



**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK KASAR DAUN KEJI BELING  
(*Strobilanthes crispus*) TERHADAP BAKTERI *Vibrio*  
*parahaemolyticus* SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh:

**RADEN AJENG SAFARINA NUSANTARI L.K.A.  
NIM. 185080501111014**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
DEPARTEMEN MANAJEMEN SUMBER DAYA  
PERIKANAN DAN KELAUTAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG**

**2022**



**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK KASAR DAUN KEJI BELING  
(*Strobilanthes crispus*) TERHADAP BAKTERI *Vibrio*  
*parahaemolyticus* SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

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

Oleh:

**RADEN AJENG SAFARINA NUSANTARI L.K.A.  
NIM. 185080501111014**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
DEPARTEMEN MANAJEMEN SUMBER DAYA  
PERIKANAN DAN KELAUTAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2022**

SKRIPSI

UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK KASAR DAUN KEJI BELING (*Strobilanthes crispus*) TERHADAP BAKTERI *Vibrio parahaemolyticus* SECARA IN VITRO

Oleh:

RADEN AJENG SAFARINA NUSANTARI L.K.A.  
NIM. 185080501111014

Telah dipertahankan didepan penguji  
pada tanggal 11 April 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Pembimbing 1



(Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, M.S.)  
NIP. 19550213 198403 1 001  
Tanggal: 06 Juni 2022

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing 2



(Ir. Heny Suprastyani, M.S.)  
NIP. 19620904 198701 2 001  
Tanggal: 12 Mei 2022

Mengetahui:  
Ketua Departemen MSPK



(Rahmi Nurdiani, S.Pi., M.App.Sc., Ph.D)

NIP. 19761116 200112 1 001  
Tanggal: 17 / 06 / 2022

## PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

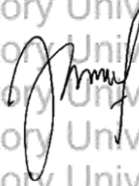
Nama : Raden Ajeng Safarina Nusantari L.K.A.

NIM : 185080501111014

Judul : Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* Secara *In Vitro*

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa penulisan skripsi ini berdasarkan hasil kegiatan, pemikiran dan pemaparan asli dari saya sendiri baik untuk naskah, tabel, gambar maupun ilustrasi lainnya yang tercantum sebagai bagian dari laporan skripsi ini. Jika terdapat karya/pendapat/informasi dari orang lain, maka saya telah mencantumkan sumber yang jelas dalam daftar pustaka. Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Brawijaya, Malang.

Malang, 10 Maret 2022



Raden Ajeng Safarina Nusantari L.K.A.  
NIM. 185080501111014



## IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Keji Beling  
(*Strobilanthes crispus*) Terhadap Bakteri *Vibrio*  
*parahaemolyticus* Secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Raden Ajeng Safarina Nusantari L.K.A.

NIM : 185080501111014

Program Studi : Budidaya Perairan

### PENGUJI PEMBIMBING :

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

Pembimbing 2 : Ir. Heny Suprastyani, M.S.

### PENGUJI BUKAN PEMBIMBING :

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc.

Dosen Penguji 2 : Febriyani Eka Supriatin

Tanggal Ujian : Senin, 11 April 2022



## UCAPAN TERIMA KASIH

Selama kegiatan dan penulisan Laporan Skripsi ini penulis mendapat bantuan dari beberapa pihak. Maka dari itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT atas karunia, kesehatan dan kelancaran yang diberikan selama ini sehingga kegiatan skripsi terselesaikan dengan baik.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS. dan Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS. selaku Dosen Pembimbing yang memberikan ilmu, wawasan serta bimbingan selama kegiatan skripsi.
3. Kedua orang tua yang selalu memberikan semangat dan motivasi dalam pembuatan laporan skripsi.
4. Bapak Wahyu Endra Kusuma, D.Sc, Phd, selaku Ketua Prodi BP.
5. Teman-teman tim skripsi yang saling membantu dan memberikan semangat saat pengerjaan laporan skripsi.

Malang, April 2022

Penulis

## RINGKASAN

**RADEN AJENG SAFARINA NUSANTARI.** Skripsi tentang Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* Secara *In Vitro* (di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS** dan **Ir. Heny Suprastyani, MS**)

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan spesies budidaya dan memiliki nilai ekonomis yang tinggi di dunia. Budidaya udang vaname berkembang pesat menggantikan budidaya udang windu. Penyakit ikan merupakan suatu perubahan kondisi fisik, morfologi serta fungsi dari keadaan normal menjadi tidak normal. *Vibrio parahaemolyticus* merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit di lingkungan budidaya udang. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp. disebut dengan penyakit vibriosis. Penyakit vibriosis menyebabkan kematian masal pada budidaya udang mencapai 80 – 85% dari total populasi. Salah satu tanaman yang berpotensi menjadi tanaman obat yaitu daun keji beling (*Strobilanthes crispus*). Daun keji beling (*S. crispus*) telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk pengobatan tradisional. Kandungan senyawa kimia dalam daun keji beling (*S. crispus*) memiliki banyak manfaat dan kandungan senyawa fitokimia antara lain kalium, natrium, kalsium, asam silikat, asam salisilat, kristal kalsium karbonat, alkaloid, saponin, flavonoid, polifenoid dan tanin.

Penelitian ini dilaksanakan mulai tanggal 24 Januari 2022 – 19 Februari 2022 Di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH), Universitas Brawijaya, Malang. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat ekstrak kasar daun keji beling (*S. crispus*) terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* secara *in vitro*.

Metode yang digunakan adalah eksperimental. Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan 5 dosis dengan 3 kali ulangan. Dosis perlakuan yang digunakan yaitu A (25 ppm), B (50 ppm), C (75 ppm), D (100 ppm), dan E (125 ppm). Hasil penelitian menunjukkan dosis ekstrak kasar yang memberikan hasil tertinggi pada diameter zona hambat terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* adalah perlakuan E dengan dosis 125 ppm diperoleh rerata sebesar  $8,93 \pm 0,78$  mm. Dosis ekstrak yang memiliki hasil terendah yaitu pada perlakuan A dengan dosis 25 ppm diperoleh rerata  $7,53 \pm 0,50$  mm. Hubungan antara dosis perlakuan dengan diameter zona hambat menunjukkan pola linier dengan persamaan  $y = 0,0029x + 8,1695$  dan koefisien regresi sebesar 0,586.

Kesimpulan hasil penelitian ini bahwa ekstrak kasar daun keji beling memiliki daya hambat terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* secara *in vitro* dan memiliki sifat bakterisidal atau mampu membunuh bakteri. Diameter zona hambat yang didapatkan berkisar 7,53 – 8,93 mm.

## SUMMARY

**RADEN AJENG SAFARINA NUSANTARI.** Thesis on Inhibition Test of Crude Extract of Keji Beling Leaves (*Strobilanthes crispus*) Against *Vibrio parahaemolyticus* Bacteria In Vitro (under the guidance of **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS** and **Ir. Heny Suprastyani, MS**)

Vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*) is a cultivated species and has high economic value in the world. Vannamei shrimp cultivation is growing rapidly in tiger shrimp cultivation. Disease is a change in physical condition, morphology and function from normal to abnormal conditions. *Vibrio parahaemolyticus* is one of the bacteria that causes disease in shrimp culture. Diseases caused by the bacteria *Vibrio* sp. called vibriosis. Vibriosis disease causes mass mortality in shrimp farming reaching 80-85% of the total population. One of the plants that is used as a medicinal plant is the keji beling leaf (*Strobilanthes crispus*). The leaves of the keji beling (*S. crispus*) have been widely used by the community for traditional medicine. The content of chemical compounds in the leaves of keji beling (*S. crispus*) has many benefits and contains phytochemical compounds including potassium, sodium, calcium, silicic acid, salicylic acid, calcium carbonate crystals, alkaloids, saponins, flavonoids, polylenoid and tannins.

This research was conducted from January 24, 2022 – February 19, 2022 at the Central Laboratory of Life Sciences (LSIH), Universitas Brawijaya, Malang. The purpose of this study was to determine the inhibition of crude extract of the leaves of Keji beling (*S. crispus*) against *V. parahaemolyticus* bacteria in vitro.

The method used is experimental method. The research used was a Completely Randomized Design (CRD) using 5 doses with 3 replications. The treatment doses used were A (25 ppm), B (50 ppm), C (75 ppm), D (100 ppm), and E (125 ppm). The results showed that the dose of crude extract that gave the highest yield on the diameter of the inhibition zone against *V. parahaemolyticus* was treatment E with a dose of 125 ppm, the average was  $8.93 \pm 0.78$  mm. The extract dose that had the lowest yield was in treatment A with a dose of 25 ppm, the average was  $7.53 \pm 0.50$  mm. The relationship between the dose of *S. crispus* leaves extract and the diameter of the inhibition zone was resulted in a linear pattern with the equation  $y = 0,0029x + 8,1695$  and coefficient regression was 0,586.

The conclusion of this study was that the crude extract of the leaves of Keji beling had inhibitory power against *V. parahaemolyticus* bacteria in vitro and had bactericidal properties or was able to kill bacteria. The diameter of the inhibition zone obtained ranges from 7.53 to 8.93 mm.





## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan laporan skripsi dengan judul "Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* Secara *In Vitro*" sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana kelautan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

Laporan skripsi ini diharapkan dapat menambah wawasan dan informasi serta dapat digunakan sebagai acuan penelitian lainnya mengenai pengaruh penggunaan ekstrak kasar daun keji beling terhadap *Vibrio parahaemolyticus*.

Penulis menyadari banyak kekurangan dalam penulisan laporan ini. Oleh karena itu, saya berharap kepada pembaca untuk dapat memberikan kritik dan saran yang membangun untuk menjadikan usulan ini lebih baik.

Malang, 28 Desember 2021

Raden Ajeng Safarina Nusantari L.K.A.  
NIM: 185080501111014



**DAFTAR ISI**

Halaman

**PERNYATAAN ORISINALITAS..... iii**

**IDENTITAS TIM PENGUJI..... iv**

**UCAPAN TERIMA KASIH..... v**

**RINGKASAN..... vi**

**SUMMARY..... vii**

**KATA PENGANTAR..... viii**

**DAFTAR ISI..... ix**

**DAFTAR TABEL..... xi**

**DAFTAR GAMBAR..... xii**

**DAFTAR LAMPIRAN..... xiii**

**BAB I. PENDAHULUAN ..... 1**

1.1 Latar Belakang..... 1

1.2 Rumusan Masalah..... 4

1.3 Tujuan..... 4

1.4 Hipotesis..... 4

1.5 Manfaat..... 4

**BAB II. TINJAUAN PUSTAKA..... 6**

2.1 Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*)..... 6

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi..... 6

2.1.2 Habitat dan Penyebaran..... 7

2.1.3 Kandungan Bahan Aktif..... 7

2.2 Ekstraksi..... 8

2.3 Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*..... 9

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi..... 9

2.3.2 Habitat dan Penyebaran..... 9

2.3.3 Infeksi Bakteri..... 10

2.4 Pertumbuhan Bakteri..... 11

2.5 Uji Daya Hambat Bakteri Secara *In Vitro*..... 12

**BAB III. METODE PENELITIAN..... 15**

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian..... 15





DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia ..... 8

Tabel 2. Alat Penelitian ..... 15

Tabel 3. Bahan Penelitian ..... 16

Tabel 4. Perlakuan dalam Penelitian ..... 20

Tabel 5. Klasifikasi Zona Hambat ..... 32

Tabel 6. Hasil Diameter Daya Hambat ..... 33

Tabel 7. Hasil Analisa Sidik Ragam ..... 33

Tabel 8. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) ..... 34



# DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Tamanan Keji Beling : (a) Pucuk, (b) Pucuk dengan bunga, (c) Bunga, (d) Daun .....7

Gambar 2. Morfologi *V. parahaemolyticus* : (a) Koloni Bakteri dan Pewarnaan Gram, (b) *Scanning Electron Microscope* ..... 9

Gambar 3. Kurva Pertumbuhan Bakteri ..... 12

Gambar 4. Denah Penelitian ..... 21

Gambar 5. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri *V. parahaemolyticus* ..... 30

Gambar 6. Diameter Daya Hambat ..... 32

Gambar 7. Grafik Polynomial Orthogonal ..... 35



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Alat Penelitian ..... 43

Lampiran 2. Bahan Peneltian ..... 47

Lampiran 3. Hasil Uji Fitokimia Daun Keji Beling (*S. crispus*) ..... 49

Lampiran 4. Hasil Uji Biokimia Bakteri *V. parahaemolyticus* ..... 51

Lampiran 5. Kegiatan Penelitian ..... 52

Lampiran 6. Perhitungan Dosis Ekstrak ..... 61

Lampiran 7. Foto Hasil Uji Cakram ..... 63

Lampiran 8. Analisis Data ..... 65



## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan spesies budidaya dan memiliki nilai ekonomis yang tinggi di dunia. Budidaya udang vaname berkembang pesat menggantikan budidaya udang windu. Pembudidaya beralih dari budidaya udang windu menjadi udang vaname karena udang windu memiliki performa dan laju pertumbuhan yang rendah serta rentan terhadap penyakit. Penyakit merupakan salah satu faktor penghambat produksi budidaya. Penyakit menyebabkan banyak kerugian pada produksi budidaya, serta keterlambatan diagnosa penyakit dapat menyebabkan penyebaran penyakit yang parah sehingga terjadinya gagal panen (Mas'um dan Wahidin, 2020).

Penyakit ikan merupakan suatu perubahan kondisi fisik, morfologi serta fungsi dari keadaan normal menjadi tidak normal. Penyakit disebabkan oleh dua faktor yaitu faktor internal dan eksternal. Air merupakan media hidup ikan juga dapat menjadi perantara penyebaran penyakit pada ikan (Wirawan, Suryani dan Arya, 2018). Penyakit dibedakan menjadi dua yaitu penyakit infeksi dan penyakit non infeksi. Penyakit non infeksi diakibatkan oleh masalah lingkungan, defisiensi nutrisi, atau anomali genetik. Penyakit non infeksi umumnya tidak dapat disembuhkan melalui obat-obatan. Penyakit infeksi diakibatkan oleh parasit, protozoa, bakteri, virus, atau jamur yang didukung dengan kondisi lingkungan yang buruk. Ikan rentan terhadap beberapa infeksi bakteri, terutama saat dipelihara dalam situasi kepadatan ekstrim. Infeksi bakteri dianggap sebagai penyebab mendasar kematian dalam budidaya. Wabah penyakit meningkatkan angka kematian dan mengurangi kinerja produk sehingga menyebabkan kerugian



ekonomi pada budidaya ikan (Kundi, Anees, Abbas, Kundi, Khalil, Ambreen, Khan dan Naqvi, 2021).

*V. parahaemolyticus* merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit di lingkungan budidaya udang. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *V. parahaemolyticus* disebut dengan penyakit vibriosis. Penyakit vibriosis menyebabkan kematian masal pada budidaya udang mencapai 80 – 85% dari total populasi. *V. parahaemolyticus* termasuk kedalam bakteri gram negatif, memiliki tubuh berbentuk batang, bersifat fakultatif anaerob, tidak memiliki spora, pleomorfik, serta bersifat motil dengan *single polar flagellum*. *V. parahaemolyticus* memiliki satu karakter yang berbeda dari bakteri vibrio yang lainnya yaitu tidak memfermentasikan sukrosa (Evan, Indrawati dan Pasaribu, 2021).

Upaya pencegahan dan pengobatan yang umum dilakukan terhadap serangan bakteri adalah penggunaan antibiotik. Antibiotik bekerja dengan cara menghambat sintesis penting dalam sel bakteri. Kendala dalam penggunaan antibiotik adalah sisa antibiotik akan terakumulasi di air maupun tanah. Limbah antibiotik yang tidak dikelola dengan baik akan mengakibatkan pencemaran lingkungan di sekitar lingkungan budidaya (Yasin, 2021). Kendala penggunaan antibiotik terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* adalah bakteri ini biasanya rentan terhadap sebagian besar antibiotik. Penyalahgunaan antibiotik dengan dosis yang tidak tepat untuk mengendalikan infeksi pada budidaya udang, mengakibatkan *V. parahaemolyticus* menunjukkan resistensi ganda. Resistensi antibiotik dalam berbagai agen infeksi merupakan ancaman kesehatan masyarakat yang berkembang menjadi perhatian luas ke berbagai negara dan sektor (Mok, Cho, Park, Jo, Ha, Kim dan Kim, 2021). Penggunaan antibiotik jangka panjang mengakibatkan residu dan resistensi terhadap bakteri sehingga alternatif pencegahan dan pengobatan yang dapat dilakukan selain penggunaan antibiotik adalah dengan menggunakan bahan-bahan alami yang berasal dari tumbuhan.





Tumbuhan yang digunakan mengandung berbagai macam senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri (Fachiroh, 2021).

Salah satu tanaman yang berpotensi menjadi tanaman obat yaitu daun keji beling (*S. crispus*). Daun keji beling (*S. crispus*) telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk pengobatan tradisional. Kandungan senyawa kimia dalam daun keji beling (*S. crispus*) memiliki banyak manfaat dan kandungan senyawa fitokimia antara lain kalium, natrium, kalsium, asam silikat, asam salisilat, kristal kalsium karbonat, alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol dan tanin (Isrianto, Kristianto dan Wilujeng, 2021).

Penggunaan ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) pada penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) memiliki daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Daya hambat yang dihasilkan oleh ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) terhadap bakteri *S. aureus* sebesar 0 – 5,75 mm dan bakteri *E. coli* sebesar 0 – 5,25 mm pada dosis 0 – 100% (Adibi, Nordan, Ningsih, Kurnia, Evando dan Rohiat, 2017). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) memiliki kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM) terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Fusobacterium* secara berturut – turut sebesar 0.1540 dan 0.4072 pada dosis 100%. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan pada bakteri (Wantenia dan Susanto, 2020).

Berdasarkan hal yang telah dijabarkan, penelitian ini digunakan untuk menguji daya hambat penggunaan daun keji beling sebagai antibakteri alami terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* dan membantu pencegahan penyakit di dalam lingkungan budidaya. Antibakteri alami ini merupakan upaya dalam menanggulangi akibat penggunaan antibiotik dalam jangka panjang.



## 1.2 Rumusan Masalah

Pengobatan penyakit bakterial umumnya dilakukan dengan menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik dalam jangka panjang dapat menimbulkan berbagai masalah yaitu pencemaran lingkungan dan resistensi bakteri sehingga dapat membahayakan manusia dan lingkungan. Oleh karena itu, solusi mengatasi hal tersebut adalah pengobatan alternatif menggunakan bahan alami yang relatif murah dan ramah lingkungan. Salah satu bahan yang dapat digunakan adalah daun keji beling. Berdasarkan uraian diatas maka dapat dirumuskan masalah apakah pemberian ekstrak kasar daun keji beling (*S. crispus*) memiliki daya hambat terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* secara *in vitro*?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat ekstrak kasar daun keji beling (*S. crispus*) terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* secara *in vitro*.

## 1.4 Hipotesis

Adapun hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

$H_0$  : Ekstrak kasar daun keji beling (*S. crispus*) dengan dosis berbeda tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* secara *in vitro*

$H_1$  : Ekstrak kasar daun keji beling (*S. crispus*) dengan dosis berbeda memiliki daya hambat terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* secara *in vitro*

## 1.5 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai sensitivitas ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) terhadap bakteri *V.*



## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Daun Keji Beling (*S. crispus*)

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi daun keji beling (*S. crispus*) menurut Wibowo, Ismayadi dan Wati (2020), adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

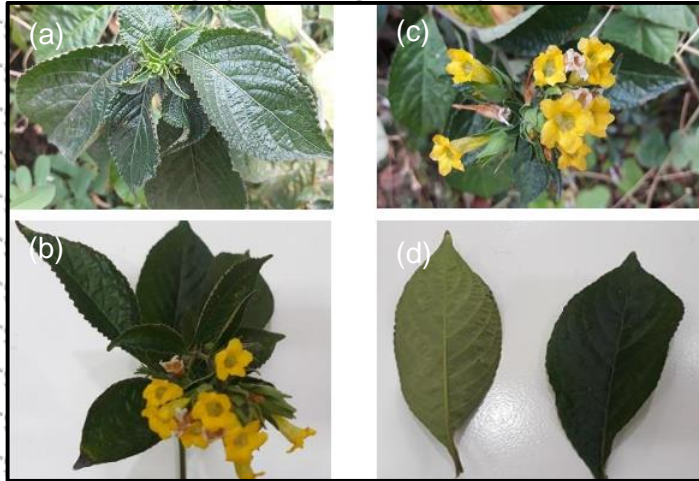
Ordo : Lamiales

Famili : Acanthaceae

Genus : *Strobilanthes*

Spesies : *Strobilanthes crispus* Blume

Daun keji beling merupakan daun tunggal dengan letak berhadapan dengan daun lainnya, berbentuk lonjong berwarna hijau. Warna permukaan daun bagian atas lebih gelap dibandingkan bagian bawah, memiliki tekstur daun yang kasar dan memiliki trikoma. Daun keji beling memiliki tepi yang beringgil dengan ujung hingga pangkalnya meruncing. Daun keji beling dapat tumbuh dengan panjang 9-18 cm dan lebar 3-8 cm. Tangkai daun berwarna ungu dan ukuran tangkai daun relatif pendek, pertulangan menyirip, dan berwarna hijau. Tanaman keji beling memiliki sistem perakaran tunggang. Batang keji beling beruas-ruas berbentuk bulat, berbulu kasar, percabangan monopodial serta berwarna hijau. Bunga keji beling berbentuk majemuk disertai kelopak tambahan. Mahkota bunga berbentuk terompet dengan warna kuning (Silalahi, 2020). Tanaman keji beling disajikan pada Gambar 1.



Sumber : Silalahi, 2020

**Gambar 1.** Tanaman Keji Beling : (a) Pucuk, (b) Pucuk dengan bunga, (c) Bunga, (d) Daun

### 2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Tanaman keji beling merupakan tanaman yang umum ditanam masyarakat sebagai tanaman pagar. Keji beling hidup disebagian besar wilayah Indonesia.

Tanaman keji beling mampu tumbuh dengan baik diwilayah yang memiliki tanah yang subur, agak terlindungi dan tempat terbuka. Tanaman ini mampu tumbuh pada ketinggian tempat 1-100 mpdl, curah hujan 2.500-4.000 mm/tahun, suhu udara 20-25°C, kelembaban dan penyinaran sedang, serta pH 5,5-7 (Ulung, 2014).

### 2.1.3 Kandungan Bahan Aktif

Kandungan bahan aktif keji beling (*S. crispus*) adalah 51% kalium, 24% kalsium, 24% natrium, 1% ferum, 1% fosforus, asam salisilat, asam silikat, dan kristal kalsium karbonat. Daun keji beling memiliki beberapa kandungan vitamin yaitu vitamin C, B1 dan B2. Keji beling memiliki banyak senyawa aktif lainnya seperti katekin dan tanin (Herliana, 2013). Hasil uji fitokimia menurut Sulastri, Lestari dan Simanjuntak (2021), daun keji beling mengandung senyawa alkaloid,



flavonoid, saponin, tanin, terpenoid dan tanin. Hal ini dibuktikan dengan adanya perubahan pada warna pada pengujian fitokimia (Tabel 1).

**Tabel 1.** Hasil Uji Fitokimia

No	Pengujian	Perubahan Warna	Hasil
1	Alkaloid		
	a. Wagner	Endapan coklat kemerahan	+
	b. Mayer	Endapan putih/kuning	+
	c. Dragendorff	Endapan jingga coklat	+
2	Flavonoid	Endapan merah kuning, jingga	+
3	Saponin	Busa 1 – 10 cm	+
4	Tanin	Hijau, hitam, merah ungu	+
5	Terpenoid dan Steroid	Cincin kecoklatan	+

Sumber : Sulastrri, Lestari dan Simanjuntak (2021)

## 2.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses memisahkan bahan padat maupun cair yang diinginkan dengan bantuan suatu larutan. Pelarut yang digunakan pada ekstraksi merupakan pelarut yang mampu mengekstraksi substansi tertentu tanpa melarutkan material lainnya. Ekstraksi menggunakan pelarut dilakukan dengan didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lainnya dalam campuran sehingga ekstraksi yang didapatkan sesuai (Tuhuloula, Budiarti dan Fitriana, 2013).

Metode ekstraksi yang dapat dilakukan antara lain maserasi, perkolasi, sokletasi, rebusan, dan ekstraksi ultrasonik. Metode maserasi dilakukan dengan meserasi serbuk dengan etanol 96% pada suhu kamar selama beberapa hari dan disaring. Metode perkolasi dilakukan dengan serbuk dilapisi dengan etanol 96% pada suhu kamar. Metode sokletasi dilakukan dengan serbuk diekstraksi dengan etanol 96% menggunakan alat soxhlet (60-80°C) sampai ekstrak terakhir tidak berwarna. Metode ekstraksi ultrasonik dilakukan dengan serbuk diekstraksi secara terpisah melalui sonikasi dengan etanol 96% dan air suling selama beberapa menit dan kemudian disaring (Susanty, Yudistriani dan Islam, 2019).



## 2.3 Bakteri *V. parahaemolyticus*

### 2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi bakteri *V. parahaemolyticus* menurut Vasanthakumari (2016), adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria

Kelas : Gammaproteobacteria

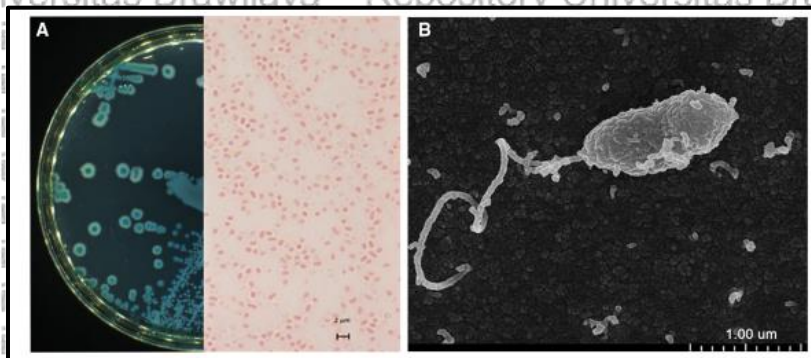
Ordo : Vibrionales

Family : Vibrionaceae

Genus : *Vibrio*

Spesies : *Vibrio parahaemolyticus*

Bakteri *V. parahaemolyticus* merupakan bakteri gram negatif, tidak membentuk spora, bersifat fakultatif anaerob, berbentuk batang, memiliki flagela polar dan kemoorganotrof. Bakteri ini bersifat holofilik obligat serta tidak memfermentasikan sukrosa dan laktosa (Dewanti dan Hariyadi, 2021). Bakteri ini bersifat motil dan membentuk kapsul. Koloni pada media TCBS berwarna hijau dan keruh (Mustapha, Mustapha dan Nozha, 2013). Morfologi *V. parahaemolyticus* dapat disajikan pada Gambar 2.



Sumber : Gao, Yang, Zhao, Li, Wang, Zhang, Xue, Cao, Zhou, Yang, Shen, Yu, Wang, Li, Niu dan Qiu (2022)

**Gambar 2.** Morfologi *V. parahaemolyticus* : (a) Koloni Bakteri dan Pewarnaan Gram, (b) *Scanning Electron Microscope*



### 2.3.2 Habitat dan Penyebaran

*V. parahaemolyticus* merupakan bakteri halofilik yang melimpah di lingkungan laut dan muara. Kelimpahan *V. parahaemolyticus* tertinggi terdapat di lingkungan sedimen dan bentik. Pertumbuhan *V. parahaemolyticus* memiliki kebutuhan garam yang mutlak untuk kelangsungan hidupnya dan mampu tumbuh pada NaCl 1% sampai 9%. *V. parahaemolyticus* hidup di lingkungan yang sangat bervariasi. Bakteri ini mampu hidup pada suhu berkisar 5 – 43°C dan salinitas 1–35 ppm (Almejhin, Aljeldan dan Elhadi, 2021).

### 2.3.3 Infeksi Bakteri

*V. parahaemolyticus* merupakan penyebab *Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease* (AHPND) atau *Early Mortality Syndrome* (EMS). Spesies udang yang rentan terhadap infeksi *V. parahaemolyticus* adalah *Litopenaeus vannamei*, *Penaeus monodon*, dan *P. chinensis*. Penyebaran *V. parahaemolyticus* 6 jam pasca infeksi pada udang yang terinfeksi dapat ditemukan pada insang, hepatopankreas, usus, otot, dan hemolimfa. Gejala klinis udang yang terinfeksi menunjukkan udang lemas, cangkang lunak, otot keputihan, perut dan usus kosong, pertumbuhan lambat, dan hepatopankreas atrofi pucat yang sering memiliki garis-garis hitam (Praja dan Safnurbaiti, 2018).

Udang yang terserang bakteri *V. parahaemolyticus* menunjukkan gejala klinis yaitu tubuh pucat, kaki memerah, ekor merah kecoklatan lalu geripis, karapas lunak, usus kosong, serta timbulnya bercak hitam pada tubuh udang dan nekrosis. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri vibrio disebut sebagai vibriosis. Vibriosis dapat menyebabkan kematian udang hingga 100% dalam waktu 1-2 hari (Jannah, Junaidi, Setyowati dan Azhar, 2018). Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa udang yang diinfeksi dengan dosis  $10^6$  CFU/ml mengalami tingkat kematian





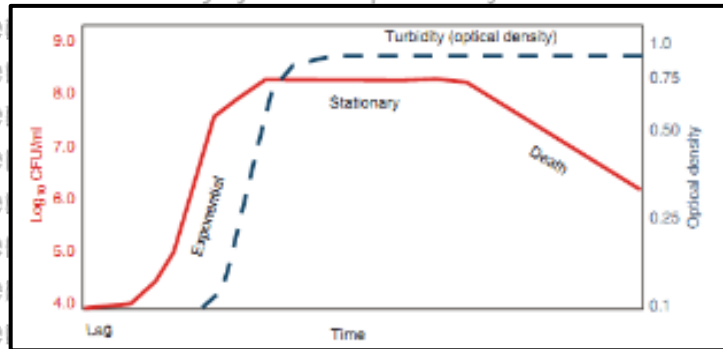
sebesar 6%. Penelitian lainnya menunjukkan larva udang *L. vannamei* yang diinfeksi bakteri *V. parahaemolyticus* mengalami peningkatan jumlah kematian pada penambahan dosis dari  $10^3$ ,  $10^6$ , dan  $10^7$  CFU/ml (Guzman Guzman, Sanchez-Martinez, Perez-Castaneda, Palacios-Monzon, Trujillo-Rodriguez dan De La Cruz-Hernandez, 2010).

## 2.4 Pertumbuhan Bakteri

Menurut Pratiwi, Marlina dan Badruzzaman (2016), fase pertumbuhan bakteri digambarkan dengan kurva pertumbuhan bakteri. Fase pertumbuhan bakteri terdiri Fase Adaptasi (*Lag Phase*), Fase Pertumbuhan (*Log Phase*), Fase Stasioner dan Fase Kematian Populasi (Gambar 3). Berikut uraian fase pertumbuhan bakteri :

1. Fase adaptasi merupakan fase bakteri menyesuaikan diri dengan lingkungan sekitarnya.
2. Fase eksponensial merupakan fase bakteri dalam keadaan pertumbuhan yang seimbang. Peningkatan pertumbuhan bakteri pada fase ini mengalami kecepatan yang konstan. Masa dan volume sel pada fase ini meningkat dengan konstan sehingga pertumbuhannya seimbang.
3. Fase stasioner merupakan fase bakteri mengalami kekurangan nutrisi, perubahan faktor lingkungan yang mengganggu proses pertumbuhan bakteri. Kebutuhan nutrisi sangat diperlukan oleh bakteri guna untuk mendukung pertumbuhannya. Karbon merupakan kebutuhan nutrisi yang utama untuk pertumbuhan bakteri sebagai sumber energi. Selama fase ini, jumlah sel yang hidup tetap konstan untuk periode yang berbeda, bergantung pada bakteri.
4. Fase kematian merupakan fase bakteri pada saat media tumbuh bakteri kehabisan nutrisi maka populasi bakteri akan menurun jumlahnya. Bakteri

akan mengalami kematian, sehingga jumlah bakteri yang hidup lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri yang telah mati.



Sumber : Listyawati (2018)

**Gambar 3.** Kurva Pertumbuhan Bakteri

Kemampuan pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh kemampuan berkembang biak setiap jenis bakteri yang berbeda, kemampuan beradaptasi yang berbeda, media tumbuh yang tersedia, dan keberadaan nutrisi pada media tumbuh bakteri. Faktor lingkungan seperti pH dan suhu mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Suhu optimum yang umum untuk pertumbuhan bakteri adalah 37°C. Kandungan enzim pada yang bakteri berbeda-beda pada setiap spesiesnya mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri sehingga berpengaruh terhadap proses metabolisme serta dalam menghasilkan metabolit sekunder (Iqlima, Ardiningsih dan Wibowo, 2017).

## 2.5 Uji Daya Hambat Bakteri Secara *In Vitro*

Menurut Sulistiyowati dan Siswati (2011), uji potensi antibakteri suatu bahan digunakan untuk mengetahui kemampuan bahan dalam menghambat pertumbuhan bakteri secara *in vitro*. Uji potensi antibakteri dapat dilakukan dengan 2 metode yaitu metode dilusi dan metode difusi.



## 1. Metode Dilusi

Metode dilusi dapat dilakukan dengan dua macam cara yaitu menggunakan dilusi cari dan dilusi padat. Prinsip kerja metode dilusi cair adalah suatu bahan uji dilakukan pengenceran sehingga mendapatkan konsentrasi tertentu, kemudian bahan uji yang telah dibuat ditambahkan oleh suspensi bakteri kedalam media. Prinsip kerja metode dilusi padat adalah media agar dicampur dengan konsentrasi bahan uji, lalu media tersebut ditanami dengan bakteri dan diinkubasi untuk menumbuhkan bakteri pada media agar. Pengujian yang dilakukan untuk mengetahui potensi antibakteri tersebut adalah dengan cara mengamati pertumbuhan dan menghitung jumlah koloni bakteri pada media. Cara ini dapat digunakan untuk menentukan kadar hambat minimal (KHM) ataupun kadar bunuh minimal (KBM).

## 2. Metode Difusi

Metode difusi merupakan metode pengujian antibakteri menggunakan kertas cakram. Prinsip kerja metode difusi adalah kertas cakram yang telah direndam kedalam larutan uji pada konsentrasi tertentu diletakkan pada media padat yang telah ditambahkan oleh suspensi bakteri. Metode difusi melakukan pengamatan hasil dengan cara menghitung diameter zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram. Metode difusi memiliki kelebihan yaitu penggunaannya yang mudah dan sederhana untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang di uji (Mulyadi, Wuryanti dan Sarjono, 2013).

Prinsip kerja metode difusi adalah mengamati zona hambatan bakteri yang terbentuk akibat berdifusinya obat yang diberikan dari kertas cakram ke daerah sekitarnya. Konsentrasi pemberian bahan uji akan mempengaruhi hasil zona hambatan yang terbentuk yaitu semakin tinggi konsentrasi bahan uji maka semakin besar zona hambatan yang terbentuk. Penggunaan metode difusi padat sering digunakan untuk menguji potensi antibakteri suatu antibiotik dengan



membandingkan menggunakan antibiotik yang telah dilakukan pengujian dan diketahui luas zona radikalnya (Sulistiyowati dan Siswati, 2011).



## BAB III. METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 24 Januari 2022 – 19 Februari 2022.

### 3.2 Alat dan Bahan

#### 3.2.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian tentang uji sensitivitas ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* secara *in vitro* disajikan pada Tabel 2. Gambar alat penelitian disajikan pada Lampiran 1.

**Tabel 2.** Alat Penelitian

No	Alat	Kegunaan
1	Autoklaf	Untuk sterilisasi alat dan bahan
2	Beaker glass 1000 ml	Untuk wadah tabung yang akan disterilisasi
3	Biosafety cabinet	Untuk pencegahan kontaminasi bahan
4	Blender	Untuk menghaluskan serbuk daun keji beling
5	Blue tip	Untuk alat bantu mikropipet 100-1000 µl
6	Botol film	Untuk wadah larutan ekstrak
7	Botol plastik 1,5 l	Untuk wadah maserat
8	Botol vial	Untuk wadah hasil evaporasi
9	Bunsen	Untuk mencegah terjadinya kontaminasi pada saat perlakuan
10	Cawan petri	Untuk wadah media saat perlakuan
11	Colony counter	Untuk menghitung koloni bakteri
12	Corong	Untuk membantu penuangan larutan
13	Destruktor	Untuk memusnahkan bakteri pada alat
14	Erlenmeyer 500 ml	Untuk wadah pembuatan media
15	Gelas ukur 100 ml	Untuk mengukur larutan
16	Gunting	Untuk memotong bahan yang digunakan
17	Inkubator	Untuk penyimpanan bakteri saat masa inkubasi
18	Jangka sorong digital	Untuk mengukur zona daya hambat bakteri
19	Jarum ose	Untuk mengambil bakteri
20	Kompur listrik	Untuk pemanas media
21	Korek api	Untuk menyalakan bunsen



No	Alat	Kegunaan
22	Lemari pendingin	Untuk menyimpan bahan yang akan digunakan
23	Mikropipet 100-1000 $\mu$ l	Untuk mengambil larutan dalam skala tertentu
24	Mikropipet 10-200 $\mu$ l	Untuk mengambil larutan dalam skala tertentu
25	Mikroskop	Untuk identifikasi bakteri
26	Nampan	Untuk wadah penyimpanan alat dan bahan
27	Object glass	Untuk wadah bakteri saat identifikasi
28	Pinset	Untuk alat mengambil kertas cakram
29	Pipet	Untuk mengambil larutan dalam skala tertentu
30	Pipet volume	Untuk mengambil larutan dalam skala tertentu
31	Pipette pump	Untuk alat bantu pompa hisap
32	Rak tabung reaksi	Untuk wadah tabung reaksi
33	Rotary vacuum evaporator	Untuk evaporasi daun keji beling
34	Spatula	Untuk mengaduk larutan agar homogen
35	Sprayer	Untuk wadah alkohol
36	Tabung Reaksi	Untuk wadah kultur bakteri
37	Timbangan analitik	Untuk menimbang bahan
38	Toples kaca	Untuk wadah maserasi
39	Triangle	Untuk meratakan bakteri saat penanaman
40	Vortex	Untuk menghomogenkan larutan
41	Washing bottle	Untuk wadah akuades
42	Yellow tip	Untuk alat bantu mikropipet 10-200 $\mu$ l

### 3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian tentang uji sensitivitas ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* secara *in vitro* disajikan pada Tabel 3. Gambar alat penelitian disajikan pada Lampiran 2.

**Tabel 3.** Bahan Penelitian

No	Bahan	Kegunaan
1	Akuades	Sebagai pelarut media
2	Alkohol 70%	Sebagai pengondisian aseptis dan bahan maserasi
3	Aluminium foil	Sebagai penutup erlenmeyer dan tabung reaksi serta wadah penimbangan bahan
4	Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Sebagai bakteri yang diuji
5	Daun keji beling ( <i>Strobilanthes crispus</i> )	Sebagai tanaman yang diuji
6	DMSO 10%	Sebagai pelarut ekstrak
7	Kapas	Sebagai penutup erlenmeyer dan tabung reaksi



Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

No	Bahan	Kegunaan
8	Karet gelang	Sebagai pengikat toples saat maserasi
9	Kertas bekas	Sebagai pembungkus alat yang akan disterilisasi
10	Kertas cakram	Sebagai bahan untuk pengujian zona daya hambat
11	Kertas label	Sebagai penanda pada alat dan bahan
12	Kertas saring	Sebagai penyaring ekstrak saat maserasi
13	Larutan iodin	Sebagai pemerkuat warna primer
14	Larutan kristal violet	Sebagai indikator warna primer
15	Larutan Mc Farland	Sebagai larutan indikator kepadatan bakteri
16	Larutan safranin	Sebagai indikator warna sekunder
17	NaCl	Sebagai bahan pembuatan Na-fisiologis
18	Plastik hitam	Sebagai penutup toples saat maserasi
19	Plastik warp	Sebagai pembungkus dan perekat cawan petri dan tabung reaksi
20	Selotip	Sebagai perekat
21	Spiritus	Sebagai bahan bakar bunsen
22	TCBS ( <i>Thiosulfate Citrate Bile Salt Sukrose Agar</i> )	Sebagai media pertumbuhan bakteri
23	Tisu	Sebagai pengering alat dan bahan
24	TSB ( <i>Tryptic Soy Broth</i> )	Sebagai media pembiakan bakteri

No	Bahan	Kegunaan
8	Karet gelang	Sebagai pengikat toples saat maserasi
9	Kertas bekas	Sebagai pembungkus alat yang akan disterilisasi
10	Kertas cakram	Sebagai bahan untuk pengujian zona daya hambat
11	Kertas label	Sebagai penanda pada alat dan bahan
12	Kertas saring	Sebagai penyaring ekstrak saat maserasi
13	Larutan iodin	Sebagai pemerkuat warna primer
14	Larutan kristal violet	Sebagai indikator warna primer
15	Larutan Mc Farland	Sebagai larutan indikator kepadatan bakteri
16	Larutan safranin	Sebagai indikator warna sekunder
17	NaCl	Sebagai bahan pembuatan Na-fisiologis
18	Plastik hitam	Sebagai penutup toples saat maserasi
19	Plastik warp	Sebagai pembungkus dan perekat cawan petri dan tabung reaksi
20	Selotip	Sebagai perekat
21	Spiritus	Sebagai bahan bakar bunsen
22	TCBS ( <i>Thiosulfate Citrate Bile Salt Sukrose Agar</i> )	Sebagai media pertumbuhan bakteri
23	Tisu	Sebagai pengering alat dan bahan
24	TSB ( <i>Tryptic Soy Broth</i> )	Sebagai media pembiakan bakteri

No	Bahan	Kegunaan
8	Karet gelang	Sebagai pengikat toples saat maserasi
9	Kertas bekas	Sebagai pembungkus alat yang akan disterilisasi
10	Kertas cakram	Sebagai bahan untuk pengujian zona daya hambat
11	Kertas label	Sebagai penanda pada alat dan bahan
12	Kertas saring	Sebagai penyaring ekstrak saat maserasi
13	Larutan iodin	Sebagai pemerkuat warna primer
14	Larutan kristal violet	Sebagai indikator warna primer
15	Larutan Mc Farland	Sebagai larutan indikator kepadatan bakteri
16	Larutan safranin	Sebagai indikator warna sekunder
17	NaCl	Sebagai bahan pembuatan Na-fisiologis
18	Plastik hitam	Sebagai penutup toples saat maserasi
19	Plastik warp	Sebagai pembungkus dan perekat cawan petri dan tabung reaksi
20	Selotip	Sebagai perekat
21	Spiritus	Sebagai bahan bakar bunsen
22	TCBS ( <i>Thiosulfate Citrate Bile Salt Sukrose Agar</i> )	Sebagai media pertumbuhan bakteri
23	Tisu	Sebagai pengering alat dan bahan
24	TSB ( <i>Tryptic Soy Broth</i> )	Sebagai media pembiakan bakteri

### 3.3 Kerangka Penelitian

Adapun konsep penelitian mekanisme kerja bahan aktif yang terkandung dalam daun keji beling terhadap *V. parahaemolyticus* disajikan pada Bagan 1.



Bagan 1. Kerangka Penelitian



Keterangan :

→ : Mekanisme Kerja

Senyawa metabolit cair seperti alkaloid, flavonoid, tanin, polifenol, saponin, steroid, dan terpenoid yang terkandung dalam ekstrak daun keji beling (Yulizar, Apriandanu dan Ashna, 2020). Senyawa flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja merusak permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dan DNA. Senyawa tanin sebagai antibakteri dengan menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga tidak terjadi pembentukan sel. Alkaloid serta saponin berfungsi sebagai pengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel dan menyebabkan kematian (Fiana, Kiromah dan Purwanti, 2020).

### 3.4 Metode Penelitian

Metode penelitian eksperimen adalah suatu penelitian dengan cara mencari suatu pengaruh variabel terhadap variabel lain dalam lingkungan terkontrol. Penelitian dengan metode eksperimen memiliki tiga unsur penting yang wajib diperhatikan yaitu kontrol, manipulasi dan pengamatan. Metode eksperimen dengan kata lain diartikan dengan suatu pengamatan objek yang dianalisis datanya, membuktikan data serta menarik suatu kesimpulan terhadap objek yang diteliti dan membuktikan suatu hipotesis tertentu (Indriawati, Susilowati dan Supardi, 2016).

Penelitian dilakukan dimulai dengan uji pendahuluan. Uji pendahuluan dilakukan dengan menguji daya hambat menggunakan beberapa dosis perlakuan. Dosis yang digunakan pada uji pendahuluan adalah 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. Media tumbuh bakteri yang digunakan pada uji pendahuluan adalah TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar*). Metode uji pendahuluan yang digunakan yaitu media TCBS yang telah dipanaskan dituang pada cawan





petri dan ditunggu hingga mengeras menjadi agar. Ekstrak daun keji beling yang telah ditentukan dosisnya dimasukkan kertas cakram dan dibiarkan selama  $\pm 15$  menit. Media TCBS yang telah menjadi agar ditanamkan bakteri sebanyak 100  $\mu\text{l}$  kemudian diratakan dengan menggunakan *triangle* yang sudah difiksasi diatas bunsen. Kertas cakram yang telah direndam ditanamkan di atas media yang telah berisi bakteri secara perlahan. Inkubasi media selama 24-48 jam dengan suhu 30-32°C. Setelah diinkubasi, media diamati dan diukur zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong.

### 3.5 Pengambilan Data

Teknik pengambilan data adalah prosedur pengumpulan data yang akan diteliti, memutuskan jenis informasi yang akan dikumpulkan serta hasilnya dapat dipertanggung jawabkan oleh seorang peneliti (Bandur, 2014). Teknik pengambilan data yang akan digunakan adalah metode observasi. Metode observasi menurut Hadi dan Nurkancana (2010) adalah suatu metode yang dilakukan dengan cara melakukan pengamatan dan pengumpulan data secara sistematis baik secara langsung maupun tidak langsung pada objek yang diamati.

Fungsi metode observasi adalah untuk mengumpulkan bukti nyata secara sistematis dan akurat dengan perencanaan penelitian guna menarik kesimpulan dari seluruh kegiatan pada objek yang diamati. Hasil dari metode observasi tersebut dibagikan kepada pihak lain sebagai referensi penelitian selanjutnya yang berhubungan dengan objek yang diteliti (Tikstine, 2010).

### 3.6 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap (RAL) menurut Rahmawati dan Erina (2020) adalah jenis rancangan percobaan yang paling sederhana. Rancangan acak



lengkap biasa digunakan untuk uji coba yang memiliki lingkungan percobaan yang homogen. Rancangan acak lengkap memberikan perlakuan secara acak kepada seluruh unit percobaan. Hal ini dikarenakan lingkungan uji coba homogen sehingga media tidak memberikan pengaruh pada objek yang diamati. Model rancangan acak lengkap 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- $j$

$M$  = Rataan umum

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

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

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) dengan dosis a, b, c, d dan e dan pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* sebagai variabel terikat.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui daya hambat penggunaan dosis ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) yang berbeda pada masing-masing perlakuan terhadap bakteri *V. parahaemolyticus*. Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan 2 variabel kontrol yang terdiri dari kontrol positif dan kontrol negatif (Tabel 4). Denah penelitian disajikan pada Gambar 4.

**Tabel 4.** Perlakuan dalam Penelitian

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



K(-)	K-	K-	K-
K(+)	K+	K+	K+

Keterangan:

K+ : Cloramphenicol 30 ppm

K- : Tanpa perlakuan

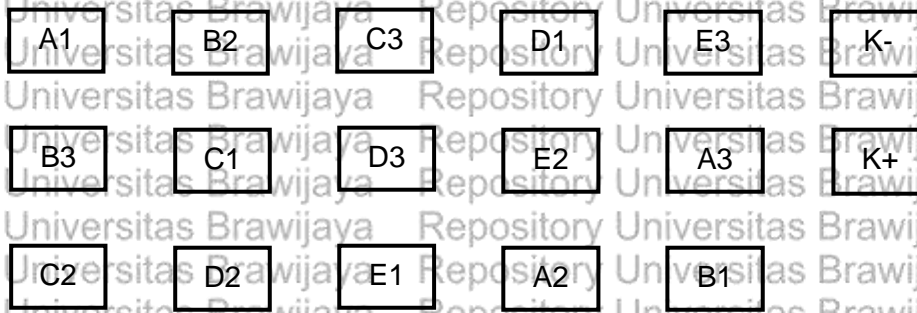
A : Ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) 25 ppm

B : Ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) 50 ppm

C : Ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) 75 ppm

D : Ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) 100 ppm

E : Ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) 125 ppm



**Gambar 4.** Denah Penelitian

Keterangan:

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

A-E : Perlakuan

1-3 : Ulangan

### 3.7. Prosedur Penelitian

#### 3.7.1. Persiapan Penelitian

##### A. Sterilisasi Alat dan Bahan



Sterilisasi alat dan bahan dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *autoclave*. Proses terilisasi alat dan bahan menggunakan *autoclave* adalah sebagai berikut :

- 1) Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian dicuci terlebih dahulu dengan sabun guna menghilangkan kotoran dari luar yang menempel kemudian dikeringkan. Alat yang sudah kering dibungkus menggunakan kertas bekas, untuk tabung reaksi dan erlenmeyer pada bagian atas diberi kapas sebelum ditutup.
- 2) *Autoclave* diisi dengan akuades secukupnya hingga batas atas, lalu alat yang telah terbungkus oleh kertas bekas diletakkan pada keranjang dan dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat.
- 3) Saklar dinyalakan dengan menekan tombol *on* kemudian atur mode yang akan digunakan dan tekan *start*.
- 4) Sterilisasi dengan *autoclave* dilakukan pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit, biarkan hingga suhu menurun.
- 5) Penutup *autoclave* dibuka, alat yang sudah disterilisasi diambil dan disimpan pada rak penyimpanan. Bahan yang sudah disterilisasi disimpan ke dalam lemari pendingin.
- 6) *Autoclave* dimatikan dengan menekan tombol *off* dan saklar listrik dicabut.

#### **B. Sterilisasi Tempat Perlakuan**

Sterilisasi tempat perlakuan bertujuan untuk menghindari adanya kontaminasi. Sterilisasi kimia tempat perlakuan dilakukan dengan menggunakan alkohol 70% yang disemprotkan pada sekitar tempat perlakuan. Sterilisasi fisik dilakukan dengan pembakaran bunsen dan penyinaran sinar ultraviolet (UV) selama 1 jam sebelum menggunakan BSC (*Biosecurity Cabinet*) dan 15 menit sesudah dilakukannya penelitian.

#### **C. Persiapan Sampel**



### 1. Daun Keji Beling

Daun keji beling didapatkan dari situs belanja *online* sebanyak 1000 gram.

### 2. Bakteri *V. parahaemolyticus*

Bakteri *V. parahaemolyticus* didapatkan dari Balai Budidaya Air Payau Jepara, Jawa Tengah. Isolat bakteri *V. parahaemolyticus* yang didapatkan kemudian diremajakan pada media TCBS dalam tabung reaksi.

### D. Ekstraksi Daun Keji Beling

Prosedur pembuatan ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) adalah sebagai berikut:

- 1) Daun keji beling (*S. crispus*) didapat dari situs belanja *online* sebanyak 1 kg. Daun tersebut dikeringkan hingga benar-benar kering.
- 2) Daun dihaluskan menggunakan blender yang kemudian didapatkan hasil berupa serbuk sebanyak 520 gr.
- 3) Metode maserasi digunakan dengan perbandingan 1:10. Serbuk daun keji beling yang digunakan yaitu 200 gram dan ethanol 70% sebanyak 2000 ml. Serbuk dimaserasi dengan pelarut selama 24 jam pada suhu ruang, setelah itu dipisahkan dari residunya dengan melakukan proses penyaringan. Filtrat tersebut kemudian dilakukan maserasi ulang dan hasilnya ditunggu selama 3x24 jam (Rivai, Apriyani dan Misfadhila, 2019).
- 4) Hasil larutan dari proses maserasi kemudian dilakukan evaporasi dengan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 50°C (Rivai *et al.*, 2019) hingga menghasilkan ekstrak kental.
- 5) Hasil ekstraksi disimpan dalam lemari pendingin untuk mencegah kerusakan pada ekstrak.

Berat basah daun keji beling (*S. crispus*) sebanyak 1.000 gram menghasilkan berat kering setelah proses pengeringan sebanyak 520 gram. Berat pasta hasil evaporasi daun keji beling (*S. crispus*) sebanyak 30,976 gram. Rendemen yang



dihasilkan oleh ekstrak kental daun keji beling adalah 15,488%. Ekstrak kental daun keji beling yang diperoleh ditimbang dan dilakukan perhitungan rendemen dengan rumus :

$$\text{Berat kering} = \frac{\text{berat kering serbuk}}{\text{berat basah}} \times 100\% = \dots\%$$

$$\text{Berat kering} = \frac{520}{1000} \times 100\% = 52\%$$

$$\% \text{Rendemen} = \frac{30,976 \text{ gram pasta}}{200 \text{ gram serbuk}} \times 100\% = 15,488\%$$

#### E. Pembuatan Media

##### 1. Pembuatan Media Padat TCSB (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose*)

Pembuatan media agar miring digunakan untuk proses peremajaan bakteri

*V. parahaemolyticus*. Adapun tahapannya sebagai berikut:

##### 1) Media TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar*) dan NaCl

ditimbang menggunakan timbangan analitik sebanyak 3,08 gram dan 0,7 gram.

##### 2) Erlenmeyer 100 ml dimasukkan media TCBS dan NaCl yang telah

berisikan aquades steril sebanyak 35 ml.

##### 3) Erlenmeyer yang berisi media dipanaskan diatas kompor listrik hingga

mendidih dan homogen kemudian diangkat.

##### 4) Tabung reaksi yang telah disterilisasi dimasukkan media sebanyak 7 ml.

Untuk memindahkan media kedalam tabung reaksi, dilakukan didalam BSC (*Biosecurity Cabinet*) untuk mencegah kontaminasi.

##### 5) Tabung reaksi yang telah berisi media dirapatkan dengan kapas,

aluminium foil dan *plastic wrap*.

##### 6) Media pada tabung reaksi diletakkan miring sebesar 45° dan ditunggu

hingga menjadi agar.



## 2. Pembuatan TSB (*Tryptone Soy Broth*)

Pembuatan media TSB digunakan untuk kultur bakteri. Adapun tahapan proses pembuatan media TSB adalah sebagai berikut:

- 1) Media TSB dan NaCl ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik sebanyak 9,6 gram dan 6,4 gram.
- 2) Media yang sudah ditimbang dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan aquades sebanyak 320 ml yang telah diukur menggunakan gelas ukur.
- 3) Media yang telah dicampur kedalam erlenmeyer dihomogenkan.
- 4) Tabung reaksi ditutup dengan menggunakan kapas, *aluminium foil* dan *plastic wrap*.
- 5) Media disterilisasikan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

## 3. Pembuatan Media TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose*)

Media TCBS digunakan dalam proses uji cakram pada penelitian ini. Adapun tahapannya adalah sebagai berikut:

- 1) Media TCBS dan NaCl ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik sebanyak 39,16 gram dan 8,8 gram. Aquades steril sebanyak 440 ml diukur dengan menggunakan gelas ukur.
- 2) Media TCBS dan NaCl dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquades steril dan dihomogenkan.
- 3) Erlenmeyer yang berisi media ditutup dengan menggunakan kapas dan dirapatkan dengan *aluminium foil* dan *plastic wrap*.
- 4) Erlenmeyer dipanaskan diatas kompor listrik hingga mendidih.



- 5) Media yang sudah hangat kuku, dimasukkan kedalam cawan petri. Ditunggu hingga memadat menjadi agar dan dimasukkan kedalam lemari pendingin.

#### 4. Pembuatan Nafis (Natrium Fisiologis)

Adapun pembuatan Nafis (Natrium fisiologis) adalah sebagai berikut:

- 1) Garam NaCl ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik sebanyak 0,81 gram dan dimasukkan dalam erlenmeyer.
- 2) Aquades dilarutkan sebanyak 90 ml kedalam erlenmeyer dan dihomogenkan. Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil.
- 3) Media disterilisasikan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

#### F. Peremajaan Bakteri *V. parahaemolyticus*

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan bakteri *V. parahaemolyticus* yang didapat dari isolat murni. Bakteri tersebut kemudian dilakukan peremajaan untuk diinokulasi kembali. Peremajaan bakteri dilakukan dalam keadaan steril menggunakan jarum ose. Jarum ose yang akan digunakan dipanaskan terlebih dahulu di atas bunsen. Isolat digores pada media TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose*) secara zig-zag lalu diinkubasi pada suhu 32°C selama 24 jam. Tujuan dilakukan peremajaan bakteri yaitu agar bakteri dapat memulai metabolisme kembali.

#### G. Kultur Bakteri *V. parahaemolyticus*

Kultur bakteri dilakukan dengan cara jarum ose yang akan digunakan dipanaskan di atas bunsen dengan tujuan fiksasi. Jarum ose yang telah steril digoreskan sebanyak satu gores pada biakan bakteri yang telah diremajakan pada media agar miring. Jarum ose dicelupkan pada media TSB yang telah disiapkan. Media kemudian disimpan pada inkubator dengan suhu 32°C selama 24 jam.





## H. Pembuatan Dosis Ekstrak Daun Keji Beling (*S. crispus*)

Ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) yang telah melalui proses maserasi dan evaporasi dalam bentuk ekstrak kental kemudian diencerkan pelarut yaitu DMSO 10% dan akuades. Ditentukan dosis yang diinginkan dalam satuan ppm (mg/L). Satuan liter (L) dikonversikan menjadi mililiter (ml) serta menyiapkan dosis ekstrak tertinggi sebanyak 10 ml untuk larutan induk. Dosis ekstrak lebih kecil didapatkan melalui pengenceran dari dosis tertinggi yang dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$V_1N_1 = V_2N_2$$

Keterangan:

V1 : Volume larutan stok (ml)

N1 : Konsentrasi larutan stok (ppm)

V2 : Volume larutan yang diinginkan (ml)

N2 : Konsentrasi larutan yang diinginkan (ppm)

Kemudian ekstrak yang sudah diencerkan dapat disimpan dalam lemari pendingin.

### 3.7.2 Pelaksanaan Penelitian

#### A. Identifikasi Bakteri *V. Parahaemolyticus*

Identifikasi bakteri dilakukan dengan metode pewarnaan gram. Adapun tahapannya sebagai berikut:

- 1) *Object glass* disiapkan.
- 2) Bakteri *V. parahaemolyticus* hasil kultur diambil menggunakan pipet tetes.
- 3) Bakteri ditetaskan pada *object glass* dengan menggunakan pipet tetes kemudian diratakan dengan metode smear.
- 4) *Object glass* difiksasi diatas bunsen untuk membunuh bakteri.
- 5) Kristal violet ditetaskan sebanyak 1 tetes ditunggu selama 1 menit.
- 6) *Object glass* dibilas dengan menggunakan aquades.



- 7) Lugol diteteskan sebanyak 1 tetes ditunggu selama 2 menit.
- 8) *Object glass* dibilas dengan menggunakan aquades.
- 9) Alkohol 96% diteteskan selama 5 – 10 detik
- 10) Safranin diteteskan sebanyak 1 tetes ditunggu selama 1 menit.
- 11) *Object glass* dibilas dengan menggunakan aquades.
- 12) Amati dibawah mikroskop.

### B. Uji Cakram

Prosedur pelaksanaan uji cakram adalah sebagai berikut:

- 1) Cawan petri yang telah berisi media TCBS disiapkan terlebih dahulu.
- 2) Kertas cakram direndam selama 15 menit dalam beberapa perlakuan dengan dosis yang berbeda-beda. Kertas cakram direndam kedalam ekstrak dosis 1000 ppm. Selain itu direndam kedalam kontrol positif yang berisi antibiotik dan kontrol negatif tanpa diberikan dosis hanya kertas cakram saja.
- 3) Bakteri *V. parahaemolyticus* diambil 100 mikrolit dan dimasukkan kedalam cawan petri berisi media TCBS lalu diratakan dengan *triangle*. *Triangle* difiksasi diatas bunsen terlebih dahulu.
- 4) Kertas cakram yang telah direndam selama 15 menit ditiriskan dan diletakkan pada media agar yang telah diberi bakteri *V. parahaemolyticus*
- 5) Media yang sudah ditanam dan diberi kertas cakram diinkubasi selama 24-48 jam dengan suhu 32°C.
- 6) Media diamati dan diukur zona bening yang terbentuk disekitar kertas dengan menggunakan jangka sorong.

### 3.8 Parameter Uji

Parameter uji dalam penelitian ini ada 2 yaitu parameter utama dan parameter penunjang. Adapun parameter utama adalah pengamatan diameter



zona bening pada kertas cakram. Sedangkan parameter penunjang adalah suhu inkubasi yang digunakan selama penelitian.

### 3.9 Analisa Data

Analisa data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan uji analisis ragam atau uji ANOVA dengan selang kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ). Tujuan analisis ragam adalah untuk mengetahui pengaruh setiap variabel bebas terhadap respon parameter ukur. Apabila hasil data analisis ragam menunjukkan adanya pengaruh berbeda nyata maka dilakukan uji beda nyata terkecil untuk membandingkan nilai setiap antar perlakuan. Selanjutnya untuk mengetahui hubungan atau regresi antara perlakuan dilakukan uji *polynomial orthogonal*.



## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

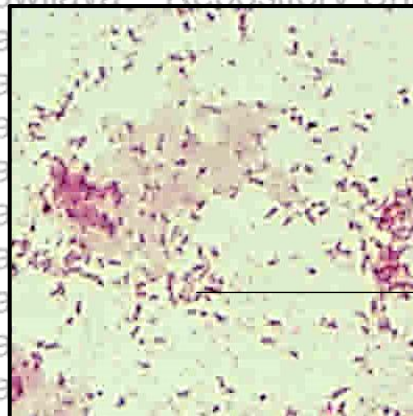
### 4.1 Identifikasi Bakteri *V. parahaemolyticus*

Identifikasi bakteri pada penelitian ini dilakukan dengan pewarnaan gram.

Pewarnaan gram dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui morfologi sel bakteri serta menentukan jenis bakteri termasuk bakteri gram positif atau gram negatif.

Pengamatan morfologi menggunakan metode pewarnaan gram merupakan metode yang sederhana dengan cara memberikan larutan pewarna untuk mengetahui jenis bakteri yang akan di uji. Adapun hasil pewarnaan gram bakteri

*V. parahaemolyticus* dengan perbesaran 1000x disajikan pada Gambar 5.



Bakteri  
*V. parahaemolyticus*

Sumber : Dokumentasi Pribadi (2022)

**Gambar 5.** Hasil Pewarnaan Gram Bakteri *V. parahaemolyticus*

Berdasarkan Gambar 5. pengamatan bakteri *V. parahaemolyticus* menunjukkan bahwa bakteri ini merupakan bakteri gram negatif dan berbentuk.

Hal ini dibuktikan dengan pengamatan bakteri dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x menunjukkan bahwa bakteri ini menyerap warna merah. Bakteri gram negatif tidak dapat mempertahankan warna kristal violet saat pewarnaan gram. Hal ini sesuai dengan Febriana, Mashitah dan Tambunan (2021), bakteri

gram positif akan menghasilkan warna biru atau ungu saat pewarnaan gram dengan larutan kristal violet karena bakteri gram positif memiliki peptidoglikan yang

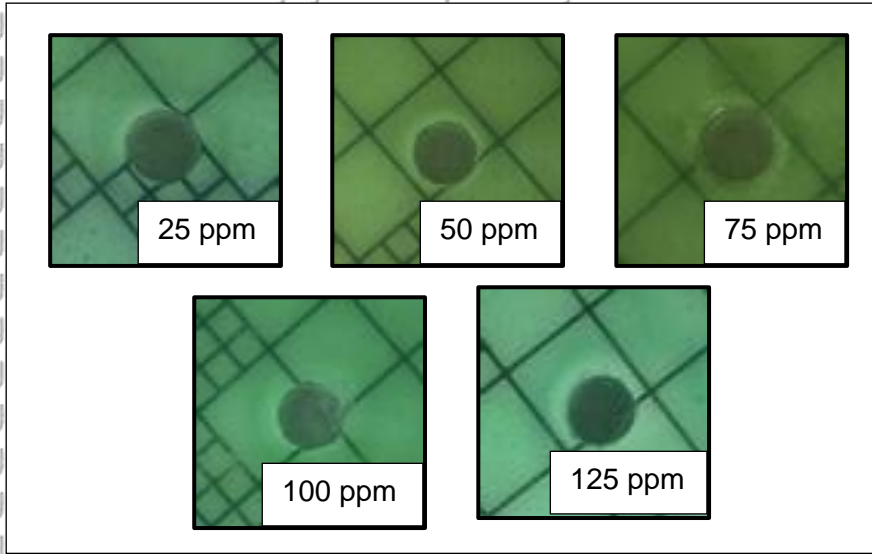


tebal sehingga mampu mempertahankan pewarna kristal violet, sedangkan bakteri gram negatif memiliki peptidoglikan yang tipis sehingga tidak mampu mempertahankan warna pada larutan kristal violet.

Hasil uji biokimia bakteri *V. parahaemolyticus* yang dilakukan di Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau, Jepara didapatkan hasil bakteri *V. parahaemolyticus* memiliki bentuk batang, bersifat gram negatif, berkoloni, oxidase, indol, pengujian lisin, ornithine dan nitrat menunjukkan hasil positif sedangkan pengujian arginin dan sukrosa menunjukkan hasil negatif. Hasil uji biokimia menurut Alam, Rabbo, Ahsan dan Sultana (2020) menunjukkan pada media TCBS ditemukan koloni besar, hijau, menonjol dan mukoid dengan diameter kira-kira 2-3 mm. Reaksi positif terhadap uji oksidase, uji pemanfaatan sitrat, uji *methyl red* lisin dan ornitin dekarboksilase, produksi indol, motilitas, yang dapat mentolerir NaCl 3%, dan 7% pada suhu 37°C dan tidak dapat tumbuh pada NaCl 0% dan 10%, sedangkan hasil uji biokimia pada Lampiran 4.

#### 4.2 Uji Cakram

Bakteri *V. parahaemolyticus* merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit pada udang. Salah satu alternatif pengobatan pada penyakit udang adalah menggunakan ekstrak kasar daun keji beling (*S. crispus*). Pengujian terhadap daya hambat ekstrak kasar daun keji beling (*S. crispus*) dilakukan dengan menggunakan kertas cakram. Pengaruh pemberian ekstrak kasar daun keji beling (*S. crispus*) terhadap daya hambat pada bakteri *V. parahaemolyticus* diperlihatkan dengan tanda terbentuknya diameter zona hambat (zona bening) disekitar kertas cakram dengan dosis 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm dan 125 ppm seperti disajikan pada Gambar 6, sedangkan perhitungan dosis disajikan pada Lampiran 6.



Sumber : Dokumentasi Pribadi (2022)

**Gambar 6.** Diameter Daya Hambat

Berdasarkan hasil uji daya hambat bakteri *V. parahaemolyticus* terhadap ekstrak kasar daun keji beling (*S. crispus*) selama 24 jam (Gambar 7.) menunjukkan bahwa zona bening dapat terlihat pada sekitar kertas cakram.

Kesimpulan yang diperoleh adalah daerah yang tidak ditumbuhi oleh bakteri *V. parahaemolyticus* ditandai dengan zona bening yang berada disekitar cakram.

Klasifikasi zona hambat pada kertas cakram disajikan pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Klasifikasi Zona Hambat

Diameter Zona Hambat (mm)	Respon Hambat Pertumbuhan
>20	Sangat Kuat
11 – 20	Kuat
5 – 10	Sedang
<5	Kurang

Sumber : Pangouw, Posangi, Lolo dan Bara (2020)

Hasil perhitungan rerata hasil pengukuran zona bening pada perlakuan A (25 ppm) sebesar  $7,53 \pm 0,50$  mm, B (50 ppm) sebesar  $8,07 \pm 0,23$  mm, C (75 ppm) sebesar  $8,50 \pm 0,30$  mm, D (100 ppm) sebesar  $8,90 \pm 0,70$  mm dan E (125 ppm) sebesar  $8,93 \pm 0,78$ . Respon daya hambat pada perlakuan dapat dikategorikan kedalam respon daya hambat sedang. Hal ini sesuai dengan klasifikasi zona hambat (Tabel 5.) yaitu diameter zona hambat 5 – 10 mm



menunjukkan respon daya hambat sedang. Analisa data pengukuran hasil uji ekstrak kasar daun keji beling dengan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan didapatkan hasil setelah dilakukan pengamatan 24 jam disajikan pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Hasil Diameter Daya Hambat

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata $\pm$ STDEV (mm)
	1	2	3		
A (25 ppm)	8	7,6	7	22,6	7,53 $\pm$ 0,50
B (50 ppm)	8,2	7,8	8,2	24,2	8,07 $\pm$ 0,23
C (75 ppm)	8,5	8,8	8,2	25,5	8,50 $\pm$ 0,30
D (100 ppm)	8,6	9,7	8,4	26,7	8,90 $\pm$ 0,70
E (125 ppm)	8,7	9,8	8,3	26,8	8,93 $\pm$ 0,78
<b>Total</b>				<b>125,8</b>	

Berdasarkan Tabel 6 dapat diketahui bahwa hasil rerata tertinggi diperoleh perlakuan E dengan dosis 125 ppm sebesar 8,93  $\pm$  0,78 dan hasil rerata terendah diperoleh perlakuan A dengan dosis 25 ppm sebesar 7,53  $\pm$  0,50 mm. Rerata diameter daya hambat yang didapat, selanjutnya dilakukan uji analisa sidik ragam untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Hasil analisa sidik ragam disajikan pada

Tabel 7.

**Tabel 7.** Hasil Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	4,22	1,05	3,54**	3,48	5,99
Galat	10	2,98	0,30			
Total	14					

Keterangan :

\*\*) Berbeda Sangat Nyata

Hasil perhitungan analisa sidik ragam (Tabel 7) menunjukkan bahwa pemberian dosis ekstrak kasar daun keji beling terhadap daya hambat bakteri *V. parahaemolyticus* memberikan pengaruh berbeda nyata. Hal tersebut dibuktikan dengan nilai F hitung (3,54) lebih besar dibandingkan F tabel 5% (3,48). Kesimpulan yang dapat diambil adalah H<sub>0</sub> ditolak dan H<sub>1</sub> diterima yaitu perlakuan pemberian dosis memberikan pengaruh berbeda nyata.

Data hasil penelitian dilakukan uji homogenitas dan uji normalitas. Hasil perhitungan uji homogenitas dan uji normalitas dapat dilihat pada Lampiran 8. Hasil uji homogenitas diperoleh nilai signifikansi sebesar (0,184) lebih besar dari nilai  $\alpha$  (0,05). Nilai tersebut dapat disimpulkan bahwa  $H_0$  diterima sehingga data bersifat homogen. Hasil uji normalitas diperoleh nilai signifikansi sebesar (0,576) lebih besar dari nilai  $\alpha$  (0,05). Nilai tersebut dapat disimpulkan bahwa  $H_0$  diterima sehingga data bersifat homogen. Selanjutnya dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan. Uji beda nyata terkecil (BNT) dilakukan dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) disajikan pada Tabel 8.

**Tabel 8.** Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	E	Notasi
		7,53	8,07	8,5	8,9	8,93	
A	7,53						a
B	8,07	0,54 <sup>ns</sup>					a
C	8,5	0,97 <sup>ns</sup>	0,43 <sup>ns</sup>				a
D	8,9	1,37*	0,83 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>			b
E	8,93	1,4**	0,86 <sup>ns</sup>	0,43 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>		b

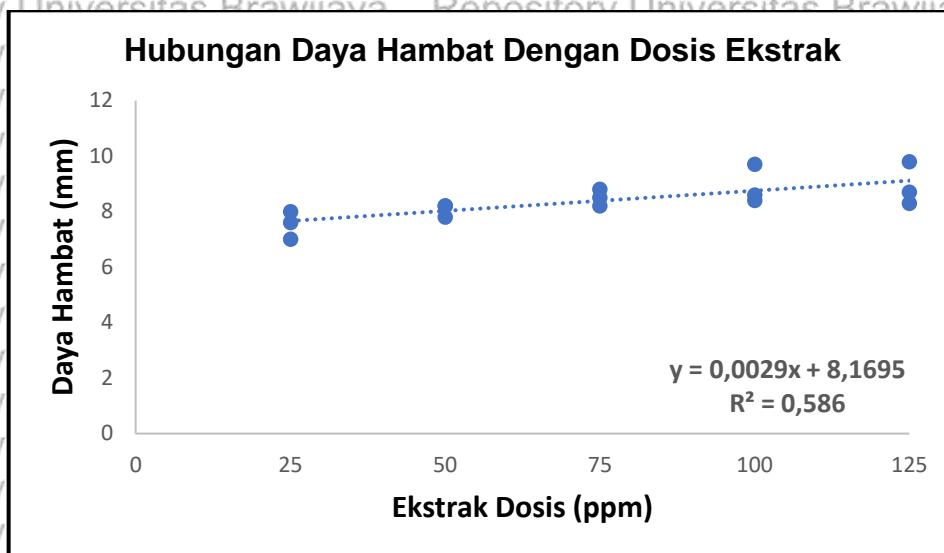
Keterangan:  
<sup>ns</sup>) Tidak Berbeda Nyata  
 \*) Berbeda Nyata  
 \*\*) Sangat Berbeda Nyata

Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) (Tabel 8) didapatkan notasi a yaitu perlakuan A (25 ppm), B (50 ppm) dan C (75 ppm) tidak memberikan pengaruh. Notasi b yaitu perlakuan D (100 ppm) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap perlakuan A (25 ppm) namun tidak memberikan pengaruh terhadap perlakuan B (50 ppm) dan perlakuan C (75 ppm). Notasi b yaitu pada perlakuan E memberikan pengaruh yang signifikan terhadap perlakuan A (20 ppm) namun tidak memberikan pengaruh terhadap perlakuan B (50 ppm), C (75 ppm) dan perlakuan D (100 ppm). Kesimpulan yang diperoleh adalah perlakuan E (125 ppm) merupakan dosis terbaik untuk menghambat bakteri *V. parahaemolyticus*.





Selanjutnya dilakukan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui hubungan antar perlakuan dengan diameter zona hambat yang disajikan pada Gambar 7, sedangkan perhitungan analisa data disajikan pada Lampiran 8.



**Gambar 7.** Grafik Polynomial Orthogonal

Hasil grafik pada Gambar 7 menunjukkan pola linier dengan persamaan  $y = 0,0029x + 8,1695$  dan koefisien regresi sebesar 0,586. Dosis 25 ppm hingga 125 ppm menunjukkan peningkatan pada grafik. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan dosis ekstrak kasar daun keji beling (*S. crispus*) memberikan peningkatan daya hambat terhadap bakteri *V. parahaemolyticus*. Menurut Noviyanty, Hepiyansori dan Insani (2021), semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka diameter daya hambat semakin besar. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi jumlah zat aktif pada ekstrak sehingga semakin besar kemampuan ekstrak dalam menghambat bakteri.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun keji beling memiliki daya hambat terhadap bakteri *V. parahaemolyticus*. Hal ini dibuktikan pada pengamatan selama 48 jam menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun keji beling mampu membunuh bakteri (bakterisidal). Bakteristatik merupakan antibakteri yang berperan hanya untuk menghambat perkembangan bakteri sedangkan bakterisidal merupakan



antibakteri yang mampu berperan untuk membunuh bakteri (Sinurat dan Karo, 2021). Pengamatan juga dilakukan selama 96 jam menunjukkan bahwa bakteri *V. parahaemolyticus* tidak tumbuh pada sekitar kertas cakram. Menurut Sidauruk, Saei, Diharmi dan Arif (2021), terbentuknya zona hambat dikarenakan adanya kandungan senyawa bioaktif antibakteri, sehingga mampu membunuh bakteri. Sifat bakteri juga menentukan besaran zona hambat yang terbentuk. Bakteri gram negatif memiliki peptidoglikan yang tipis sehingga lebih mudah dirusak oleh komponen metabolit sekunder yang terkandung didalam bahan antibakteri, sedangkan bakteri gram positif memiliki peptidoglikan yang lebih tebal. Sensitivitas bakteri terhadap senyawa bioaktif antibakteri juga merupakan hal yang menentukan besaran zona hambat yang terbentuk.

#### 4.3 Mekanisme Antibakteri

Senyawa aktif dalam ekstrak kasar daun keji beling (*S. crispus*) berperan sebagai penghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan hasil uji fitokimia yang dilakukan di UPT. Laboratorium Herbal Materia Media ekstrak kasar daun keji beling mengandung senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, dan tanin. Menurut Ketaren, Sinaga dan Lubis (2020), keji beling mengandung senyawa seperti natrium, kalium, kalsium, asam silikat, saponin, alkaloid, flavonoid dan polifenol yang berpotensi sebagai antioksidan. Hasil uji fitokimia disajikan pada Lampiran 3.

Mekanisme kerja senyawa flavonoid yaitu menghambat permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom sehingga menyebabkan kematian pada sel bakteri. Mekanisme kerja senyawa alkaloid yaitu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri dihambat sehingga pembentukan lapisan dinding sel tidak bekerja secara utuh dan menyebabkan kematian (Fiana *et al.*, 2020).

Mekanisme kerja senyawa saponin yaitu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat sintesa protein bakteri serta menurunkan



tegangan permukaan sel sehingga sel mengalami kebocoran dan sel akan pecah dan menyebabkan kematian pada sel. Mekanisme kerja senyawa tannin yaitu menghambat permeabilitas dinding sel bakteri sehingga dinding sel mengalami lisis. Oleh karena itu metabolisme bakteri akan menurun dan menyebabkan kematian pada sel. Peningkatan konsentrasi zat menyebabkan peningkatan kandungan senyawa aktif antibakteri sehingga kemampuannya dalam menghambat metabolisme bakteri juga semakin meningkat (Dianci, Wulandari, Santi dan Harmoko, 2021).

#### 4.4 Parameter Penunjang

Parameter penunjang pada penelitian ini adalah suhu inkubasi pertumbuhan bakteri. Suhu inkubasi yang digunakan pada saat penelitian adalah 32°C. Pertumbuhan optimal patogen bakteri *V. parahaemolyticus* terjadi antara 30 dan 35°C dengan batas atas 45,3°C dan dalam kisaran salinitas 2-4%. *V. parahaemolyticus* mampu tumbuh pada kisaran pH yang luas (4,8-11,0), kisaran optimal pH adalah 7,6-8,6 (Mudoh, Parveen, Schwarz, Rippen dan Chaudhuri, 2014).



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa:

– Dosis ekstrak kasar yang memberikan hasil tertinggi pada diameter zona hambat terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* adalah perlakuan E dengan dosis 125 ppm diperoleh rerata sebesar  $8,93 \pm 0,78$  mm.

– Dosis ekstrak kasar yang memberikan hasil terendah pada diameter zona hambat terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* adalah perlakuan E dengan dosis 25 ppm diperoleh rerata sebesar  $7,53 \pm 0,50$  mm.

– Ekstrak kasar daun keji beling mampu membunuh bakteri *V. parahaemolyticus* dan memiliki sifat bakterisidal atau mampu membunuh bakteri.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan disarankan untuk menggunakan ekstrak kasar daun keji beling sebagai alternatif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* dengan dosis 125 ppm. Namun perlu dilakukannya penelitian lanjutan untuk mengetahui dosis efektif penggunaan ekstrak kasar daun keji beling (*S. crispus*) serta penelitian secara *in vivo* untuk mengetahui keefektifan ekstrak kasar daun keji beling untuk mengobati udang yang terinfeksi bakteri *V. parahaemolyticus*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adibi, S., Nordan, H., Ningsih, S. N., Kurnia, M., Evando, E., & Rohiat, S. (2017). Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak daun *Strobilanthes crispus* Bl (keji beling) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Alotrop*, *1*(2), 148-154.
- Alam, K., Rabbi, F., Ahsan, C. R., & Sultana, S. (2020). Seasonal Variation and Molecular Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* Isolated from Karnaphuni River and Estuary of Chittagong, Bangladesh. *Bioresearch Communications-(BRC)*, *6*(2), 904-9013.
- Almejhim, M., Aljeldah, M., & Elhadi, N. (2021). Improved isolation and detection of toxigenic *Vibrio parahaemolyticus* from coastal water in Saudi Arabia using immunomagnetic enrichment. *PeerJ*, *9*, 1-18.
- Bandur, A. (2014). Penelitian Kualitatif: Metodologi, Desain, dan Teknik Analisis Data dengan NVIVO 10. Bogor. Mitra Wacana Media.
- Dewanti, R., & Hariyadi. (2021). Mikrobiologi Keamanan Pangan. Bogor. IPB Press.
- Dianci, P. D., Wulandari, W., Santi, D. L., & Harmoko, H. (2021). Daya hambat antibakteri ekstrak akar rumput bambu (*Lophatherum gracile*) terhadap bakteri *Streptococcus* sp secara in vitro. *BIOEDUSAINS: Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains*, *4*(2), 450-456.
- Evan, Y., Indrawati, A., & Pasaribu, F. H. (2021). Pengembangan uji cepat metode koaglutinasi untuk mendeteksi antigen *Vibrio parahaemolyticus* penyebab penyakit vibriosis pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Biodidaktika: Jurnal Biologi Dan Pembelajarannya*, *16*(1), 45-57.
- Fachiroh, Z. (2021). Antibacterial effectiveness of gading kuning coconut extract (*Cocos nucifera* var. *Eburnea*) in *Aeromonas hydrophila* bacteria in vitro. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, *5*(2), 69-77.
- Febriani, H., Mashitah, U., & Tambunan, E. P. S. (2021). Penapisan Bakteri Penghasil Antimikroba dari Pasir Pantai Sialang Buah Kecamatan Teluk Mengkudu Kabupaten Serdang Bedagai. *Journal of Marine Research*, *10*(4), 560-564.
- Fiana, F. M., Kiromah, N. Z. W., & Purwanti, E. (2020). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 10-20.
- Gao, C., Yang, X., Zhao, C., Li, C., Wang, S., Zhang, X., Xue, B., Cao, Z., Zhou, H., Yang, Y., Shen, Z., Yu, P., Wang, J., Li, L., Niu, Z., & Qiu, Z. (2022). Characterization of a novel *Vibrio parahaemolyticus* host-phage pair and antibacterial effect against the host. *Archives of virology*, *167*, 531-544.





Guzman, A. G., Sanchez-Martinez, J. G., Perez-Castaneda, R., Palacios-Monzon, A., Trujillo-Rodriguez, T., & De La Cruz-Hernandez, N. I. (2010). Pathogenicity and infection route of *Vibrio parahaemolyticus* in American white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of The World Aquaculture Society*, **41**(3), 464-470.

Hadi, M., & Nurkancana, W. (2010). Evaluasi Pendataan Pendidikan. Surabaya. Usaha Nasional.

Herliana, E. (2013). Penyakit Asam Urat Kandas Berkat Herbal. Jakarta. FMedia.

Indriawati, A., Susilowati, S. M. E., & Supardi, K. I. (2016). Pembelajaran berbasis masalah dengan bahan ajar berorientasi sumberdaya perairan terhadap karakter peduli lingkungan dan hasil belajar IPA. *Journal of Primary Education*. **5**(2), 88-96.

Iqlima, D., Ardiningsih, P., & Wibowo, M. A. (2017). Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit b2d dari batang tanaman yakon (*Smallanthus sonchifolius* (poep. & endl.) H. Rob.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*. *JKK*. **7**(1), 36-43.

Isrianto, P. L., Kristianto, S., & Wilujeng, S. (2021). Microscopic characterization of keji beling extract (*Strobilanthes crispus* L.) as herbal medicine studies. *Jurnal Biota*, **7**(2), 109-117.

Jannah, M., Junaidi, M., Setyowati, D. N., & Azhar, F. (2018). Pengaruh pemberian *Lactobacillus* sp. dengan dosis yang berbeda terhadap sistem imun udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Kelautan*, **11**(2), 140-150.

Ketaren, V. L., Sinaga, H., & Lubis, Z. (2021, June). Characteristics of tea bags from keji beling (*Strobilanthes crispus* Bi) and lemongrass (*Cymbopogon nardus*. L) leaves. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 782, No. 3, p. 032107). IOP Publishing.

Kundi, F., Anees, S. A., Abbas, M., Kundi, A., Khalil, B., Ambreen, R., Khan, S., & Naqvi, R. B. (2021). Impact of climatic conditions on treatment and prevalence of common diseases of fish, in Dera Ismail Khan, Khyber Pakhtunkhwa. *International Journal of Applied Chemical and Biological Sciences*, **2**(5), 39-51.

Listyawati, A. F. (2018). Pola Pertumbuhan *Pseudomonas* sp. dengan menggunakan Variasi konsentrasi D-glukosa dalam media pertumbuhan terhadap waktu inkubasi. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, **5**(2), 29-32.

Mas'um, & Wahidin. (2020). Sistem pakar diagnosa penyakit udang vaname pada dinas kelautan dan perikanan provinsi Banten. *Journal of Innovation and Future Technology (IFTECH)*, **2**(1), 29-42.

Mok, J. S., Cho, S. R., Park, Y. J., Jo, M. R., Ha, K. S., Kim, P. H., & Kim, M. J. (2021). Distribution and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus*



isolated from fish and shrimp aquaculture farms along the Korean coast. *Marine Pollution Bulletin*, 171, 112785.

Mudoh, M., Parveen, S., Schwarz, J., Rippen, T., & Chaudhuri, A. (2014). The effects of storage temperature on the growth of *Vibrio parahaemolyticus* and organoleptic properties in oysters. *Frontiers in public health*, 2, 45.

Mulyadi, M., Wuryanti, W., & Sarjono, P. R. (2013). Konsentrasi hambat minimum (KHM) kadar sampel alang-alang (*Imperata cylindrica*) dalam etanol melalui metode difusi cakram. *Chem info*, 1(1), 35-42.

Mustapha, S., Mustapha, E. M., & Nozha, C. (2013). *Vibrio alginolyticus*: an emerging pathogen of food borne diseases. *International Journal of Science and Technology*, 2(4), 302-309.

Noviyanty, Y., Hepiyansori, H., & Insani, T. D. (2021). Uji aktivitas senyawa flavonoid dari ekstrak etanol kulit buah mangga (*Mangifera indica* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Oceana Biomedicina Journal*, 4(1), 38-52.

Pangouw, E., Posangi, J., Lolo, W. A., & Bara, R. (2020). Uji aktivitas antibakteri jamur endofit pada daun dan batang tumbuhan kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *staphylococcus aureus*. *PHARMACON*, 9(2), 211-218.

Praja, R. K., & Safnurbaiti, D. P. (2018). The infection of *Vibrio parahaemolyticus* in shrimp and human. *Oceana Biomedicina Journal*, 1(1), 44-58.

Pratiwi, T., Marlina, E. T., & Badruzzaman, D. Z. (2016). Potensi feses sapi potong sebagai aktivator pertumbuhan bakteri anaerob dan pembentukan gas metana pada berbagai jenis batubara. *Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran*, 1-8.

Rivai, H., Apriyeni, M. Q., & Misfadhila, S. (2019). Analisis kualitatif dan kuantitatif dari ekstrak heksan, aseton, etanol dan air dari daun keji beling (*Strobilanthes crispus* Blume). *Jurnal Farmasi Higea*. 11(1), 1-14.

Sidauruk, S. W., Sari, N. I., Diharmi, A., & Arif, I. (2021). Aktivitas antibakteri ekstrak *Sargassum plagyophyllum* terhadap bakteri *Listeria monocytogenes* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(1), 27-37.

Silalahi, M. (2020). Pemanfaatan kecibeling (*Strobilanthes crispus*) sebagai obat tradisional dan bioaktivitasnya. *Emasains: Jurnal Edukasi Matematika dan Sains*, 9(2), 196-205.

Sinurat, J. P., & br Karo, R. M. (2021). Pemanfaatan senyawa flavonoid dalam ekstrak daun sapatangan (*Maniltoa grandiflora* (A. Gray) Scheff) sebagai senyawa antibakteri. *JURNAL PENGEMAS KESTRA (JPK)*, 1(2), 456-459.

Sulastri, L., Lestari, R. M., & Simanjuntak, P. (2021). Isolasi dan identifikasi senyawa kimia monoterpen dari fraksi etilasetat daun keji beling



(*Strobilanthes crisper* (L.) Blume) yang mempunyai daya sitotoksik. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, **8**(1), 12-17.

Sulistiyowati, Y., & Siswati, A. S. (2011). Uji potensi antibakteri sodium ascorbyl phosphate terhadap propionibacterium acnes *in vitro*. *Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, **11**(1), 8-13.

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

Tikstine, H. (2010). Metode Penelitian Kualitatif. Jakarta. Raja Grafindo Persada.

Tuhuloula, A., Budiarti, L., & Fitriana, E. N. (2013). Karakterisasi pektin dengan memanfaatkan limbah kulit pisang menggunakan metode ekstraksi. *Konversi*. **2**(1), 21-27.

Ulung, G. (2014). Sehat Alami dengan Herbal: 250 Tanaman Berkhasiat Obat. Jakarta. Gramedia Pustaka Utama.

Vasanthakumari, R. (2016). Textbook of Microbiology. India. Wolters Kluwer.

Wantenia, F., & Susanto, C. (2020). Pengaruh *Strobilanthes crispus* BI terhadap KHM dan KBM pada bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Fusobacterium nucleatum* secara *in-vitro*. *Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran Gigi*, **16**(1), 36-44.

Wibowo, D. P., Ismayadi, P., & Wati, D. D. K. (2020). Tanaman Obat Desa Air Selimang, Kecamatan Seberang Musi, Kabupaten Kepahyang, Bengkulu, Indonesia. Yogyakarta. Deepublish.

Wirawan, I. K. A., Suryani, S. A. M. P., & Arya, I. W. (2018). Diagnosa, analisis dan identifikasi parasit yang menyerang ikan nila (*Oreochromis Niloticus*) pada kawasan budidaya ikan di subak "baru" Tabanan. *Gema Agro*, **23**(1), 63-78.

Yasin, M. I. (2021). Determinasi residu antibiotik golongan *tetracycline* dan *quinolone* pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di Kabupaten Polewali Mandar menggunakan *high performance liquid chromatograph*. *Jurnal Ilmiah Maju*, **4**(1), 52-60.

Yulizar, Y., Apriandanu, D. O. B., & Ashna, R. I. (2020). La<sub>2</sub>CuO<sub>4</sub>-decorated ZnO nanoparticles with improved photocatalytic activity for malachite green degradation. *Chemical Physics Letters*, **755**, 137749.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat Penelitian



Autoklaf



Beaker Glass 1000 ml



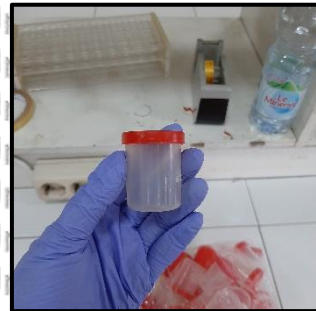
Biosafety cabinet



Blender



Blue tip



Botol Film



Yellow tip



Botol Vial



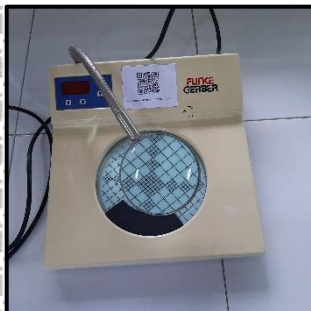
Bunsen



Lampiran 1. Alat Penelitian (Lanjutan)



Cawan Petri



Colony Counter



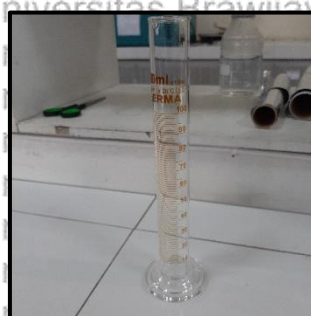
Corong



Destruktor



Erlenmeyer 500 ml



Gelas Ukur 100 ml



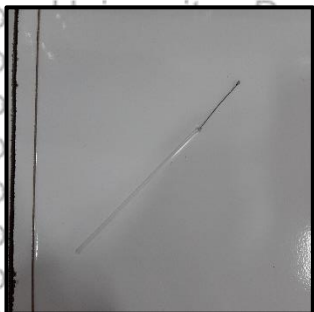
Gunting



Inkubator



Jangka Sorong Digital



Jarum Ose



Kompor Listrik



Korek Api



Lampiran 1. Alat Penelitian (Lanjutan)



Lemari Pendingin



Mikropipet 100-1000 µl



Mikropipet 10-200 µl



Mikroskop



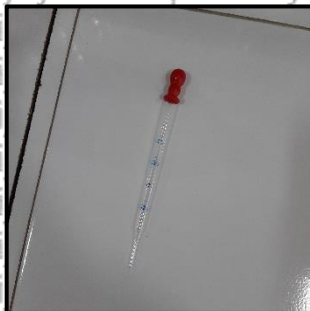
Nampan



Object Glass



Pinset



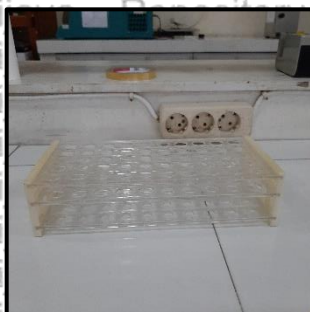
Pipet Tetes



Pipet Volume



Pipette Pump



Rak Tabung Reaksi



Rotary Vacuum Evaporator



Lampiran 1. Alat Penelitian (Lanjutan)



Spatula



Sprayer



Tabung Reaksi



Timbangan Analitik



Toples Kaca



Triangle



Vortex



Washing Bottle



Lampiran 2. Bahan Penelitian



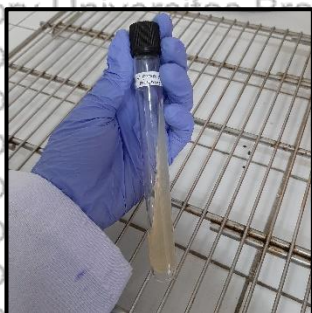
Aquades



Alkohol 70%



Alumunium Foil



Bakteri *V. parahaemolyticus*



Daun Keji Beling (*S. crispus*)



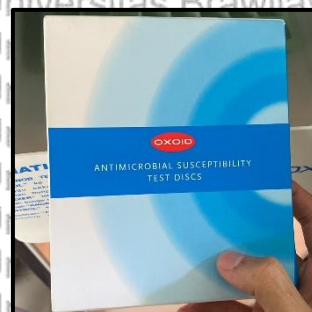
DMSO 10%



Kapas



Karet Gelang



Kertas Cakram



Kertas Saring



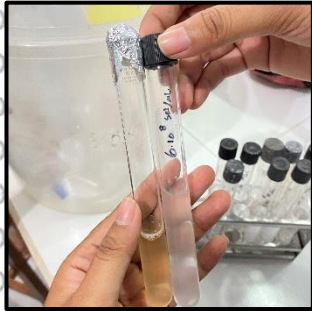
Larutan Iodin



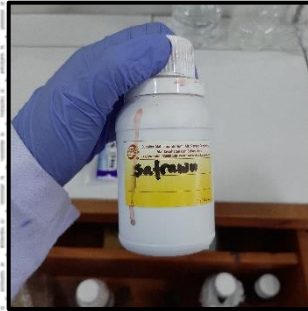
Larutan Kristal Violet



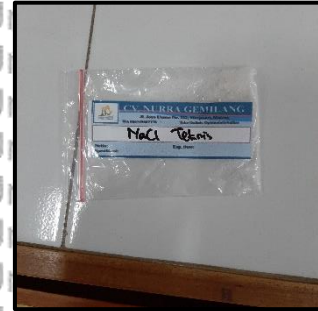
Lampiran 2. Bahan Penelitian (Lanjutan)



Larutan Mc Farland



Larutan Safranin



NaCl



Spiritus





TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Sukrose Agar*)



TSB (*Tryptic Soy Broth*)

Lampiran 3. Hasil Uji Fitokimia Daun Keji Beling (*S. crispus*)


**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**  
**DINAS KESEHATAN**  
**UPT LABORATORIUM HERBAL**  
**MATERIA MEDICA BATU**  
 Jl. Lahor 87 Kota Batu  
 Jl Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan  
 Jl Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang  
 Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id



Nomor : 074 / 029 / 102.7-D / 2022  
 Sifat : Biasa  
 Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon




Nama	NIM	Instansi
R.A. Safarina Nusantari L.K.A.	185080501111014	Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang
Jordy Muharnika	185080501111012	

2. Identitas Sampel  
 Nama sampel : Keji Beling  
 Nama latin : *Strobilanthes cisp*  
 Bagian sampel : Daun  
 Bentuk sampel : Ekstrak  
 Pelarut : Etanol 70%  
 Tanggal penerimaan : 8 Maret 2022  
 Tanggal pemeriksaan : 9 Maret 2022

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Alkaloid		
	Meyer	Endapan Putih	(-) Negatif
	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	(-) Negatif


4. Lampiran

Nama Sampel	Alkaloid		
	Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Ekstrak Daun Keji Beling			


Scanned by TapScanner






Lampiran 3. Hasil Uji Fitokimia Daun Keji Beling (*S. crispus*) (Lanjutan)



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**  
DINAS KESEHATAN  
**UPT LABORATORIUM HERBAL**  
**MATERIA MEDICA BATU**  
Jl. Lahor 87 Kota Batu  
Jl Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan  
Jl Kolonel Sugiono 457 - 459 Kota Malang  
Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id




Nama Sampel	Flavonoid	Tanin / Fenol	Saponin
Ekstrak Daun Keji Beling			

5. Pustaka

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

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 10 Maret 2022  
Kepala UPT Laboratorium Herbal  
Materia Medica Batu



**ACHMAD MABRUR, SKM, M.Kes**  
NIP. 19680203 199203 1 004

Scanned by TapScanner





Lampiran 4. Hasil Uji Biokimia Bakteri *V. parahaemolyticus*


**KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN**  
**DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA**  
**BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA AIR PAYAU**  
**LABORATORIUM UJI BBPAP JEPARA**  
 Alamat surat: PO Box 1 Jepara, Kantor: Jl. Cik Lanang – Btu Jepara 59418  
 Telp. : (0291) 591125, Faksimili : (0291) 591724  
 www.bbpbapjepara.djpb.kkp.go.id ; Email : bbpbapjpr@gmail.com

**HASIL UJI BIOKIMIA**

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

Uji Bio Kimia	Isolat <i>Vibrio</i> <i>parahaemolyticus</i>
Bentuk	batang
Gram	-
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. Kegiatan Penelitian

### a. Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Keji Beling (*S. crispus*)



1. Daun keji beling yang telah dikeringkan, dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk. Pengerinan dilakukan selama  $\pm$  4 hari.



2. Serbuk daun keji beling ditimbang sebanyak 200 gram menggunakan timbangan.



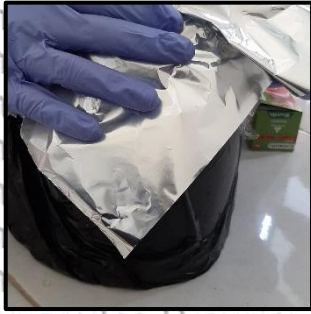
3. Serbuk daun keji beling dimasukkan kedalam toples kaca



4. Ethanol 70% dimasukkan kedalam toples kaca sebanyak 2000 ml. Diaduk hingga homogen.



## Lampiran 5. Kegiatan Penelitian (Lanjutan)



5. Toples kaca ditutup menggunakan *aluminium foil* dan plastik warp. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam dan setiap 24 jam dilakukan remaserasi.



6. Larutan disaring menggunakan kertas saring.



7. Larutan yang telah disaring dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator*.



8. Hasil evaporasi dikerok dan dimasukkan ke dalam botol film.



## Lampiran 5. Kegiatan Penelitian (Lanjutan)



9. Hasil evaporasi ditimbang.

### b. Proses Peremajaan Bakteri *V. parahaemolyticus*



1. TCBS ditimbang sebanyak 3,741 gram dan NaCl sebanyak 0,84 gram.



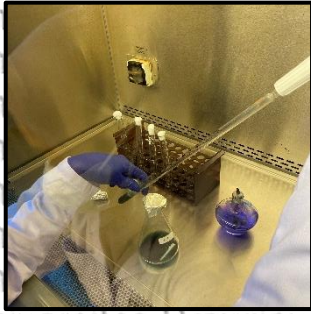
2. TCBS dan NaCl dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan akuades steril sebanyak 42 ml. Media dihomogenkan.



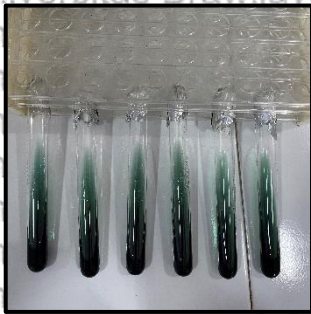
3. Media dipanaskan diatas kompor listrik.



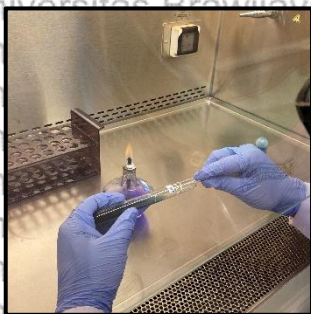
## Lampiran 5. Kegiatan Penelitian (Lanjutan)



4. Media dituang ke dalam tabung reaksi sebanyak 7 ml. Kemudian tabung reaksi ditutup dengan kapas dan aluminium foil.



5. Media dimiringkan dan ditunggu hingga mengeras.



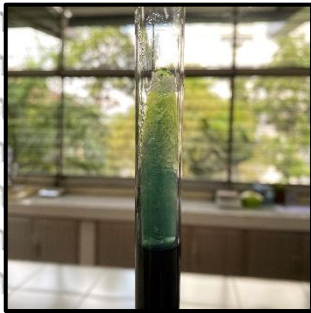
6. Bakteri *V. parahaemolyticus* diambil dari isolat murni menggunakan jarum ose dan digoreskan pada media agar miring dengan metode zig-zag.



7. Bakteri diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 32°C.



## Lampiran 5. Kegiatan Penelitian (Lanjutan)



8. Dilakukan pengamatan hasil peremajaan bakteri *V. parahaemolyticus*.

### c. Proses Kultur Bakteri *V. parahaemolyticus*



1. TSB ditimbang sebanyak 1,05 gram dan NaCl sebanyak 0,84 gram.



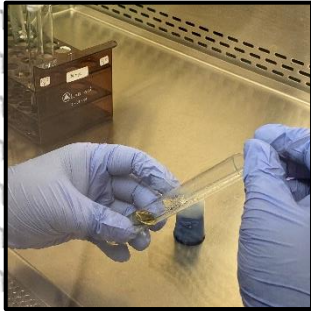
2. TSB dan NaCl dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan akuades steril sebanyak 35 ml. Media dihomogenkan.



3. Media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dan tekanan 1 atm selama  $\pm 15$  menit.



## Lampiran 5. Kegiatan Penelitian (Lanjutan)



4. Bakteri *V. parahaemolyticus* diambil sebanyak satu goresan menggunakan jarum ose, kemudian dicelupkan kedalam media TSB. Media TSB dihomogenkan menggunakan vortex.



5. Bakteri diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 32°C.

### d. Proses Pengenceran Na-Fis dan Penanaman Pada Media TCBS



1. NaCl ditimbang sebanyak 0,243 gram dan ditambahkan akuades sebanyak 27 ml.



2. Na-Fis dihomogenkan diatas kompor listrik.



## Lampiran 5. Kegiatan Penelitian (Lanjutan)



3. Na-Fis disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dan tekanan 1 atm selama  $\pm 15$  menit.



4. TCBS ditimbang sebanyak 9,354 gram dan NaCl sebanyak 2,1 gram.



5. TCBS dan NaCl dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan akuades steril sebanyak 42 ml. Media dihomogenkan.

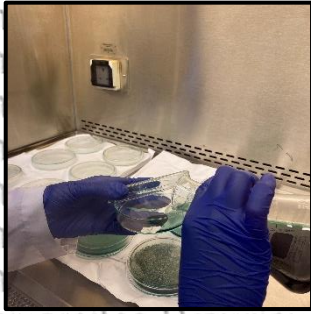


6. Media dihomogenkan diatas kompor listrik.





## Lampiran 5. Kegiatan Penelitian (Lanjutan)



7. Media dituang kedalam cawan petri sebanyak 15 ml. Kemudian didiamkan hingga mengeras.



8. Pengenceran bakteri dengan Na-Fis steril. Bakteri hasil kultur dimasukkan kedalam tabung berisi Na-Fis sebanyak 100  $\mu$ l. Pengenceran dilakukan sebanyak 1 kali untuk mendapatkan  $10^7$ . Kemudian dihomogenkan menggunakan vortex.



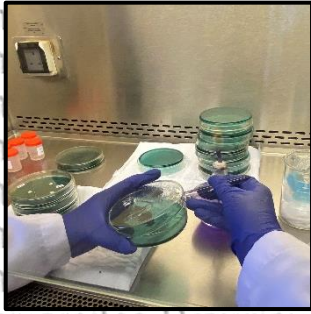
9. Dosis ekstrak kasar daun keji beling dibuat dengan campuran DMSO 10%. Dosis yang digunakan yaitu 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm dan 125 ppm, kontrol (+) dan kontrol (-).



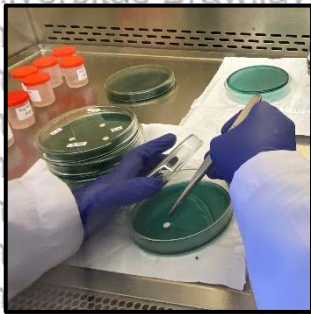
10. Kertas cakram direndam kedalam dosis ekstrak sebanyak 3 buah dan ditunggu  $\pm$  15 menit.



## Lampiran 5. Kegiatan Penelitian (Lanjutan)



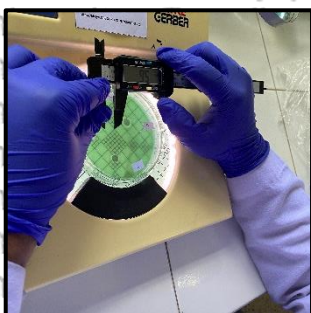
11. Bakteri hasil pengenceran diambil sebanyak 100  $\mu$ l kedalam cawan petri. Bakteri diratakan menggunakan *triangle*.



12. Kertas cakram yang telah direndam, dimasukkan kedalam cawan petri berisi bakteri. Kemudian cawan petri dilapisi dengan plastik wrap.



13. Bakteri diinkubasi selama 24 – 48 jam.



14. Bakteri diamati zona bening menggunakan jangka sorong.



## Lampiran 6. Perhitungan Dosis Ekstrak

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

a. Dosis 1000 ppm

Pembuatan dosis 1000 ppm bertujuan sebagai stok dosis. Stok dosis digunakan untuk pembuatan dosis 25 – 125 ppm.

$$1000 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ mg ekstrak kasar}}{10 \text{ ml (1 ml DMSO 10%+9 ml akuades steril)}}$$

b. Dosis 25 ppm

$$25 \text{ ppm} = \frac{25}{1000} \times 2 \text{ ml} = 0,05 \text{ ml}$$

$$0,05 \text{ ml} = 50 \text{ } \mu\text{l}$$

$$\text{Akuades} = 2 \text{ ml} - 0,05 \text{ ml} = 1,95 \text{ ml}$$

c. Dosis 50 ppm

$$50 \text{ ppm} = \frac{50}{1000} \times 2 \text{ ml} = 0,1 \text{ ml}$$

$$0,1 \text{ ml} = 100 \text{ } \mu\text{l}$$

$$\text{Akuades} = 2 \text{ ml} - 0,1 \text{ ml} = 1,9 \text{ ml}$$

d. Dosis 75 ppm

$$75 \text{ ppm} = \frac{75}{1000} \times 2 \text{ ml} = 0,15 \text{ ml}$$

$$0,15 \text{ ml} = 150 \text{ } \mu\text{l}$$

$$\text{Akuades} = 2 \text{ ml} - 0,15 \text{ ml} = 1,85 \text{ ml}$$

e. Dosis 100 ppm

$$100 \text{ ppm} = \frac{100}{1000} \times 2 \text{ ml} = 0,2 \text{ ml}$$

$$0,2 \text{ ml} = 200 \text{ } \mu\text{l}$$

$$\text{Akuades} = 2 \text{ ml} - 0,2 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml}$$

**Lampiran 6. Perhitungan Dosis Ekstrak (Lanjutan)**

f. Dosis 125 ppm

$$125 \text{ ppm} = \frac{125}{1000} \times 2 \text{ ml} = 0,25 \text{ ml}$$

$$0,25 \text{ ml} = 250 \mu\text{l}$$

$$\text{Akuades} = 2 \text{ ml} - 0,05 \text{ ml} = 1,75 \text{ ml}$$

g. Dosis Kontrol Positif Kloramfenikol 30 ppm

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



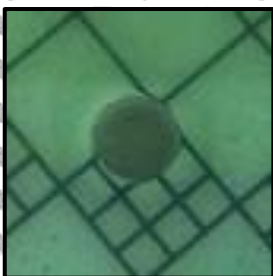
Lampiran 7. Foto Hasil Uji Cakram

1. Pengamatan Hasil Cakram

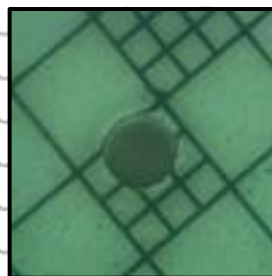
Perlakuan A (Dosis 25 ppm)



A1



A2



A3

Perlakuan B (Dosis 50 ppm)



B1



B2



B3

Perlakuan C (Dosis 75 ppm)



C1

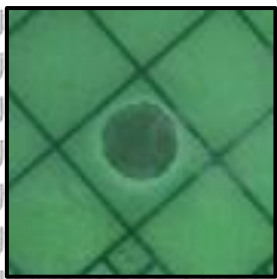


C2

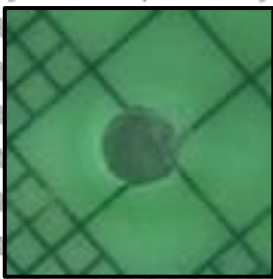


C3

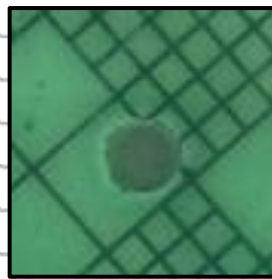
Perlakuan D (Dosis 100 ppm)



D1



D2



D3



Lampiran 7. Foto Hasil Uji Cakram (Lanjutan)

Perlakuan E (Dosis 125 ppm)



E1



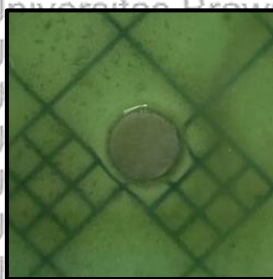
E2



E3

2. Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

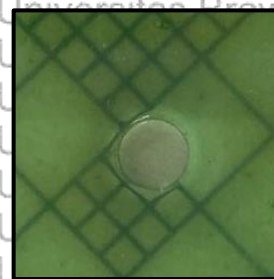
Kontrol Positif



K(+)-1

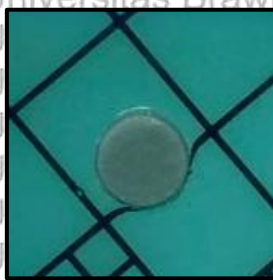


K(+)-2



K(+)-3

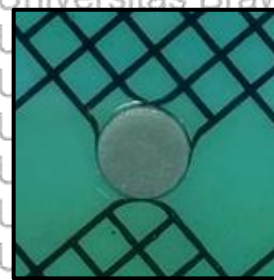
Kontrol Negatif



K(-)-1



K(-)-2



K(-)-3



**Lampiran 8. Analisis Data**

**1. Data Rerata Zona Hambat 48 Jam**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV (mm)
	1	2	3		
A (25 ppm)	7,9	7,9	7,5	23,3	7,77 ± 0,23
B (50 ppm)	7,8	8,6	8,3	24,7	8,23 ± 0,40
C (75 ppm)	8	9,6	8,4	26	8,67 ± 0,83
D (100 ppm)	9,3	9,8	8,6	27,7	9,23 ± 0,60
E (125 ppm)	9,4	9,9	8,7	28	9,33 ± 0,60
<b>Total</b>				<b>129,7</b>	

**2. Data Rerata Zona Hambat 24 Jam**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV (mm)
	1	2	3		
A (25 ppm)	8	7,6	7	22,6	7,53 ± 0,50
B (50 ppm)	8,2	7,8	8,2	24,2	8,07 ± 0,23
C (75 ppm)	8,5	8,8	8,2	25,5	8,50 ± 0,30
D (100 ppm)	8,6	9,7	8,4	26,7	8,90 ± 0,70
E (125 ppm)	8,7	9,8	8,3	26,8	8,93 ± 0,78
<b>Total</b>				<b>125,8</b>	

<b>Faktor Koreksi (FK)</b>	1055,04
<b>JK Total</b>	7,20
<b>JK Perlakuan</b>	4,22
<b>JK Galat</b>	2,98

a. Faktor Koreksi

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{G^2}{n}$$

$$= \frac{125,8^2}{15}$$

$$= 1055,04$$

b. JK Total

$$\begin{aligned} \text{JK Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + \dots + (E1)^2 + (E2)^2 + (E3)^2 - \text{FK} \\ &= (8)^2 + (7,6)^2 + (7)^2 + \dots + (8,7)^2 + (9,8)^2 + (8,3)^2 - 1055,04 \\ &= 7,20 \end{aligned}$$



Lampiran 8. Analisis Data (Lanjutan)

c. JK Perlakuan

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum D)^2 + (\sum E)^2}{3}$$

$$= \frac{(22,6)^2 + (24,2)^2 + (25,5)^2 + (26,7)^2 + (26,8)^2}{3}$$

$$= 4,22$$

d. JK Galat

$$JK \text{ Galat} = JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$$

$$= 7,20 - 4,22$$

$$= 2,98$$

3. Hasil Uji Homogenitas dan Uji Normalitas

Test of Homogeneity of Variances

Hasil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.919	4	10	.184

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hasil
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	8.3867
	Std. Deviation	.71700
Most Extreme Differences	Absolute	.149
	Positive	.149
	Negative	-.131
Kolmogorov-Smirnov Z		.576
Asymp. Sig. (2-tailed)		.894

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.





### Lampiran 8. Analisis Data (Lanjutan)

#### 4. Perhitungan Analisa Sidik Ragam

##### a. Db Total

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

##### b. Db Perlakuan

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

##### c. Db Galat

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

#### • Tabel Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	4,22	1,05	3,54**	3,48	5,99
Galat	10	2,98	0,30			
Total	14					

Keterangan : \*\*Berbeda Sangat Nyata

Hasil analisa sidik ragam menunjukkan nilai F hitung (3,54) lebih besar dibandingkan F tabel 5% (3,48) maka H<sub>0</sub> ditolak dan H<sub>1</sub> diterima yaitu perlakuan pemberian dosis memberikan pengaruh berbeda nyata. Selanjutnya dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan. Uji beda nyata terkecil (BNT) dilakukan dengan taraf kepercayaan 95%.



Lampiran 8. Analisis Data (Lanjutan)

5. Data Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

a.  $SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ galat}}{ulangan}(r)}$   
 $= \sqrt{\frac{2 \times 0,30}{3}}$   
 $= 0,45$

b.  $BNT \ 5\% = t \text{ tabel } 5\% \times SED$   
 $= 2,229 \times 0,45$   
 $= 0,99$

• Tabel Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	E	Notasi
		7,53	8,07	8,5	8,9	8,93	
A	7,53						a
B	8,07	0,54 <sup>ns</sup>					a
C	8,5	0,97 <sup>ns</sup>	0,43 <sup>ns</sup>				a
D	8,9	1,37*	0,83 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>			ab
E	8,93	1,4**	0,86 <sup>ns</sup>	0,43 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>		b

Keterangan :  
<sup>ns</sup>) Tidak Berbeda Nyata  
 \*) Berbeda Nyata  
 \*\*) Sangat Berbeda Nyata

• Tabel Uji Polynomial Orthogonal

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)			
		Linear	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A (25 ppm)	22,6	-2	2	-1	1
B (50 ppm)	24,2	-1	-1	2	-4
C (75 ppm)	25,5	0	-2	0	6
D (100 ppm)	26,7	1	-1	-2	-4
E (125 ppm)	26,8	2	2	1	1
$Q = \sum(TiCi)$		10,9	-3,1	-0,8	-1,2
$Kr = (\sum Ci^2) \cdot r$		30	42	30	210
$JK = Q^2 / Kr$		3,96	0,23	0,02	0,01



Lampiran 8. Analisis Data (Lanjutan)

• Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hit	F 5%
Perlakuan	4	4,22			4,96
Linear	1	3,96	3,96	13,29**	
Kuadratik	1	0,23	0,23	0,77 <sup>ns</sup>	
Kubik	1	0,02	0,02	0,07 <sup>ns</sup>	
Kuartik	1	0,01	0,01	0,02 <sup>ns</sup>	
Galat	10	2,98	0,30		

Keterangan :  
<sup>ns</sup>) Tidak Berbeda Nyata  
 \*\*) Sangat Berbeda Nyata

$$R \text{ Linier} = \frac{JK \text{ linier}}{JK \text{ linier} + JK \text{ galat}}$$

$$= \frac{3,96}{3,96 + 2,98}$$

$$= 0,57$$

$$R \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ kuadratik}}{JK \text{ kuadratik} + JK \text{ galat}}$$

$$= \frac{0,23}{0,23 + 2,98}$$

$$= 0,07$$

$$R \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ kubik}}{JK \text{ kubik} + JK \text{ galat}}$$

$$= \frac{0,02}{0,02 + 2,98}$$

$$= 0,01$$

Berdasarkan perhitungan diatas nilai F hitung linier sangat berbeda nyata.

Hal ini dibuktikan dengan nilai F hitung regresi linier lebih besar dibandingkan nilai regresi kuadratik dan nilai regresi kubik yaitu 0,07 dan 0,01. Berdasarkan hasil tersebut, maka laju kurva yang digunakan adalah kurva linier.



Lampiran 8. Analisis Data (Lanjutan)

• Tabel Persamaan Linier

	X	Y	XY	X <sup>2</sup>
	25	8	200	625
	25	7,6	190	625
	25	7	175	625
	50	8,2	410	2500
	50	7,8	390	2500
	50	8,2	410	2500
	75	8,5	637,5	5625
	75	8,8	660	5625
	75	8,2	615	5625
	100	8,6	860	10000
	100	9,7	970	10000
	100	8,4	840	10000
	125	8,7	1087,5	15625
	125	9,8	1225	15625
	125	8,3	1037,5	15625
Jumlah	1125	125,8	9707,5	103125
Rata – Rata	75	8,387		

Perhitungan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$= \frac{9707,5 - \frac{1125 \times 125,8}{15}}{103125 - \frac{(1125)^2}{15}}$$

$$= \frac{647,167}{18750}$$

$$= 0,0029$$

$$b_0 = y - b_1x$$

$$= 8,387 - (0,0029 \times 75)$$

$$= 8,1695$$



Lampiran 8. Analisis Data (Lanjutan)

$$R^2 = \frac{JK \text{ Regresi}}{JK \text{ Total Terkolerasi}}$$

$$= \frac{JK \text{ Regresi}}{JK \text{ Regresi} - JK \text{ Galat}}$$

$$= \frac{4,22}{4,22 + 2,98}$$

$$= 0,586$$

- Grafik hubungan daya hambat ekstrak daun keji beling (*S. crispus*) terhadap *V. parahaemolyticus*

