

repository.ub.ac.id

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK KASAR TERIPANG PASIR (*Holothuria scabra*)
DALAM MENGHAMBAT LAJU PERTUMBUHAN BAKTERI *Aeromonas*
hydrophila SECARA IN-VITRO**

SKRIPSI

PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Oleh :

AHMAD RIZQY AKBAR

NIM. 105080507111007



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2014

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK KASAR TERIPANG PASIR (*Holothuria scabra*)
DALAM MENGHAMBAT LAJU PERTUMBUHAN BAKTERI *Aeromonas*
hydrophila SECARA IN-VITRO**

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

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

Oleh :

AHMAD RIZQY AKBAR

NIM. 105080507111007



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK KASAR TERIPANG PASIR (*Holothuria scabra*)
DALAM MENGHAMBAT LAJU PERTUMBUHAN
BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA IN-VITRO**

Oleh :

AHMAD RIZQY AKBAR

NIM. 105080507111007

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 16 Juni 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I

(Prof.Dr. Ir. Sri Andayani, MS)
NIP.19611106 198602 2 001
Tanggal :

Dosen Penguji I

M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc
NIK. 860717 08 1 1 0092
Tanggal :

Dosen Pembimbing I

(Dr. Ir. Maftuch, M. Si)
NIP. 19630924 199803 2 002
Tanggal :

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc)
NIP. 19621014 198701 1 001
Tanggal :

**Mengetahui
Ketua Jurusan**

(Dr. Ir. Arning W. Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal:

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

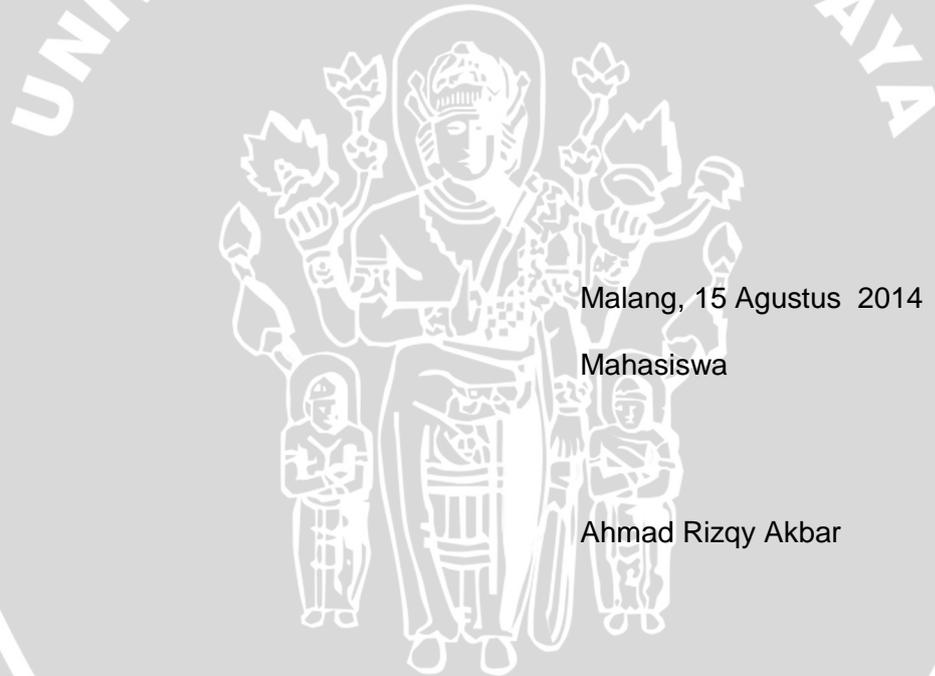
Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar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

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 15 Agustus 2014

Mahasiswa

Ahmad Rizqy Akbar



UCAPAN TERIMAKASIH

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

1. Allah SWT yang senantiasa mengiringi dan memberi petunjuk-Nya dalam setiap langkah serta, Nabi besar Muhammad SAW yang menjadi suri tauladan bagi umatnya.
2. Ucapan terima kasih, penulis persembahkan kepada Ibu dan Ayah tercinta, atas dorongan yang kuat, motivasi dan do'a yang tiada putusnya.
3. Bapak Dr. Ir. Maftuch, M.S selaku dosen pembimbing I, yang senantiasa dengan sabar dan telaten dalam membimbing penulis, meskipun masih saja banyak kekurangan yang penulis lakukan.
4. Ibu Dr. Ir M.Fadjar, MSc. selaku dosen pembimbing II, yang senantiasa memberi gagasan, ide, dukungan, dan motivasi kepada penulis untuk terus belajar dan belajar dan masukan yang beliau berikan untuk penulis.
5. Semua pihak yang telah membantu saya dan team holow-holow yang kompak selalu serta penulis tidak dapat menyebut satu persatu sehingga laporan skripsi ini dapat terselesaikan.



RINGKASAN

AHMAD RIZQY AKBAR. Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Glikosida Triterpen Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Dalam Menghambat Laju Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Secara *In-Vitro*. **Dr. Ir.Maftuch, MS.** dan **Dr. Ir. M.Fadjar, MSc**

Usaha budidaya perairan adalah salah satu upaya untuk memenuhi kebutuhan protein hewani dalam kebutuhan sehari-hari. Dalam usaha budidaya, kendala seperti penyakit ikan sering menjadi permasalahan. Salah satu penyakit yang sering menyerang pada ikan budidaya disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Selama ini pencegahan terhadap serangan bakteri umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia. pemberian antibiotik berkepanjangan dapat menyebabkan organism menjadi resisten. Selain itu, residu dari antibiotik dan bahan kimia dapat mencemari lingkungan perairan. Teripang pasir (*Holothuria scabra*) berpotensi menjadi sumber biofarma baru melalui proses pemisahan senyawa aktif atau ekstraksi. Senyawa yang terkandung dalam teripang adalah lektin, sterol, saponin/triperten glikosida. Senyawa bioaktif terbesar pada tubuh teripang adalah saponin (glikosida triterpen, beberapa saponin atau glikosida bekerja sebagai antimikroba

Penelitian Ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Sentra Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya, Laboratorium Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malik Ibrahim Malang pada tanggal 3 Februari sampai 29 April 2014.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu mengadakan percobaan untuk melihat suatu hasil dan rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), menggunakan 5 perlakuan dan 1 kontrol konsentrasi ekstrak kasar glikosida triterpen yaitu : konsentrasi (A) 50 ppt; (B) 100 ppt ; (C) 150 ppt; (D) 200 ppt, (E) 250 ppt dan (K) 0 ppt. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak kasar glikosida triterpen memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *A.hydrophila*, perlakuan A memiliki rata-rata diameter hambatan sebesar 8 mm dengan konsentrasi 50 ppt. Perlakuan B dengan konsentrasi 100 ppt sebesar 9,47 mm. Perlakuan C dengan konsentrasi 150 sebesar 10,07 mm. Perlakuan D dengan konsentrasi 200 ppt adalah 12,67 mm dan Perlakuan D dengan konsentrasi 200 ppt adalah 11,07 mm.

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah ekstrak kasar glikosida triterpen dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* dan konsentrasi yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah konsentrasi 200 ppt Saran dari hasil penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak kasar glikosida triterpen secara langsung pada ikan air tawar yang terserang bakteri *A.hydrophila*.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas limpahan nikmat serta karunia-Nya, maka penyusunan laporan skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Laporan skripsi dengan judul “**Uji Efektivitas Ekstrak Glikosida Triterpen Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*) Dalam Menghambat Laju Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Secara In-Vitro**” ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Laporan ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada tanggal pada tanggal 3 Februari sampai 29 April 2014.

Tidak lupa penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada:

- Dr. Ir.Maftuch, M. S, selaku dosen pembimbing 1 yang telah membimbing pelaksanaan penelitian dan penulisan laporan
- Dr. Ir. M.Fadjar, M.Sc, selaku dosen pembimbing 2 yang telah membimbing dan memotivasi dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan laporan

Penulis menyadari bahwa laporan skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan dan keterbatasan. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan. Besar harapan penulis bahwa semoga tulisan ini bermanfaat untuk semua pihak dan dapat dijadikan sebagai bahan informasi di bidang perikanan.

Malang, 15 Agustus 2014

Penulis

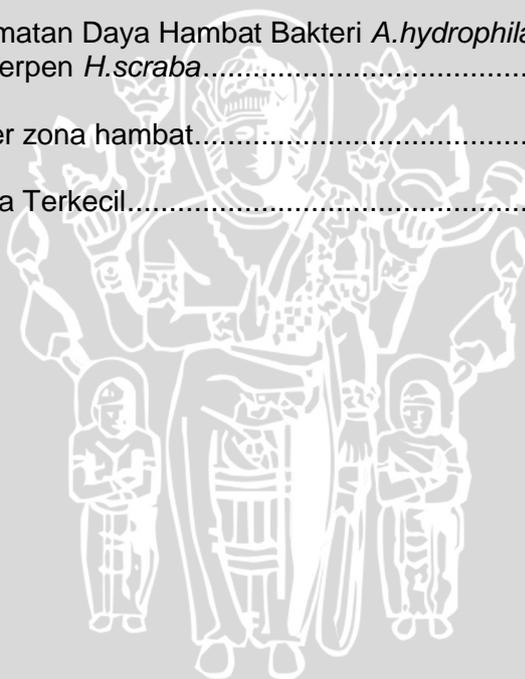
DAFTAR ISI

	Halaman
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI	iv
UCAPAN TERIMAKASIH.....	v
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Tempat dan Waktu Penelitian.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Biologi Teripang	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Teripang	5
2.1.2 Habitat dan Penyebaran Teripang	6
2.1.3 Manfaat dan Kegunaan.....	7
2.1.4 Kandungan Bioaktif.....	8
2.1.5 Glikosida Triterpenoid	9
2.1.6 Ekstraksi	9
2.2 Bakteri <i>A. hydrophila</i>	10
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>A. hydrophila</i>	10
2.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan <i>A. hydrophila</i>	11
2.2.3 Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	12
2.3 Uji Daya Hambat Antibakteri <i>In - Vitro</i>	13
3. METODE PENELITIAN.....	15
3.1 Metode Penelitian.....	15
3.1.1 Alat Penelitian	15

3.1.2	Bahan.....	15
3.2	Metode Penelitian.....	15
3.3	Rancangan Penelitian	16
3.4	Prosedur Penelitian	18
3.4.1	Persiapan Penelitian Ekstraksi.....	18
3.4.2	Sterilisasi tempat perlakuan	21
3.4.3	Persiapan Kultur Bakteri	22
3.4.4	Pembiakan Bakteri <i>A. hydrophila</i>	23
3.4.5	Penelitian Pendahuluan	24
3.5	Pelaksanaan Penelitian.....	24
3.5.1	Uji Cakram	24
3.6	Parameter Uji	25
3.7	Analisis Data	26
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1	Hasil Uji Pendahuluan Fitokimia	27
4.2	Pembiakan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	28
4.3	Daya Antibakterial Ekstrak Kasar Glikosida Triterpen <i>H. scraba</i>	29
4.3.1	Uji Cakram Pengamatan 24 Jam	29
4.3.2	Uji Cakram Pengamatan 48 Jam	33
4.4	Suhu Inkubator.....	37
5.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
5.1	Kesimpulan	38
5.2	Saran	38
	DAFTAR PUSTAKA.....	39
	LAMPIRAN	43

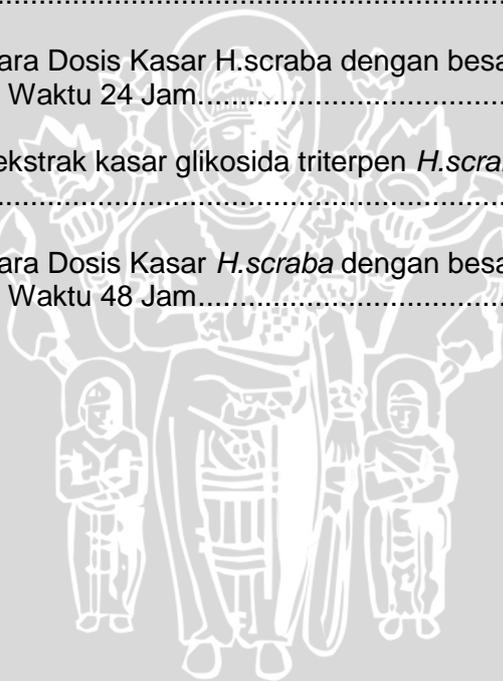
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rancangan Perlakuan In vitro.....	17
2. Hasil uji fitokimia Ekstrak Kasar <i>H.scraba</i>	27
3. Rerata Hasil Pengamatan Daya Hambat Bakteri <i>A.hydrophila</i> terhadap ekstrak Kasar Glikosida Triterpen <i>H.scraba</i>	30
4. Sidik ragam diameter zona hambat.....	31
5. Tabel Uji Beda Nyata Terkecil.....	31
6. Rerata Hasil Pengamatan Daya Hambat Bakteri <i>A.hydrophila</i> terhadap ekstrak Kasar Glikosida Triterpen <i>H.scraba</i>	33
7. Sidik ragam diameter zona hambat.....	34
8. Tabel Uji Beda Nyata Terkecil.....	35



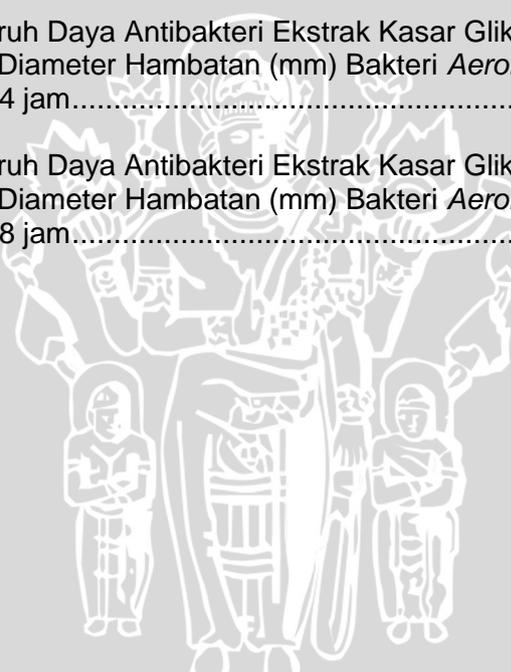
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Teripang Pasir (<i>H. Scrava</i>) (Aras,2013)	5
2. Koloni Bakteri <i>A.hydrophila</i>	11
3. Denah penelitian <i>in vitro</i>	17
4. Kerangka operasional kegiatan persiapan	18
5. Biakan murni <i>Aeromonas hydrophila</i> metode streak (gores)	29
6. Besar Daya hambat ekstrak kasar glikosida triterpen <i>H.scraba</i> terhadap bakteri <i>A.hydrophila</i>	30
7. Kurva Hubungan Antara Dosis Kasar <i>H.scraba</i> dengan besarnya daya hambat bakteri Pada Waktu 24 Jam	32
8. Besar Daya hambat ekstrak kasar glikosida triterpen <i>H.scraba</i> terhadap bakteri <i>A.hydrophila</i>	34
9. Kurva Hubungan Antara Dosis Kasar <i>H.scraba</i> dengan besarnya daya hambat bakteri Pada Waktu 48 Jam	35



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan Penelitian.....	43
2. Bagan Pembuatan Fraksi N – Butanol <i>H. scabra</i>	45
3. Penentuan Konsentrasi Ekstrak Kasar Glikosida Triterpen <i>H.sraba</i> untuk Perendaman Cakram	46
4. Bagan Uji pendahuluan Penentuan Fraksi secara Invitro menggunakan <i>A.hydrophila</i>	48
5. Hasil Penguatan Penelitian Daya Hambat <i>A.hydrophila</i>	52
6. Analisis Data Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Kasar Glikosida Triterpen <i>H.scraba</i> Terhadap Diameter Hambatan (mm) Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> pada pengamatan 24 jam.....	57
7. Analisis Data Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Kasar Glikosida Triterpen <i>H.scraba</i> Terhadap Diameter Hambatan (mm) Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> pada pengamatan 48 jam.....	58



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Budidaya perikanan merupakan bentuk pemeliharaan dan penangkaran berbagai macam hewan atau tumbuhan perairan, yang dimulai dari proses pemeliharaan untuk meningkatkan produksi, seperti penebaran yang teratur, pemberian pakan, perlindungan terhadap pemangsa (predator) pencegahan terhadap serangan penyakit dan pemanenan (Khurio, 2011). Usaha budidaya perikanan merupakan salah satu sektor produksi pangan yang sangat cepat perkembangannya di dunia. Meningkatnya usaha budidaya intensif di Indonesia, negara-negara Asia Tenggara dan Asia Timur seperti, Thailand, Vietnam dan India juga diikuti dengan meningkatnya wabah penyakit yang ditimbulkan oleh golongan parasit, bakteri, virus dan jamur (Murtiati dan Endang, 1998).

Salah satu bakteri penyebab penyakit ikan adalah bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Aeromonas* termasuk bakteri gram negatif, tersebar luas pada perairan baik perairan air tawar maupun laut, bersifat oportunistik dan terdapat pada usus ikan sehat (Swann and White, 1989 dalam Suhermanto, Andayani dan Maftuch, 2011). *A. hydrophila* umumnya menyebabkan infeksi pada seluruh tubuh disertai dengan pendarahan pada organ dalam tubuh ikan. Bakteri ini dapat menyebar secara cepat pada padat penebaran tinggi yang bias mengakibatkan kematian benih sampai 90% (Prajitno, 2007).

Penelitian penggunaan obat-obatan dan antibiotik sudah banyak diterapkan untuk penanggulangan penyakit ikan, seperti penggunaan tetracycline (Jun *et al.*, 2010) tetapi hasilnya masih kurang memuaskan. Penggunaan bahan

- bahan kimia tersebut juga menimbulkan masalah baru yaitu dapat meningkatkan pencemaran lingkungan (Rairakhwada *et al.*, 2007), adanya akumulasi residu antibiotik dalam jaringan ikan akan mempengaruhi pertumbuhannya dan resistensi terhadap obat-obatan serta adanya *imunosupresi* (Maqsood *et al.*, 2009). Upaya menghindari dampak negatif penggunaan antibiotik dan obat - obatan tersebut diatas, diperlukan berbagai metode untuk dapat meningkatkan kekebalan ikan terhadap penyakit dalam suatu kegiatan usaha budidaya ikan air tawar (Selvaraj *et al.*, 2006).

Salah satu alternatif yang digunakan untuk mengatasi permasalahan serangan penyakit adalah mengganti penggunaan antibiotik dengan bahan alami yang dapat dijadikan sebagai antibakteri (Rinawati, 2012). Bahan alami adalah berasal dari lautan yang belum dikembangkan secara maksimal adalah Teripang (*Holothuria* sp.) (Rohiana *et al.*, 2012). Teripang pasir (*Holothuria scabra*) berpotensi menjadi sumber biofarma baru melalui proses pemisahan senyawa aktif atau ekstraksi. Bordbar *et al.* (2011) dalam Pranoto *et al.*, (2012) melaporkan bahwa ekstrak dari *H. scabra* di Asia menunjukkan aktivitas anti mikroba, anti bakteri, dan anti jamur. Bahan alami yang dapat digunakan untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh ikan adalah teripang pasir (*Holonturia scraba*).

Senyawa yang terkandung dalam teripang adalah lektin, sterol, saponin/triperten glikosida (Tian *et al.*, 2007). Senyawa bioaktif terbesar pada tubuh teripang adalah saponin (glikosida triterpen) (Dyick *et al.*, 2010). Beberapa saponin atau glikosida bekerja sebagai antimikroba. Steroid saponin dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenal sebagai saraponin. Saponin triterpenoid atau glikosida triterpen tersusun atas inti triterpenoid dengan molekul karbohidrat. Dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang disebut sapogenin (Robinson,1995). Sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut daya hambat

ekstrak kasar glikosida triterpen teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap bakteri *A. hydrophila* secara *in-vitro*.

1.2 Perumusan Masalah

Dalam kegiatan budidaya, kegagalan yang dialami biasanya terjadi dikarenakan terserangnya penyakit. Penyakit yang sering menyerang biasanya dari golongan bakteri, dimana salah satunya adalah bakteri *A. hydrophila*. Bakteri *A. hydrophila* termasuk bakteri yang paling sering menyebabkan wabah pada ikan yang dibudidayakan maupun ikan yang hidup bebas pada air tawar (Bima, 2009). Salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah tersebut adalah dengan menggunakan Teripang (*Holothuria* sp.) yang memiliki kandungan bioaktif berupa glikosida triterpen sebagai bahan antibakteri (Lawrence A *et al.*, 2009 dalam Roihanah *et al.*, 2011). Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan sebagai berikut :

- Apakah pemberian ekstrak kasar glikosida triterpen teripang pasir (*Holothuria scabra*) berpengaruh terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* secara In-Vitro.
- Berapa dosis ekstrak kasar glikosida triterpen teripang pasir (*Holothuria scabra*) yang optimal untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* Secara In-Vitro.

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun Tujuan penelitian ini adalah

- Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar glikosida triterpen dari teripang pasir (*Holoturia scabra*) terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* secara In-Vitro.

- Untuk mengetahui berapa dosis ekstrak kasar glikosida triterpen teripang pasir (*Holothuria scabra*) yang optimal untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* secara In-vitro.

1.4 Hipotesis

- H_0 : Diduga penggunaan ekstrak kasar glikosida triterpen Teripang pasir (*H.scraba*) dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh pada daya hambat bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*
- H_1 : Diduga penggunaan ekstrak kasar glikosida triterpen Teripang pasir (*H.scraba*) dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh pada daya hambat bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*.

1.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian Ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Sentra Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya, Laboratorium Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malik Ibrahim Malang Malang pada tanggal 3 Februari sampai 29 April 2014.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Teripang

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Teripang

Menurut Grzimek (1974) dalam Cholik *et al.*, (2005) secara garis besar jenis teripang dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Filum	: Echinodermata
Sub Filum	: Echinozoa
Kelas	: Holothuroidea
Sub Kelas	: Aspidochirotea
Ordo	: Aspidochirotida
Famili	: Holothuriidae
Genus	: <i>Holothuria sp</i>
Spesies	: <i>Holothuria sp scabra</i>

Morfologi teripang pasir (*Holothuria sp*) adalah bulat panjang (elongated cylindrical) sepanjang oral-aboral. Warna teripang pasir berbeda-beda antara lain putih, hitam, abu-abu jingga, coklat kehijauan, kuning, ungu dan berpola garis. Teripang pasir mempunyai dorsal berwarna abu-abu kehitaman dengan bintik putih atau kuning. Permukaan tubuh teripang tidak bersilia dan diselubungi lapisan kapur yang ketebalannya dipengaruhi oleh umur. Dibawah lapisan kulit terdapat satu lapis. Teripang pasir dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 1. Teripang Pasir (*H. scabra*) (Aras,2013)

Teripang biasanya terletak secara horizontal di atas substrat dengan sisi ventral yang disebut trivium karena mempunyai tiga ambulakrum. Permukaan dorsal dinamakan bivium, memiliki dua ambulakrum. Teripang tidak mempunyai lengan, sedang mulut dan anus terletak pada ujung poros berlawanan. Mulut dikelilingi oleh tentakel berjumlah 10-30 buah, merupakan modifikasi dari kaki podia (kaki tabung). Tentakel ini bagian dari sistem peredaran air, yang seluruhnya dapat disembunyikan ke dalam dinding tubuhnya karena kontraksi otot retraktor tentakel dan retraktor mulut (Sendih dan Gunawan, 2006).

Saluran pencernaan panjang terbentang dalam rongga tubuh. Esofagus yang pendek merupakan penghubung antara mulut dan lambung, selanjutnya usus panjang bermuara dalam kloaka berotot dan berakhir dengan anus. Dari kloaka timbul 2 saluran bercabang seperti pohon yaitu pohon respirasi. Pohon respirasi ini berpangkal dari kloaka dan memanjang ke dalam rongga tubuh. Air dipompa masuk dan keluar ke saluran ini oleh kloaka yang berfungsi sebagai alat respirasi dan ekskresi (Aras, 2013).

Secara morfologi, teripang tidak dapat dibedakan jenis kelaminnya. Dengan adanya proses regenerasi organ dalam (usus dan gonad akan terbentuk kembali setelah dikeluarkan), maka cara yang digunakan untuk menentukan jenis kelamin hewan ini dengan melakukan stripping (pengurutan) atau pembedahan (Martoyo *et al.*, 2006).

2.1.2 Habitat dan Penyebaran Teripang

Pada umumnya teripang hidup sebagai bentik di tempat berpasir atau tempat yang agak lunak (pasir berlumpur). Teripang dapat ditemukan hampir di seluruh perairan pantai, mulai daerah pasang surut yang dangkal sampai perairan yang lebih dalam. Untuk hidupnya, teripang lebih menyukai perairan yang jernih dan airnya relatif tenang (Andari *et al.*, 1988). Hewan

ini bergerak lambat di dasar perairan yang gelap, di bawah batu, di sela-sela lamun dan karang atau menguburkan diri di dalam pasir (Martoyo *et al.*, 2007).

Hasil penelitian di perairan terumbu karang Pulau Bunaken Sulawesi Utara diperoleh 10 jenis dan di perairan Tanimbar, Maluku Tenggara diperoleh 12 jenis sedangkan Yusron (2004) menemukan 12 jenis teripang di perairan Kai Kecil, Maluku Tenggara, di perairan pantai Morella Ambon menemukan sepuluh jenis teripang di perairan Teluk Kotania Seram Barat, menemukan 12 jenis teripang Maluku Tengah, menemukan 11 jenis teripang yang mempunyai nilai ekonomi penting di perairan Teluk Saleh, Sumbawa-Nusa Tenggara Barat.

Teripang umumnya menempati ekosistem terumbu karang dengan perairan yang jernih, bebas dari polusi, air relatif tenang dengan mutu air yang cukup baik. Habitat yang ideal bagi teripang adalah air laut dengan salinitas 29-33 ‰ yang memiliki kisaran pH 6,5-8-5, kecerahan air laut 50-150 cm, kandungan oksigen terlarut 4-8 ppm, dan suhu air laut berkisar antara 20-25°C (Wibowo *et al.*, 1997).

2.1.3 Manfaat dan Kegunaan

Menurut Matraga (2005) teripang sudah ratusan tahun digunakan sebagai obat-obatan di Cina. Menurut Wibowo *et al.*, (1997) teripang mengandung bahan bioaktif (antioksidan) yang berfungsi mengurangi kerusakan sel jaringan tubuh. Hasil penelitian Kaswandi *et al.*, (2000) menunjukkan bahwa ekstraksi komponen antibakteri dari teripang (*H.acabunda*) cukup efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Vibrio amselae*. Ekstrak teripang juga menunjukkan aktifitas antiprotozoa dan menghambat sel tumor. Serta juga sebagai penyembuh luka dan

antithrombotic yaitu untuk mengurangi pembekuan darah didalam saluran darah sehingga dapat mengurangi resiko penyakit stroke dan jantung (Farouk *et al.*, 2007).

Dari hasil penelitian Hua *et al.* (2009) menyatakan bahwa triterpen glikosida diisolasi dari *H.scraba* mampu melawan pertumbuhan beberapa jenis fungi, yaitu *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *candida pseudotropicalis*, *Trichophyton rubrum*, *Fonsecaea compacta*, *Aspergillus fumigates*, *Microsporium gypseum*. Triterpen glikosida juga diketahui dapat berfungsi sebagai anti tumor dan anti kanker. Glikosida triterpen memiliki peran yang kuat sebagai imunostimulator yaitu dengan menstimulasi aktivitas lisosom makrofag menciit (Aminin *et al.*, 2001).

2.1.4 Kandungan Bioaktif

Teripang diketahui bermanfaat sebagai bahan baku obat karena banyak mengandung senyawa bioaktif. Beberapa senyawa yang telah berhasil diekstrak adalah saponin, triterpen glikosida, *chondroitin sulphate*, neuritogenic gangliosides, 12 – methyltetradecanoic acid (12- MTA), dan lektin (Mayer dan Gustafson, (2008) dalam suhermanto, (2011)). Senyawa triterpen glikosida merupakan senyawa yang dominan dihasilkan oleh teripang. Salah satu triterpen glikosida pada teripang dikenal adalah holothurin. Menurut Zhang *et al.*, (2006), senyawa triterpen glikosida memiliki pengaruh biologi seperti anti jamur, sitotoksik melawan sel tumor, hemolitik, dan aktivitas sistem kekebalan tubuh. Studi di Cina mengungkapkan bahwa senyawa saponin pada tripang mempunyai suatu struktur yang serupa dengan komponen ginseng yang aktif dan menunjukkan adanya aktivitas anti kanker.

Teripang jenis *Holothuria sp* dapat digunakan sebagai imunostimulan karena mengandung komponen senyawa yang berperan dalam

penanggulangan penyakit ikan. Senyawa di dalam teripang antara lain lektin, sterol, saponin/triperten glikosida, mineral, polifenol, flavonoid (Mamelona *et al.*, 2007 dalam Suhermanto *et al.*, 2011).

2.1.5 Glikosida Triterpenoid

Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba. Dikenal juga jenis saponin yaitu glikosida triterpenoid dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai spirotekal. Kedua saponin ini larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter. Aglikonya disebut sapogenin, diperoleh dengan hidrolisis dalam suasana asam atau hidrolisis memakai enzim (Robinson, 1995). Saponin merupakan glikosida yang memiliki aglikon berupa steroid dan triterpen. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C 27) dengan molekul karbohidrat. Steroid saponin dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenal sebagai saraponin. Saponin triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan molekul karbohidrat. Dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang disebut sapogenin. Masing-masing senyawa ini banyak dihasilkan di dalam tumbuhan (Hartono, 2009)

Saponin triterpenoid atau glikosida triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan molekul karbohidrat. Dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang disebut sapogenin ini merupakan suatu senyawa yang mudah dikristalkan lewat asetilasi sehingga dapat dimurnikan. Tipe saponin ini adalah turunan - amyrine (Amirtpal, 2002).

2.1.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan suatu zat dari campurannya dengan pembagian sebuah zat terlarut antara dua pelarut yang tidak dapat tercampur untuk mengambil zat terlarut tersebut dari satu pelarut ke pelarut yang lain. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa

komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Sudjadi, 1986).

Proses ekstraksi terdiri dari penghancuran bahan, penimbangan, perendaman dengan pelarut, penyaringan, dan tahap pemisahan. Perendaman yang dilakukan dengan cara maserasi. Maserasi merupakan cara penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia (bahan alami) dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari (Suryandari, 1981).

2.2 Bakteri *A. hydrophila*

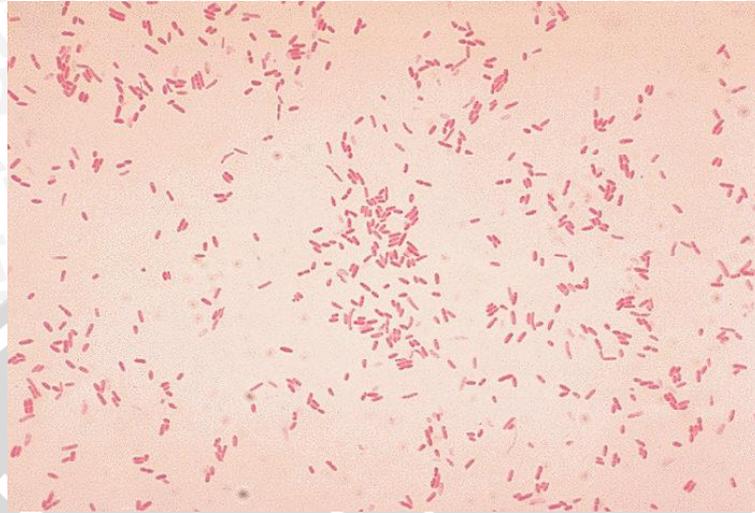
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi *A. hydrophila*

Menurut Janda dan Sharon (2010) dalam Sari (2013), klasifikasi bakteri *A. hydrophila* adalah sebagai berikut :

Filum	: Protobacteria
Klas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Aeromonadales
Family	: Aeromonadaceae
Genus	: Aeromonas
Spesies	: <i>A. hydrophila</i>

Secara morfologis bakteri ini berbentuk batang pendek dengan ukuran 1,0-1,5 μm dan lebar 15,7-15,8 μm , termasuk bakteri gram negatif, bersifat motil, bergerak dengan satu polar flagella, oksidatif fermentatif, termasuk bakteri fakultatif anaerobik dan merupakan bakteri penyebab penyakit *Haemorrhagic septicaemia* yaitu bakteri yang merusak jaringan dan organ pembuat sel darah. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah 37°C (Kabata, 1985 dalam

Samsundari, 2006). Penampang secara mikroskopik bakteri *A. hydrophila* disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Koloni Bakteri *A. hydrophila*

2.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan *A. hydrophila*

Menurut Prajitno (2007), bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri fakultatif anaerob, yaitu bakteri yang dapat berkembang dalam keadaan dengan atau tanpa oksigen, meskipun perkembangannya lebih cepat pada lingkungan yang ada oksigen. Bakteri fakultatif anaerob akan tersebar di seluruh medium jika diinokulasi pada medium cair, bersifat heterotropik, yaitu mampu mengoksidasi bermacam-macam persenyawaan organik sebagai sumber karbon.

Mangunwardoyo, Ismayasari dan Riani (2010) menyatakan bahwa bakteri *Aeromonas* diperkirakan mencapai pertumbuhan optimal pada fase eksponensial, yaitu pada jam ke 4 – ke 12. Bakteri selanjutnya mengalami fase stasioner pada masa inkubasi sampai 48 jam. Pada fase tersebut, presentase antara bakteri hidup dan mati adalah sama. Bakteri mengalami fase kematian setelah melewati fase 24 jam. Kondisi tersebut terkait dengan ketersediaan nutrisi dan lingkungan yang tepat untuk kehidupan bakteri tersebut.

A. hydrophila termasuk kelompok bakteri gram negatif yang tumbuh maksimal pada kisaran suhu 38°C-41°C dan pertumbuhan minimal pada suhu 0°C-50°C dengan kisaran pH 5,5-9 (Arifianto dan Liviawaty, 1992). Sutjiati (2004), menambahkan bahwa bakteri *A. hydrophila* biasanya muncul pada musim kemarau karena pada saat tersebut kandungan bahan organik di perairan relatif tinggi. Bakteri *A. hydrophila* berperan dalam penguraian bahan organik sehingga sering ditemukan di perairan yang subur. Kandungan oksigen yang rendah, suhu yang tinggi, akumulasi bahan organik atau sisa metabolisme ikan dan padat tebar ikan yang tinggi sangat menunjang perkembangbiakan bakteri ini.

2.2.3 Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Menurut Cipriano (2001), *A. hydrophila* adalah bakteri gram negatif dan merupakan penyebab penyakit pada ikan air tawar. Gejala penyakit yang ditimbulkan bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan terjadinya kerusakan pada sirip dan ekor, sisik, pendarahan pada pangkal ekor dan kerusakan insang dan organ dalam ikan.

Pada kondisi normal, *out break* penyakit tidak muncul, tetapi interaksi dengan lingkungan perairan, kondisi inang dan patogen yang tidak harmonis akan mudah menyebabkan munculnya penyakit. Oleh karena itu, penyebaran penyakit yang disebabkan oleh *A. hydrophila* ini cepat sekali penyebarannya, sehingga perlu suatu upaya penanggulangan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen ini (Wardiyanto *et al.*, 2008).

Menurut Amlachler (1961) dalam Sholikhah (2009), penyakit ikan yang disebabkan oleh bakteri ini dapat terjadi dalam empat tingkat berbeda, yaitu:

- Laten, tidak memperlihatkan gejala penyakit, namun pada organ dalam terdapat bakteri penyebab penyakit

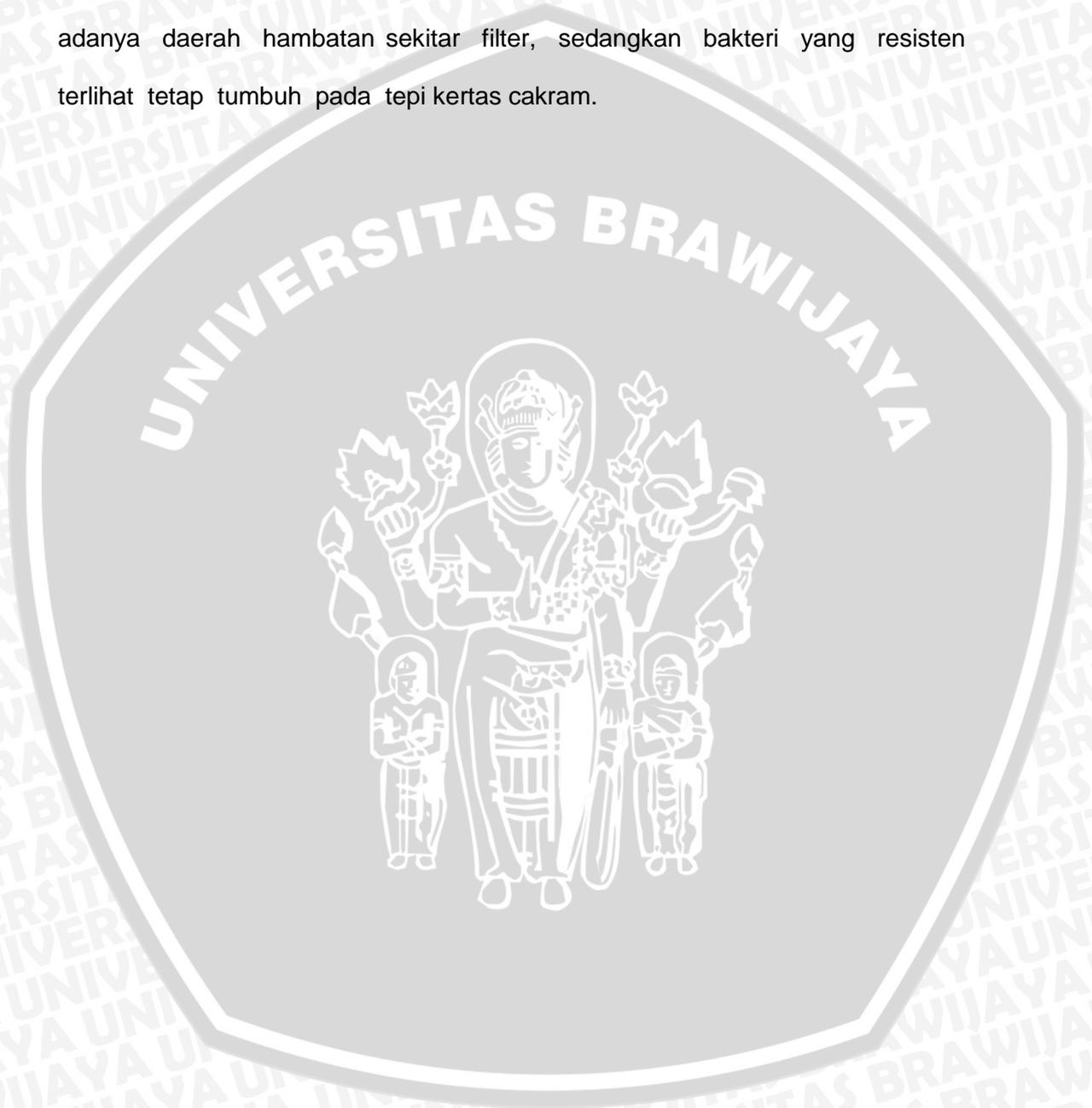
- Kronis, terlihat gejala tukak, bisul-bisul, dan abses yang perkembangannya berlangsung lama
- Sub akut, terlihat gejala dropsi, lepuh, dan pendarahan pada sisik.
- Akut, merupakan septisemia yang fatal, infeksi cepat dengan akibat tanda-tanda penyakit yang terlihat

2.3 Uji Daya Hambat Antibakteri *In - Vitro*

Menurut Tortoa (2001) pengujian aktivitas bahan antimikroba secara *in vitro* dapat dilakukan dengan dua cara yaitu: metode dilusi dan metode difusi agar. Metode dilusi biasa digunakan untuk menentukan KHM (kadar hambat minimum) dan KMM (kadar mematikan minimum) dari bahan antimikroba. Prinsip dari metode dilusi adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi medium cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Selanjutnya masing masing tabung diisi dengan bahan antimikroba yang telah diencerkan secara serial, kemudian seri tabung diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan konsentrasi terendah bahan antimikroba pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan jamur adalah merupakan konsentrasi hambat minimum). Biakan dari semua tabung yang jernih ditumbuhkan pada medium agar padat, diinkubasi selama 24 jam, dan diamati ada tidaknya koloni jamur yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan pada medium padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri adalah merupakan konsentrasi bunuh minimum bahan antimikroba terhadap bakteri uji.

Metode difusi agar dilakukan dengan cara menempatkan kertas filter yang sudah mengandung bahan antimikroba tertentu pada medium lempeng padat yang telah dicampur dengan bakteri yang akan diuji. Medium ini

kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam, selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih disekitar kertas filter. Daerah jernih yang tampak disekeliling kertas filter menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba bakteri yang sensitif terhadap bahan antimikroba akan ditandai dengan adanya daerah hambatan sekitar filter, sedangkan bakteri yang resisten terlihat tetap tumbuh pada tepi kertas cakram.



3. METODE PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan meliputi : blender, toples, autoclave, micro pipet, cawan petri, tabung reaksi, tabung erlemeyer (250 ml, 500 ml, 1000 ml), jarum ose, bunsen, oven, spuit 1 ml, timbangan analitik, Inkubator, hot plate, rotary evaporator, sentrifuge dingin, spektrofotometer, pH meter, pipet tetes, gelas ukur (10, 50 dan 100 ml), mikroskop cahaya, obyek glass, cover glass, reflux, hot plate, mikropipet, gelas ukur, corong, spatula, tabung hematokrit dan hand tally counter (Lampiran 1).

3.1.2 Bahan

Bakteri yang digunakan adalah *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^7 sel/ml, diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dengan kepadatan awal 10^{10} sel/ml.

Bahan yang digunakan adalah, kapas, tissue, ethanol 70%, metanol, kertas saring, kertas label, alkohol 70%, aluminium foil, cotton swap, media *Tryptone Soya Agar* (TSA), Na-fisiologis, bahan-bahan spektrofotometri, media NB, larutan standart / *asiaticoside* (Lampiran 1).

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental, dimana metode ini merupakan metode penelitian yang memungkinkan peneliti memanipulasi variabel dan meneliti akibatnya. Menurut Atmodjo (2011), penelitian eksperimen adalah suatu penelitian yang meneliti hubungan sebab akibat dengan memanipulasikan satu (lebih) variabel pada satu

(lebih) kelompok eksperimen dan membandingkannya dengan kelompok lain yang tidak mengalami manipulasi.

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung, yaitu penyelidik mengadakan pengamatan terhadap gejala-gejala subyek yang diselidiki baik secara langsung dalam situasi yang sebenarnya maupun dalam situasi buatan atau dengan perantara sebuah alat, baik alat yang sudah ada maupun yang sengaja dibuat untuk keperluan khusus (Surachmad, 1998).

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan laboratorium, rumah kaca dan peternakan. Karena media homogen, maka media atau tempat percobaan tidak mempengaruhi pada respon yang diamati (Sastrosupadi, 2000).

Model untuk RAL adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

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

μ = nilai rata-rata

τ_i = pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} = pengaruh kesalahan (galat) percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

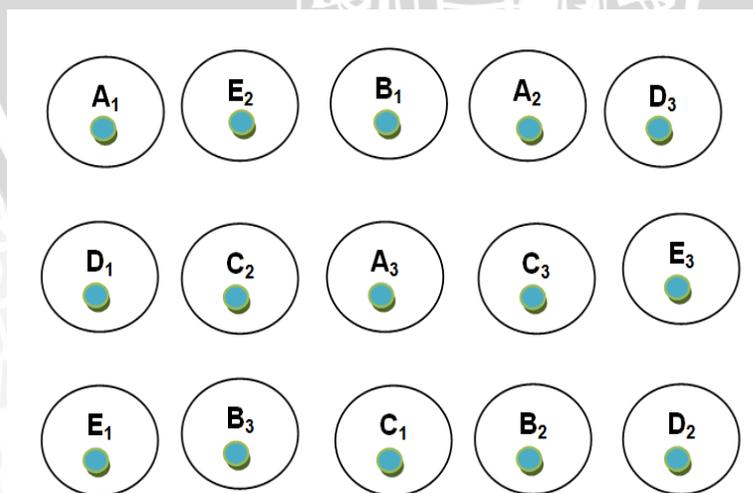
Dalam penelitian invitro yang akan dilakukan, perlakuan yang diamati adalah pengaruh perbedaan dosis ekstrak glikosida triterpen *H. scabra* terhadap perkembangbiakan bakteri *A. hydrophila* pada petridisk yang diamati selama 24

jam dan 48 jam. Pengamatan didasarkan pada besarnya daerah hambatan yang diukur dengan satuan milimeter (mm). Tingkatan dosis yang digunakan adalah 5 perlakuan dan 1 kontrol, yaitu dengan menggunakan perbandingan antara ekstrak dengan pelarut, dosis yang digunakan adalah 50 ppt (A), 100 ppt (B), 150 ppt(C), 200 ppt (D) dan 250 ppt (E). Pada dosis 0 ppt digunakan sebagai kontrol tanpa ulangan. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga jumlah sampel yang diamati adalah sebanyak 18 sampel. Rancangan perlakuan In vitro dapat dilihat pada Tabel 1. berikut :

Tabel 1. Rancangan Perlakuan In vitro

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A (50 ppt)	A ₁	A ₂	A ₃
B (100 ppt)	B ₁	B ₂	B ₃
C (150 ppt)	C ₁	C ₂	C ₃
D (200 ppt)	D ₁	D ₂	D ₃
E (250 ppt)	E ₁	E ₂	E ₃
K (0 ppt)	K ₁	K ₂	K ₃

Untuk denah penelitian yang dipergunakan dalam uji daya hambat pengaruh ekstrak kasar glikosida triterpen terhadap Bakteri *A. hydrophila* secara in vitro yang digunakan ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Denah penelitian in vitro.

Keterangan :

A = Dosis 50 ppt

B = Dosis 100 ppt

C = Dosis 150 ppt

D = Dosis 200 ppt

E = Dosis 250 ppt

1, 2, 3 = Ulangan ke-n

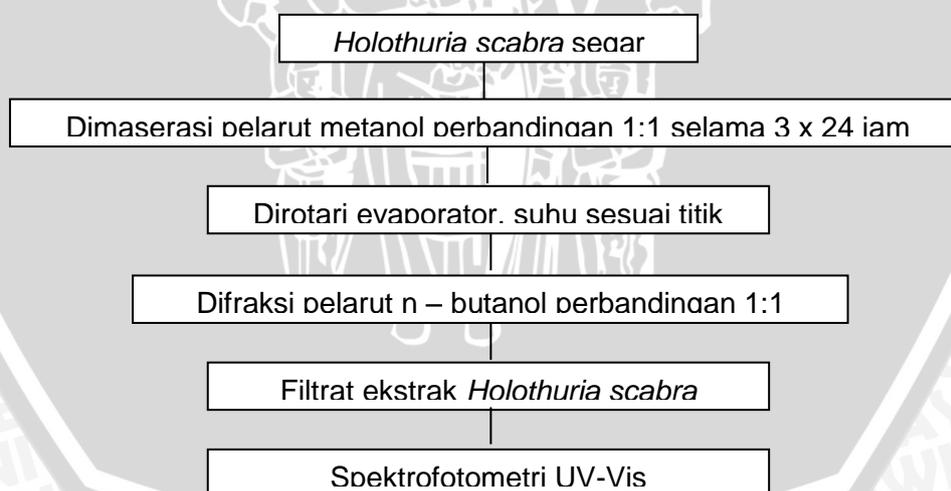


= Titik pengukuran daya hambat (kertas cakram)

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian Ekstraksi

Persiapan penelitian yang akan dilakukan meliputi ekstraksi senyawa kasar *H. scabra*, pengukuran kadar ekstrak kasar *H. scabra*, pembiakan bakteri *A. hydrophila*, persiapan alat dan persiapan hewan uji. Kerangka operasional kegiatan persiapan penelitian secara sistematis disajikan pada Gambar 4 berikut.



Gambar 4. Kerangka operasional kegiatan persiapan

A. Ekstraksi

Ekstraksi teripang (*H scabra*) berdasarkan Thanh *et al.*, (2006), dimana teripang yang sudah di ambil organnya dalam keadaan basah diambil sebanyak

200 gr dibersihkan bagian organ dalamnya serta kotoran yang menempel, kemudian dipotong kecil-kecil. Sampel teripang dimaserasi menggunakan pelarut metanol perbandingan 1:1 selama 2 x 24 jam dan disimpan di ruang penyimpanan pada suhu kamar. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring sehingga didapat larutan. Larutan kemudian dievaporasi menggunakan Rotary evaporator pada suhu 40° C sampai tidak terjadi lagi pengembunan pelarut pada kondensor (Lampiran 2).

Hasil ekstrak etanol kemudian di larutkan dengan aquadest dan dipartisi menggunakan n-hexan, klorofom dan n – butanol dengan perbandingan 1 :1 secara bertahap. Setelah itu masing – masing fraksi dilakukan uji hambat dengan uji cakram, bakteri yang digunakan adalah bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10⁷ sel/ml. Selanjutnya dilakukan uji kuantitatif dan identifikasi menggunakan spektrofometri UV-Vis dengan menggunakan larutan asiaticoside pada panjang gelombang 221 nm (Lampiran 3).

B. Uji Bioaktif Teripang

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa dalam teripang berdasarkan Andayani *et al.*, (2007) dalam Suhermanto (2011), teripang segar diblender hingga halus kemudian dilakukan penyaringan untuk mendapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh diukur massa dan volumenya kemudian diambil sebanyak 2 ml, dan dimasukkan dalam 4 tabung reaksi. Metode skrining fitokimia mengacu pada Kusmita *et al.* (2011). Pemeriksaan secara kualitatif senyawa flavonoid, saponin, steroid, alkaloid dan triterpenoid adalah sebagai berikut :

➤ Prosedur Pemeriksaan Senyawa Flavonoid

Sebagian lapisan air dari ekstrak yang sudah diencerkan diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1-2 butir

logam Mg dan 3 tetes HCl pekat. Tambahkan amyl alkohol dan kocok dengan kuat, biarkan hingga memisah. Warna kuning kemerahan hingga merah menunjukkan bahwa sampel positif mengandung senyawa flavonoid.

➤ **Prosedur Pemeriksaan Senyawa Saponin**

Ambil sedikit sampel ekstrak lalu masukkan kedalam tabung reaksi. Masukkan akuades yang sudah dihangatkan kemudian dikocok kuat-kuat dan diamkan selama 10 menit. Sampel positif mengandung senyawa saponin apabila terbentuk busa dan tidak hilang selama waktu 15 menit setelah ditetesi HCl.

➤ **Prosedur Pemeriksaan Senyawa Alkaloid**

Pemeriksaan senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan 2 pereaksi, yaitu pereaksi dragendorf dan pereaksi mayer yang sudah dibuat sebelumnya. Ekstrak yang telah diencerkan ditambahkan 2 ml CHCl_3 dan ditambahkan dengan pereaksi Dragendorf. Terbentuknya warna merah/ jingga menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Sebagian larutan ekstraksi ditambahkan HCl dengan perbandingan 1:10 sebagai larutan B lalu ditambahkan 5 ml pereaksi Mayer. Endapan putih dengan pereaksi Mayer menunjukkan adanya alkaloid.

➤ **Uji Steroid**

Tambahkan asam asetat anhidrat 2 ml pada 0,5 ekstrak etanol. Kemudian tambahkan 2 ml asamsulfat pekat. Adanya steroid ditandai dengan perubahan warna dari violet menjadi biru atau hijau

➤ **Uji Terpenoid**

Campur 5 ml ekstrak dengan 2 ml kloroform. Kemudian tambahkan dengan hati-hati 3 ml asamsulfat pekat. Terbentuknya warna coklat kemerahan pada permukaan dalam larutan, menunjukkan adanya terpenoid

C. Fraksionasi

Fraksionasi, ekstrak metanol kental seberat 8 g dipartisi antara air dan n-butanol (1:1), kemudian masing-masing fraksi dipisahkan dan dipekatkan, sehingga diperoleh fraksi air dan n-butanol. Masing-masing fraksi kental diperoleh n-butanol seberat 8 g dan air seberat 2 g.

D. Pembuatan Dosis Ekstrak Kasar Glikosida Triterpen *H.scraba*

Adapun cara pembuatan dosis ekstrak kasar glikosida triterpen adalah langkah awal ekstrak yang telah di rotary vacum evaporator kemudian di waterbath sampai tidak ada pelarut yang ada. Kemudian dipartisi dengan n-butanol sehingga di dapatkan beberapa fraksi. Fraksi N –butanol di ambil kemudian di waterbath untuk mengilangkan pelarut. Di dapatkan ekstrak kasar glikosida triterpen. Setelah itu ditimbang Dosis Ekstrak Kasar Glikosida *H. scraba* 1 gram. Kemudian di larutkan dengan aquabidest sebanyak 2 ml. Didapatkan dosis sebesar 500 ppt sebagai *Stcok*.

- Diencerkan dengan rumus :

$$N1 \times V1 = N2 \times V2.$$

Keterangan :

V1 = volume larutan standar yang diencerkan

V2 = volume larutan pengenceran

N1 = konsentrasi larutan yang diencerkan

N2 = konsentrasi larutan pengenceran

Penentuan konsentrasi ekstrak kasar glikosida *H.scraba* untuk perendaman cakram dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.4.2 Sterilisasi tempat perlakuan

Untuk sterilisasi alat dapat dilakukan dengan *autoclave* dengan cara, alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan detergen, dikeringkan kemudian

dibungkus dengan menggunakan kertas koran dan diikat menggunakan benang. Kemudian air secukupnya dituang ke dalam *autoclave*, kemudian alat yang telah dibungkus kertas koran dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris. Kompor pemanas dinyalakan, setelah mencapai suhu 121^oC dan tekanan menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15-20 menit dengan cara membuka dan atau menutup kran uap yang berada di bagian atas tutup *autoclave*.

Kompor dimatikan. Tunggu beberapa saat sampai termometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka kran uap lalu buka penutup *autoclave* dengan cara simetris. Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil. Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

3.4.3 Persiapan Kultur Bakteri

a. Pembuatan media *Tryptone Soy Agar* (TSA)

Cara pembuatan media *Tryptone Soy Agar* (TSA) menurut Irmawati 2009, sebagai berikut media TSA merk OXOID dengan ketentuan dosis 40 gram/L. Ditimbang 11,8 ppt TSA, kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer berisi 300 mL aquadest. Diaduk pada kondisi hangat diatas *hot plate* sampai tercampur rata. Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan *aluminium foil* kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Media TSA yang sudah steril dituangkan ke dalam cawan petri steril dalam keadaan panas sebanyak 10-12 ml. penuangannya didekatkan pada api Bunsen Media dibiarkan dingin dan memadat.

b. Pembuatan media *Nutrient Broth* (NB)

Cara pembuatan media *Nutrient Broth* (NB) menurut Irmawati (2009), sebagai berikut *Nutrient Broth* (NB) 13 gram dilarutkan dengan 1 liter aquades steril dalam erlemeyer. Erlemeyer ditutup kapas dan kemudian dididihkan di atas *hotplate* hingga larut sempurna dan jernih. Media cair NB dalam erlemeyer disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit. Media cair NB yang sudah steril dibiarkan dingin terlebih dahulu agar bakteri yang akan diinokulasi tidak mati.

3.4.4 Pembiakan Bakteri *A. hydrophila*

Stock bakteri *A. hydrophila* di peroleh dari Balai Karantina Ikan Juanda kelas 2. Langkah awal untuk pembiakan bakteri adalah Larutan NB disiapkan dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml. Jarum ose dipanaskan di atas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum ose disentuhkan kebiakan murni *A. hydrophila* kemudian dicelupkan ke NB. Larutan NB dibiarkan 12-24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C. Setelah itu hasil pembiakan bakteri untuk mengetahui kepadatannya di lakukan pengukuran dengan larutan pembanding Mac Farlan. Diladapkan hasil 9×10^8 Kepadatan bakteri.

Menurut Ashry (2007) pemberian *A. hydrophila* dengan kepadatan 1×10^7 sel/ml mampu memberikan daya hambat yang besar pada ekstrak daun ketapang. Untuk mendapatkan kepadatan bakteri tersebut harus dilakukan perhitungan pengenceran dengan menggunakan rumus

Cappucino (1988) :

$$N1. V1 = N2. V2$$

Keterangan:

N1: Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)

N2: Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)

V1: Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V2: Volume yang diinginkan.

3.4.5 Penelitian Pendahuluan

A. Uji Pendahuluan Penentuan Dosis

Uji pendahuluan penentuan dosis ini digunakan adalah dengan metode daya hambat. Penentuan pelarut dan dosis dilaksanakan dalam penelitian pendahuluan ini. Langkah awal dalam melakukan penelitian pendahuluan adalah hasil maserasi dengan pelarut etanol *H.scraba* yang telah disaring di rotary sampai di dapat ekstrak kasar berupa ekstrak kental.

Setelah itu hasil ekstraksi dilakukan partisi dengan menggunakan corong pisah, adapun pelarut yang digunakan adalah pelaut n-butanol dan air. Hasil fraksinasi di ambil kemudian di ujikan. Pengujian ini adalah antara lain ekstrak kasar dari pelarut etanol, faksinasi n butanol dan air .Adapun dosis yang digunakan dalam penelitian pendahuluan ini adalah 1 ppt, 10 ppt 20 ppt 50 ppt 100 ppt 200 ppt dan 300 ppt adapun alur kegiatan dan hasil penelitian pendahuluan dapat di lihat pada lampiran 5.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Uji Cakram

Uji cakram merupakan pengujian untuk antibakteri dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terjadi di sekitar kertas cakram yang mengandung bahan antibakteri sesuai dengan konsentrasi perlakuan (Pelczar dan Chan, 1986).

Uji cakram digunakan untuk mengetahui pada konsentrasi berapa persen yang bersifat bakteriostatik maupun bakteriosidal. Kertas cakram yang berisi zat antibakteri diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme yang diuji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh

zat antibakteri terlihat sebagai wilayah yang jernih di sekitar pertumbuhan mikroorganismenya.

Prosedur pelaksanaan Uji cakram adalah menyiapkan petridisk yang telah terdapat media TSA. Setelah itu membuat konsentrasi ekstrak kasar glikosida triterpen untuk uji cakram. Penanaman bakteri pada media TSA dilakukan dengan cara mengambil biakan bakteri dari media NB dengan menggunakan pipet tetes, kemudian diteteskan dalam media agar sebanyak 2 tetes dan diratakan pada seluruh permukaan media agar.

Kertas cakram steril direndam ke dalam ekstrak kering glikosida triterpen selama 30 menit berdasarkan konsentrasi yang telah ditentukan. Kertas cakram yang telah direndam dalam Ekstrak kasar glikosida triterpen ditiriskan dan diletakkan pada permukaan lempeng agar. Dibaca hasil setelah diinkubasi pada suhu ruang 37°C selama 24 jam dan pada 48 jam dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong.

Jarak kertas cakram dengan tepi petridisk tidak boleh kurang dari 15 mm. Jika jumlah kertas cakram lebih dari satu, maka jarak antar cakram tidak boleh kurang dari 24 mm. Saat meletakkan kertas cakram tidak boleh bergeser, karena mengurangi validasi pengukuran.

3.6 Parameter Uji

Parameter uji terdiri dari parameter utama dan parameter penunjang. Parameter utama yaitu diameter daerah hambatan yang diukur dengan menggunakan kertas cakram dengan pengamatan 24 jam dan 48 jam yang dinyatakan dengan mm ditambah daerah bening yang ada di sekeliling kertas cakram. Parameter penunjangnya adalah suhu inkubasi.

3.7 Analisis Data

Analisis data level total eritrosit, diferensial leukosit dan hematocrit dilakukan secara statistik mempergunakan program SPSS 15 *for windows*. Data yang didapatkan terlebih dahulu di uji kenormalannya menggunakan uji normalitas (*kolmogorov-smirnov*). Apabila $\text{sig} > 0,01$ maka dilanjutkan analisis keragaman menggunakan ANOVA sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Analisis Ragam dilakukan untuk menguji pengaruh dosis ekstrak kasar teripang pasir terhadap parameter uji. Sedangkan uji setelah analisis ragam yang digunakan untuk mengetahui apakah ada perbedaan *mean* (rata-rata) parameter uji antara perlakuan dosis ekstrak, yaitu dengan Uji Tukey atau BNT (Beda Nyata Terkecil). Analisis Regresi dilakukan untuk mencari bentuk hubungan antara dosis ekstrak kasar (**X**) dengan parameter uji (Hematologi) (**Y**). Perlakuan dosis ekstrak bersifat kuantitatif dengan 4 macam dosis, jadi perlu dilakukan Analisis Regresi dengan derajat polinom maksimum $4 - 1 = 3$, dengan praduga Persamaan Garis Regresi kurva linier $Y = c + b_1x$, kurva kudratik $Y = c + b_1x + b_2x^2$ dan kurva kubik $Y = c + b_1x + b_2x^2 + b_3x^3$.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Uji Pendahuluan Fitokimia

Uji fitokimia digunakan untuk mengetahui golongan senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak *H. scabra* secara kualitatif. Golongan senyawa yang diuji antara lain uji flavanoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenol, dan alkaloid. Hasil uji fitokimia disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia Ekstrak Kasar *H. Scabra*

Uji		Keterangan
Flavonoid	-	Tidak ada perubahan warna merah ataupun orange
Saponin	√	Terbentuk busa
Steroid	-	Berwarna biru/ungu
Triterpenoid	√	Berwarna merah
Fenol	-	Tidak ada perubahan warna hijau ataupun biru
Alkaloid	-	Terbentuk endapan coklat

Keterangan :

- : Tidak ada dalam ekstrak
- √ : Ada dalam ekstrak

Berdasarkan uji fitokimia dari fraksi n – butanol positif mengandung saponin dan triterpenoid. Senyawa yang terkandung dan diduga berperan sebagai antibakterial dalam *H. scabra* adalah saponin dan triterpen seperti yang ada pada ekstrak etanol. Menurut Bordbar et al., (2011), senyawa holothurin B pada teripang menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih baik melawan 20 isolat jamur secara in vitro. *Holothuria scabra* secara spesifik mengandung saponin steroid, triterpen glikosida, dan holostan yang berfungsi sebagai antibakteri, antimikroba, dan antijamur. Serta menurut Pranoto (2012) dalam Suhermanto (2011), ekstrak etil asetat hanya mengandung saponin dan triterpen sehingga aktivitas antijamurnya lebih kecil daripada ekstrak metanol. Beberapa hasil penelitian menunjukkan senyawa terpenoid memiliki aktivitas sebagai

antimikroba yaitu monoterpenoid linalool, diterpenoid (-) hardwicklic acid, phytol, triterpenoid saponin dan triterpenoid glikosida.

4.2 Pembiakan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat murni yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Selanjutnya dilakukan peremajaan kembali terhadap bakteri *A. hydrophila* yang telah ada. Media yang digunakan untuk pembiakan bakteri *A. hydrophila* selama penelitian ada dua jenis yaitu media agar TSA (*Tryptic Soy Agar*) untuk pembiakan dengan metode gores dan media cair NB (*Nutrient Broth*) untuk pembiakan dengan metode tuang.

Untuk memperbanyak dan peremajaan kembali bakteri *Aeromonas hydrophila*, maka dilakukan inokulasi bakteri dengan melakukan pemindahan atau penanaman sampel dari satu biakan murni ke dalam media tumbuh secara aseptik untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Metode penanaman pada media padat dilakukan dengan cara metode penggoresan (*streak*). Metode pembiakan *streak* (gores) dilakukan pada media agar yang diletakkan pada cawan petri dengan cara menggesekkan jarum ose yang telah mengandung bakteri dengan arah gerakan ke kiri dan ke kanan secara sinambung sampai meliputi seluruh permukaan agar sehingga akan diperoleh koloni yang menggerombol hingga mengecil. Bakteri *Aeromonas hydrophila* yang dibiakkan pada media TSA membentuk koloni berwarna kuning. Pembiakan dengan metode *streak* dapat dilihat pada Gambar 6.

Dalam penelitian digunakan pembiakan bakteri dengan kepadatan 10^7 bakteri/ml. Untuk mendapatkan kepadatan bakteri ini, dilakukan pembiakan bakteri dengan kepadatan sebesar 1 Mc Farland ($1 \text{ Mc. Farland} = 10^7$ bakteri/ml), dengan melakukan penanaman bakteri uji ke dalam media tanam TSA, yang

diambil sedikit dan dimasukkan ke dalam tabung berisi NB, sampai didapat kekeruhan yang sama dengan standart Mc. Farland 1, selanjutnya dari bakteri dengan kepadatan Mc. Farland 1 tersebut diambil 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam 45 ml NB lagi. Dengan demikian telah didapatkan kepadatan 10^7 bakteri/ml (Jatmikoningtyas, 2001).



Gambar 5. Biakan murni *A. hydrophila* metode streak (gores)

4.3 Daya Antibakterial Ekstrak Kasar Glikosida Triterpen *H. scraba*

4.3.1 Uji Cakram Pengamatan 24 Jam

Untuk mengetahui kepekaan desinfektan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat digunakan uji cakram. Menurut Sommers (1994), zona hambatan yang terbentuk ditunjukkan sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri di sekitar cakram kertas saring. Pada penelitian ini, daerah hambatan ditunjukkan dengan adanya wilayah jernih di sekitar kertas cakram terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* dimana kertas cakram yang berukuran 6 mm tersebut telah mengandung ekstrak kasar Ekstrak Kasar Glikosida Triterpen *H. scraba* sesuai dengan dosis masing-masing perlakuan. Hasil dari uji cakram dapat dilihat pada Lampiran 6.

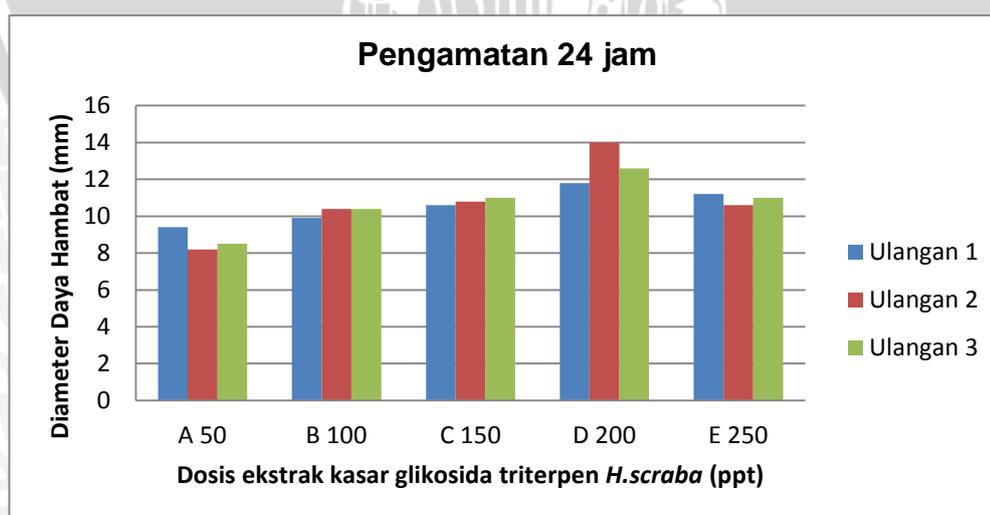
Berdasarkan hasil penelitian diperoleh juga data diameter daya hambatan (daerah yang tidak ditumbuhi bakteri) Nampak pada setiap perlakuan dan

menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar glikosida triterpen mampu menghambat laju pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh pemberian Ekstrak Kasar Glikosida Triterpen *H.scraba* terhadap daya hambat bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*, diperoleh data pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata Hasil Pengamatan Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* terhadap ekstrak Kasar Glikosida Triterpen *H.scraba*

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata - Rata
	1	2	3		
A 50	9.4	8.2	8.5	26.1	8.7±0.62
B 100	9.9	10.4	10.4	30.7	10.2±0.29
C 150	10.6	10.8	11	32.4	10.8±0.20
D 200	11.8	14	12.6	38.4	12.8±1.11
E 250	11.2	10.6	11	32.8	10.9±0.31
TOTAL				160.4	53.5

berdasarkan data pada Tabel 1 maka dapat digambarkan grafik hubungan besar daya hambat bakteri *A. hydrophila* terhadap ekstrak kasar glikosida triterpen *H.scraba* dengan konsentrasi yang berbeda dengan nilai rerata panjang diameter daya hambat pada kertas cakram disajikan pada Gambar 7



Gambar 6. Besar Daya hambat ekstrak kasar glikosida triterpen *H.scraba* terhadap bakteri *A. hydrophila*

Berdasarkan Gambar 5 di atas diketahui bahwa konsentrasi ekstrak kasar glikosida triterpen H. *scraba* 50 ppt menunjukkan diameter zona hambat paling kecil, sementara pada konsentrasi 200 ppt menunjukkan diameter zona hambat paling besar. Untuk mengetahui kenormalan data dilakukan uji kenormalan data yang ditunjukkan pada Lampiran 4. Dari lampiran tersebut diketahui bahwa data normal sehingga dapat dilanjutkan untuk sidik ragam. Kegunaan dari sidik ragam yaitu untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Hasil sidik ragam pengaruh ekstrak kasar glikosida triterpen H. *scraba* yang berbeda konsentrasi terhadap daya hambat bakteri A. *hydrophila* ditunjukkan pada Tabel 4

Tabel 4. Sidik ragam diameter zona hambat

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	26.1	4	6.5	17.7	0.000
Acak	3.7	10	0.4		
Total	29.8	14			

Nilai Sig < $\alpha = 0.05$ berarti data beda nyata

Hasil perhitungan sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar glikosida triterpen terhadap diameter zona hambat bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah berbeda sangat nyata. Karena nilai F hitung adalah 17,651 dan nilai sig $0.00 < 0.01$. Selanjutnya untuk mengetahui perbandingan antar perlakuan, dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Hasil uji BNT disajikan dalam Tabel 5.

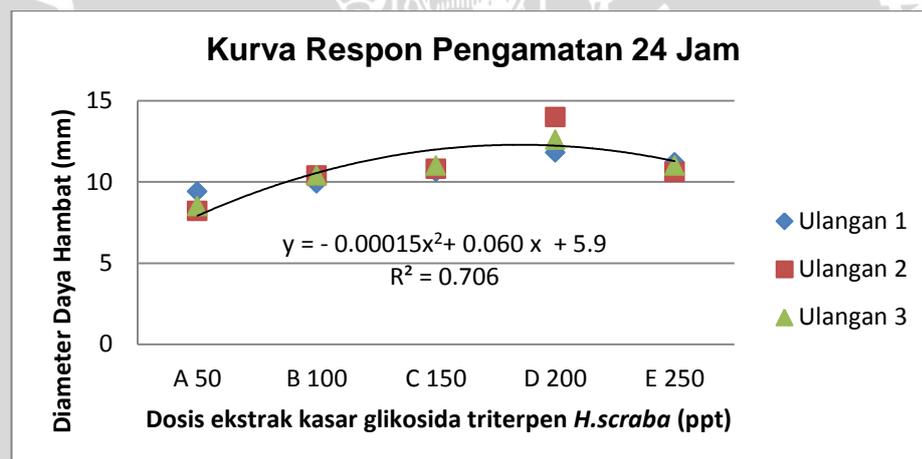
Tabel 5. Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Rata - Rata Perlakuan	A	B	C	E	D	Notasi
A	-	-	-	-	-	a
B	1.5**	-	-	-	-	b
C	2.1**	0.6 ^{ns}	-	-	-	cb
E	2.2**	0.7 ^{ns}	0.1 ^{ns}	-	-	dc
D	4.1**	2.6**	2**	1.9**	-	e

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata,
* = Berbeda nyata,
ns = Tidak Berbeda Nyata

Dari Tabel 3 menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan berbeda nyata terhadap perlakuan lain. Berdasarkan tabel BNT, dapat diketahui bahwa tiap - tiap perlakuan mempunyai notasi yang berbeda. Dari hasil tersebut selanjutnya dilakukan uji *polynomial orthogonal*, yang hasilnya regresi linier, kuadratik dan kubik sama - sama berbeda sangat nyata. Maka, perlu dihitung R^2 masing - masing regresi tersebut. Berdasarkan hasil perhitungan, ternyata R^2 kuadratik lebih tinggi dibandingkan R^2 kubik maupun linier (perhitungan lengkap disajikan dalam Lampiran 4).

Sehingga, regresi kuadratik lebih sesuai digunakan untuk kurva respons daya hambat ekstrak kasar glikosida triterpen terhadap bakteri *A. hydrophila* pada waktu 24 jam (Gambar 8).



Gambar 7. Kurva Hubungan Antara Dosis Kasar *H. scraba* dengan besarnya daya hambat bakteri Pada Waktu 24 Jam.

Hasil regresi kuadratik tersebut diperoleh persamaan adalah $Y = 5.9 + 0.060x - 0.00015x^2$, dan nilai R^2 adalah 0.706. Nilai x maksimum adalah 250 dan nilai y maksimum adalah 12,8, dengan y minimum adalah 8,7. Sedangkan, untuk nilai titik puncak kuadratik adalah $x = 200$ dan $y = 11,5$. Berdasarkan kurva tersebut dapat diketahui bahwa dosis yang memberikan hasil paling baik adalah 200 ppt (perlakuan D), karena mempunyai nilai daya hambat yang paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Bonang

dan Koeswardono (1982), bahwa diameter daerah hambatan di sekitar cakram tergantung pada daya serap obat ke dalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat yang digunakan. Aktivitas antibakteri ekstrak *H. scabra* terhadap *A. hydrophila* termasuk kategori kuat hal ini sesuai dengan pernyataan Rita (2010), ada empat kategori daya hambat, yaitu kategori sangat kuat (≥ 20 mm), kuat (10-20 mm), sedang (5-10 mm), dan lemah (≤ 5 mm).

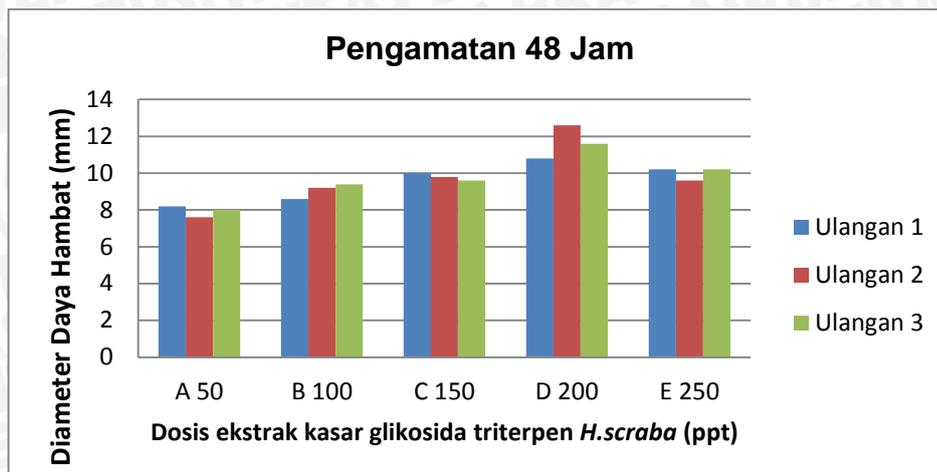
4.3.2 Uji Cakram Pengamatan 48 Jam

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh juga data diameter daya hambatan (daerah yang tidak ditumbuhi bakteri) Nampak pada setiap perlakuan dan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar glikosida triterpen mampu menghambat laju pertumbuhan *A. hydrophila*. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh pemberian Ekstrak Kasar Glikosida Triterpen *H.scraba* terhadap daya hambat bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*, diperoleh data pada Tabel 6.

Tabel 6. Rerata Hasil Pengamatan Daya Hamabat Bakteri *A.hydrophila* terhadap ekstrak Kasar Glikosida Triterpen *H.scraba*

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata - Rata
	1	2	3		
A 50	8.2	7.6	8	23.8	7.9±0.31
B 100	8.6	9.2	9.4	27.2	9.1±0.42
C 150	10	9.8	9.6	29.4	9.8±0.20
D 200	10.8	12.6	11.6	35	11.7±0.90
E 250	10.2	9.6	10.2	30	10±0.35
	TOTAL			145.4	48.5

Berdasarkan data pada Tabel 6 maka dapat digambarkan grafik histogram untuk masing – masing perlakuan dengan dosis yang berbeda dengan dbesar daya hamabat bakteri *A. hydrophila* terhadap ekstrak kasar glikosida triterpen *H.scraba* dengan konsentrasi yang berbeda dengan nilai rerata panjang diameter daya hambat pada kertas cakram disajikan pada Gambar 6



Gambar 8. Besar Daya hambat ekstrak kasar glikosida triterpen *H.scraba* terhadap bakteri *A.hydrophila*

Berdasarkan Gambar 6 di atas diketahui bahwa pengamatan 48 pada konsentrasi ekstrak kasar glikosida triterpen *H. scraba* 50 ppt menunjukkan diameter zona hambat paling kecil, sementara pada konsentrasi 200 ppt menunjukkan diameter zona hambat paling besar. Untuk mengetahui kenormalan data dilakukan uji kenormalan data yang ditunjukkan pada Lampiran 4. Dari lampiran tersebut diketahui bahwa data normal sehingga dapat dilanjutkan untuk sidik ragam. Kegunaan dari sidik ragam yaitu untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Hasil sidik ragam pengaruh ekstrak kasar glikosida triterpen *H. scraba* yang berbeda konsentrasi terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* ditunjukkan pada Tabel 7

Tabel 7. Sidik ragam diameter zona hambat

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	22.5	4	5.6	22.651	.000
Acak	2.5	10	0.3		
Total	24.95	14			

Nilai Sig < α = 0.05 berarti data beda nyata

Hasil perhitungan sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar glikosida triterpen terhadap diameter zona hambat bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah berbeda sangat nyata. Karena nilai F hitung adalah 22.651,

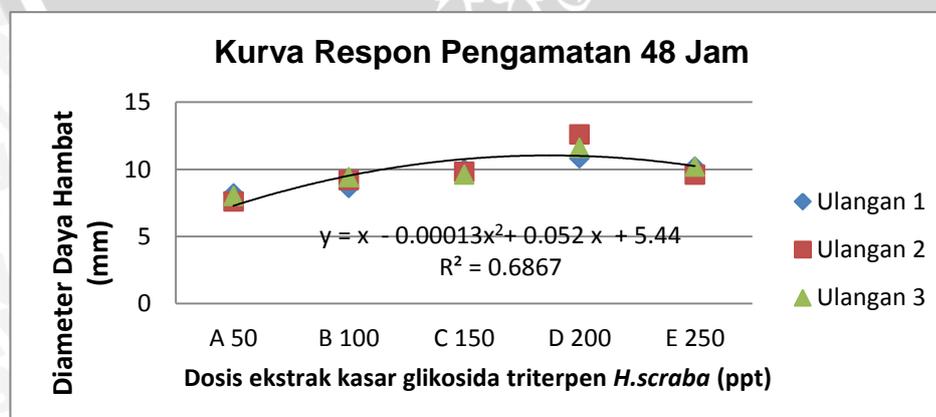
dan nilai sig $0.00 < 0.01$.Selanjutnya untuk mengetahui perbandingan antar perlakuan, dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Hasil uji BNT disajikan dalam Tabel 8.

Tabel 8. Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Rata - Rata Perl:	A	B	C	E	D	Notasi
A	-	-	-	-	-	a
B	1.13*	-	-	-	-	b
C	1.7**	0.7 ^{ns}	-	-	-	bc
E	2.1**	0.9*	0.2 ^{ns}	-	-	c
D	3.7**	2.6**	1.7**	1.7**	-	d

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata,
* = Berbeda nyata,
ns = Tidak Berbeda Nyata

Dari Tabel 8 menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan berbeda nyata terhadap perlakuan lain. Berdasarkan tabel BNT, dapat diketahui bahwa tiap - tiap perlakuan mempunyai notasi yang berbeda. Dari hasil tersebut selanjutnya dilakukan uji *polynomial orthogonal*, yang hasilnya regresi linier, kuadratik dan kubik sama - sama berbeda sangat nyata. Maka, perlu dihitung R^2 masing - masing regresi tersebut. Berdasarkan hasil perhitungan, ternyata R^2 kuadratik lebih tinggi dibandingkan R^2 kubik maupun linier (perhitungan lengkap disajikan dalam Lampiran 5). Sehingga, regresi kuadratik lebih sesuai digunakan untuk kurva respons daya hambat ekstrak kasar glikosida triterpen terhadap bakteri *A.hydrophila* pada waktu 48 jam. Dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 9. Kurva Hubungan Antara Dosis Kasar *H.scraba* dengan besarnya daya hambat bakteri Pada Waktu 48 Jam

Hasil regresi kuadratik tersebut diperoleh persamaan adalah $Y=5.44 + 0.052x - 0.00013x^2$. X maksimum adalah 200 ppm. Y maksimum adalah 10.64 mm. Sedangkan, untuk nilai titik puncak kuadratik adalah $x = 200$. Berdasarkan kurva tersebut dapat diketahui bahwa dosis yang memberikan hasil paling baik adalah 200 ppt (perlakuan D), karena mempunyai nilai daya hambat yang paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

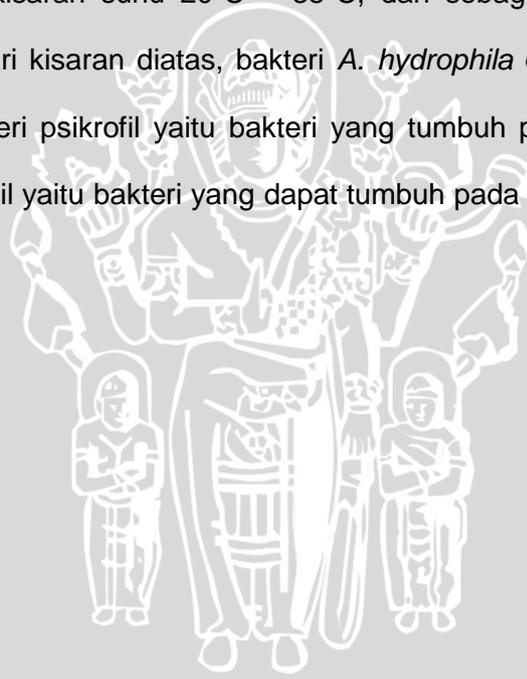
Berdasarkan hasil penelitian pada inkubasi 48 jam diameter daya hambat pada masing-masing bakteri mengalami penurunan. Hal ini dikarenakan oleh beberapa faktor. Faktor yang pertama yaitu pada saat inkubasi 48 jam bakteri mengalami fase logaritmik dimana pertumbuhan bakteri dua kali lipat dibanding fase lag (Pelczar dan Chan, 2005). Faktor yang kedua yaitu resistensi oleh bakteri dengan cara menurunkan permeabilitas sehingga antibakteri sulit masuk dalam sel, membentuk jalan pintas untuk menghindari tahap yang dihambat oleh antibakteri, dan meningkatkan produksi enzim yang dihambat oleh antibakteri (Khunaifi, 2010).

Ekstrak *H. scabra* lebih efektif pada bakteri gram negatif daripada bakteri gram positif. Hal ini sesuai dengan penelitian Farouk et al. (2007), ekstrak antibakteri dari *H.scabra* lebih efektif menyerang bakteri gram negatif daripada bakteri gram positif. Hal ini disebabkan bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih tipis daripada bakteri gram positif. Menurut pendapat Pelczar dan Chan (2005), bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih tipis yang terdiri dari 10% peptidoglikan, lipopolisakarida dan kandungan lipid tinggi (11-22%), sedangkan bakteri gram positif memiliki dinding sel yang lebih tebal yang terdiri dari 60-100% peptidoglikan dan lipid rendah (1-4%).

4.4 Suhu Inkubator

Pertumbuhan bakteri dapat diketahui dari beberapa parameter penunjang, salah satunya adalah suhu inkubator. Parameter ini sangat penting agar bakteri tumbuh dengan baik. Seperti halnya makhluk hidup tingkat tinggi, untuk pertumbuhannya bakteri memerlukan suhu tertentu. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa suhu inkubator yaitu 37°C.

Menurut Nabib, *et al.* (2005), suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* adalah 28°C, sedangkan suhu minimum dan maksimalnya adalah 4°C dan 37°C. Menurut Ledberg (1992), sebagian besar bakteri *A. hydrophila* dapat tumbuh pada kisaran suhu 20°C – 35°C, dan sebagian spesies dapat tumbuh pada 5°C. Dari kisaran diatas, bakteri *A. hydrophila* dapat digolongkan dalam kelompok bakteri psikrofil yaitu bakteri yang tumbuh pada kisaran suhu 0°C – 20°C dan mesofil yaitu bakteri yang dapat tumbuh pada kisaran suhu 25°C – 40°C



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

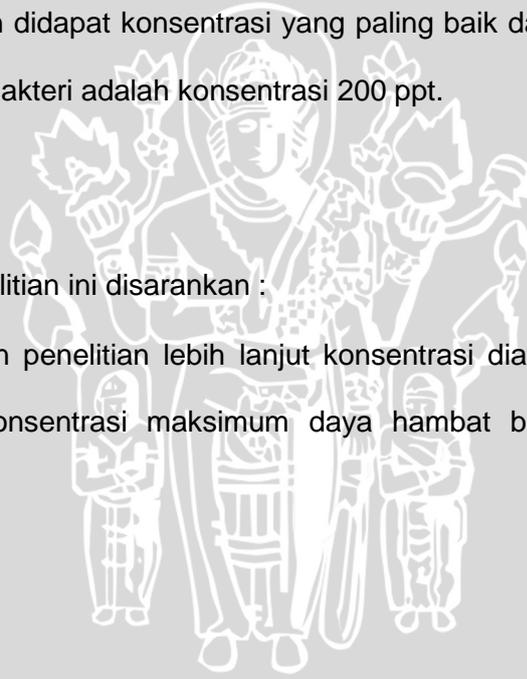
Dari penelitian tentang “Uji Efektivitas Ekstrak Glikosida Triterpen Teripang Pasir (*H.scabra*) Dalam Menghambat Laju Pertumbuhan Bakteri *A.hydrophila* Secara *In-Vitro*” diperoleh beberapa kesimpulan sebagai berikut :

- Hasil uji cakram, konsentrasi Ekstrak Glikosida Triterpen Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*) menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*.
- Hasil penelitian didapat konsentrasi yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah konsentrasi 200 ppt.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan :

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut konsentrasi diatas 200 ppt untuk mengetahui konsentrasi maksimum daya hambat bakteri *Aeromonas hydrophila*.



DAFTAR PUSTAKA

- Aminin, D., I . Agafonova, E., Berdyshev, E., Isachenko, S Avilov, And V Stonik,, 2001, Immunomodulatory Properties Of Cucumariosides From The Edible Far-Eastern *Holothuria Spn Cucumaria Japonica*, Journal Of Medicinal Food, **4(3)**:127-135.
- Amirth, Pal,Singh,2002. A Trestie On Phytochemistry. Emedia Science Ltd.
- Aras , Tri. R. 2013. Uji Toksisitas Ekstrak Teripang *Holothuria Scabrater*hadap *Artemia Salina*. Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Makassar
- Arifianto, E Dan E. Liviawaty. 1992. Pengendalian Hama Danpenyakitikan. Kanisius.Yogyakarta.20 Hlm
- Atmodjo, J.T. 2011. Jenis Metode Penelitian. Universitas Mercubuana. Jakarta. 19 Hlm..
- Bima,F. 2009. Characteristic Of Aeromonas Hydrophila. [Http://Elfahrybima.Blogspot.Com/2009/10/Characteristic-Of-Aeromonas-Hydrophila.Html](http://Elfahrybima.Blogspot.Com/2009/10/Characteristic-Of-Aeromonas-Hydrophila.Html). Diakses Pada Januari 2013
- Cholik, F., G Ateng,, Jagatraya., RP., Poernomo Dan A Jauzi,, 2005. Akuakultur, Tumpuan Harapan Masa Depan Bangsa. Masyarakat Perikanan Nusantara. Taman Mini Indonesia Indah. Jakarta. 415 Ha
- Cipriano, C. R. 2001. *Aeromonas Hydrophila* And Motile Aeromonad Septicemias Of Fish. Fish Disease Leaflet 68. 25 Hlm
- Dyck, S ., V. Pascal. G, Dan Patrick. F. 2010. Qualitative And Quantitative Saponin Contents In Five Sea Cucumber From Indian Ocean. Mar. Drugs, **8**:173-189
- Farouk, Abd. El-Aziem, Faizal Abd. Hamid Grouse And B.H. Ridzwan. 2007. New Bacterial Spesies Isolated From Malaysian Sea Cucumbers With Optimized Secreted Antibacterial Activity. Am. J. Biochem. Biotech **3 (2)**. 60-65.
- Hua, H., Yi Y-Hua, LI Ling, LIU Bao-Shu, LA Ming – Ping, ZHANG Hong – Wei.2009. Antifungal Active Triterpene Glycoside From Sea Cucumber *Holonturia Scraba*. Acta Pharmaceutica Sinica : **44(6)**:620- 624.
- Himaya, SWA, B.M Ryu, Z.J Qian, S. K. Kim, 2010. Sea Cucumber, *Stichopusjaponicus*ethyl Acetate Fraction Modulates The Lipopolysaccharide Induced Inos And COX-2 Via MAPK Signaling Pathway In Murine Macrophages. Environmental Toxicology And Pharmacology, 68 – 75.

Jatmikoningtyas, W. 2001. Uji Efek Anti Bakteri Dekokta Daun Jambu Biji (Psidium Guava) Terhadap Bakteri Intestinal (E. Coli, Shigella Dysentriae, Vibrio Chloreae) Penyebab Diare Akut. Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya Malang. Malang. 50 Hlm.

Jun, WJ., Ji HK., Dennis KG., Casiano HC. Jr., Jee EH., Sang PS., And Se CP., 2010. Occurence Of Tetracycline-Resistant Aeromonas Hydrophilainfection In Korean Cyprinid Loach (Misgurnus Anguillicaudatus). Page 849 – 855

Kaswandi MA, Lian HH, Nurzakiah S, Ridzwan BH, Ujang S, Samsudin S, Jasnizat S, Ali AM. 2000. Crystalsaponin From Three Sea Cucumber Genus And Their Potential As Antibacterial Agents. 9 Thscientific Conference Electron Microscopic Society. 12-14 November 2000. Kota Bharu, Kelantan. 273-276.

Khurio, S. 2011. Pusat Riset Perikanan Budidaya. [Http//BudidayaPerikanan.Htm](http://BudidayaPerikanan.Htm). (26 Juli 2011).

Khunaifi, M. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Pseudomonas Aeruginosa. [Skripsi]. Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang.

Kusmita, L., Endang D.W., Erlita V. 2011. Isolasi Dan Standarisasi Bahan Alam. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Semarang

Mangunwardoyo, W., R. Ismayasari Dan E. Riani. 2010. Uji Patogenitas Dan Virulensi *Aeromonas Hydrophilastanier* Pada Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus Lin.*) Melalui Postulat Koch. Jurnal Ristek Akuakultur No. 5 Vol. 2. Hal. 245-255.

Martoyo, J. N. Aji, Dan T. Winanto. 2007. Budidaya Teripang. Penebar Swadaya. Jakarta. 76 Hlm.

Mamelona, J., P. Emilien, G.L. Karl, L. Jean, K. Salwa, K. Selim, 2007. Quantification Of Phenolic Contents And Antioxidant Capacity Of. Atlantic Sea Cucumber *Cucumaria Frondosa*, Food Chem., 104, 1040.

Maqsood, S., M.H. Samoon, P. Singh, 2009. Immunomodulatory And Growth Promoting Effect Of Dietary Levamisole In *Cyprinus Carpio* Fingerlings Against The Challenge Of *Aeromonas Hydrophila*. Turkish Journal Of Fisheries And Aquatic Sciences **9**: 111-120.

Matraga, V.2005. Echinodermata:Progress In Moleculer And Subcellular Biology : Jerman: Springer.Moyle PB, Cech JJ. 1988. Fish An Introduction To Ichthyology Second Edition. Prentice Hall: New Jersey.

Murtiati Dan Endang. A. S. 1998. Evaluasi Dampak Lingkungan Dan Daya Toleransi Udang *Penaus Manodon*. Universitas Diponegoro.

- Mayer, A.M.S Dan K.R. Gustafson.2008.Marine Pharmacologyin 2003 – 2004: Antitumor And Cytotoxic Compounds. European Journal Of Cancer. **42**: 2357 – 2387.
- Pranoto, E, Widodo, F, Delianis P. 2012. Kajian Aktivitas Bioaktif Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria Sp Scabra*) Terhadap Jamur *Candida Albicans*. Jurusan Perikanan,Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro.
- Pelczar, M.J Dan E.C.S. Chan. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi I. Universitas Indonesia. Jakarta. 443 Hlm.
- Prajitno, A. 2005. Diktat Parasit Dan Penyakit Ikan .Fakultas Perikanan.Universitas Brawijaya,105 Hal.
- Rairakhwada, D, A.K. Pal, Z.P. Bhatena, N.P. Sahu, A. Jha, S.C. Mukherjee, 2007. Dietary Microbial Levan Enhances Cellular Non-Specific Immunity And Survival Of Common Carp (*Cyprinus Carpio*) Juveniles. *Fish & Shellfish Immunology* **22** : 477-486.
- Rinawati, N. 2012. Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia Cujete L.*) Terhadap Bakteri *Vibrio Alginolyticus*. Skripsi. FMIPA. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya. 63 Hlm
- Rita, W.S. 2010. Isolasi, Identifikasi, Dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Pada Rimpang Temu Putih (*Curcuma Zedoaria* (Berg.) Roscoe). [Jurnal Kimia]. FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran.
- Robinson ,T., 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi, ITB : Bandung
- Roihanah S., Sukoso, Andayani S .2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang Pasir. Jurnal.Universitas Brawijaya
- Sari, N. R. 2013. Pengaruh Pemberian Immunostimulan Ekstrak Kasar Fenol *Gracilaria Verrucosa* Terhadap Histopatologi Insang Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) Yang Diinfeksi *Aeromonas Hydrophila*. Skripsi. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.92 Hlm. Tidak Dipublikasikan.
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian Edisi Revisi. Kanisius. Yogyakarta. 276 Hlm
- Selvaraj, V., K. Sampath, V. Sekar, 2006. Adjuvant And Immunostimulatory Effects Of B-Glucan Administration In Combination With Lipopolysaccharide Enhances Survival And Some Immune Parameters In Carp Challenged With *Aeromonas Hydrophila*. *Veterinary Immunology And Immunopathology* **114**. P : 15–24.

- Samsundari, S. 2006. Pengujian Ekstrak Temulawak Dan Kunyit Terhadap Resistensi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Yang Menyerang Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*). Jurnal GAMMA. No. 2 Vol. 1 Hal. 71-83.
- Sendih, S. Dan Gunawan, 2006. Keajaiban Teripang Penyembuh Mujarab Dari Laut. Agro Media
- Sholikhah, E.H. 2009. Efektivitas Campuran Meniran (*Phyllanthus Niruri*) Dan Bawang Putih (*Allium Sativum Dalam* Pakan Untuk Pengendalian Infeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophil* pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias Sp*). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. 55 Hlm. Tidak Dipublikasikan
- Sondari, D ; Sri Budi Harmami; M. Ghozali; Ahmad Randy; Athanasia Amanda S And Yan Irawan. 2011. Determination Of The Active Asiaticoside Content In Centella Asiatica as Anti-Cellulite Agent. Indonesian Journal Of Cancer Chemoprevention, **2(2)** :221-226.
- Sudjadi, 1986. Metode Pemisahan. UGM Press. Yogyakarta Pustaka
- Surachmad, W. 1998. Pengantar Penelitian Ilmiah Dasar. Penerbit Tarsito. Bandung. 118 Hlm.
- Suryandari, S., 1981. Pengambilan Oleoresin Jahe Dengan Cara Solvent Extraction. Buletin IHP I. BBIHP. Bogor
- Suhermanto, A., S. Andayani, Maftuch. 2011. Pemberian Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*) Untuk Meningkatkan Leukosit Dan Diferensial Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *A. Hydrophila*. Jurnal Kelautan. Volume **4** : No 2.
- Tian, F., Zhu C., Zhang X-W., Xie X., Xin X-L., 2007. Philiopside E, A New Sulphated Saponin From Sea Cucumber, Blocks The Interaction Between Kinase Insert Domain Containing Receptor (KDR) And $\text{Av}\beta$ integrin Via Binding To The Extracellular Domain Of KDR (Abstrac). *Molecular pharmacology* **72**:545-552
- Thanh, V, Nguyen H, Dang, Phan V, Kiem, Nguyen Xuan C, Hoang T, Dan Chau V. 2006. A New Triterpene Glycoside From The Sea Cucumber *Holothuria Scabra* collected In Vietnam. *AJSTD*. Vol. **23** Issue 4 Pp : 253-259
- Yusron, Eddy. 2004. Sumberdaya Teripang Di Perairan Tanjung Pai Padaido Biak Numfor Papua. *Makara, Sains*, Vol. **8**, No. 3, : 123-127.
- Wibowo, S. Yunizal. 1997. Teknologi Penanganan Dan Pengolahan Teripang (*Holothuriadea*). Jakarta: IPPL Slip.
- Zhang, Y., H.Y. Yi, And H.F. Tang. 2006. Cytotoxic Sulfated Triterpene Glycosides From The Sea Cucumber *Pseudocolochirus Violaceus*. *Chemistry & Biodiversity*, Hlm 807- 817.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat Dan Bahan Penelitian



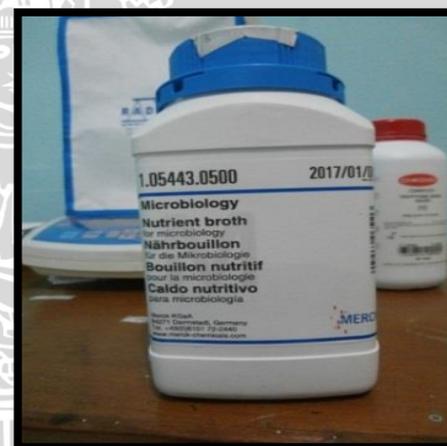
Autoklaf



Hot Plate



Timbangan digital



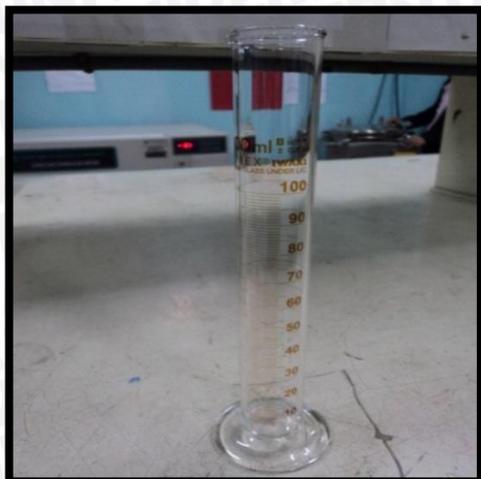
Media NB



Apendof



Bakteri *A. hydrophila*



Gelas Ukur



Evaporotary



Corong Pisah



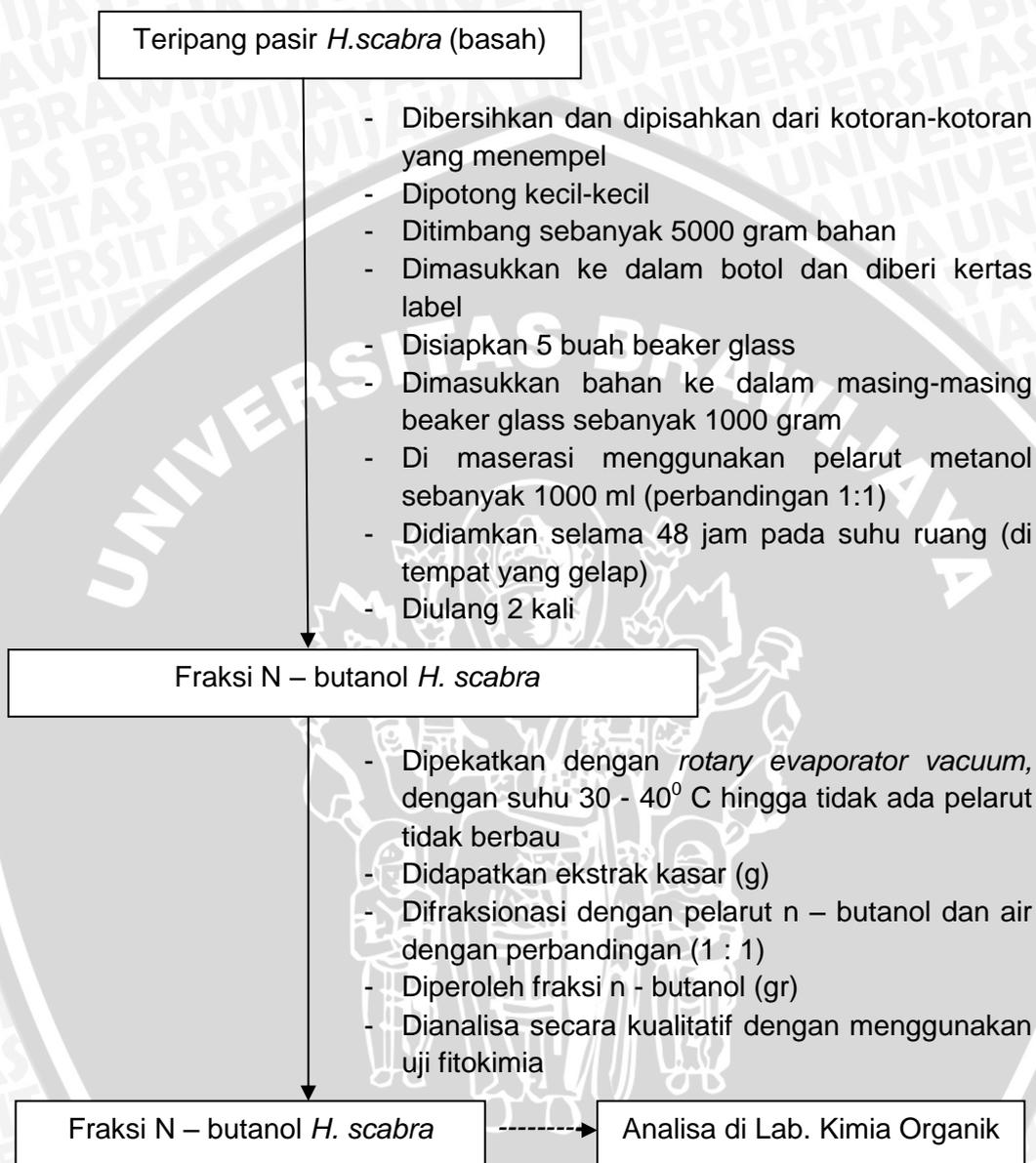
Ekstrak Teripang



Tabung Reaksi



N-Butanol

Lampiran 2. Bagan Pembuatan Fraksi N – Butanol *H. scabra*

Lampiran 3. Penentuan Konsentrasi Ekstrak Kasar Glikosida Triterpen *H.sraba* untuk Perendaman Cakram

Satu gram ekstrak kasar glikosida triterpen *H.sraba* yang sudah kering dilarutkan dengan aquabidest steril sebanyak 2 ml sehingga dosis stock adalah 500 ppt. Setelah itu dilakukan pengukuran dosis (ml) untuk menentukan konsentrasi ekstrak kasar glikosida triterpen *H.sraba* dan ditambahkan 2 ml aquadest steril untuk pengenceran.

➤ Dosis 50 ppt

Diketahui : $N_1 = \frac{1 \text{ gr}}{2 \text{ ml}} = 500 \text{ ppt}$

$$N_2 = 50 \text{ ppt}$$

$$V_2 = 1 \text{ ml aquabidest}$$

Ditanya : $V_1 = ?$

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

$$V_1 \times 500 \text{ ppt} = 1 \text{ ml} \times 50 \text{ ppt}$$

$$V_1 = \frac{50 \text{ ppt}}{500 \text{ ppt}}$$

$$= 0,1 \text{ ml}$$

➤ Dosis 100 ppt

Diketahui : $N_1 = \frac{1 \text{ gr}}{2 \text{ ml}} = 500 \text{ ppt}$

$$N_2 = 100 \text{ ppt}$$

$$V_2 = 1 \text{ ml aquabidest}$$

Ditanya : $V_1 = ?$

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

$$V_1 \times 500 \text{ ppt} = 1 \text{ ml} \times 100 \text{ ppt}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ppt}}{500 \text{ ppt}}$$

$$= 0,2 \text{ ml}$$

Lampiran 3. (lanjutan)**➤ Dosis 150 ppt**

Diketahui : $N_1 = \frac{1 \text{ gr}}{2 \text{ ml}} = 500 \text{ ppt}$

$$N_2 = 50 \text{ ppt}$$

$$V_2 = 1 \text{ ml aquabidest}$$

Ditanya : $V_1 = ?$

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

$$V_1 \times 500 \text{ ppt} = 1 \text{ ml} \times 150 \text{ ppt}$$

$$V_1 = \frac{150 \text{ ppt}}{500 \text{ ml}}$$

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

➤ Dosis 200 ppt

D Diketahui : $N_1 = \frac{1 \text{ gr}}{2 \text{ ml}} = 500 \text{ ppt}$

$$N_2 = 50 \text{ ppt}$$

$$V_2 = 1 \text{ ml aquabidest}$$

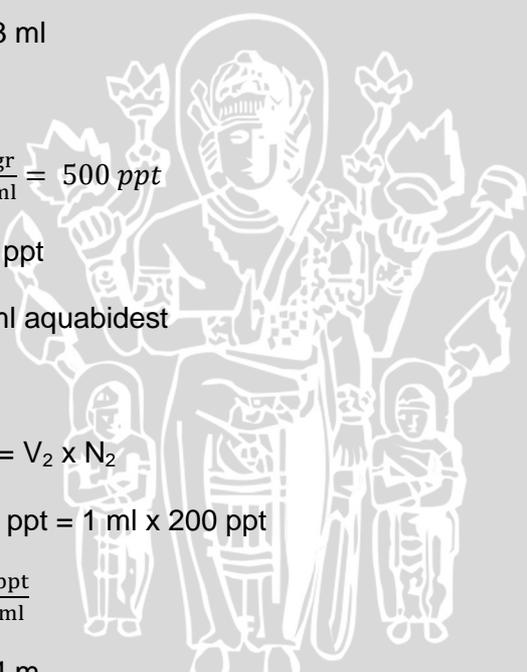
Ditanya : $V_1 = ?$

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

$$V_1 \times 500 \text{ ppt} = 1 \text{ ml} \times 200 \text{ ppt}$$

$$V_1 = \frac{200 \text{ ppt}}{500 \text{ ml}}$$

$$= 0,4 \text{ m}$$



Lampiran 3. (lanjutan)➤ **Dosis 250 ppt**

Diketahui : $N_1 = \frac{1 \text{ gr}}{2 \text{ ml}} = 500 \text{ ppt}$

$$N_2 = 50 \text{ ppt}$$

$$V_2 = 1 \text{ ml aquabidest}$$

Ditanya : $V_1 = ?$

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

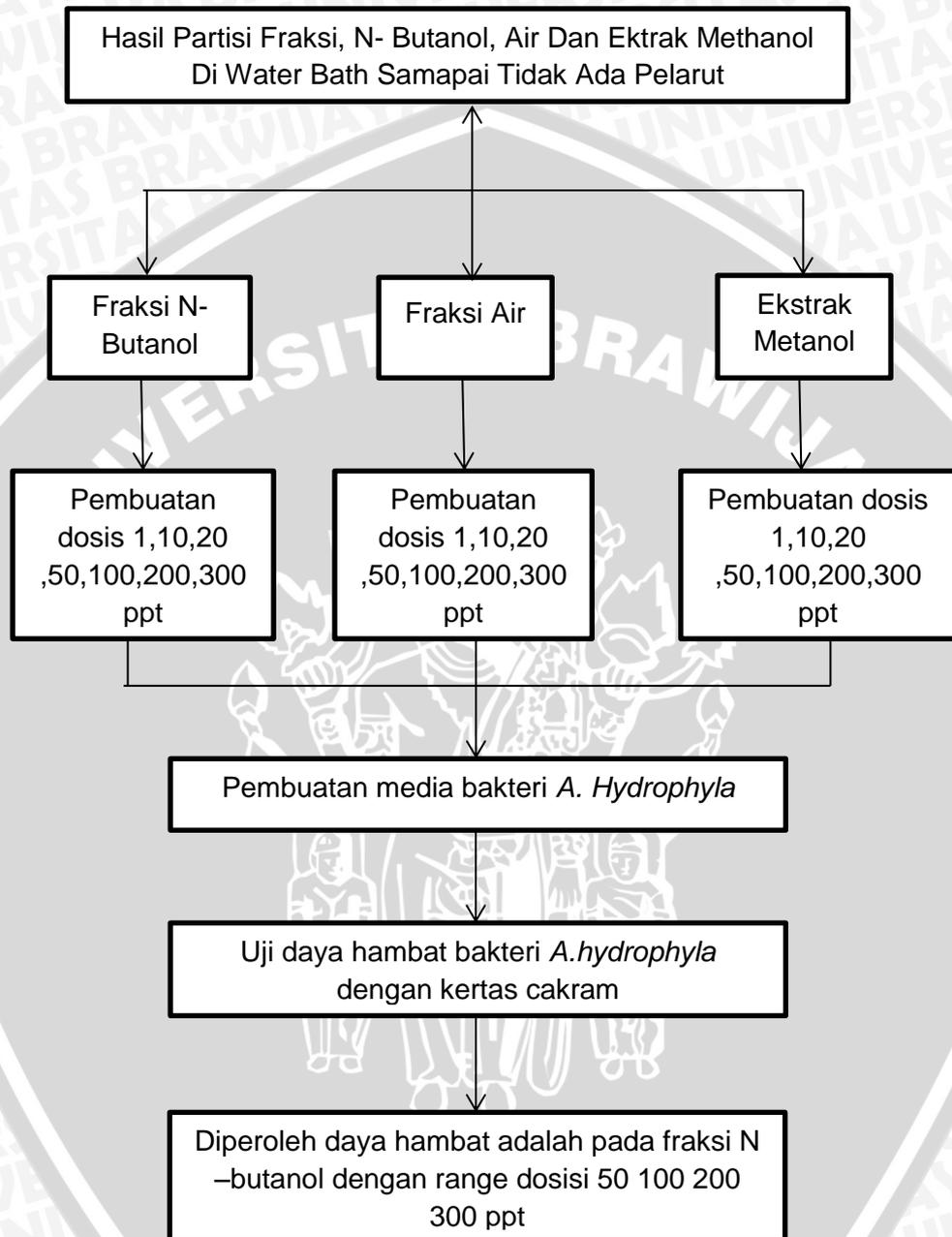
$$V_1 \times 500 \text{ ppt} = 1 \text{ ml} \times 50 \text{ ppt}$$

$$V_1 = \frac{250 \text{ ppt}}{500 \text{ ml}}$$

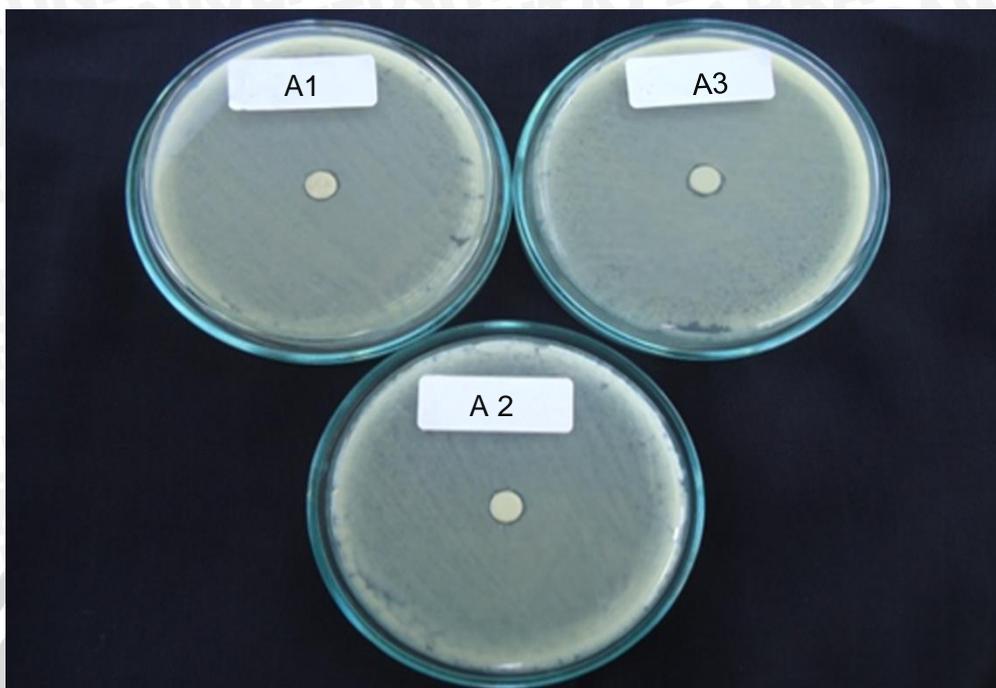
$$= 0,5 \text{ ml}$$



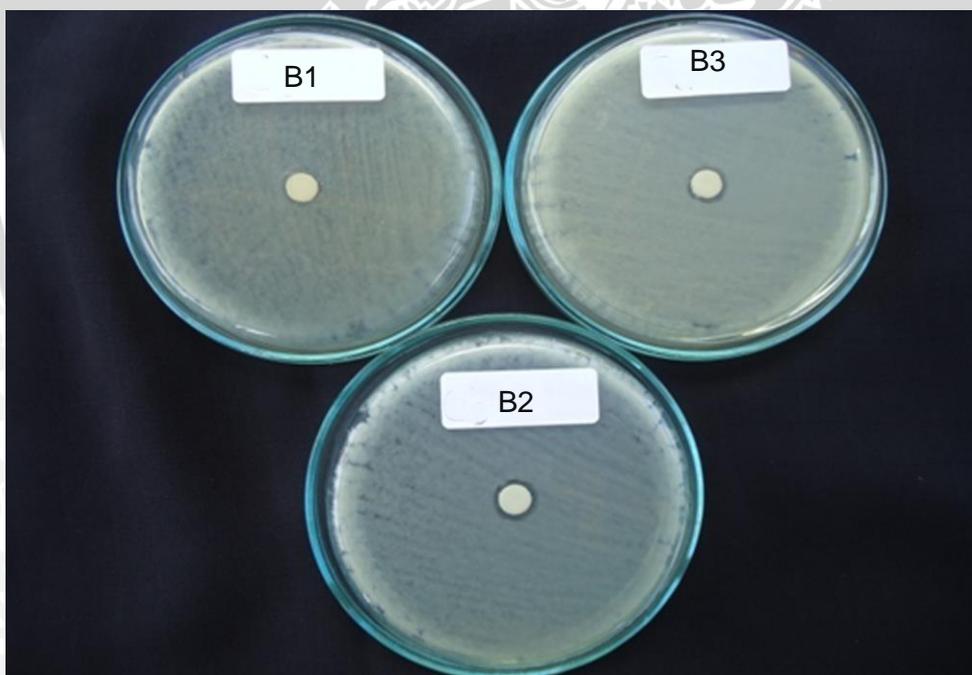
Lampiran 4. Bagan Uji pendahuluan Penentuan Fraksi secara Invitro menggunakan *A.hydrophla*



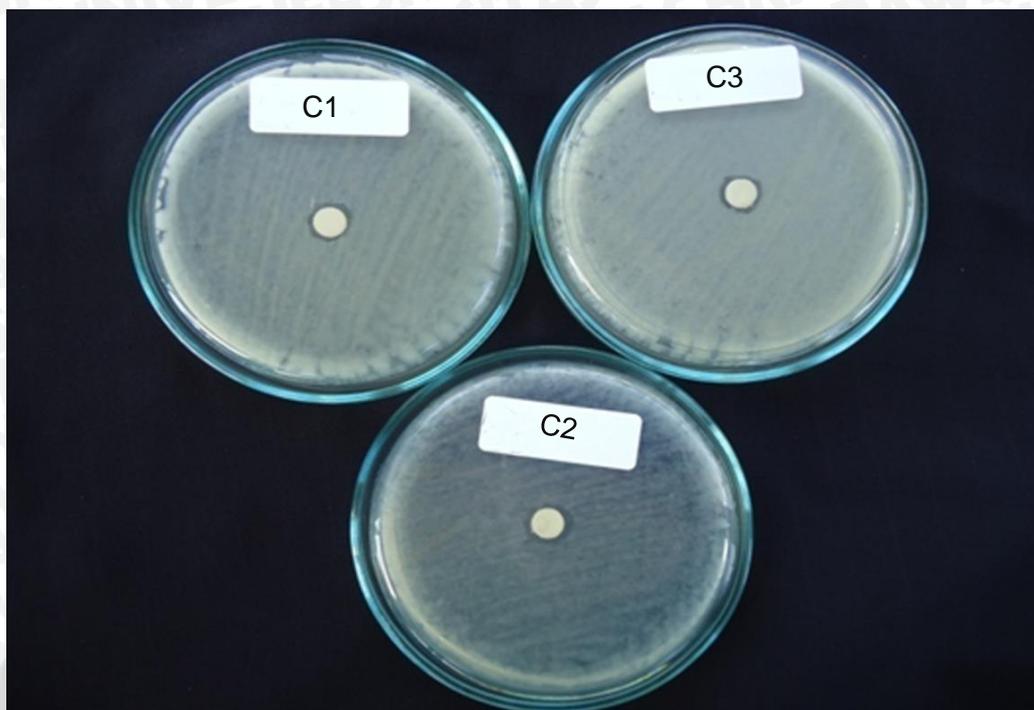
Lampiran 5. Hasil Penguatan Penelitian Daya Hambat *A.hydrophila*



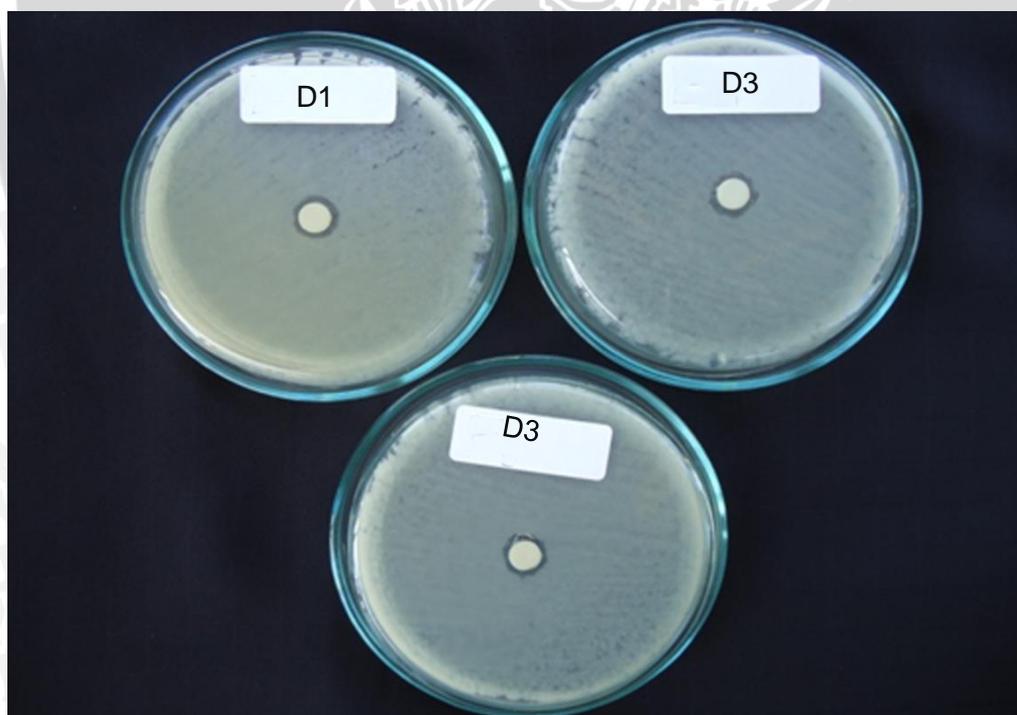
Perlakuan A = konsentrasi 50 PPT



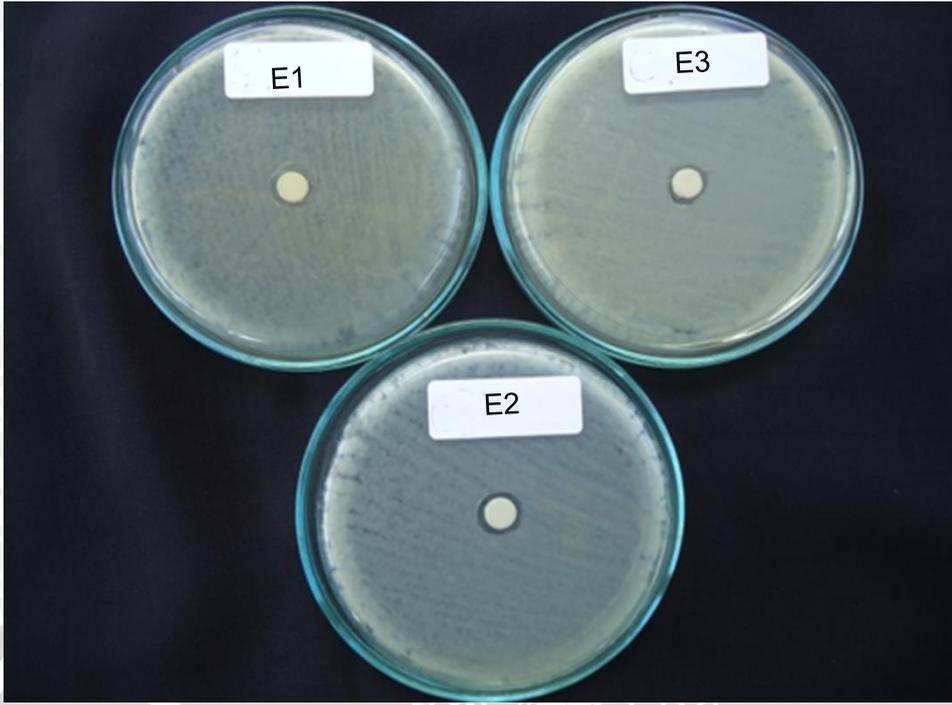
Perlakuan B = konsentrasi 100 PPT



Perlakuan C = konsentrasi 150 PPT



Perlakuan D = konsentrasi 200 PPT



Perlakuan E = konsentrasi 250 PPT



Lampiran 6. Analisis Data Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Kasar Glikosida Triterpen *H.scraba* Terhadap Diameter Hambatan (mm) Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada pengamatan 24 jam

Data Diameter Hambatan (mm) Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata - Rata
	1	2	3		
A 50	9.4	8.2	8.5	26.1	8.7±0.62
B 100	9.9	10.4	10.4	30.7	10.2±0.29
C 150	10.6	10.8	11	32.4	10.8±0.20
D 200	11.8	14	12.6	38.4	12.8±1.11
E 250	11.2	10.6	11	32.8	10.9±0.31
TOTAL				160.4	53.5

Uji Kenormalan Data Diameter Hambatan

Dari perhitungan hasil diameter hambatan, diperoleh hasil uji kenormalan data yang ditunjukkan pada tabel berikut :

Hasil analisis uji normalitas.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

			Pengamatan24jam
N			15
Normal	Mean		10.6933
Parameters(a,b)	Std. Deviation		1.45821
Most Extreme Differences	Absolute		.164
	Positive		.164
	Negative		-.154
Kolmogorov-Smirnov Z			.636
Asymp. Sig. (2-tailed)			.814

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Hasil pengujian tersebut menunjukkan probabilitas hitung = 0.814 > level of significance ($\alpha=5\%$). Hal ini berarti residual berdistribusi normal. Dengan demikian asumsi normalitas terpenuhi.

Perlakuan

Pengamatan 24 jam

Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
50.00	3	8.7000	.62450	.36056	7.1487	10.2513
100.00	3	10.2333	.28868	.16667	9.5162	10.9504
150.00	3	10.8000	.20000	.11547	10.3032	11.2968
200.00	3	12.8000	1.11355	.64291	10.0338	15.5662
250.00	3	10.9333	.30551	.17638	10.1744	11.6922
Total	15	10.6933	1.45821	.37651	9.8858	11.5009

ANOVA

Pengamatan 24 jam

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	26.076	4	6.519	17.651	.000
Acak	3.693	10	.369		
Total	29.769	14			

Nilai Sig < $\alpha = 0.05$ berarti data beda nyata

Beberapa Perbandingan

Dependent Variable: Pengamatan 24 jam

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata – Rata Pembanding (I-J)	Std. Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
50.00	10.00	-1.53333(*)	.49621	.011	-2.6390	-.4277
	15.00	-2.10000(*)	.49621	.002	-3.2056	-.9944
	20.00	-4.10000(*)	.49621	.000	-5.2056	-2.9944
	25.00	-2.23333(*)	.49621	.001	-3.3390	-1.1277
100.00	5.00	1.53333(*)	.49621	.011	.4277	2.6390
	15.00	-.56667	.49621	.280	-1.6723	.5390
	20.00	-2.56667(*)	.49621	.000	-3.6723	-1.4610
	25.00	-.70000	.49621	.189	-1.8056	.4056
150.00	5.00	2.10000(*)	.49621	.002	.9944	3.2056
	10.00	.56667	.49621	.280	-.5390	1.6723
	20.00	-2.00000(*)	.49621	.002	-3.1056	-.8944
	25.00	-.13333	.49621	.794	-1.2390	.9723
200.00	5.00	4.10000(*)	.49621	.000	2.9944	5.2056
	10.00	2.56667(*)	.49621	.000	1.4610	3.6723
	15.00	2.00000(*)	.49621	.002	.8944	3.1056
	25.00	1.86667(*)	.49621	.004	.7610	2.9723
250.00	5.00	2.23333(*)	.49621	.001	1.1277	3.3390
	10.00	.70000	.49621	.189	-.4056	1.8056
	15.00	.13333	.49621	.794	-.9723	1.2390
	20.00	-1.86667(*)	.49621	.004	-2.9723	-.7610

Berdasarkan objek yang diamati:

*Perbedaan rata-rata adalah signifikan pada tingkat 0,05

* = tidak berbeda nyata

Keterangan:

Jika Sig > 0,05 : tidak berbeda nyata

Sig < 0,05 : berbeda nyata

Sig < 0,01 : sangat berbeda nyata

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Rata - Rata Perlakuan	A	B	C	E	D	Notasi
A	-	-	-	-	-	a
B	1.5333**	-	-	-	-	b
C	2.1**	0.5667 ^{ns}	-	-	-	cb
E	2.2333**	0.7 ^{ns}	0.133 ^{ns}	-	-	Dc
D	4.1**	2.5667**	2**	1.8667**	-	e

ANOVA POLYNOMIAL

Pengamatan 24 Jam

			JK	df	KT	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		26.076	4	6.519	17.651	.000
	Linear Term	Contrast	14.840	1	14.840	40.181	.000
		Deviation	11.236	3	3.745	10.140	.002
	Quadratic Term	Contrast	6.172	1	6.172	16.710	.002
		Deviation	5.064	2	2.532	6.856	.013
	Cubic Term	Contrast	2.523	1	2.523	6.831	.026
		Deviation	2.541	1	2.541	6.880	.025
Within Groups			3.693	10	.369		
Total			29.769	14			

Nilai sig pada Linear, kuadratik dan kubik Sig < 0,05 maka, dicari nilai R² tertinggi

Ringkasan Model dan Estimasi Parameter

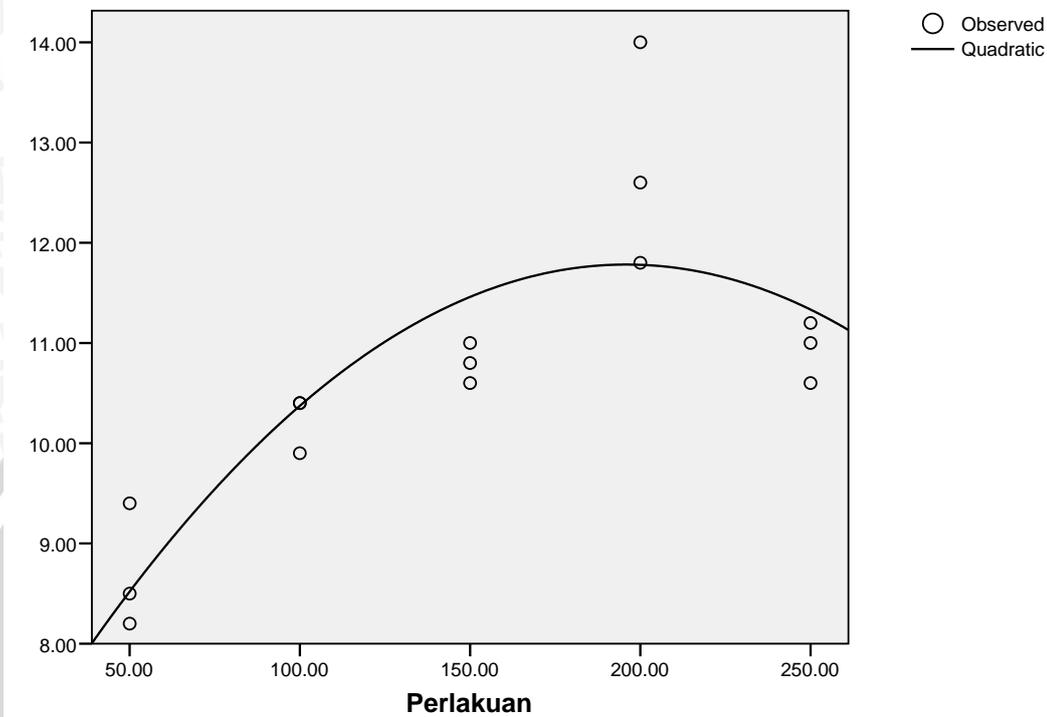
Dependent Variable: Pengamatan 24 Jam

Persamaan	Ringkasan Model					Estimasi Parameter		
	R ²	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2
Linear	.499	12.92	1	13	.003	8.583	.014	
Quadratic	.706	14.39	2	12	.001	5.9	.06	-0.00015

R² tertinggi adalah regresi kuadratik maka, hubungan variabel penelitian adalah Kuadratik. Sehingga Persamaanya adalah $Y=5.9 + 0.060 x - 0.00015x^2$.

X Optimum adalah 200 ppm . Y optimum adalah 11.9 mm

Pengamatan24jam



Lampiran 7. Analisis Data Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Kasar Glikosida Triterpen *H.scraba* Terhadap Diameter Hambatan (mm) Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada pengamatan 48 jam

Data Diameter Hambatan (mm) Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata - Rata
	1	2	3		
A 50	8.2	7.6	8	23.8	7.9±0.31
B 100	8.6	9.2	9.4	27.2	9.1±0.42
C 150	10	9.8	9.6	29.4	9.8±0.20
D 200	10.8	12.6	11.6	35	11.7±0.90
E 250	10.2	9.6	10.2	30	10±0.35
TOTAL				145.4	48.5

Uji Kenormalan Data Diameter Hambatan

Dari perhitungan hasil diameter hambatan, diperoleh hasil uji kenormalan data yang ditunjukkan pada tabel berikut :

Hasil analisis uji normalitas.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

			pengamatan48jam	
N			15	
Normal	Mean		Normal	
Parameters(a,b)			Parameters(a,b)	
	Std. Deviation			
Most	Extreme	Absolute	Most	Extreme
Differences			Differences	
	Positive			
	Negative			
Kolmogorov-Smirnov Z			.589	
Asymp. Sig. (2-tailed)			.878	

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Hasil pengujian tersebut menunjukkan probabilitas hitung = 0.878 > level of significance ($\alpha=5\%$). Hal ini berarti residual berdistribusi normal. Dengan demikian asumsi normalitas terpenuhi.

Perlakuan

Pengamatan 24 jam

Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
50.00	3	7.9333	.30551	.17638	7.1744	8.6922
100.00	3	9.0667	.41633	.24037	8.0324	10.1009
150.00	3	9.8000	.20000	.11547	9.3032	10.2968
200.00	3	11.6667	.90185	.52068	9.4263	13.9070
250.00	3	10.0000	.34641	.20000	9.1395	10.8605
Total	15	9.6933	1.33495	.34468	8.9541	10.4326

ANOVA

Pengamatan 24 jam

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	22.469	4	5.617	22.651	.000
Acak	2.480	10	.248		
Total	24.949	14			

Nilai Sig < $\alpha = 0.05$ berarti data beda nyata

Beberapa Perbandingan

Dependent Variable: Pengamatan 48 jam
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata - Rata Pembanding (I-J)	Std. Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
50.00	10.00	-1.13333(*)	.40661	.019	-2.0393	-.2273
	15.00	-1.86667(*)	.40661	.001	-2.7727	-.9607
	20.00	-3.73333(*)	.40661	.000	-4.6393	-2.8273
	25.00	-2.06667(*)	.40661	.000	-2.9727	-1.1607
100.00	5.00	1.13333(*)	.40661	.019	.2273	2.0393
	15.00	-.73333	.40661	.101	-1.6393	.1727
	20.00	-2.60000(*)	.40661	.000	-3.5060	-1.6940
	25.00	-.93333(*)	.40661	.045	-1.8393	-.0273
150.00	5.00	1.86667(*)	.40661	.001	.9607	2.7727
	10.00	.73333	.40661	.101	-.1727	1.6393
	20.00	-1.86667(*)	.40661	.001	-2.7727	-.9607
	25.00	-.20000	.40661	.633	-1.1060	.7060
200.00	5.00	3.73333(*)	.40661	.000	2.8273	4.6393
	10.00	2.60000(*)	.40661	.000	1.6940	3.5060
	15.00	1.86667(*)	.40661	.001	.9607	2.7727
	25.00	1.66667(*)	.40661	.002	.7607	2.5727
250.00	5.00	2.06667(*)	.40661	.000	1.1607	2.9727
	10.00	.93333(*)	.40661	.045	.0273	1.8393
	15.00	.20000	.40661	.633	-.7060	1.1060
	20.00	-1.66667(*)	.40661	.002	-2.5727	-.7607

Berdasarkan objek yang diamati:

*Perbedaan rata-rata adalah signifikan pada tingkat 0,05

* = tidak berbeda nyata

Keterangan:

Jika Sig > 0,05 : tidak berbeda nyata

Sig < 0,05 : berbeda nyata

Sig < 0,01 : sangat berbeda nyata

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Rata - Rata Perlakuan	A	B	C	E	D	Notasi
A	-	-	-	-	-	a
B	1.133333*	-	-	-	-	b
C	1.866667**	0.7333 ^{ns}	-	-	-	bc
E	2.066667**	0.93333*	0.2 ^{ns}	-	-	c
D	3.733333**	2.6**	1.8667**	1.6667**	-	d

Ket : Berbeda nyata <0,05

ANOVA POLYNOMIAL

Pengamatan 48 Jam

		JK	df	KT	F	Sig.
Between Groups	(Combined)	22.469	4	5.617	22.651	.000
	Linear Term	13.601	1	13.601	54.844	.000
	Deviation	8.868	3	2.956	11.919	.001
	Quadratic Term	4.275	1	4.275	17.239	.002
	Deviation	4.593	2	2.296	9.260	.005
	Cubic Term	2.945	1	2.945	11.876	.006
	Deviation	1.647	1	1.647	6.643	.028
Within Groups		2.480	10	.248		
Total		24.949	14			

Nilai sig pada Linear, kuadratik dan kubik Sig < 0,05 maka, dicari nilai R² tertinggi

Ringkasan Model dan Estimasi Parameter

Dependent Variable: Pengamatan 48 Jam

Persamaan	Ringkasan Model					Estimasi Parameter		
	R ²	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2
Linear	.545	15.581	1	13	.002	7.673	.013	
Quadratic	.717	15.165	2	12	.001	5.440	.052	-0.00013

R² tertinggi adalah regresi kubik maka, hubungan variabel penelitian adalah Kuadratik. Sehingga Persamaanya adalah $Y=5.44 + 0.52 x - 0.00013x^2$.

X Optimum adalah 200 ppm . Y optimum adalah 10.64 mm



pengamatan48jam

