan penelitian

Gambaran umum dari penelitian ini dapat kita lihat dari metode rancangan penelitiannya. Pada penelitian ini menggunakan rancangan penelitian RAL (Rancangan Acak Lengkap). Menurut Rahmawati dan Erina (2020), rancangan Acak Lengkap (RAL) dipandang lebih berguna dalam percobaan laboratorium atau dalam percobaan pada beberapa jenis bahan percobaan tertentu yang mempunyai sifat relatif homogen. RAL merupakan rancangan dengan faktor tunggal. Faktor ini terdiri paling sedikitnya terdapat dua taraf. Tiap taraf disebut dengan perlakuan. Adapun keuntungan menggunakan RAL antara lain: (1) perancangan dan pelaksanaannya mudah; (2) analisis data relatif mudah; (3) fleksibel dalam hal jumlah perlakuan; (4) terdapat alternatif analisis nonparametrik yang sesuai. Model untuk RAL menurut Adinugraha dan Wijyaningrum (2018), adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu_i + \tau_i + \epsilon_{ij} \quad \text{atau} \quad Y_{ij} = \mu_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

$i = 1, 2, \dots, t$  dan  $j = 1, 2, \dots, r$

$Y_{ij}$  = Pengamatan pada perlakuan ke- $i$  dan ulangan ke- $j$

$\mu$  = Rataan umum

$\tau_i$  = Pengaruh perlakuan ke- $i$

$\epsilon_{ij}$  = Pengaruh acak pada perlakuan ke- $i$  dan ulangan ke- $j$

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu perlakuan pemberian ekstrak daun kelor terhadap bakteri *V. harveyi* dengan perlakuan menggunakan perbedaan dosis ekstrak daun kelor dengan kepadatan bakteri  $10^7$  CFU/ml.

Penentuan dosis pada penelitian ini didapatkan dari hasil uji pendahuluan dengan dosis awal 10 ppm - 90 ppm. Dari hasil uji pendahuluan tersebutlah dapat ditentukan dosis dan rentan dosis yang akan digunakan pada penelitian.

Perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini adalah sebanyak 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Penelitian ini digunakan 2 kontrol pembanding yaitu kontrol positif (K+) dan kontrol negatif (K-). Kontrol positif menggunakan antibiotik *chloramphenicol* dengan dosis 30 ppm sedangkan kontrol negatif hanya menggunakan kertas cakram saja. Pilihan antibiotik *chloramphenicol* didasarkan pada tingkat resisten bakteri *V. harveyi*. Tabel perlakuan beserta ulangan disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 3. Perlakuan dalam Penelitian

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A	A 1	A 2	A 3
B	B 1	B 2	B 3
C	C 1	C 2	C 3
D	D 1	D 2	D 3
E	E 1	E 2	E 3
K (-)	K 1(-)	K2 (-)	K3 (-)
K (+)	K 1(+)	K 2(+)	K 3(+)

Keterangan :

- A : Perlakuan dosis ekstrak daun kelor 50 ppm
- B : Perlakuan dosis ekstrak daun kelor 100 ppm
- C : Perlakuan dosis ekstrak daun kelor 150 ppm
- D : Perlakuan dosis ekstrak daun kelor 200 ppm
- E : Perlakuan dosis ekstrak daun kelor 250 ppm

Kontrol (+) : Kontrol positif perlakuan dengan antibiotik *chloramphenicol* dosis 30 ppm

Kontrol (-) : Kontrol negatif perlakuan tanpa ekstrak daun kelor/ antibiotik

K-2	C2	B3	K-3	E3	D1	E2
K+3	K+2	B2	K-1	E1	A2	D3
K+1	A3	K-3	D2	B1	A1	C1

Gambar 5. Denah Penelitian

Keterangan:

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

A-E : Perlakuan

1-3 : Ulangan

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Persiapan Penelitian

##### A. Sterilisasi alat dan bahan

Sterilisasi alat dan bahan penelitian menggunakan autoklaf yang dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan. Menurut Rizal, Sumaryati dan Suprihana (2016), sterilisasi merupakan proses mematikan semua mikroorganisme dengan pemanasan. Mikroorganisme yang dimaksud dapat berupa kuman, virus maupun jamur. Jadi produk steril telah bebas dari semua jenis mikroorganisme hidup. Tujuan sterilisasi untuk membebaskan bahan dari semua mikroba perusak. Proses sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan 124°C selama 4 menit, 8 menit dan 12 menit. Sterilisasi menggunakan autoklaf merupakan cara yang paling baik karena uap air panas dengan tekanan tinggi menyebabkan penetrasi uap air ke dalam sel-sel mikroba menjadi optimal sehingga langsung mematikan mikroba.

**B. Persiapan Sampel**

**1) Daun kelor**

Daun kelor diperoleh disekitar daerah Magetan, Kelurahan Kepolorejo, Kabupaten Magetan, Jawa Timur. Daun kelor basah yang diperoleh sebanyak 2 kilogram dan telah diuji fitokimia sebelumnya. Hasil uji fitokimia dilampirkan pada lampiran 3.

**2) Bakteri *V. harveyi***

Bakteri *V. harveyi* didapatkan dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Jawa Tengah dengan kepadatan  $21 \times 10^8$  menggunakan metode mc farland. Isolat bakteri kemudian di kultur pada media miring TCBS dan media cair TSB kemudian disimpan dalam lemari pendingin. Hasil uji biokimia bakteri *V. harveyi* disajikan pada lampiran 4.

**C. Ekstraksi Daun kelor**

Daun kelor yang telah dikering anginkan sebelumnya dilanjut dengan proses estraksi menggunakan pelarut etanol 96%. Metode ekstraksi daun kelor mengacu pada penelitian Husni, *et al.* (2016), adalah sebagai berikut. Daun kelor sebanyak 500 gram direndam dengan larutan etanol 96% p.a sebanyak 4.500 ml dan didiamkan 72 jam (diganti setiap 24 jam selama 3 hari). Dilakukan penyaringan atau filtrasi dengan menggunakan kertas saring. Kemudian hasil ekstraksi dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporation* di laboratorium mikrobiologi ikan dan didapatkan hasil ekstrak kental daun kelor. Cara pembuatan ekstrak daun kelor disajikan pada lampiran 5. Rumus untuk mengetahui rendemen ekstrak sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot awal simplisa}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{21,19 \text{ gr}}{100 \text{ gr}} \times 100 \% \\ &= 21,19 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Berat Kering} &= \frac{600 \text{ gr}}{2000 \text{ gr}} \times 100 \% \\ &= 30 \%\end{aligned}$$

#### D. Pembuatan Media

##### 1) Media Kultur Cair TSB (*Tryptitone Soy Broth*)

Pembuatan media TSB menurut Huyyirnah dan Fitriyani (2020), TSB ditimbang sebanyak 30 g dilarutkan dalam 1000 ml aquades dan ditambahkan 2,5% NaCl. Kemudian erlenmeyer ditutup dengan menggunakan kapas dan aluminium foil. Dididihkan di atas hotplate sambil diaduk hingga media media larut. Disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C, tekanan 2 atm selama 15 menit. Kemudian media dimasukkan kedalam tabung reaksi.

##### 2) Media Agar Peremajaan TCBS (*Thiosulphate Citrat Bile Salt Sucrose*)

Pembuatan media TCBS menurut Sariadji, Wati, Syamsidar, Kharini dan Sunarno (2015) media agar TCBSA ditimbang sebanyak 8,9 gram masukan ke dalam erlenmeyer volume 250 dan dilarutkan dengan aquades steril sebanyak 100 ml, lalu dipanaskan di atas pemanas sambil diaduk dengan *sterirrer magnit* setelah larut dan mendidih diangkat dan didinginkan sampe hangat kuku kemudian dituangkan ke cawan petri kemudian disimpan dalam kulkas.

##### 3) Media Agar Uji Cakram

Pembuatan media TCBS untuk uji cakram menurut Widyastana, Kawuri dan Dalem (2015) TCBS dengan dosis 88 gram/liter ditimbang sebanyak 8,8 gram. Kemudian dimasukkan kedalam Erlenmeyer dengan 100 ml akuades yang telah di sterilisasi terlebih dahulu. Agar yang sudah ditambah akuades dipanaskan di atas *hotplate* hingga homogen. Agar yang sudah homogeny kemudian dituang ke dalam cawan petri dan ditunggu hingga dingin. Kemudian media disimpan dalam lemari es.

#### E. Peremajaan bakteri *V. harveyi*

Peremajaan bakteri menurut Mutmainah, Harsoi dan Lambui (2019) Medium TCBS sebanyak 8,8 gram dilarutkan ke dalam 100 mL aquades. Mulut Erlenmeyer ditutup rapat dengan aluminium foil hingga rapat dan selanjutnya dipanaskan menggunakan *hotplate* hingga larut. Kemudian media dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dimiringkan. Diambil satu ose dan dilakukan strike secara zig zag pada media yang telah dimiringkan. Peremajaan dilakukan tiga hari sekali dan disimpan dalam inkubator dengan suhu 28 °C.

## F. Kultur Bakteri

Kultur bakteri menurut Rahmawanto, Anton dan Lukman (2015) kultur bakteri dilakukan pada media TSB. Caranya yaitu dengan mengambil koloni bakteri tunggal dari cawan petri yang telah berumur 24 jam, kemudian ditumbuhkan pada media cair TSB kemudian di vortex agar homogen selanjutnya diinkubasi selama 24 jam.

### 3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

#### A. Identifikasi bakteri *V. harveyi*

Bakteri 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 kemerah-merahan maka

sampel tersebut tergolong bakteri gram negatif (Arbaeyah, Yoswaty dan Elizal, 2017).

### B. Uji Daya Hambat

Metode uji daya hambat berdasarkan penelitian Nur, *et al.* (2019) dengan sedikit modifikasi yaitu kertas cakram dibuat dari kertas saring Whatmann no. 42

dengan daya serap 25  $\mu$ l. Kemudian kertas cakram direndam dengan masing-masing konsentrasi yang telah ditentukan selama 15 menit. Sediaan bakteri *V.*

*harveyi* yang telah diencerkan hingga kepadatannya  $\pm 10^7$  cfu/ml dalam larutan

*na-fis* kemudian diambil sebanyak 0,1 ml lalu disebar merata pada media TCBS

dengan alat penyebar steril *triangle*. Kemudian di inkubasi selama 24 jam dan

didapatkan hasil daya hambat. Prosedur uji daya hambat disajikan pada lampiran

6.

### 3.8 Parameter Uji

Parameter yang di uji adalah zona bening yang terbentuk. Mengukur diameter zona bening di sekitar cawan petri pada masing-masing dosis ekstrak.

Zona hambat yang terbentuk sebagai parameter utama diukur dari zona hambat

vertikal dan horizontal menggunakan jangka sorong kemudian dihitung (Aziz,

2019).

### 3.9 Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh dianalisa secara statistika dengan

menggunakan analisa uji keragaman atau uji F (ANOVA) dengan metode yang

digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada tingkat kepercayaan 95%

( $\alpha = 0,05$ ) dan 99% ( $\alpha = 0,01$ ). Hal ini digunakan untuk mengetahui pengaruh

perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter ukur (uji F atau sidik

ragam). Jika data sidik ragam memperlihatkan pengaruh berbeda nyata maka

untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar dua perlakuan. Jika data uji beda nyata terkecil (BNT). Jika data uji beda nyata terkecil (BNT) memperlihatkan hasil berbeda nyata yang dinyatakan dengan notasi selanjutnya dilakukan uji regresi. Uji regresi dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan dengan parameter yang dinyatakan dalam bentuk grafik *polinomial ortogonal*.



## BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Identifikasi Bakteri *V. harveyi*

Identifikasi bakteri bertujuan untuk mengetahui sifat-sifat morfologi, biokimia dan molekuler dari bakteri *V. harveyi*. Identifikasi bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan pewarnaan gram. Pewarnaan gram adalah salah satu teknik identifikasi yang paling sederhana dan sering digunakan untuk mengetahui morfologi dan mengidentifikasi bakteri *V. harveyi*. Hasil pewarnaan gram akan menjelaskan sifat bakteri tersebut. Dalam pewarnaan, bakteri negative berwarna merah. Morfologi *V. harveyi* hasil pewarnaan perbesaran 1.000 x pada mikroskop disajikan pada gambar 7.



Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2021

**Gambar 6.** Hasil pewarnaan *V. harveyi* dengan Pewarnaan Gram Perbesaran 1.000 x pada mikroskop

Pewarnaan gram dilakukan dengan tujuan dapat mengidentifikasi bakteri dengan cara yang sederhana. Uji pewarnaan gram dapat dilakukan dengan langkah pertama yaitu Kaca preparat dibersihkan dengan menggunakan alkohol kemudian difiksasi di dekat nyala api atau bunsen. Isolat bakteri kemudian ditetaskan di atas kaca preparat, dipanaskan di dekat nyala api hingga isolat bakteri kering. Langkah selanjutnya yaitu penetesan larutan kristal ungu pada isolat bakteri, lalu didiamkan selama 1 menit, dibilas dengan akuades dan dikeringkan di dekat nyala api. Hasil pewarnaan kristal ungu ditetaskan larutan

iodin, didiamkan selama 1 menit, dibilas dengan akuades dan dikeringkan di dekat nyala api. Hasil pewarnaan iodin diteteskan dengan etanol, didiamkan selama 15-30 detik, dibilas dengan akuades dan dikeringkan di dekat nyala api. Langkah terakhir, hasil pewarnaan dengan etanol ditetesi dengan safranin, didiamkan selama 2 menit, dibilas dengan akuades, dan dikeringkan di dekat nyala api. Setelah kering, hasil pewarnaan gram di amati dibawah mikroskop. Prosedur pewarnaan gram disajikan pada lampiran 6.

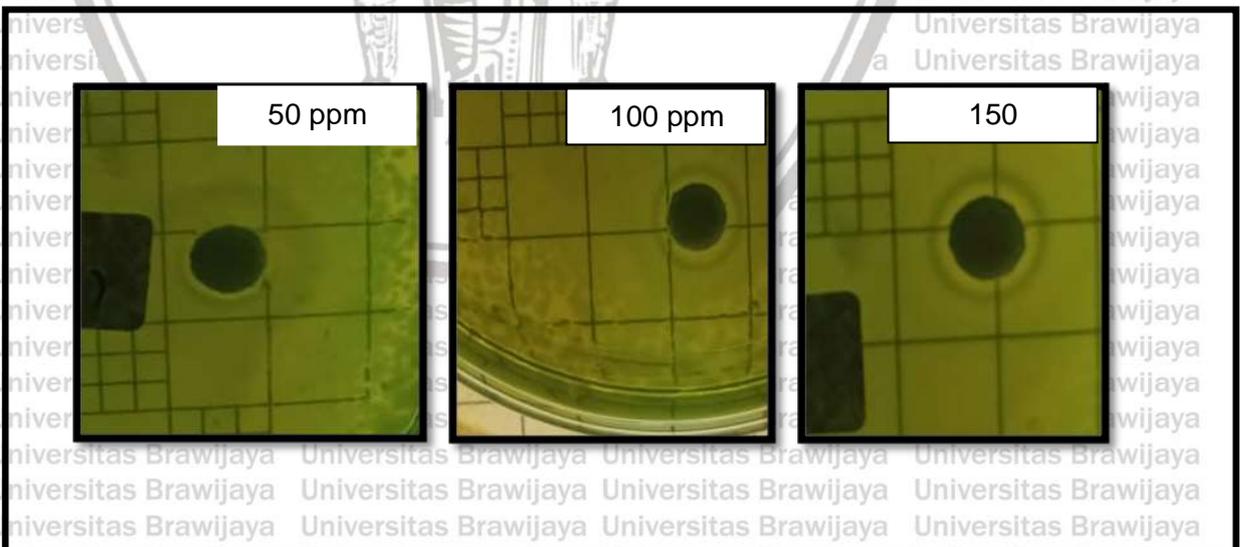
Berdasarkan gambar 7 terlihat bahwa bakteri *V. harveyi* adalah bakteri yang bersifat gram negatif karena berwarna merah saat dilakukan uji pewarnaan gram. Bakteri *V. harveyi* pada gambar tersebut juga menunjukkan bentuk batang. Hal ini sesuai dengan penelitian Bintari, Kawuri dan Dalem (2016), bahwa hasil pengujian Gram bakteri *V. harveyi* termasuk kelompok Gram negatif karena berubah warna menjadi merah dan memiliki sel berbentuk batang bengkok (koma) dengan ukuran 1,1 – 1,9  $\mu\text{m}$ .

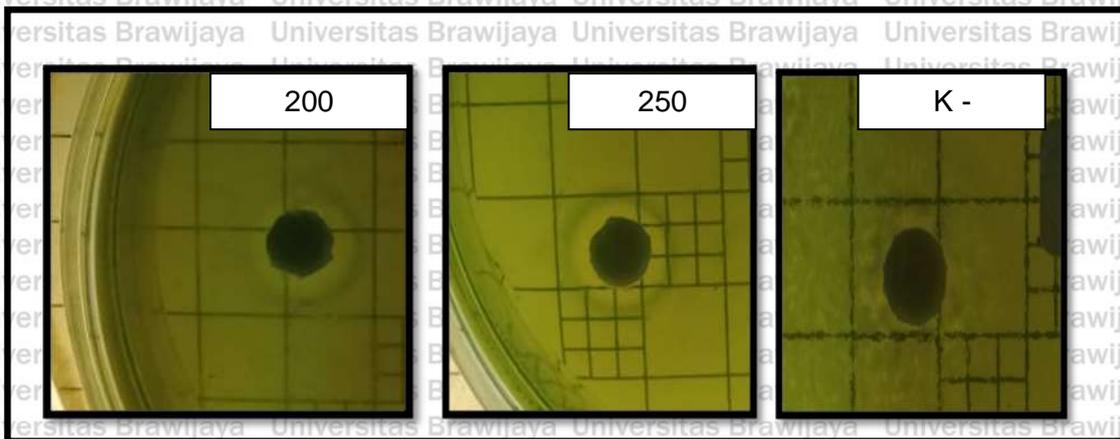
Hasil uji biokimia *V. harveyi* yang dilakukan pada Balai Perikanan Budidaya Air Payau Jepara, Jawa Tengah diketahui bahwa bakteri tersebut bersifat gram negatif, Indol, oksidasi, lisin dekarboksilase, arbutin, ornitin dekarboksilase positif sedangkan untuk hasil arginin, tidak tumbuh dengan 0% NaCl, VP, etanol dan propanol negatif. Media indol merupakan media uji biokimia yang digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengurai tryptophan menjadi indol. Pembacaan uji Indol jika reaksi positif ditandai dengan munculnya warna merah pada permukaan media apabila ditambahkan reagen kovac's. Selanjutnya untuk pembacaan MRVP yaitu penambahan indikator metil red dapat menunjukkan perubahan pH pada media biakan, metil red akan menjadi merah pada kondisi asam dan berwarna kuning pada kondisi basa. Dan untuk pengujian katalase adalah pengujian secara biokimiawi yang memperlihatkan aktivitas dari bakteri yang menghasilkan enzim

katalase ditandai dengan terbentuknya gelembung. Hasil uji biokimia *V. harveyi* disajikan pada lampiran 4. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Rahmanto, Sarjito dan Chilmawati (2014) bahwa hasil uji biokimia *V. harveyi* dengan katalase, oksidase, indol, glukosa, sukrosa, ornitin semua hasilnya adalah positif sedangkan pada H<sub>2</sub>S, VP, Laktosa, Urea hasil negatif.

#### 4.2 Uji daya hambat

Pengaruh pemberian ekstrak daun kelor terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi* memperlihatkan zona bening di sekeliling kertas cakram yang diberikan pada media agar. Jika terdapat zona bening berarti bahwa terdapat zona hambat antibakteri pada daun kelor dapat ditandai dengan terbentuknya zona bening yang terdapat pada sekitar kertas cakram seperti pada gambar 8. Apabila pada media agar telah ditumbuhi bakteri *V. harveyi* dan terdapat zona bening sekitar cakram sehingga tidak ada koloni bakteri dan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kelor memiliki sifat antibakterial dan dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri *V. harveyi*.





Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2021

**Gambar 7.** Diameter Zona Hambat atau Zona Bening

Data yang akan dianalisa diperoleh dari pengukuran zona bening dengan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan dalam setiap kertas cakram selama 24 jam dan didapatkan rerata zona hambat. Kemudian hasil zona bening tersebut diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan mm, dan hasil pengukuran disajikan pada Tabel 4. Perlakuan tersebut dimulai dari 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm. Sedangkan variable kontrol terdiri atas kontrol negatif yang hanya menggunakan kertas cakram dan kontrol positif dengan menggunakan antibiotik *chloromphenicol* dengan dosis 30 ppm. Penggunaan *chloromphenicol* 30 ppm sudah sesuai dengan dosis yang digunakan untuk menghambat bakteri *V. harveyi*. Hasil yang didapatkan pada tabel 4 bahwa masing-masing media agar pada perlakuan 50-250 ppm terdapat zona bening yang menandakan bahwa tidak ada bakteri. Hal ini sesuai dengan penelitian Suriaman dan Khasanah (2017) bahwa pada media agar uji, ekspansi koloni bakteri akan dihalangi oleh senyawa yang terdapat pada bahan uji atau perlakuan. Setelah diinkubasi, zona hambat akan teridentifikasi dari adanya area transparan. Area ini menunjukkan bahwa tidak adanya koloni bakteri. Kemudian untuk mengetahui besarnya pengaruh pemberian dosis berbeda ekstrak daun kelor terhadap zona bening *V. harveyi* maka dilakukan uji analisa sidik ragam pada Tabel 5.

Tabel 4. Data Hasil Pengukuran Rerata Zona Hambat

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV (mm)
	1	2	3		
K -	6	6	6	18	6 ± 0.00
A (50 ppm)	7.56	6.87	7.61	22.04	7.35 ± 0.41
B (100 ppm)	7.56	7.65	8.13	23.34	7.78 ± 0.31
C (150 ppm)	8.32	8.27	7.84	24.43	8.14 ± 0.26
D (200 ppm)	8.57	8.39	9.06	26.02	8.67 ± 0.35
E (250 ppm)	9.47	10.1	9.13	28.70	9.57 ± 0.49
Total				142.53	

Tabel 5. Hasil Sidik Ragam Zona Hambat

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F. Hit	F 5 %
Perlakuan	5	22.09	4.42	38.0*	3.11
Acak	12	1.39	0.12		
Total	17				

Keterangan :

\*\* : berbeda nyata

Zona hambat yang terbentuk setelah inkubasi selama 24 jam dengan dosis 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dan kontrol negatif. Masing-masing perlakuan konsentrasi ekstrak yang ditunjukkan pada Tabel 4, memiliki perbedaan luas diameter zona hambat yang berbeda antar perlakuan dosis. Rata-rata diameter zona hambat yang paling besar terbentuk yaitu  $9.57 \pm 0.49$  mm pada dosis 250 ppm dan pada kontrol negatif tidak terdapat zona hambat. Diameter zona hambat yang besar tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak daun kelor pada dosis 250 ppm memiliki aktivitas antibakteri paling kuat namun masih dalam kategori sedang. Sedangkan aktivitas antibakteri pada dosis 50 ppm memiliki rerata zona hambat sebesar  $7.35 \pm 0.41$  mm, dosis 100 ppm sebesar  $7.78 \pm 0.31$  mm, perlakuan dengan dosis 150 ppm sebesar  $8.14 \pm 0.26$  mm dan dosis 200 ppm sebesar  $8.67 \pm 0.35$  mm. Seluruh perlakuan dosis memiliki rerata zona hambat pada kategori sedang. Hal ini sesuai dengan

David dan Stout (1971) dalam Lingga, Pato dan Rossi (2015) zona hambat yang terbentuk  $\geq 20$  mm dianggap memiliki aktivitas daya hambat sangat kuat, 10-20 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat kuat, 5-10 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat sedang dan  $\leq 5$  mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat lemah. Tabel zona hambat disajikan pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Tabel zona hambat

Diameter	Zona hambat
> 20 mm	Sangat Kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

Hasil zona hambat pada penelitian termasuk kategori sedang karena memiliki aktifitas antibakteri 5-10 mm. Dapat disimpulkan bahwa senyawa pada daun kelor dapat menghambat bakteri *V. harveyi*. Yunita, Permatasari dan Lestari (2020) juga melakukan penelitian menggunakan ekstrak daun kelor dengan bakteri *P. aeruginosa*. Berdasarkan hasil penelitian tersebut bahwa ekstrak etanol daun kelor memiliki aktivitas anitibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa* pada konsentrasi  $\geq 4\%$ . Kemampuan daya aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor dikarenakan adanya kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tannin dan terpenoid.

Selanjutnya untuk perhitungan sidik ragam menunjukkan hasil bahwa pemberian dosis ekstrak daun kelor terhadap zona hambat *V. harveyi* memberikan pengaruh berbeda sangat nyata. Hal tersebut dikarena nilai F hitung (38,0) lebih besar dibandingkan dengan F tabel 5 % ( $p < 0,05$ ) (3,11). Sehingga kesimpulan yang didapatkan bahwa  $H_0$  ditolak sedangkan  $H_1$  diterima dan dapat diartikan jika perlakuan memberikan pengaruh sangat nyata. Selanjutnya, untuk

mengetahui perbedaan dari setiap perlakuan maka dilanjutkan dengan Uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Fungsi uji BNT adalah untuk menentukan apakah rata-rata setiap perlakuan berbeda secara statistik atau tidak. Perhitungan uji BNT disajikan pada tabel 7.

**Tabel 7.** Hasil uji BNT

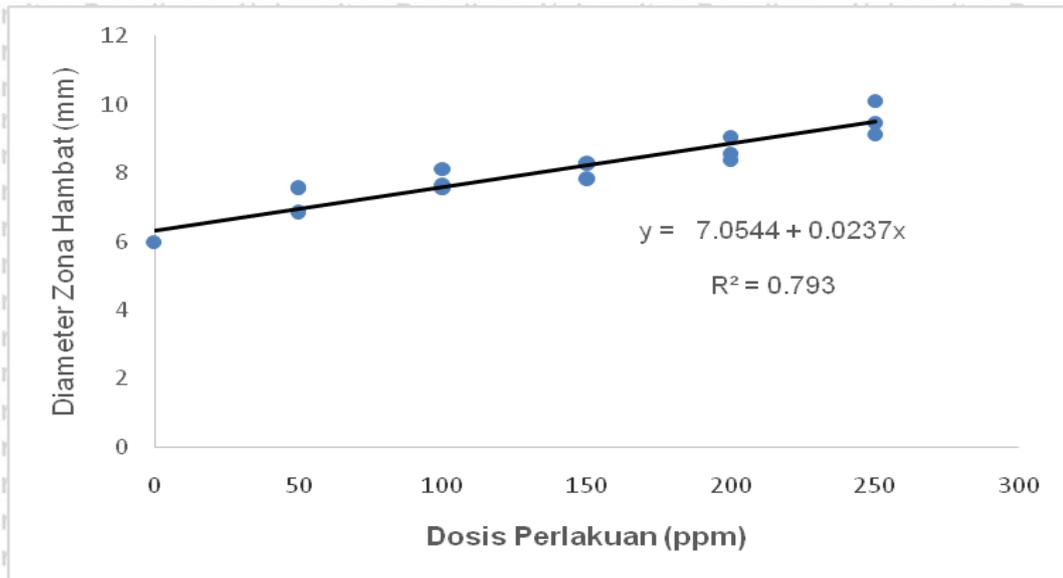
Perlakuan	Rerata	K-	A	B	C	D	E	Notasi
		6	7.35	7.78	8.14	8.67	9.57	
K-	6							a
A	7.35	1.35*						b
B	7.78	1.78*	0.43					b
C	8.14	2.14*	0.80*	0.36				bc
D	8.67	2.67*	1.33*	0.89*	0.53			c
E	9.57	3.57*	2.22*	1.79*	1.42*	0.89*		d

**Keterangan:**

- ns : Tidak berbeda nyata
- \* : Berbeda nyata
- \*\* : Berbeda sangat nyata

Hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada perlakuan Kontrol (-) tidak berbeda nyata sehingga diberi notasi a. Perlakuan A dengan dosis 50 ppm berbeda nyata sehingga diberi notasi b. Perlakuan B dengan dosis 100 ppm diberikan notasi b yang berarti bahwa perlakuan tersebut berpengaruh nyata.

Sedangkan perlakuan C dengan perlakuan dosis 150 ppm diberikan notasi bc yang berarti bahwa perlakuan C berbeda nyata namun terdapat pengaruh dari perlakuan A dan B sehingga diberi notasi bc. Perlakuan D dengan dosis 200 ppm diberi notasi c yang berarti bahwa perlakuan tersebut berbeda nyata. Perlakuan terakhir yaitu perlakuan E dengan dosis 250 ppm memberikan pengaruh berbeda nyata dengan perlakuan lainnya dan diberikan notasi d. Notasi d tersebut berarti bahwa perlakuan berbeda nyata dengan perlakuan A, B, C dan D sehingga hasil yang didapatkan juga berbeda. Selanjutnya, untuk mengetahui bentuk hubungan perlakuan dengan zona hambat, maka dilakukan perhitungan *polynomial orthogonal* yang disajikan pada grafik gambar 9.



**Gambar 8.** Grafik Polynomial Orthogonal Zona Hambat

Hasil grafik zona hambat menunjukkan grafik linear dengan persamaan regresi  $y = 7.0544 + 0.0237x$  dan nilai determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,793. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak daun kelor, maka semakin besar zona hambat yang dihasilkan.  $R^2$  pada penelitian ini adalah 0,793 dimana  $R^2$  ini berarti bahwa pemberian dosis yang berbeda pada setiap perlakuan memberikan pengaruh sebesar 80% terhadap persentase zona hambat, sedangkan sisanya 20% dipengaruhi oleh faktor lain. Menurut Alfiah, Khotimah dan Turnip (2015) Faktor lain yang mempengaruhi perbedaan zona hambat yaitu temperatur inkubasi, waktu pemasangan cakram, jarak cakram dan *human error*.

Peningkatan zona bening pada grafik terlihat bertambah setiap dosis perlakuannya. Perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing perlakuan disebabkan karena perbedaan besarnya zat aktif yang terkandung pada perlakuan tersebut. Semakin besar suatu dosis perlakuan, semakin besar komponen zat aktif yang terkandung di dalamnya sehingga zona hambat yang terbentuk juga berbeda tiap dosis. Hal ini sesuai dengan penelitian Savitri, Fakhurrizi dan Harris (2018) bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun kelor pada bakteri *S. aureus* maka semakin tinggi rata-rata diameter zona

hambat yang terbentuk di sekeliling kertas cakram. Hasil penelitian terendah pada konsentrasi 20% sebesar 7,98 mm kemudian konsentrasi 40% sebesar 9,00 mm, konsentrasi 60% sebesar 12,03 mm dan hasil tertinggi pada konsentrasi 80% sebesar 14,02 mm. Peningkatan aktivitas zona bening masing-masing ekstrak juga dipengaruhi oleh komposisi senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Hal tersebut diperkuat oleh penelitian dari Labambe, Lambui dan Ramadanil (2019) yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak kelor yang diberikan pada bakteri *V. cholerae* maka semakin besar pula aktivitas antibakteri penghambatan pertumbuhan bakteri. Zona hambat yang paling besar dalam pemberian ekstrak terdapat pada konsentrasi 80 % yang rata-rata sebesar 23,8 mm, dibandingkan dengan konsentrasi 20 % sebesar 10,6 mm, 40 % dengan zona hambat sebesar 11,8 mm, dan 60 % sebesar 16,4 mm.

Pengamatan zona hambat dilanjutkan dari inkubasi 24 jam menjadi 48 jam dengan data pengamatan disajikan pada lampiran 6. Hasil yang didapatkan adalah zona hambat menurun pada inkubasi 48 jam. Hal tersebut berarti bahwa ekstrak daun kelor tidak bersifat membunuh atau disebut bakterisidal melainkan bersifat menghambat atau bakteristatik. Salah satu senyawa kimia pada daun kelor bersifat bakteristatik menurut Veronika, Purwijatiningsih dan Pranata (2017) adalah senyawa flavonoid yang terdapat pada daun kelor. Mekanisme kerjanya yaitu dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sitoplasma. Sehingga ekstrak daun kelor tersebut dapat menghambat bakteri *E. coli* yang merupakan bakteri gram negatif. Pernyataan tersebut didukung oleh penelitian dari Nai, Naiu dan Yusuf (2019) bahwa terjadi kenaikan jumlah bakteri ikan layang yang direndam ekstrak etanol daun kelor pada setiap interval waktu inkubasi yang hanya berselang selama 3 jam mengalami peningkatan. Hal ini diduga disebabkan oleh senyawa antibakteri seperti

flavonoid, saponin dan tannin yang ada pada daun kelor jika disesuaikan dengan sifatnya, hanya bersifat sebagai bakteriostatik (menghambat laju pertumbuhan), bukan bersifat bakterisida (menghentikan laju pertumbuhan/membunuh mikroba).

#### 4.3 Mekanisme Antibakteri

Daun kelor memiliki senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Antibakteri adalah suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan hingga mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba. Hal ini sesuai dengan Zahro dan Agustini (2013) menyebutkan bahwa antibakteri adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan dan metabolisme melalui penghambatan pertumbuhan bakteri. Inaktivasi bakteri dapat berupa penghambatan pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) atau bahkan bersifat membunuh bakteri. Senyawa aktif yang terkandung dalam daun kelor yang dapat digunakan sebagai antibakteri telah diujikan pada UPT Laboratorium Herbal Materia Medica. Hasilnya adalah daun kelor mengandung Flavonoid (positif), Tanin (positif) dan Saponin (positif) yang diduga dapat digunakan sebagai antibakteri. Hasil uji fitokimia daun kelor disajikan pada lampiran.

Senyawa yang terdapat di daun kelor diantaranya adalah flavonoid, tanin dan saponin. Hal ini didukung oleh penelitian dari Rante, Taebe, Purnasari dan Lethe (2017) bahwa ekstrak etanol daun *M. oleifera* diduga mengandung senyawa golongan alkaloid, tanin, fenolik, saponin dan flavanoid. Flavonoid adalah senyawa dengan kandungan tertinggi pada ekstrak daun kelor. Hal ini didukung oleh penelitian Susanty, Yudistirani dan Islam (2019) bahwa kandungan total flavonoid dan uji aktivitas antioksidan ekstrak daun kelor terbesar dibandingkan senyawa aktif lainnya yaitu 245,771 mg/L. Kandungan flavonoid total ditentukan dengan menggunakan standar kurva rutin (10-100 mg/ml).

Tingginya kandungan flavonoid pada daun kelor mempengaruhi adanya aktivitas antibakteri yang kuat. Antibakteri yang kuat akan menghambat hingga membunuh bakteri negatif sehingga tidak merugikan. Mekanisme kerja flavonoid sebagai senyawa antibakteri adalah menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Pernyataan ini didukung oleh penelitian Dima, Fatimawali dan Lolo (2016) yang menyebutkan bahwa Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan yang mampu menjaga terjadinya oksidasi sel tubuh. flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Aktifitas biologis senyawa flavonoid terhadap bakteri dilakukan dengan merusak dinding sel dari bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino akan bereaksi pada senyawa flavonoid. Pernyataan yang sama juga disebutkan oleh Nomer, Duniaji dan Nocianitri (2019) bahwa Mekanisme kerja flavonoid sebagai senyawa antibakteri dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Flavonoid akan menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel. Membran sel flavonoid akan membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler dan terlarut sehingga membran sel akan rusak dan senyawa intraseluler akan keluar. Sedangkan dalam menghambat metabolisme energi dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri, yaitu dengan mencegah pembentukan energi pada membran sitoplasma dan menghambat motilitas bakteri yang berperan dalam aktivitas antimikroba dan protein ekstraseluler, sehingga menyebabkan bakteri mengalami kematian.

#### 4.4 Parameter penunjang penelitian

Suhu inkubasi pada pertumbuhan bakteri adalah parameter penunjang pada penelitian ini. Suhu adalah salah satu faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Suhu menjadi faktor penting dalam pertumbuhan bakteri. Pada penelitian ini suhu yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri adalah 30°C. Penggunaan suhu 30°C dianggap efektif karena dapat menumbuhkan bakteri *V. harveyi* dengan baik.

Yuniastutik (2019) menyatakan bahwa suhu inkubasi terbaik yaitu 30°C. Pada waktu dan suhu tersebut sel leukosit berfungsi secara maksimal untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yaitu bakteri *A. hydrophila* dan *V. harveyi*. Hal ini diperkuat oleh Lestari, Julyantoro, Wulandari dan Suryaningtyas (2018) bahwa bakteri *Vibrio harveyi* tumbuh secara optimal pada suhu 30°C, salinitas antara 20-30 ppt dengan pH 7,0 dan bersifat anaerobik fakultatif, yaitu dapat hidup baik dengan atau tanpa adanya oksigen. Oleh sebab itu suhu harus sesuai atau optimal agar bakteri *V. harveyi* dapat tumbuh.

## BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian ekstrak daun kelor sensitif terhadap bakteri *V. harveyi*. Zona hambat tertinggi yaitu pada dosis 250 ppm sebesar 9,57 mm  $\pm$ 0,49 dan terendah pada dosis 50 ppm yaitu sebesar 7,35 mm  $\pm$  0,41 dan tergolong dalam hambatan sedang. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor memiliki aktifitas antibakteri sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bioaktif alami.

### 5.2 Saran

Dengan dasar hasil penelitian saat ini pada dosis terbesar 250 ppm diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui keefektifan bahan alami untuk menghambat bakteri *V. harveyi*. Kemudian dilakukan penelitian lebih lanjut yaitu dengan cara *In vivo* untuk mengetahui sensitivitas ekstrak daun kelor pada bakteri *V. harveyi* sehingga dapat digunakan dalam penanggulangan penyakit ikan dan udang yang disebabkan oleh bakteri *V. harveyi*.

## Daftar Pustaka

Apriyanto, H., E. Harpeni., A. Setyawan dan Tarsim. 2014. Pemanfaatan ekstrak buah *Rhizophora sp* sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen ikan air tawar. *E-jurnal rekayasa dan teknologi budidaya perairan*. 3(1): 289-296.

Alfiah, R. R., S. Khotimah dan M. Turnip. 2015. Efektivitas Ekstrak Metanol Daun Sembung Rambut (*Mikaniamicrantha Kunth*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. 4(1): 52-57.

Arbaeyah, D. Yoswaty dan Elizal. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio Harveyi* Pada Udang Windu (*Panaeus monodon*).

Azis. 2019. Analisis in vitro aktivitas antibakteri daun sisik naga (*Drymoglossum pilosellaoides*) terhadap bakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. 8(2): 82-91.

Bintari, N. W. D., R. Kawuri dan A. A. G. R. Dalem. 2016. Identifikasi bakteri vibrio penyebab vibriosis pada larva udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*) (de Man). *Jurnal biologi*. 20(2): 53-63.

Cahyadi, J., G. I. Satriani., E. Gusman dan Sabri. 2019. Ekstrak buah mangrove (*Sonneratia alba*) pada *Artemia salina* dalam menghambat infeksi *Vibrio harveyi* terhadap sintasan benur udang windu (*Panaeus monodon*) secara in vivo. *Jurnal harpodon borneo*. 12(1): 33-41.

Dima, L. L. R. H., Fatimawali dan W. A. Lolo. 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*Moringa Oleifera L*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal ilmiah farmasi*. 5(2): 283-289.

Fitri, Z. M., Kismiyati dan A. S. Mubarak. 2018. Daya antibakteri ekstrak daun api-api (*Avicennia alba*) terhadap *Vibrio harveyi* penyebab vibriosis secara invitro. *Jurnal ilmu perikanan dan kelautan*. 10(2): 131-136.

Edwinanto, L., E. Septiadi., L. R. Nurffazria., K. S. anastya dan N, Pranata. 2018. Phytochemical Features of *Moringa oleifera* Leaves as Anticancer. *Journal of Medicine and Health*. 2(1): 680-688.

Gusman, E dan Firman. 2012. Identifikasi bakteri vibrio SP pada udang windu (*Panaeus Monodon*) di tambak tradisional kota Tarakan. *Jurnal harpodon borneo*. 5(2): 173-182.

Hastjarjo, T. D. 2019. Rancangan eksperimen-Kuasi. *Buletin psikologi*. 27(2): 187-203.

Halima, C. K dan Mbulang. 2016. Analisis Fitokimia ekstrak Daun Kelor (*Moringa*

oleifera Lamk) Farmasi STIKes Citra Husada mandiri. Kupang. NTT.  
Huyyirnah dan Fitriyani. 2020. Metode penyimpanan bakteri *Vibrio alginolitycus* dan *Vibrio harveyi* dalam media TSB (Tryptic Soy Broth) dan gliserol. *Integrated Lab Journal*. 8(2): 91-101.

Ikrom, A. T. R. Denok., B. P. Bintang., N. T. Rafika dan Wasito. 2014. Studi In Vitro Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria alba*) sebagai Anti *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal sains veteriner*. 32(1): 105-116.

Indriani, A. D., S. B. Prayitno dan Sarjito. 2014. Penggunaan ekstrak jaeh merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) sebagai alternatif pengobatan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3 (3): 58-65.

Jarir, D. V., Anton, Yunarty., Fatmah., Jayadi dan Usman. 2020. Strategi pengelolaan tambak udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) terhadap serangan penyakit parasite di kecamatan tanete riattang timur. *Journal of Indonesian Tropical Fisheries*. 3(1): 28-39.

Labambe, N. A., O. Lambui dan Ramadanil. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio cholera*. *Biocelebes*. 13(1): 56-64.

Laksmiani, N. P. L., I. W. A. Widiantara., K. D. Andyani dan A. B. S Pwarrangan. 2020. Optimasi Metode Ekstraksi Kersetin dari daun kelor (*Moringa oleifera* L.). *Jurnal kimia*. 14(1): 19-23.

Lestari, N. P. T., P. G. S. Julyantoro dan E. W. Suryaningtyas. 2018. Uji tantang vibrio harveyi pada pasca larva udang vanname (*Litopenaeus vannamei*). 1(1): 114-121.

Lingga AR, Pato U, Rossi E. 2015. Uji antibakteri ekstrak batang kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta* 2(2): 1-15.

Meigara, K. M., I. Wayan Mudianta dan N. W. Martiningsih. 2016. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak aseton daun kelor (*Moringa Oleifera*). *Jurnal wahana matematika dan sains*. 10(1): 1-11.

Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal kesehatan*. 7(2): 361-367.

Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal kesehatan*. 7(2): 361-367.

Mutmainah, W. Harso. O. Lambui. 2019. Uji daya hambat ekstrak daun lalumpa (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus*. *Biocelebes*. 13(2): 131-141.

Nai, Y. D., A. S. Naiu dan N. Yusuf. 2019. Analisis mutu ikan layang (*Decapterus sp*) segar selama penyimpanan menggunakan larutan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) sebagai pengawet alami. *Jambura Fish Processing Journal*. 1(2): 78-90.

Nur, I., Asnani dan Yusnaini. 2019. Potensi ekstrak steroid dari teripang pasir (*Holothuria scabra*) dari perairan atowatu kendari untuk pengendalian vibrio harveyi. *Jurnal sains dan inovasi perikanan*. 3(1): 26-31.

Novita, W. 2016. Uji aktivitas antibakteri fraksi daun sirih (*Piper Betle L*) terhadap pertumbuhan bakteri *streptococcus mutans* secara in vitro. *Jambi medical journal*. 4(2): 140-155.

Nomer, N. M. G. R., A. S. Duniaji dan K. A. Nocianitri. 2019. Kandungan senyawa flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) serta aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholera*. *Jurnal ilmu dan teknologi pangan*. 8(2): 216-225.

Pratama, P. N., S. B. Prayitno dan Sarjito. 2014. Pemanfaatan ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) untuk penanggulangan penyakit bakteri (*Vibrio harveyi*) pada udang windu. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(4). 281-288.

Purwaningsih, R., Z. Fanani dan V. S. Nugrahaeni. 2014. Model optimasi perikanan budidaya laut. *Jurnal Undip*. 9 (3): 157-161.

Rahmawati, A. S dan R. Erina. 2020. Rancangan acak lengkap (RAL) dengan uji anova dua jalur. *Jurnal pendidikan fisika*. 4(1): 54-62.

Rahmawanto DG, Anton M, Luqman QA. 2015. Pengaruh faktor antibiotik kimia tanah terhadap supressifitas tanah dalam mengendalikan penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada tanaman toman (*Lycopersicon esculentum Mill*). *Jurnal HPT*. 3(2):1-8.

Rahmanto, S. P., Sarjito dan D. Chilmawati. 2014. Karakterisasi dan uji postulat Koch bakteri genus vibrio yang berasal dari media kultur masal mikroalga. *Journal of aquaculture management and technology*. 3(4): 230-237.

Rafiqie, M. 2014. Penyakit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di tambak PT Tanjung Bejo, Pajajaran Kabupaten Probolinggo. *Jurnal ilmu perikanan*. 5(1): 20-24.

Rante, H.,B. Taebe., C. Purnasari dan C. Lethe. 2017. Aktivitas antibakteri *Moringa oleifera* Lam. Terhadap bakteri patogen resisten antibiotik. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*. 2(1): 5-8

Rizkayanti., A. Wahid., M. Diah dan M. R. Jura. 2017. Uji aktivitas antioksidan ekstrak air dan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa Oleifera*). *Jurnal akademia kimia*. 6(2): 125-131.

Rizal, M. S., E. Sumaryati dan Suprihana. 2016. Pengaruh waktu dan suhu sterilisasi terhadap susu sapi rasa coklat. *Jurnal ilmu-ilmu pertanian*. 10(1): 20-30.

Romadhona, B., Yulianto, B., & Sudarno, S. 2016. Fluktuasi Kandungan Amonia Dan Beban Cemaran Lingkungan Tambak Udang Vaname Intensif Dengan Teknik Panen Parsial Dan Panen Total *Saintek Perikanan: Indonesian Journal Of Fisheries Science And Technology*. 11(2): 84-93.

Ritonga, M., Suryanto, D., dan Yunasfi. 2014. Jenis-jenis bakteri potensial patogen yang menginfeksi ikan mas (*Cyprinus carpio*) di kolam patumbak kabupaten deli serdang. *JURNAL AQUACOASTMARINE*, 5(1): 142-151.

Sandi, A., M. N. Sangadji dan S. Samudin. 2019. Morfologi dan anatomi tanaman kelor (*Moringa oleifera*) pada berbagai ketinggian tempat tumbuh. *Journal Agrotekbisnis*. 7(1): 28-36.

Santi, I. Nur dan A. Kurnia. 2017. Penggunaan bahan aktif ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L*) untuk menghambat pertumbuhan bakteri *vibrio harveyi* penyebab penyakit pada udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) secara in vitro. *JURNAL SAINS dan INOVASI PERIKANAN*. 1(2): 10-15.

Santoso, B. B dan IGM. A. Parwata. 2017. Viabilitas biji dan bibit kelor (*Moringa Oleifera*). *Jurnal sains teknologi dan lingkungan*. 3(2): 1-8.

Sapara, T. U., O, Waworuntu dan Juliatri. 2016. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina L.*) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Jurnal ilmiah farmasi*. 5(4): 10-17.

Sariadji, K., M. Wati., Syamsidar., Novi., Sundari., Khariri dan Sunarno. 2015. Waktu regenerasi bakteri *Vibrio cholera* pada medium APW. *Buletin panellit kesehatan*. 43(1): 35-40.

Savitri, E., Fakhurrazi dan A. Harris. 2018. Uji antibakteri ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jimvet*. 2(3): 373-379.

Setyowati, E., S. B. Prayitno dan Sarjito. 2014. Pengaruh perendaman ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) terhadap kelulushidupan dan histology ikan patin (*Pangasius hypophtalamus*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(4): 174-182.

Sharah, A., R. Karnila dan Desmelati. 2015. Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri asam laktat yang di isolasi dari ikan peda kembung (*Rastrelliger* sp). *Journal OM*. 1-10.

Sriani, K., N. K. Suarni dan P. R. Ujianti. 2014. Penerapan metode bermain puzzle geometri untuk meningkatkan perkembangan kognitif anak dalam mengenal bentuk. *Jurnal pendidikan anak usia dini*. 2(1): 1-11.

Sudarmi, K., I. B. G. Darmayasa dan I. K. Muksin. 2017. Uji fitokimia dan daya hambat ekstrak daun juwet (*Syzygium cumini*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ATCC. *Jurnal simbiosis*. 5(2): 47-51.

Suriaman, E dan S. Khasanah. 2017. Skrining aktivitas antibakteri daun kelor (*Moringa oleifera*), daun bidara laut (*Strychnos ligustrina Blume*), dan amoxylin terhadap bakteri patogen *staphylococcus aureus*. 3(1): 21-25.

Susandi, F., Mulyana, dan Rosmawati. 2017. Peningkatan Imunitas Benih Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy Lac.*) Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* Menggunakan Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*). *Mina Sains*, 3(2): 1–12.

Susanty dan Bachdim. 2016. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap kadar fenolik dari ekstrak tongkol jagung (*Zea mays L.*). *Konversi*. 5(2): 87-93.

Susanty, S. A. Yudistirani dan M. B. Islam. 2019. Metode ekstraksi untuk perolehan kandungan flavonoid tertinggi dari ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera Lam*). 8(2): 31-36.

Umiliana, M., Sarjito dan Desrina. 2016. Pengaruh salinitas terhadap infeksi *Infectious myonecrosis virus* (IMNV) pada udang vaname *Litopenaeus vannamei* (Boone,1931). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 5(1): 73-81.

Utami, W., Sarjito dan Desrina. 2016. Pengaruh salinitas terhadap infeksi vibrio harveyi pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 5 (1): 82-90.

Veronika, M., E. Purwijantiningsih dan S. Pranata. 2017. Efektivitas ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) sebagai *BIO-SANITIZER* tangan daun selada (*Lactuca sativa*). 1-15.

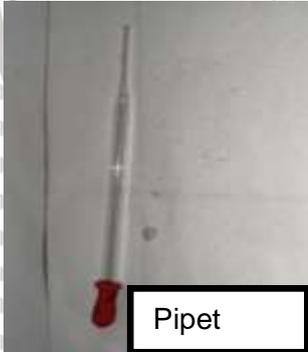
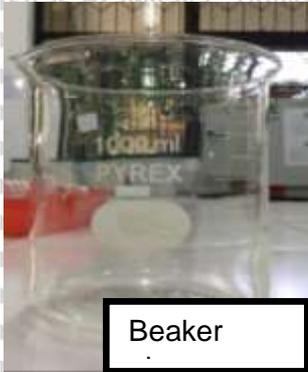
Widowati, I., S. Efiyati dan S. Wahyuningtyas. 2014. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*Moringa Oleifera*) terhadap bakteri pembusuk ikan segar (*Pseudomonas Aeruginosa*). *Pelita*. 1(9): 146-157.

Widyastana, I. W. Y., R. Kawuri dan A. A. G. R. Dalem. 2015. Keberadaan bakteri patogen *Vibrio cholera* pada beberapa hasil perikanan yang

- dijual di pasar tradisional kota Denpasar. *Jurnal metamorfosa*. 2(1): 16-22.
- Wulandari, L. P., B. Santoso dan B. Purwanto. 2017. Kadar Malondialdehid tikus model Sindroma Ovarium Polistik dengan daun kelor (*Moringa oleifera*). *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 19(3): 1-13.
- Xie, J., Bu, L., Jin, S., Wang, X., Zhao, Q., Zhou, S., & Xu, Y. (2020). Outbreak of vibriosis caused by *Vibrio harveyi* and *Vibrio alginolyticus* in farmed seahorse *Hippocampus kuda* in China. *Aquaculture. Journal aquaculture*. 1-11.
- Yunarty, Anton dan A. Kumiaji. 2020. Uji tantang udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan bakteri *vibrio harveyi* yang dipelihara bersama rumput laut (*Gracilaria verrucosa*). *Jurnal salamata*. 2(1): 36-41.
- Yuniastutik, T. 2019. Penentuan konsentrasi pewarna giemsa, waktu dan suhu inkubasi pada aktifitas fagositosis ikan lele (*Clarias sp.*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyi*. *Jurnal Teknologi dan Manajemen Pengelolaan Laboratorium (Temapela)*. 2(1): 52-58.
- Yunita, E., D. G. Permatasari dan D. Lestari. 2020. Aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal ilmiah farmako bahari* 11(2): 189-195.
- Zahro, L dan R. Agustini. 2013. Uji efektivitas antibakteri ekstrak kasar saponin jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *UNESA Journal of Chemistry*. 2(3): 120-129.
- Zhang, X., X. He and B. Austin. 2020. *Vibrio harveyi*: a serious pathogen of fish and invertebrates in mariculture. *Marine Life Science & Technology*. 2:231-245.

# LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto alat penelitian



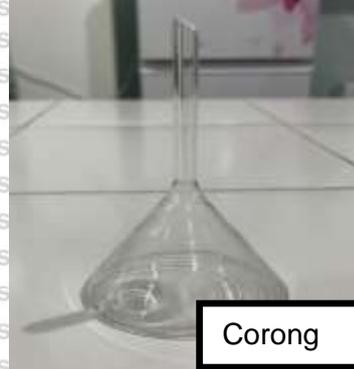
Lampiran 1. Foto alat penelitian (lanjutan)



Tabung



Cawan Petri



Corong



Mikropipet



Vortex mixer



LAF



Kulkas



Autoklaf



Inkubator



Toples



Blender



Bunsen

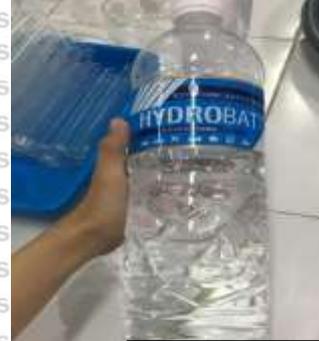
Lampiran 2. Foto bahan penelitian



Plastik Wrap



Alufo



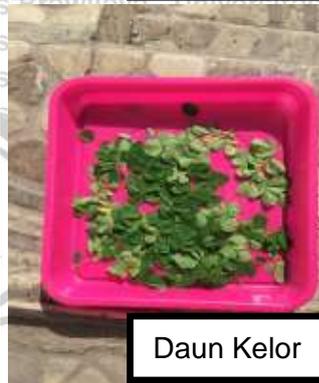
Aquades



Alkohol



TCBS



Daun Kelor



Bakteri *V. harveyi*



Sarung



Kertas



Kertas saring

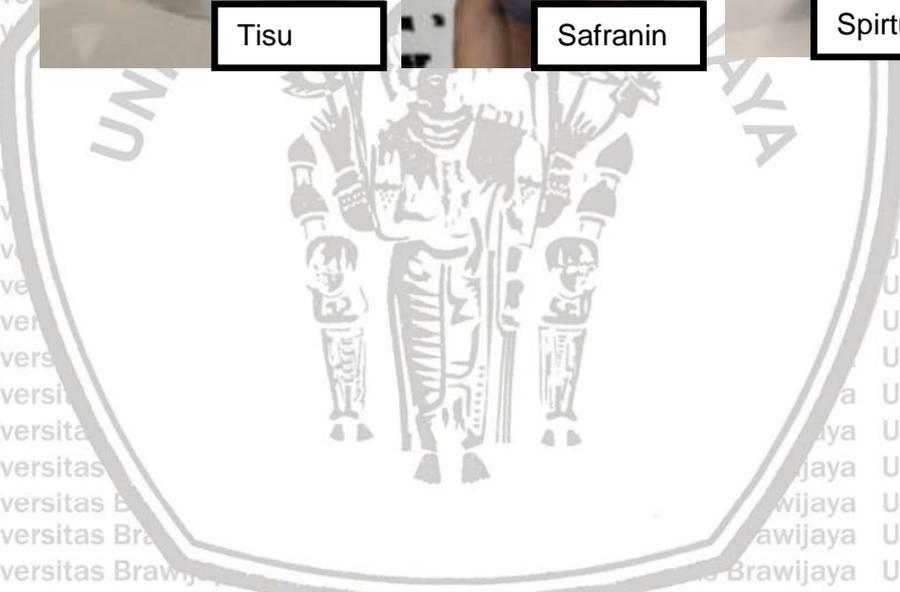
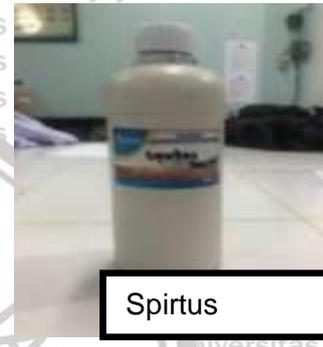
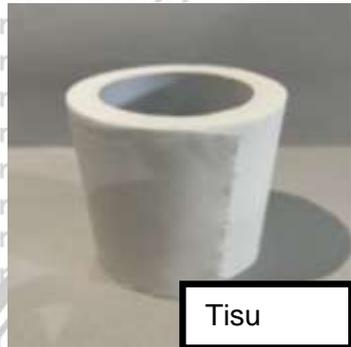
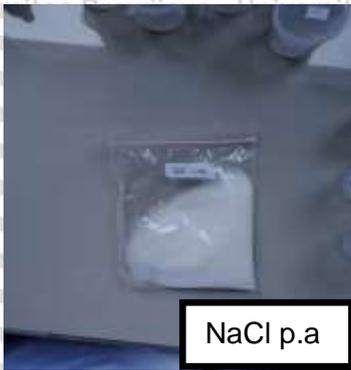


Ethanol 96%



TSB

Lampiran 2. Foto bahan penelitian (lanjutan)



### Lampiran 3. Uji Fitokimia

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

Nomor : 074 / 033 / 102.7-D / 2021  
Sifat : Biasa  
Perihal : **Surat Keterangan Analisa Kualitatif**

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

- Identitas Pemohon**  
Nama : Amalia Firdausyah  
NIM : 175080507111017  
Instansi : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya  
Alamat : Malang
- Identitas Sampel**  
Nama sampel : Kelor  
Nama latin : *Moringa oleifera*  
Bagian sampel : Daun  
Bentuk sampel : Ekstrak  
Tanggal penerimaan : 19 Januari 2021  
Tanggal pemeriksaan : 27 Januari 2021
- Hasil**

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

Nama Sampel	Alkaloid		
	Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Ekstrak Daun Kelor			
Nama Sampel	Flavonoid	Tanin	Saponin
	Ekstrak Daun Kelor		

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

5. Pustaka  
• Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1978. "Materia Medika Indonesia". Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Demiikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 28 Januari 2021  
Kepala UPT Laboratorium Herbal  
Materia Medica  
  
A. HANIK MARRITE, SKM, M.Kes.  
NIP. 1980031990311004

Lampiran 4. Uji Biokimia



HASIL UJI BIOKIMIA

- Hal : Uji biokimia Identifikasi Bakteri
- Asal : Lab. Mikrobiologi
- Alamat : BBPAP 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>
Swarming	—
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 BBPAP Jepara



### Lampiran 5. Foto Kegiatan Penelitian

#### a. Pembuatan ekstrak daun kelor



Daun kelor dikering anginkan



Daun kelor kering dihancurkan dengan blender



Serbuk dari blender di timbang



Maserasi selama 3 x 24 jam (disaring 1x 24 jam)



Pemberian ethanol 96% perbandingan 1:9



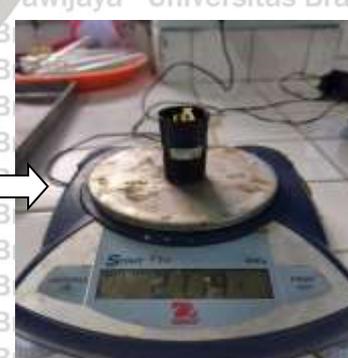
Serbuk daun kelor dimasukan toples kaca



Dilakukan penyaringan dengan kertas saring



Evaporasi menggunakan Rotary vacuum



Pasta ditimbang dan disimpan pada suhu ruang

Lampiran 6. Foto kegiatan penelitian (lanjutan)

b. Pembuatan dosis starter



Ekstrak ditimbang sesuai kebutuhan



Ditambahkan DMSO 10% sesuai yang dibutuhkan



Ditambah Aquades yang sudah steril

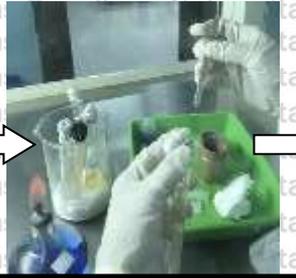


Kemudian di vortex menggunakan vortex mixer hingga homogen

### c. Pewarnaan Bakteri



Jarum ose dipanaskan di atas api bunsen



Bakteri diambil 1 ose menggunakan jarum ose



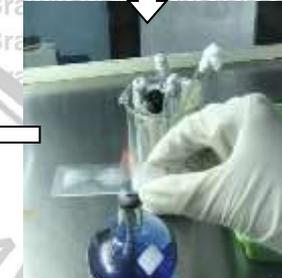
Pembuatan preparat apus pada objek glass ose



Dianginkan selama 2 menit



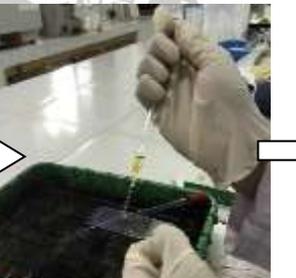
Pemberian larutan ke 1 kristal violet



Preparat difiksasi diatas Bunsen



Dibilas menggunakan akuades



Kemudian diberi larutan lugol



Dikering anginkan selama 2 menit



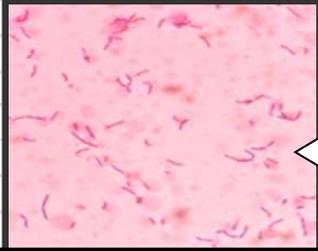
Dibilas menggunakan akuades



Diberi alkohol dan didiamkan selama 10 detik



Dibilas menggunakan akuades



Dibilas menggunakan akuades



Dibilas menggunakan akuades



Dibilas menggunakan akuades



d. Persiapan media



Media TCBS ditimbang



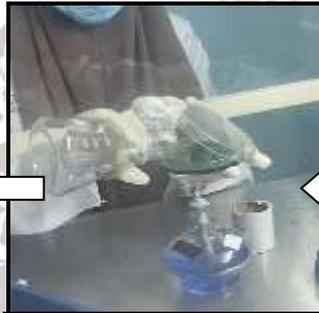
Media diletakan pada Erlenmeyer dan diberi akuades steril



Kemudian media diberi NaCl karena bakteri air laut



Media TCBS didiamkan hingga menjadi agar



Media dituang pada cawan petri dan dibungkus plastik wra

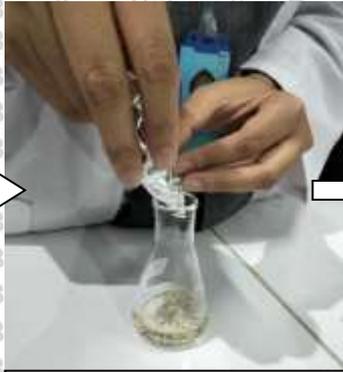


Media dihomogenkan dan dipanaskan menggunakan hotplate

e. Peremajaan bakteri media tsb



TSB ditimbang sebanyak 0,21 gram dan NaCl ditimbang sebanyak 0,14 gram



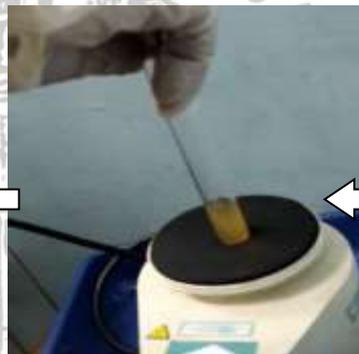
Keduanya dimasukkan dalam Erlenmeyer dan ditambahkan akuades



TSB dipindahkan kedalam tabung reaksi dengan pipet volume



TSB diinkubasi selama 24-48 jam



Bakteri *V. harveyi* diambil satu ose kemudian dimasukkan kedalam media TSB kemudian TSB divortex hingga



TSB disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm



f. Penanaman bakteri dan Uji cakram



Bakteri pada media TSB diambil 1000  $\mu$ l dan dimasukkan media Na-fis



Bakteri diencerkan menggunakan Na-fis kepadatan  $10^{-7}$



Bakteri kemudian diambil 100  $\mu$ l pada media TCBS dan diratakan dengan triangle



Kertas cakram yang sudah direndam dimasukkan kedalam media TCBS berisi bakteri



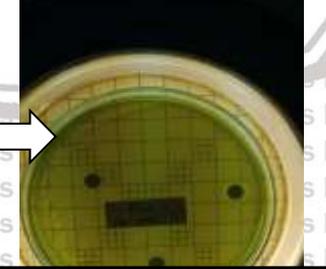
Kemudian masukan kertas cakram pada ekstrak kelor dan diamkan selama 10 menit



Siapkan ekstrak daun kelor yang telah diberikan dosis masing-masing pada botol film

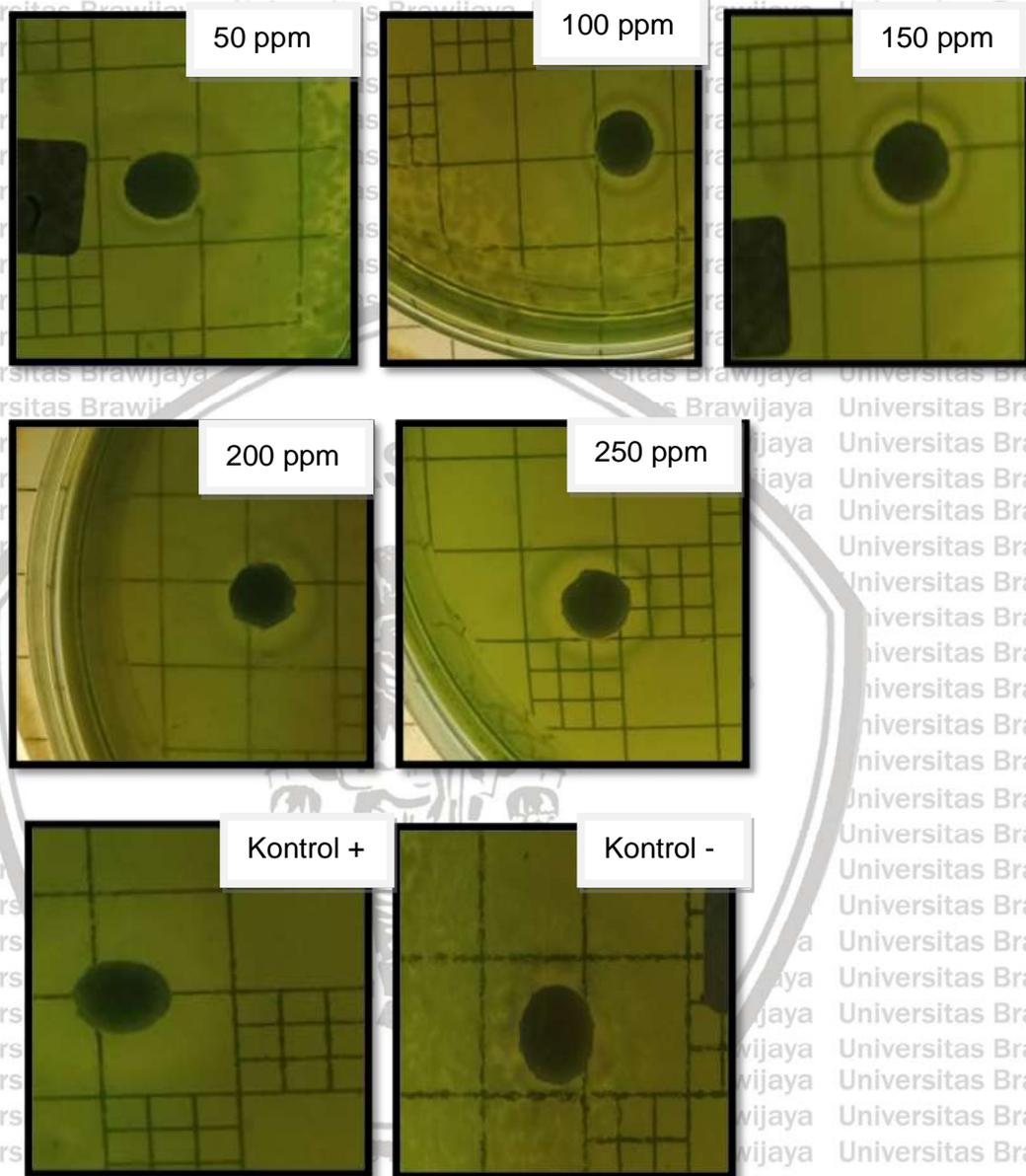


Diinkubasi selama 24 jam untuk mengetahui zona hambat yang dihasilkan



Hasil zona bening diukur menggunakan jangka sorong digital

g. Foto hasil zona hambat (24 jam)

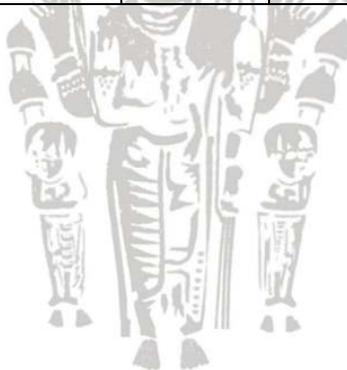


• 24 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV (mm)
	1	2	3		
A (50 ppm)	7.56	6.87	7.61	22.04	7.35 ± 0.41
B (100 ppm)	7.56	7.65	8.13	23.34	7.78 ± 0.31
C (150 ppm)	8.32	8.27	7.84	24.43	8.14 ± 0.26
D (200 ppm)	8.57	8.39	9.06	26.02	8.67 ± 0.35
E (250 ppm)	9.47	10.1	9.13	28.70	9.57 ± 0.49
Total				124.53	

• 48 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV
	1	2	3		
A (50 ppm)	6.17	6.1	6.23	18.50	6.17 ± 0.07
B (100 ppm)	6.22	6.34	6.59	19.15	6.38 ± 0.19
C (150 ppm)	6.8	6.79	7.01	20.60	6.87 ± 0.12
D (200 ppm)	7.13	7.25	7.01	21.39	7.13 ± 0.12
E (250 ppm)	7.57	8.02	7.4	22.99	7.66 ± 0.32



## Lampiran 7. Perhitungan dosis ekstrak daun kelor

Dosis yang digunakan pada penelitian ini adalah 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm. Pelarut yang digunakan pada penelitian ekstrak daun kelor adalah DMSO 10%, dengan perhitungan sebagai berikut :

### a. Dosis 1000 ppm

Penggunaan dosis 1000 ppm adalah sebagai stock stater dosis yang akan digunakan pada penelitian. Perhitungan dosis adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Kebutuhan ekstrak untuk 1000 ppm} &= \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} \\ &= 10 \text{ mg ekstrak} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{DMSO 10\%} &= \frac{10}{100} \times 10 \text{ ml} \\ &= 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Aquades steril} &= 10 \text{ ml} - 1 \text{ ml} \\ &= 9 \text{ ml} \end{aligned}$$

### b. Dosis 50 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 2 \text{ ml} \times 50 \text{ ppm} &= V_2 \times 1000 \text{ ppm} \\ V_2 &= 0,1 \text{ ml ekstrak} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Aquades steril} &= 2 \text{ ml} - 0,1 \text{ ml} \\ &= 1,9 \text{ ml} \end{aligned}$$

### c. Dosis 100 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 2 \text{ ml} \times 100 \text{ ppm} &= V_2 \times 1000 \text{ ppm} \\ V_2 &= 0,2 \text{ ml ekstrak} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Aquades steril} &= 2 \text{ ml} - 0,2 \text{ ml} \\ &= 1,8 \text{ ml} \end{aligned}$$

### d. Dosis 150 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 2 \text{ ml} \times 150 \text{ ppm} &= V_2 \times 1000 \text{ ppm} \\ V_2 &= 0,3 \text{ ml ekstrak} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Aquades steril} &= 2 \text{ ml} - 0,3 \text{ ml} \\ &= 1,7 \text{ ml} \end{aligned}$$

e. Dosis 200 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$2 \text{ ml} \times 200 \text{ ppm} = V_2 \times 1000 \text{ ppm}$$

$$V_2 = 0,4 \text{ ml ekstrak}$$

$$\text{Aquades steril} = 2 \text{ ml} - 0,4 \text{ ml}$$

$$= 1,6 \text{ ml}$$

f. Dosis 250 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$2 \text{ ml} \times 250 \text{ ppm} = V_2 \times 1000 \text{ ppm}$$

$$V_2 = 0,5 \text{ ml ekstrak}$$

$$\text{Aquades steril} = 2 \text{ ml} - 0,5 \text{ ml}$$

$$= 1,5 \text{ ml}$$

g. Dosis Kontrol Positif *Chlorampenichol* 30 ppm

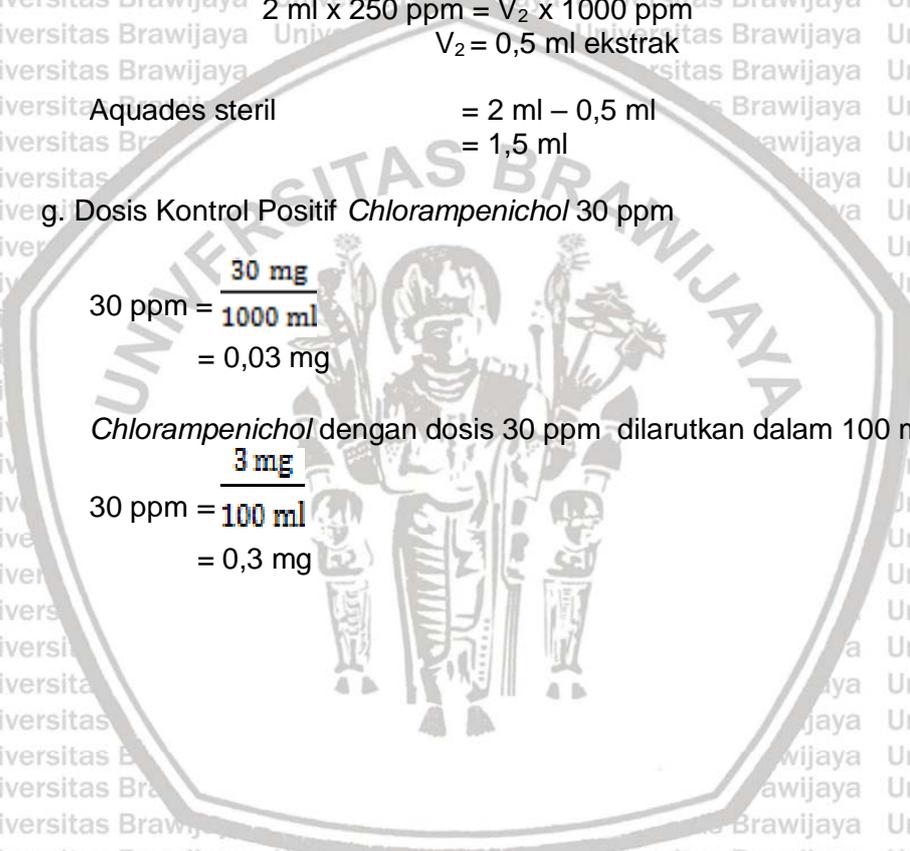
$$30 \text{ ppm} = \frac{30 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 0,03 \text{ mg}$$

*Chlorampenichol* dengan dosis 30 ppm dilarutkan dalam 100 ml

$$30 \text{ ppm} = \frac{3 \text{ mg}}{100 \text{ ml}}$$

$$= 0,3 \text{ mg}$$



Lampiran 8. Analisis data zona hambat

1. Rerata zona hambat

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV (mm)
	1	2	3		
K -	6	6	6	18	6 ± 0.00
A (50 ppm)	7.56	6.87	7.61	22.04	7.35 ± 0.41
B (100 ppm)	7.56	7.65	8.13	23.34	7.78 ± 0.31
C (150 ppm)	8.32	8.27	7.84	24.43	8.14 ± 0.26
D (200 ppm)	8.57	8.39	9.06	26.02	8.67 ± 0.35
E (250 ppm)	9.47	10.1	9.13	28.70	9.57 ± 0.49
Total				142.53	

FK	1128.60
JK TOTAL	23.48
JK PERLAKUAN	22.09
JK ACAK	1.39
t	6
r	3

$$\begin{aligned} \text{Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{G^2}{N} \\ &= \frac{142,53^2}{18} \\ &= 1.128,6 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat (JK Total)} &= \sum x_{ij}^2 - FK \\ &= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + E3^2) - FK \\ &= (6^2 + 6^2 + 6^2 + \dots + 10,10^2) - 1.128,6 \\ &= 23,48 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{a. JK Perlakuan} &= \frac{\sum (\sum x_i)^2}{r} - FK \\ &= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2 + TE^2)}{3} - FK \end{aligned}$$

$$= \frac{18^2 + 22,04^2 + 23,34^2 + 24,43^2 + 26,02^2}{3} - 1.128,6$$

$$= 22,09$$

b. JK Acak = JK Total – JK Perlakuan

$$= 23,48 - 22,09 = 1,39$$

**Data Perhitungan Analisa Sidik Ragam**

a. Db Total = (n x r) – 1

$$= (6 \times 3) - 1$$

$$= 17$$

b. Db Perlakuan = n – 1

$$= 6 - 1$$

$$= 5$$

c. Db Galat = Db Total – Db Perlakuan

$$= 17 - 5$$

$$= 12$$

**1. Tabel Analisa Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F. Hit	F 5 %
Perlakuan	5	22.09	4.42	38.0*	3.11
Acak	12	1.39	0.12		
Total	17				

Keterangan:

\*\* : Berbeda Sangat Nyata

Pada hasil analisa sidik ragam menunjukkan hasil F hitung (38,0) lebih besar daripada nilai F Tabel 5% (3,11). Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan. Sehingga kesimpulan yang didapatkan bahwa H<sub>0</sub> ditolak sedangkan H<sub>1</sub> diterima yang berarti perlakuan memberikan pengaruh sangat nyata. Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan.

2. Data Beda Nyata Terkecil

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{\text{ulangan } (r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,12}{3}} = 0,28$$

$$BNT \ 5\% = t_{(0,05;dbG)} \times SED = 2,228 \times 0,28 = 0,61$$

3. Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Perlakuan	Rerata	K-	A	B	C	D	E	Notasi
		6	7.35	7.78	8.14	8.67	9.57	
K-	6	—						a
A	7.35	1.35*						b
B	7.78	1.78*	0.43					b
C	8.14	2.14*	0.80*	0.36				bc
D	8.67	2.67*	1.33*	0.89*	0.53			c
E	9.57	3.57*	2.22*	1.79*	1.42*	0.89*		d

Keterangan:

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

4. Tabel Uji Polinomial Orthogonal

Uji Polinomial					
Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K-	18	-5	5	-5	1
A	22.04	-3	-1	7	-3
B	23.34	-1	-4	4	2
C	24.43	1	-4	-4	2
D	26.02	3	-1	-7	-3
E	28.7	5	5	5	1
Q= Σ(ci*Ti)		66.53	-5.64	21.28	-1.94
Hasil Kuadrat		70	84	180	28
Kr= (Σci^2)*r		210	252	540	84
JK=Q^2/Kr		21.08	0.13	0.84	0.0448
JK REGRESI	22.09				

5. Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%
Perlakuan	5	22.09			3.11
Linier	1	21.08	21.08	181.43	**
Kuadratik	1	0.13	0.13	1.09	**
Kubik	1	0.84	0.84	7.22	**
Kuartik	1	0.0448	0.0448	0.386	ns
Acak	12	1.39	0.12	1	ns
Total	17	45.57			

Keterangan: \*\*) : Berbeda sangat nyata  
 ns) : Tidak berbeda nyata

R Linier = JK regresi Linier / (JK Linier+JK acak) = 0,79

R Kuadrat = JK regresi Kuadrat / (JK Kuadrat+JK acak) = 0,084

R Kubik = JK regresi Kubik / (JK Kubik+JK acak) = 0,37

Hasil sidik ragam menunjukkan perbedaan antara regresi linear dan kuadratik yang berbedasangat nyata. Dari hasil terbut dapat diartikan bahwa regresi yang sesuai untuk kurva ini adalah regresi linier. Hal ini dikarenakan nilai F hitung pada regresi linear lebih besar jika dibandingkan dengan F hitung pada regresi kuadratik. Berdasarkan hal tersebut maka arah laju kurva yang digunakan adalah kurva linier.

X	Y	XY	X^2
0	6	0	0
0	6	0	0
0	6	0	0
50	7.56	378	2500
50	6.87	343.5	2500
50	7.61	380.5	2500
100	7.56	756	10000
100	7.65	765	10000
100	8.13	813	10000
150	8.32	1248	22500
150	8.27	1240.5	22500
150	7.84	1176	22500
200	8.57	1714	40000

200	8.39	1678	40000
200	9.06	1812	40000
250	9.47	2367.5	62500
250	10.1	2525	62500
250	9.13	2282.5	62500
$\Sigma X=2250$	$\Sigma Y=142.53$	$\Sigma XY= 19479.5$	$\Sigma X^2 =412500$
Rerata =125	7.92		

