

**PENGARUH EKSTRAK KASAR BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla*)
TERHADAP DAYA HAMBAT *Vibrio harveyi* SECARA IN VITRO**

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

**Oleh:
CHRISTIANTO FAJAR PRASETYO
NIM. 0910850083**



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



**PENGARUH EKSTRAK KASAR BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla*)
TERHADAP DAYA HAMBAT *Vibrio harveyi* 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:
CHRISTIANTO FAJAR PRASETYO
NIM. 0910850083**



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

SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK KASAR BIJI MAHONI (*Swietenia macrophylla*)
TERHADAP DAYA HAMBAT *Vibrio harveyi* SECARA *IN VITRO*

Oleh :

CHRISTIANTO FAJAR PRASETYO

NIM. 0910850083

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 2 Juni 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Penguji I

Dosen Pembimbing I

(Dr. Ir. Mohammad Fadjar, M.Sc)

(Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS)

NIP. 19621014 198701 1 001

NIP. 19550213 198403 1 001

Tanggal:

Tanggal:

Dosen Penguji II

Dosen Pembimbing II

(Muhammad Fakhri, S.Pi, M.Sc)

(Dr. Ir. Maftuch, MS.i)

NIP. 860717 08 1 1 0092

NIP. 19660825 199203 1 001

Tanggal:

Tanggal:

Mengetahui,
Ketua Jurusan

Manajemen Sumberdaya Perairan

(Dr.Ir. Arning Wilujeng E, 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, Mei 2014

Mahasiswa

Christianto Fajar Prasetyo

UCAPAN TERIMAKASIH

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

1. Tuhan Yang Maha Esa yang senantiasa mengiringi dan memberi petunjuk-Nya dalam setiap langkah dalam mengerjakan laporan ini.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS. selaku dosen pembimbing I, yang senantiasa dengan sabar dan telaten dalam membimbing penulis, meskipun masih saja banyak kekurangan yang penulis lakukan.
3. Bapak Dr. Ir. Maftuch, MSi. 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.
4. Ucapan terima kasih, penulis persembahkan kepada keluarga dan saudara tercinta, atas dorongan yang kuat, motivasi dan doa yang tiada putusnya.
5. Semua pihak yang telah membantu dan penulis tidak dapat menyebut satu persatu sehingga laporan skripsi ini dapat terselesaikan.

Malang, Mei 2014

Penulis

RINGKASAN

CHRISTIANTO FAJAR PRASETYO. Pengaruh Ekstrak Kasar Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla*) terhadap Daya Hambat *Vibrio harveyi* Secara *In Vitro*. Di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS.** dan **Dr. Ir. Maftuch, MSi.**

Usaha budidaya perairan adalah salah satu upaya untuk memenuhi kebutuhan protein hewani dalam kebutuhan sehari-hari. Dalam usaha budidaya, kendala seperti penyakit udang sering menjadi permasalahan. Salah satu penyakit yang sering menyerang pada budidaya udang disebabkan oleh bakteri *V. harveyi*. Selama ini pencegahan terhadap serangan bakteri umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia. Pemberian antibiotik berkepanjangan dapat menyebabkan organisme menjadi resisten. Selain itu, residu dari antibiotik dan bahan kimia dapat mencemari lingkungan perairan. Biji mahoni (*S. macrophylla*) adalah salah satu tumbuhan obat yang mengandung senyawa kimia seperti flavonoid dan saponin. Flavonoid dan saponin bersifat antibakteri.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, pada bulan Oktober sampai November 2013. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dan dosis terbaik ekstrak kasar biji mahoni (*S. macrophylla*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *In vitro*.

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 konsentrasi ekstrak kasar biji mahoni yaitu : konsentrasi 0 ppt (Kontrol) (A), Konsentrasi 1 ppt (B), Konsentrasi 3 ppt (C), Konsentrasi 5 ppt (D), Konsentrasi 7 ppt (E), masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak kasar biji mahoni memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi*, yaitu perlakuan A dengan konsentrasi 0 ppt (kontrol) tidak memiliki diameter hambatan. Perlakuan B dengan konsentrasi 1 ppt memiliki rata-rata daya hambat sebesar 9 mm. Perlakuan C dengan konsentrasi 3 ppt sebesar 10,47 mm. Perlakuan D dengan konsentrasi 5 ppt sebesar 12,07 mm. Perlakuan E dengan konsentrasi 7 ppt sebesar 12,97 mm. Hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar biji mahoni (*S. macrophylla*) dengan diameter hambatan yang terbentuk berpola linier, dengan persamaan linier $y = 0,03x + 0,09$ dengan nilai $r^2 = 0,98$.

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah ekstrak kasar biji mahoni dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* dan konsentrasi yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah konsentrasi 7 ppt.

Saran dari hasil penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak kasar biji mahoni secara *in vivo*.

KATA ANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyajikan skripsi yang berjudul "Pengaruh Ekstrak Kasar Biji Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap Daya Hambat Bakteri *V. harveyi* Secara *In Vitro*". Skripsi ini merupakan salah satu syarat yang diperlukan untuk memperoleh gelar sarjana (S-1) pada Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Penulisan skripsi ini adalah mengenai pengaruh pemberian ekstrak kasar biji mahoni (*S. macrophylla*) dengan konsentrasi yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*. Tujuan dari pemberian konsentrasi yang berbeda adalah untuk mengetahui konsentrasi optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih belum sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dalam menambah pengetahuan dan memberikan informasi bagi pihak-pihak yang berminat dan membutuhkannya.

Malang, Mei 2014

Penulis

DAFTAR ISI

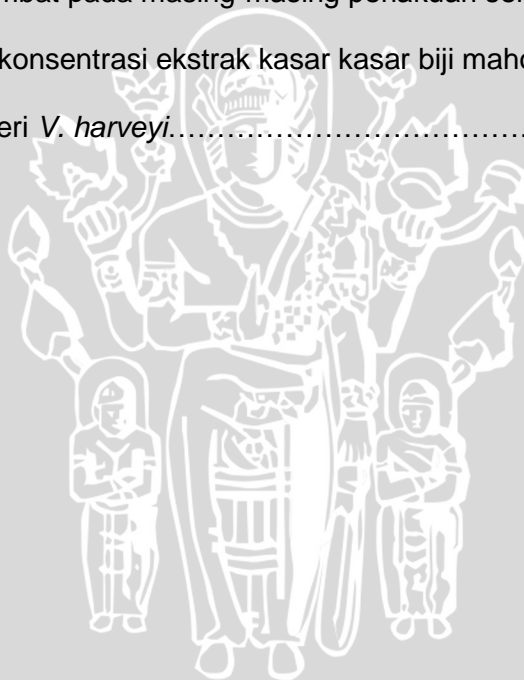
	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
UCAPAN TERIMAKASIH.....	iv
RINGKASAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Kegunaan Penelitian.....	4
1.5 Hipotesis.....	4
1.6 Tempat dan Waktu Pelaksanaan Penelitian.....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Bakteri <i>V. harveyi</i>	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	6
2.1.2 Metabolisme dan Pertumbuhan.....	7
2.1.3 Habitat dan Penyebaran.....	8
2.1.4 Infeksi dan Tanda Penyerangan.....	8
2.2 Mahoni (<i>S. macrophylla</i>).....	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	9
2.2.2 Bahan Aktif Biji Mahoni.....	11
2.2.3 Ekstrak Kasar.....	12
2.2.4 Daya Hambat.....	12
2.2.5 Aktivitas Antimikroba.....	13
2.2.6 Mekanisme Kerja Antimikroba.....	14
2.3 Uji Efektivitas Antibakteri Secara <i>In Vitro</i>	15

2.3.1 Cara Pengenceran	15
2.3.2 Uji MIC	15
2.3.3 Uji Cakram	16
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	17
3.1 Materi Penelitian	17
3.1.1 Bahan-bahan Penelitian	17
3.1.2 Alat-alat Penelitian	17
3.2 Metode Penelitian dan Rancangan Penelitian	18
3.2.1 Metode Penelitian	18
3.2.2 Rancangan Penelitian	19
3.3 Prosedur Penelitian	20
3.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	20
3.3.2 Pembuatan Ekstrak Kasar Biji Mahoni	21
3.3.3 Pembuatan Media	22
A. TCBSA	22
B. NB	23
3.3.4 Pemiakan Bakteri <i>V. harveyi</i>	23
3.4 Pelaksanaan Penelitian	24
A. Uji MIC	24
B. Uji Cakram	25
3.5 Parameter Uji	27
3.6 Analisa Data	27
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Pemiakan Bakteri <i>V. harveyi</i>	28
4.2 Daya Antibakterial Ekstrak Kasar Biji Mahoni	29
4.2.1 Uji MIC	29
4.2.2 Uji Cakram	31
4.3 Suhu Inkubator	35
5. KESIMPULAN DAN SARAN	37
5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	41



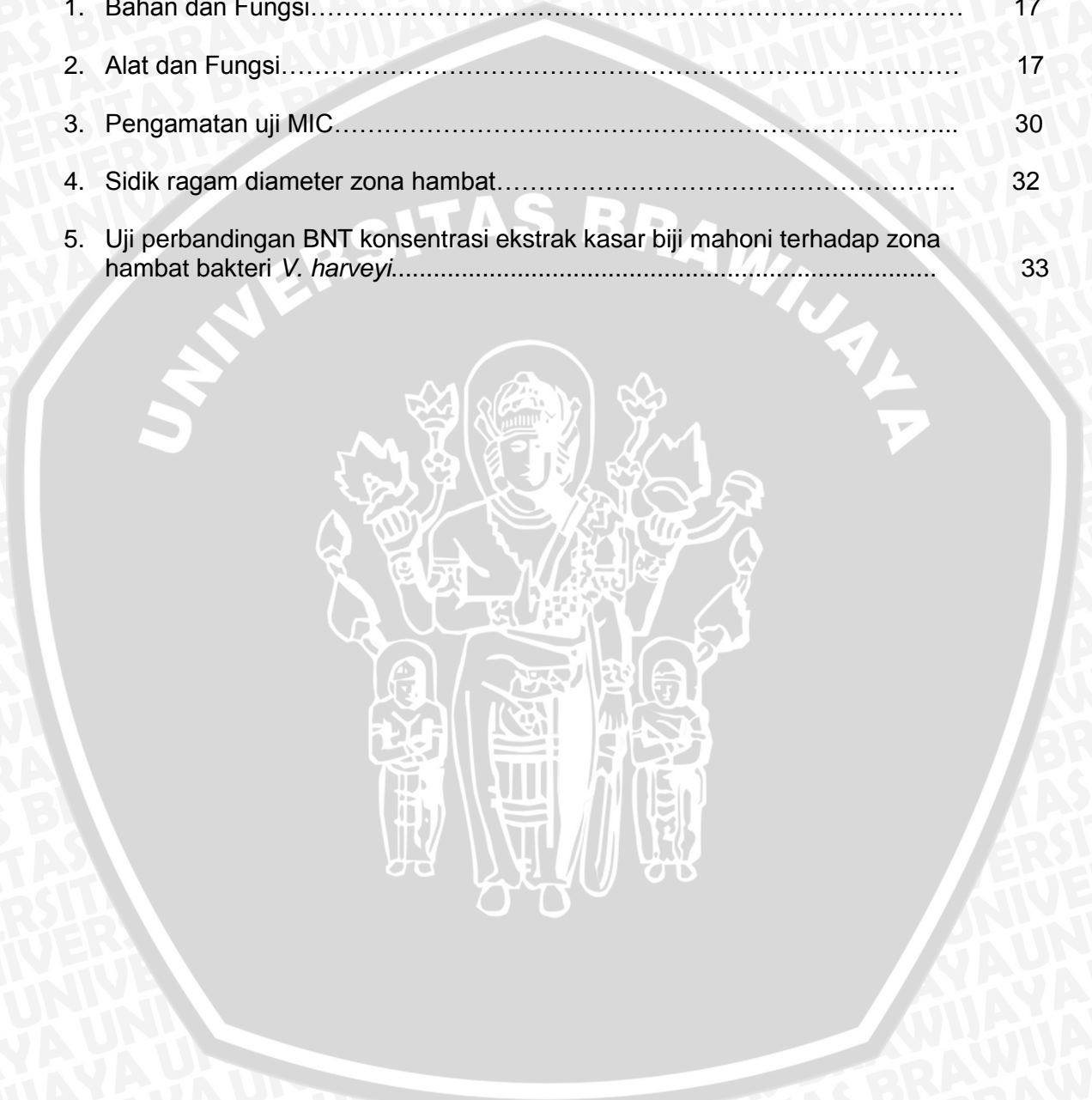
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>V. harveyi</i>	7
2. Buah mahoni	10
3. Denah percobaan	20
4. Biakan murni <i>V. harveyi</i>	28
5. Bakteri <i>V. harveyi</i> perbesaran 100x	29
6. Hasil uji MIC	30
7. Diameter zona hambat pada masing-masing perlakuan selama penelitian.....	32
8. Hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar biji mahoni terhadap diameter zona hambat bakteri <i>V. harveyi</i>	33



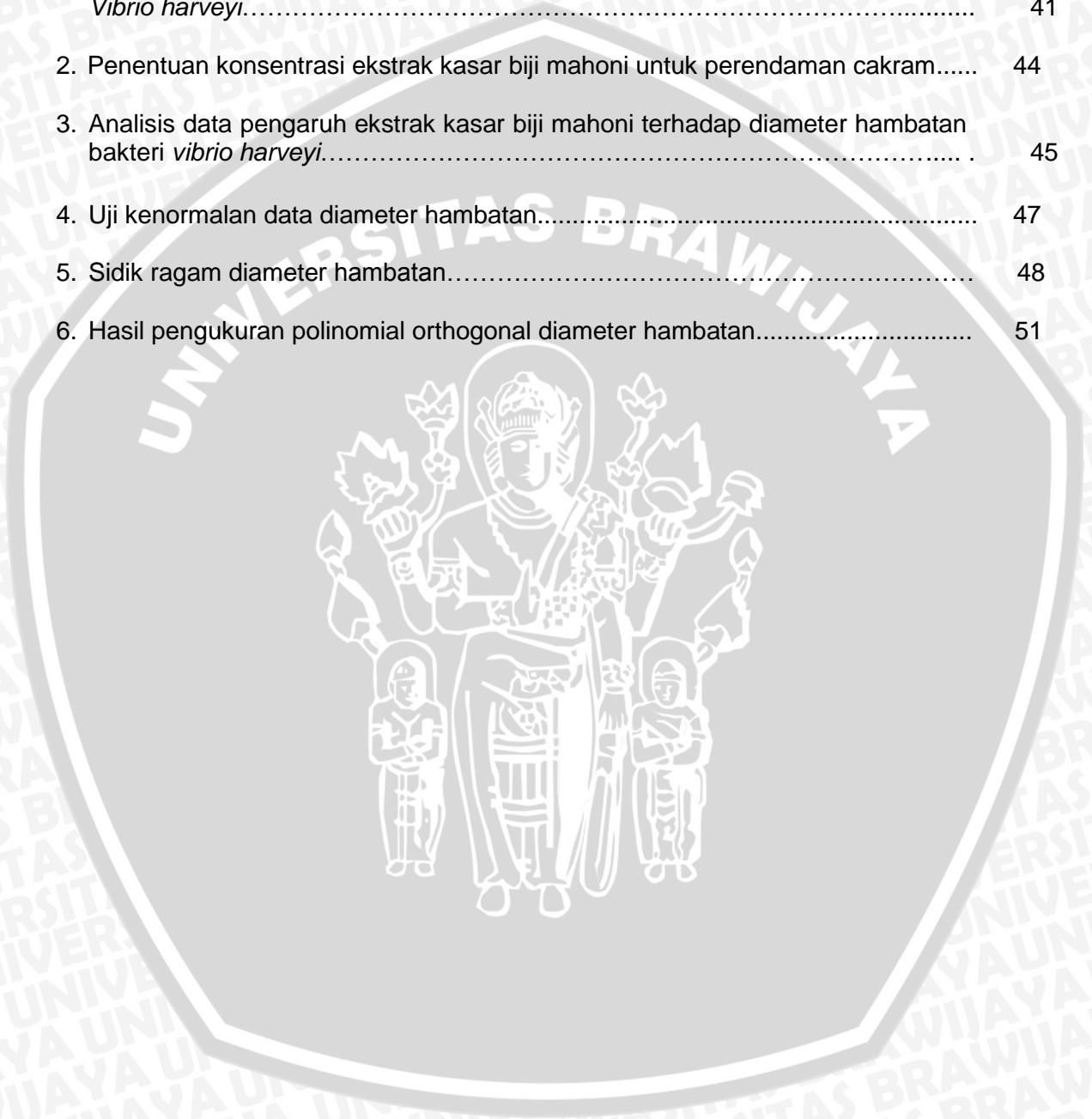
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Bahan dan Fungsi.....	17
2. Alat dan Fungsi.....	17
3. Pengamatan uji MIC.....	30
4. Sidik ragam diameter zona hambat.....	32
5. Uji perbandingan BNT konsentrasi ekstrak kasar biji mahoni terhadap zona hambat bakteri <i>V. harveyi</i>	33



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil uji cakram ekstrak kasar biji mahoni terhadap daya hambat bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	41
2. Penentuan konsentrasi ekstrak kasar biji mahoni untuk perendaman cakram.....	44
3. Analisis data pengaruh ekstrak kasar biji mahoni terhadap diameter hambatan bakteri <i>vibrio harveyi</i>	45
4. Uji kenormalan data diameter hambatan.....	47
5. Sidik ragam diameter hambatan.....	48
6. Hasil pengukuran polinomial orthogonal diameter hambatan.....	51



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara maritim memiliki kekayaan sumber daya perikanan yang berlimpah dengan luas lahan aquakultur 28,5 juta hektar, yang dapat dijadikan usaha dalam berbagai skala. Dengan luas daerah seperti itu, Indonesia memiliki beraneka ragam jenis kehidupan di laut. Salah satu contohnya ikan, merupakan jenis organisme yang seluruh atau sebagian dari siklus hidupnya berada di lingkungan perairan. Ada ribuan ikan yang masuk dalam perairan Indonesia, di antaranya memiliki fungsi sebagai ikan hias dan ada juga yang memiliki kandungan yang baik untuk di konsumsi (Anonymous^a, 2012).

Dewasa ini, protein hewani terutama yang berasal dari laut sangat dibutuhkan oleh masyarakat, hal ini sejalan dengan asumsi bahwa protein hewani yang berasal dari laut dapat meningkatkan kecerdasan. Berkaitan dengan hal tersebut, sumber protein hewani yang berasal dari laut saat ini semakin banyak dibudidayakan. Kelompok besar biota laut yang banyak dibudidayakan selain ikan adalah dari kelompok krustasea, diantaranya rajungan, kepiting dan udang windu. Ketiga biota tersebut banyak dibudidayakan oleh masyarakat di daerah pantai (Hatmanti, 2003).

Menurut Maulina, Handaka dan Riyantini, (2012), pemanfaatan dan pengembangan potensi sumberdaya perairan pantai dan laut menjadi paradigma baru pembangunan dimasa sekarang yang harus dilaksanakan secara rasional dan berkelanjutan. Kebijakan ini sangat realistis karena didukung oleh adanya potensi sumberdaya laut dan pantai yang masih cukup besar peluangnya untuk pengembangan eksploitasi dibidang perikanan baik penangkapan maupun usaha budidaya ikan khususnya budidaya tambak.

Budidaya udang memberikan kontribusi yang besar bagi produksi sektor perikanan Indonesia. Ekspor produksi udang Indonesia pernah mencapai 50% dari seluruh ekspor perikanan pada tahun 2002 dan menempati urutan lima besar dalam komoditas ekspor non migas. Dalam menjaga kelangsungan produksi udang yang telah memberikan devisa yang besar bagi negara, maka berbagai faktor yang menyebabkan terhambatnya produksi udang perlu diperhatikan (Felix , Nugroho, Silalahi dan Octavia, 2011).

Menurut Prajitno, (2007), permasalahan dalam penyediaan benur adalah kematian masal yang disebabkan oleh serangan pathogen, terutama bakteri “udang menyala” (*Luminescent vibriosis*) atau yang dikenal dengan penyakit kunang-kunang. *V. harveyi* banyak ditemukan pada kerang dan udang windu. Penyakit ini bersifat akut dan virulen, karena dapat mematikan populasi larva yang terserang hanya dalam waktu 1-3 hari sejak gejala awal yang tampak. Kondisi semacam ini tidak dapat dibiarkan secara terus menerus dimana penyakit kunang-kunang akan selalu menjadi kendala kegagalan produksi larva udang di *hatchery*. Sejak tahun 1990-an budidaya udang windu di tambak mengalami berbagai kasus kematian udang, baik akibat lingkungan perairan yang kurang mendukung maupun adanya serangan penyakit bacterial *V. harveyi*, maupun viral (MBV, YHV, HPV, dan WSSV) (Atmomarsono, Muliani dan Tampangallo, 2010).

Selama ini pencegahan terhadap serangan bakteri pada umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia. Akan tetapi, penggunaan antibiotik ternyata dapat menimbulkan efek samping bagi patogen itu sendiri maupun terhadap ikan yang dipelihara. Pemberian antibiotik secara terus menerus dapat menyebabkan organisme patogen menjadi resisten, sehingga penggunaan antimikroba menjadi tidak efektif. Selain itu, residu dari

antibiotik dapat mencemari lingkungan perairan yang mengakibatkan kualitas air menjadi turun. Salah satu alternatif yang digunakan untuk mengatasi permasalahan serangan penyakit adalah mengganti penggunaan antibiotik dengan bahan alami seperti tumbuhan obat yang dapat dijadikan sebagai antibakteri (Rinawati, 2012).

Salah satu tumbuhan obat yang banyak digunakan oleh masyarakat adalah biji mahoni. Pada tahun 70-an, mahoni banyak dicari orang sebagai obat orang-orang mengonsumsi biji mahoni hanya dengan menelan bijinya setelah membuang bagian yang pipih. Biji mahoni memiliki efek farmakologis antipiretik, anti jamur, menurunkan tekanan darah tinggi (hipertensi), kencing manis (diabetes mellitus), kurang nafsu makan, demam, masuk angin, ekzema, dan rematik (Rasyad, Mahendra, dan Hamdani, 2012).

Menurut Lestari, Kusuma, Agustina, America dan Oktavianus (2013), buah mahoni ini mengandung flavonoid dan saponin. Kandungan flavonoidnya berguna untuk melancarkan peredaran darah, terutama untuk mencegah tersumbatnya saluran darah, mengurangi kadar kolesterol dan penimbunan lemak pada dinding pembuluh darah, membantu mengurangi rasa sakit, pendarahan, dan lebam, serta bertindak sebagai antioksidan untuk menyingkirkan radikal bebas. Saponin berguna mencegah penyakit sampar, mengurangi lemak tubuh, meningkatkan sistem kekebalan, memperbaiki tingkat gula darah, serta menguatkan fungsi hati dan memperlambat proses pembekuan darah. Sehingga diharapkan dengan penggunaan ekstrak kasar biji mahoni dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*. Dan tidak menimbulkan efek samping, karena terbuat dari bahan alami. Dan nantinya dapat dimanfaatkan dalam dunia perikanan.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun perumusan masalah yang digunakan di penelitian ini yaitu sebagai berikut :

- Apakah ekstrak kasar biji mahoni dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*?
- Berapa dosis ekstrak biji mahoni yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

- Untuk mengetahui pengaruh ekstrak kasar biji mahoni terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*.
- Untuk mengetahui dosis yang optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*.

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah bagi mahasiswa, dosen, dan pembudidaya ikan/udang untuk mengetahui pencegahan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *V. harveyi* dengan menggunakan ekstrak kasar biji mahoni.

1.5 Hipotesis

H0 : Diduga penggunaan ekstrak kasar biji mahoni dengan konsentrasi yang berbeda tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*.

H1 : Diduga penggunaan ekstrak kasar biji mahoni dengan konsentrasi yang berbeda dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada bulan Oktober-November 2013.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *V. harveyi*

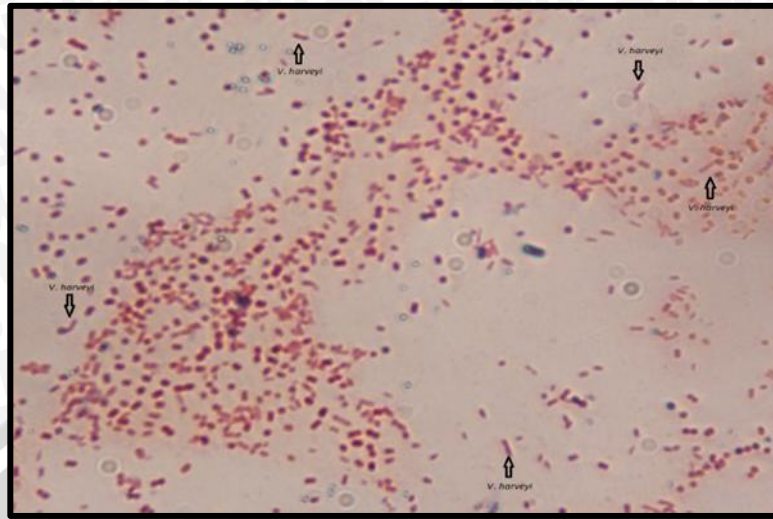
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi bakteri *V. harveyi* adalah sebagai berikut: (Anonymous^b, 2014).

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Order	: Vibrionales
Family	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Specific descriptor	: harveyi
Scientific name	: <i>Vibrio harveyi</i>

Bakteri *V. harveyi* memiliki ciri-ciri morfologi dan fisiologi antara lain: bentuk koloni bulat, elevasi cembung, berwarna krem dengan diameter 2-3 mm pada media SWC-agar. Bakteri *V. harveyi* bersifat gram negatif, sel tunggal berbentuk batang pendek yang bengkok (koma) atau lurus, motil, oksidase positif, sensitif terhadap uji vibriostatik 0/129, tidak membentuk H₂S, tidak membentuk gas dari fermentasi terhadap D-glukosa, tumbuh pada 8 media dengan penambahan 1-6 % NaCl, dan mempunyai flagella pada salah satu kutub selnya (Tepu, 2006).

Bakteri *Vibrio spp.* bersifat oportunistik pada budidaya air payau dan laut, karena dapat bertindak sebagai patogen primer dan sekunder. Sebagai patogen primer bakteri masuk ke dalam tubuh ikan melalui kontak langsung, sedangkan sebagai patogen sekunder bakteri menginfeksi ikan yang telah terserang penyakit lain misalnya parasit (Prajitno, 2007).



Gambar 1. Bakteri *V. harveyi* dengan perbesaran 100x

2.1.2 Metabolisme dan Pertumbuhan

Kebanyakan bakteri membutuhkan zat-zat anorganik seperti garam-garam yang mengandung Na, K, Ca, Mg, Fe, Cl, S, dan P. Sedangkan beberapa spesies tertentu masih membutuhkan tambahan mineral seperti Mn dan Mo. Selain itu bakteri juga ada yang memerlukan makanan yang mengandung C, H, O, dan N. yang berguna menyusun protoplasma. Unsur-unsur ini dapat diambil dalam bentuk elemen oleh beberapa spesies yang lain hanya dapat mengambil unsur-unsur tersebut dalam bentuk senyawa organik seperti karbohidrat, protein, lemak dan sebagainya (Dwidjoseputro, 1987).

Menurut Yanuhar (2011), telah diketahui bahwa *Vibrio* merupakan patogen oportunistik yang dalam keadaan normal ada dalam lingkungan pemeliharaan, kemudian berkembang dari sifat yang saprofitik menjadi patogenik jika kondisi lingkungannya memungkinkan. Bakteri *vibrio* ini juga dapat hidup di bagian tubuh organisme lain baik di luar tubuh dengan jalan menempel, maupun pada organ tubuh bagian dalam seperti hati, usus dan sebagainya.

Pada media agar *V. harveyi* dan *V. splendidus* dapat menghasilkan cahaya. luciferase. Enzim ini berfungsi sebagai katalisator di dalam proses

pengoksidasian flavin monokleotida dan aldehid alipatik rantai panjang menjadi flavin mononukleotida asam lemak dan cahaya (Prajitno, 2007).

2.1.3 Habitat dan Penyebaran

Menurut Evan (2009), pada umumnya *V. harveyi* bersifat patogen oportunistik, yaitu organisme yang dalam keadaan normal ada di lingkungan pemeliharaan yang bersifat saprofitik dan berkembang patogenik apabila kondisi lingkungan dan inangnya memburuk. Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu 30°C, salinitas antara 20-30 ppt dengan pH 7,0 dan bersifat anaerobik fakultatif, yaitu dapat hidup baik dengan atau tanpa adanya oksigen. Bakteri *V. Harveyi* dapat diisolasi dari air, kotoran dan eksoskeleton induk udang, air penetasan pakan alami, artemia, serta usus udang sehat.

Telah diketahui bahwa *Vibrio* merupakan patogen oportunistik yang dalam keadaan normal ada dalam lingkungan pemeliharaan, kemudian berkembang dari sifat yang saprofitik menjadi patogenik jika kondisi lingkungannya memungkinkan. Bakteri vibrio ini juga dapat hidup di bagian tubuh organisme lain baik di luar tubuh dengan jalan menempel, maupun pada organ tubuh bagian dalam seperti hati, usus dan sebagainya (Yanuhar, 2011).

Menurut Prajitno (2007), bakteri *Vibrio* tersebar hampir disepanjang pantai utara pulau Jawa. Mulai dari pantai Tuban, Gresik, Sidoarjo, Bangil, Probolinggo, Situbondo, dan Banyuwangi yang memiliki rata-rata salinitas diatas 25 ppt.

2.1.4 Infeksi dan Tanda Penyerangan

Salah satu bakteri patogen yang ditemukan pada budidaya udang adalah *V. harveyi* dimana bakteri tersebut menyerang organ dalam tubuh udang. Hal ini sesuai dengan pendapat Evan (2009), organ target infeksi *V. harveyi* adalah hepatopankreas, terlihat peradangan yang menyebar di semua bagian hepatopankreas. Hepatopankreas merupakan kelenjar pencernaan yang

berfungsi untuk memproduksi enzim pencernaan dan mengasimilasi nutrisi, termasuk pula menyerap makanan, transportasi, sekresi dari enzim pencernaan serta menyimpan lemak, glikogen dan beberapa mineral. Jika organ hepatopankreas terganggu maka akan mengganggu sistem fisiologis larva udang galah sehingga akhirnya dapat menyebabkan kematian.

Menurut Yanuhar (2011), menyebutkan bahwa *V. harveyi* menyebabkan kematian pada ikan hiu dan abalone dan menyebabkan necrotizing enteritis pada ikan flounder, gastroenteritis pada ikan Kerapu, systemic disease, ulcerative disease, necrosis serta vibriosis. Tanda terjangkitnya bakteri ini pada inang adalah terjadinya white spot pada kaki abalon dan menyebabkan hilangnya kemampuan lekat kaki. Juga menyebabkan necrotic, red anus, penyakit pada ginjal ikan, luka pada mata, black spot pada exoskeleton, dan hepatopancreas.

Menurut Nasi, Prayitno, dan Sarjito (2013), gejala klinis yang ditimbulkan dari vibriosis tergantung tingkat serangan yaitu kronik atau akut. Pada tingkat kronik dan akut gejala yang ditimbulkan cukup jelas. Gejala yang terlihat seperti punggung kehitam-hitaman, bercak merah pada pangkal sirip, sisik tegak, bergerak lamban, keseimbangan terganggu, nafsu makan berkurang. Sering terjadi mata menonjol (exophthalmia), perut kembung berisi cairan, hemoragik pada insang, mulut, tubuh, usus dan organ dalam. Apabila sampai fase ini ikan belum mati, gejala penyakit akan berkembang yaitu kulit mengelupas, koreng, nekrosis di beberapa bagian tubuh dan dapat pula terbentuk ulser.

2.2 Mahoni (*Swietenia macrophylla*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi mahoni adalah sebagai berikut: (Anonymous^b, 2014).

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Rurales
Suku : Meliaceae
Genus : *Swietenia*
Spesies : *Swietenia macrophylla*



Gambar 2. Buah Mahoni (Sumber: Anonymous^c, 2014).

Mahoni dapat ditemukan tumbuh liar di hutan jati dan tempat-tempat lain yang dekat dengan pantai, atau ditanam di tepi jalan sebagai pohon pelindung. Tanaman yang asalnya dari Hindia Barat ini, dapat tumbuh subur bila tumbuh di pasir payau dekat dengan pantai. Pohon, tahunan, tinggi 5 – 25 m, berakar tunggang, batangnya bulat, banyak bercabang dan kayunya bergetah. Daunnya daun majemuk menyirip genap, helaian daun bentuknya bulat telur, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, tulang menyirip, panjang 3 – 15 cm. Daun muda berwarna merah, setelah tua warnanya hijau. Bunganya bunga majemuk tersusun dalam karangan yang keluar dari ketiak daun. Ibu tangkai bunga silindris, warnanya coklat muda. Kelopak bunga lepas satu sama lain, bentuknya seperti sendok, warnanya hijau (Lestari *et al.*, 2013).

S. macrophylla merupakan tanaman yang termasuk dalam famili Meliaceae. Tanaman ini tersebar di Amerika tengah dan Amerika selatan. Pohon mahoni dapat mencapai tinggi antara 20-45 m. Kulit berwarna abu-abu dan halus ketika masih muda, berubah menjadi coklat tua, menggelembung dan mengelupas setelah tua. *S. macrophylla* King. memiliki daun bertandan dan menyirip yang panjangnya berkisar 35 - 50 cm, tersusun bergantian, halus berpasangan, 4 - 6 pasang tiap-daun, panjangnya berkisar 9 - 18 cm. Bunga kecil berwarna putih, panjang 10 - 20 cm, mulai bercabang (Ningsih, 2010).

2.2.2 Bahan Aktif Biji Mahoni

Buah mahoni ini mengandung *flavonoid* dan *saponin*. Kandungan *flavonoid*nya berguna untuk melancarkan peredaran darah, terutama untuk mencegah tersumbatnya saluran darah, mengurangi kadar kolesterol dan penimbunan lemak pada dinding pembuluh darah, membantu mengurangi rasa sakit, pendarahan, dan lebam, serta bertindak sebagai antioksidan untuk menyingkirkan radikal bebas. *Saponin* berguna mencegah penyakit sampar, mengurangi lemak tubuh, meningkatkan sistem kekebalan, memperbaiki tingkat gula darah, serta menguatkan fungsi hati dan memperlambat proses pembekuan darah (Lestari *et al.*, 2013).

Menurut Rosida dan Afizia (2012), dalam jumlah besar saponin bersifat toksik (racun) dan mengancam kehidupan untuk spesies hewan tertentu. Saponin pada konsentrasi yang tinggi terasa pahit, sehingga mengurangi palabilitas terhadap pakan. Pada hewan, saponin dapat menghambat aktifitas otot polos. Saponin dapat membentuk senyawa busa, dapat menghemolisis sel darah merah, merupakan racun kuat untuk ikan dan amfibi.

Menurut Sarjono dan Mulyani (2007), penggunaan senyawa antibakteri alami memiliki keuntungan karena lebih aman dikonsumsi dibandingkan senyawa

sintetik. Penggunaan senyawa sintetik dapat menimbulkan kerugian bagi kesehatan karena senyawa tersebut merupakan bahan kimia dimana efek sampingnya tidak terdeteksi dengan cepat (terakumulasi dalam tubuh) sehingga pemanfaatan senyawa antibakteri alami berkembang cukup luas. Pemanfaatannya lebih banyak digunakan untuk bahan pangan dan bidang farmasi.

2.2.3 Ekstrak Kasar

Menurut Hernani, Marwati dan Winarti (2007), ekstrak dapat dibagi dalam dua kategori, yaitu ekstrak kasar dan ekstrak murni. Ekstrak kasar artinya ekstrak yang mengandung semua bahan yang tersari dengan menggunakan pelarut organik, sedangkan ekstrak murni adalah ekstrak kasar yang telah dimurnikan dari senyawa senyawa melalui proses penghilangan lemak, penyaringan menggunakan resin atau adsorben.

Menurut Senja, Issuilaningtyas, Nugroho dan Setyowati (2014), dalam proses ekstraksi suatu bahan tanaman, banyak faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi diantaranya: jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi dan suhu yang digunakan untuk ekstraksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi pelarut terhadap rendemen ekstrak.

2.2.4 Daya Hambat

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Disc diffusion test atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (clear zone) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensivitas yaitu 10⁵-10⁸ CFU/mL (Idris, 2013).

Menurut Rosida dan Afizia (2012), jika diameter zona hambat yang terbentuk lebih besar atau sama dengan 6 mm, maka ekstrak dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri dan bila diameter zona hambat yang terbentuk lebih kecil dari 6 mm atau tidak terbentuk maka ekstrak tersebut dikategorikan tidak memiliki aktivitas antibakteri. Menghitung total diameter zona hambat tanpa mengurangi diameter kertas cakram menyatakan bahwa aktivitas antimikroba dikategorikan tingkat sensitifitas tinggi apabila diameter zona hambat mencapai > 12 mm. Kategori tingkat sensitifitas sedang diberikan apabila ekstrak mampu memberikan diameter zona hambat sekitar 9-12 mm. Kategori tingkat sensitifitas rendah, apabila diameter berkisar antara 6-9 mm dan resisten apabila <6 mm (tidak memiliki zona hambat).

2.2.5 Aktivitas Antimikroba

Menurut Rosida dan Afizia (2012), flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara mengganggu fungsi dari mikroorganisme, termasuk bakteri. Saponin termasuk senyawa triterpenoid dapat sebagai antimikroba. Berdasarkan sifat racunnya bagi hewan berdarah dingin dapat menghemolisis sel darah merah.

Menurut Wiyanto (2010), menjelaskan bahwa senyawa antibakteri bekerja dengan cara berinteraksi dengan dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan permeabilitas pada sel bakteri dan juga berdifusi ke dalam sel sehingga mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat (bakteriostatik) dan atau mati (bakteriosidal). Selain itu, senyawa antibakteri juga dapat menembus membran dan berinteraksi dengan material genetik sehingga bakteri mengalami mutasi.

Menurut Rinawati (2012), fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Dimana sebagian besar struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri

mengandung protein dan lemak. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu, yang akan berakibat pada lolosnya makromolekul, dan ion dari sel. Sehingga sel bakteri menjadi kehilangan bentuknya, dan terjadilah lisis.

2.2.6 Mekanisme Kerja Antimikroba

Menurut Wiyanto (2010), menyatakan bahwa kemampuan antimikroba dalam memberikan penghambatan terhadap mikroorganisme yang merusak bahan pangan sangat tergantung pada konsentrasi dan kandungan senyawanya. Pada dasarnya mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh antimikroba dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya 1) Gangguan pada senyawa penyusun dinding sel; 2) Peningkatan permeabilitas membran sel yang dapat menyebabkan kehilangan komponen penyusun sel; 3) Menginaktivasi enzim dan 4) Kerusakan fungsi material genetik.

Menurut Prajitno, (2007), bahwa perusakan membran sitoplasma, ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya akan menyerang gugus polar (gugus fosfat), sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Akhirnya mengakibatkan fosfolida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan terhambat pertumbuhannya dan akhirnya mengalami kematian.

Rusaknya dinding sel akan menyebabkan terhambatnya perumbuhan sel bakteri, dan pada akhirnya bakteri akan mati. Secara umum adanya kerja suatu bahan kimia sebagai zat antibakteri dapat mengakibatkan terjadinya perubahan-perubahan yang mengarah pada kerusakan hingga terhambatnya pertumbuhan sel bakteri tersebut (Retnowati, Bialangi dan Posangi, 2011).

2.3 Uji Efektivitas Antibakteri Secara *In Vitro*

2.3.1 Cara Pengenceran

Prinsip metode pengenceran adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal atau Minimal Inhibitory Concentration. Larutan yang ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri dan diinkubasi 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KBM) atau Minimal Bacteridical Concentration (MBC) (Idris, 2013).

Menurut Pastra, Melki dan Surbakti (2012), jumlah koloni pada cawan petri yang representatif untuk menggambarkan jumlah dan komposisi sel bakteri pada sampel cair dengan teknik agar tuang adalah 30 sampai dengan 300 koloni, Hasil inokulasi pada pengenceran 10⁻¹ diberi kode A1 dan hasil inokulasi pada pengenceran 10⁻² diberi kode A2.

2.3.2 Uji MIC (Minimum Inhibitor Concentration)

Menguji bakteri patogen secara *in vitro* penting untuk mengetahui kerentanan bakteri terhadap suatu bahan antibakteria. Metode difusi disk merupakan metode yang sesuai untuk menentukan kerentanan bakteri terhadap antibakteria. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yang tampak di sekitar disk berkorelasi dengan nilai Minimal Inhibitory Concentration (MIC) (Sarida, Tarsim, dan Faizal, 2010).

Hasil pengamatan dibandingkan dengan larutan pambanding (medium TSB 2% ditambahkan konsentrasi ekstrak tanpa suspensi bakteri) sehingga dapat diketahui adanya media yang mulai bening/ jernih yang menunjukkan nilai MIC. Nilai-nilai MIC ditafsirkan sebagai pengenceran tertinggi dan konsentrasi terendah dari sampel (Rinawati, 2012).

2.3.3 Uji cakram

Menurut Sarida (2010), menguji bakteri patogen secara *in vitro* penting untuk mengetahui kerentanan bakteri terhadap suatu bahan antibakteria. Metode difusi disk merupakan metode yang sesuai untuk menentukan kerentanan bakteri terhadap antibakteria.

Menurut Kusmiyati dan Agustini (2007), bahwa pengukuran aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan, metode difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas. Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram.

Menurut Trianto, Wibowo, Suryono, dan Sapta (2004), penggunaan cakram tunggal pada setiap antibiotik dengan standarisasi yang baik, bisa menentukan apakah bakteri akan resisten dengan cara membandingkannya dengan zona hambatan standar.

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi penelitian ini meliputi bahan-bahan dan alat-alat yang digunakan dalam penelitian.

3.1.1 Bahan-Bahan Penelitian

Tabel 1. Bahan dan Fungsi

No	Bahan	Fungsi
1	Biakan murni <i>V. harveyi</i>	Sebagai bahan yang akan di uji.
2	Biji mahoni (<i>Swietenia macrophylla</i>)	Sebagai bahan yang akan di uji.
3	TCBSA	Sebagai media pertumbuhan bakteri.
4	NB	Sebagai media peremajaan bakteri
5	Aquades	Sebagai bahan campuran dalam pembuatan media tumbuh bakteri
6	Alkohol 70%	Sebagai bahan sterilisasi
7	Spiritus	Sebagai bahan pembakaran pada bunsen
8	Tali	Sebagai pengikat saat proses sterilisasi.
9	Kertas cakram ukuran 6 mm	Sebagai bahan pengujian daya hambat bakteri.
10	Alumunium foil	Sebagai penutup saat proses sterilisasi.
11	Kertas label	Sebagai pemberi tanda pada alat-alat
12	Kapas	Sebagai penutup saat proses sterilisasi.
13	Tissue	Sebagai bahan pembersih alat-alat.

3.1.2 Alat dan Fungsi

Tabel 1. Alat dan Fungsi

No	Alat	Fungsi
1	Autoklaf	Sebagai alat untuk sterilisasi.
2	Lemari pendingin	Sebagai tempat penyimpanan bahan penelitian.

Tabel 2. Lanjutan

No	Alat	Fungsi
3	Alkohol 70% Timbangan analitik	Sebagai alat untuk menimbang bahan.
4	Hotplate	Sebagai alat pemanas.
5	Cawan petri	Sebagai wadah penelitian.
6	Beaker glass	Sebagai wadah pembuatan media agar.
7	Tabung reaksi	Sebagai wadah kultur bakteri.
8	Erlenmayer	Sebagai wadah peremajaan bakteri.
9	Gelas ukur	Sebagai alat untuk mengukur bahan larutan.
10	Pipet volume	Sebagai alat untuk memindahkan larutan.
11	Bunsen	Sebagai alat pembakar.
12	Gunting	Sebagai alat untuk memotong tali dan aluminium foil.
13	Jarum ose	Sebagai alat untuk mengambil bakteri.
14	Triangle	Sebagai alat untuk meratakan bakteri pada media agar.
15	Pinset	Sebagai alat untuk mengambil kertas cakram.
16	Spatula	Sebagai alat untuk mengaduk.

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Metode penelitian atau metode ilmiah adalah prosedur atau langkah-langkah dalam mendapatkan pengetahuan ilmiah atau ilmu. Jadi metode penelitian adalah cara sistematis untuk menyusun ilmu pengetahuan. Sedangkan teknik penelitian adalah cara untuk melaksanakan metode penelitian. Metode penelitian biasanya mengacu pada bentuk-bentuk penelitian.

Metode penelitian merupakan rangkaian cara atau kegiatan pelaksanaan penelitian yang didasari oleh asumsi-asumsi dasar, pandangan-pandangan filosofis dan ideologis, pertanyaan dan isu-isu yang dihadapi. Suatu penelitian mempunyai rancangan penelitian (research design) tertentu. Rancangan ini

menggambarkan prosedur atau langkah-langkah yang harus ditempuh, waktu penelitian, sumber data dan kondisi arti apa data dikumpulkan, dan dengan cara bagaimana data tersebut dihimpun dan diolah. Tujuan rancangan penelitian adalah melalui penggunaan metode penelitian yang tepat, dirancang kegiatan yang dapat memberikan jawaban yang teliti terhadap pertanyaan-pertanyaan penelitian.

3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana setiap perlakuan dilakukan sebagai satuan tersendiri, tidak ada hubungan pengelompokan. Rumus dari model RAL adalah sebagai berikut :

$$Y = \mu + T + \varepsilon$$

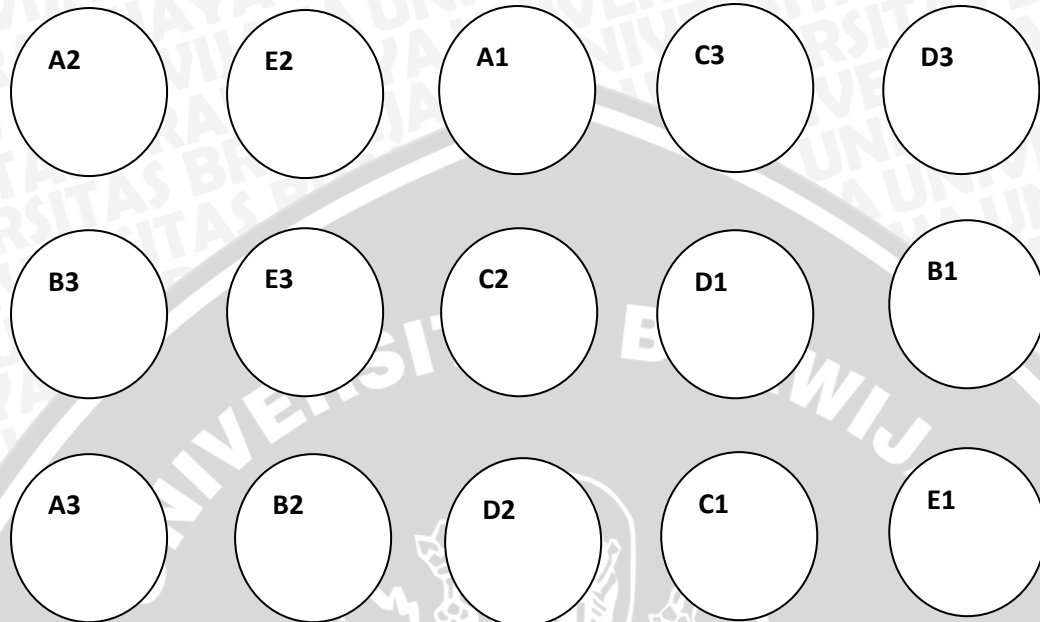
Keterangan:

- Y : Nilai pengamatan
 μ : Nilai rata-rata harapan
T : Pengaruh perlakuan
 ε : Galat

Perlakuan yang diberikan adalah perbedaan konsentrasi ekstrak kasar biji mahoni terhadap bakteri *V. harveyi*. Dasar penelitian ini adalah penelitian pendahuluan untuk mengetahui konsentrasi yang tepat dan efektif untuk penggunaan ekstrak kasar biji mahoni. Sebagai perlakuan, konsentrasi ekstrak kasar biji mahoni yang digunakan adalah:

- Perlakuan A = Konsentrasi 0 ppt (Kontrol)
- Perlakuan B = Konsentrasi 1 ppt
- Perlakuan C = Konsentrasi 3 ppt
- Perlakuan D = Konsentrasi 5 ppt
- Perlakuan E = Konsentrasi 7 ppt

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali, penempatan denah percobaan seperti pada gambar berikut ini:



Gambar 3. Denah atau Tata Letak Percobaan

Keterangan:

- A, B, C, D, E : Perlakuan
 1, 2, 3 : Ulangan

3.1 Prosedur Penelitian

3.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Menurut Dwidjoseputro (1987), sterilisasi alat dan bahan dengan menggunakan autoklaf adalah sebagai berikut :

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan detergen, dikeringkan kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas perkamen dan diikat menggunakan benang.



- Air secukupnya dituang ke dalam autoklaf, kemudian alat yang telah dibungkus kertas koran dimasukkan ke dalam autoklaf dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris.
- Autoklaf dinyalakan hingga mencapai suhu 121°C dan tekanan menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit dengan cara membuka atau menutup kran uap yang berada di bagian atas tutup autoklaf.
- Autoklaf dimatikan, ditunggu beberapa saat sampai termometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka kran uap lalu buka penutup autoklaf 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.
 - Sterilisasi tempat perlakuan

Selain alat dan bahan, tempat dan laboran harus steril guna menghindari kontaminan. Tangan laboran yang bersinggungan, meja dan barang disekitar tempat perlakuan harus selalu dalam kondisi aseptis. Sterilisasi tempat dapat dilakukan dengan cara kimia menggunakan alkohol maupun cara fisika dengan pembakaran langsung maupun dengan penyinaran dengan sinar UV.

3.3.2 Pembuatan Ekstrak Kasar Biji Mahoni

Pembuatan ekstrak kasar biji mahoni dilakukan menurut Wiyanto, (2010):

- Biji mahoni yang telah kering di blender hingga halus.
- Biji mahoni ditimbang sebanyak 10 g dan dimasukkan ke dalam beaker glass.
- Ditambahkan aquades sebanyak 100 ml.
- Dipanaskan diatas hot plate dengan suhu 80° sampai berkurang 50%.
- Larutan didinginkan dan diendapkan.

- Larutan disaring dengan kertas saring untuk memisahkan endapan dengan larutan.
- Ekstrak disimpan di lemari pendingin, sehingga dapat tahan lama.

Dosis yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 1 ppt, 3 ppt, 5 ppt, dan 7 ppt, dosis ini digunakan berdasarkan penelitian pendahuluan. Banyaknya ekstrak kasar yang digunakan dapat diketahui setelah dilakukan perhitungan dengan rumus sebagai berikut:

$$a \text{ ppt} \longrightarrow \frac{a}{1000} = \frac{x}{y}$$

Dimana:

A = dosis larutan yang diinginkan

1000 = volume air

x = banyaknya serbuk kulit manggis yang diinginkan

y = volume air yang akan digunakan

Dari rumus tersebut maka dapat diketahui ekstrak kasar biji mahoni yang akan dijadikan larutan, dimana dosis 1 ppt membutuhkan ekstrak kasar biji mahoni sebanyak 0.01 gram, dosis 3 ppt membutuhkan ekstrak kasar biji mahoni sebanyak 0.03 gram, dosis 5 ppt membutuhkan ekstrak kasar biji mahoni sebanyak 0.05 gram, dan dosis 7 ppt membutuhkan ekstrak kasar biji mahoni sebanyak 0.07 gram.

3.3.3 Pembuatan Media

➤ TCBSA (Thiosulfate Citrat Bilesalt Source Agar)

Pembuatan media TCBSA menurut Lay (1994):

- Media TCBSA ditimbang sebanyak 13,35 gram dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 150 ml aquades steril.
- Larutan TCBSA dipanaskan sambil diaduk hingga larut sempurna dan warna menjadi hijau keruh.

- Larutan TCBSA dalam Erlenmeyer yang sudah larut dituangkan ke dalam cawan petri yang telah di sterilakan, masing-masing 10 ml.
- Media dibiarkan dingin dan memadat setelah itu balik media agar tersebut supaya uap air tidak menetes atau jatuh pada media agar yang akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri.
- kemudian disimpan dalam lemari pendingin supaya tahan lama dan dapat digunakan sewaktu-waktu.

➤ **NB (Nutrient Broth)**

Pembuatan media *Nutirent Broth* (NB) menurut Retnowati *et al.*, (2011) :

- NB ditimbang 0,13 gram dilarutkan dalam erlenmeyer dengan 10 ml aquades steril kemudian diaduk hingga larut sempurna dan berwarna kuning.
- Erlenmeyer ditutup kapas dan alumunium foil lalu dibungkus dengan kertas perkamen dan diikat, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit.
- Media yang akan digunakan untuk pembiakan bakteri dibiarkan dingin karena bakteri akan mati bila diinokulasi pada media yang masih panas.
- Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari pendingin agar tahan lama.

3.3.4 Pembiakan Bakteri *V. harveyi*

Pembiakan bakteri *V. harveyi* menurut Pelzar dan Chan, (1986) :

- Larutan NB disiapkan dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml.
- Jarum ose dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum ose disentuhkan kebiakan murni *V. harveyi* kemudian dicelupkan ke NB.
- Larutan NB dibiarkan 12-24 jam dalam inkubator pada suhu 30⁰C.

- Disiapkan petridisk yang berisi media TCBSA.
- Setelah NB menjadi keruh, jarum ose dicelupkan ke NB dan dioleskan ke permukaan TCBSA.
- Digoreskan ke dalam media TCBSA secara zig-zag dengan metode goresan Sinambung, T atau Kuadran
- Media TCBSA Inkubasi di dalam inkubator dengan suhu 35 °C selama 24 jam.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

A. Uji MIC (*Minimum Inhibitor Concentration*)

Pengamatan kualitatif terhadap ada atau tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media cair (Nutrient Broth) dilakukan untuk mengetahui *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC), yaitu konsentrasi minimum suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan kontrol sebagai pembanding. Dalam hal ini yang digunakan sebagai kontrol adalah media cair (Nutrient Broth) yang tidak mengandung bakteri. Cara penentuan MIC menurut Wiyanto, (2010) adalah sebagai berikut :

- 10 tabung reaksi steril disiapkan dan masing-masing diberi label 0,5 ppt; 0,6 ppt; 0,7 ppt; 0,8 ppt; 0,9 ppt; 1 ppt; 1,1 ppt; 1,2 ppt; 1,3 ppt; 1,4 ppt, kemudian pada masing-masing tabung diisi dengan 5 ml media cair NB.
- Pada tabung pertama 50% adalah 5 ml ekstrak kasar biji mahoni dan 5 ml media cair (NB) kemudian dihomogenkan, selanjutnya dilakukan pengenceran berseri dengan cara mengambil 5 ml dari tabung pertama dan diletakkan pada tabung kedua dan hal ini dilakukan terus menerus hingga pada tabung yang terakhir terdapat 10 ml larutan.

- Biakan murni *V. harveyi* ditanam sebanyak 2 inokulum ke dalam masing-masing tabung sehingga pada tabung K+ hanya berisi NB saja, kemudian tabung tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam masing-masing tabung dilihat kekeruhannya dengan menggunakan Mc Farland.
- Diambil hasil yang mendekati kontrol positif untuk konsentrasi terendah.
- Pertumbuhan bakteri diamati, apabila medium tampak keruh menandakan bahwa bakteri dapat tumbuh. Hal ini berarti bahwa dosis yang digunakan tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan sebaliknya.

B. 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.

Uji cakram digunakan untuk mengetahui pada konsentrasi berapa persen yang bersifat bakteristatik 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 mikroorganisme.

Prosedur pelaksanaan Uji cakram menurut Wiyanto, (2010) adalah sebagai berikut :

- 5 inokulum biakan murni bakteri *V. harveyi* ditanam dalam 4 ml media cair (Nutrient Broth) dan di inkubasi pada suhu 35 °C selama 3 jam sehingga terbentuk kekeruhan yang sama dengan larutan Standart *Mc Farland*.

- Pembuatan larutan standart *Mc Farland* yaitu dengan cara mencampur BaCl_2 1% 0,9 ml dan H_2SO_4 1% 9,1 ml sehingga terbentuk kepadatan $27 \times 10^8 \text{ sel/ml}$.
- Botol film steril disiapkan untuk perlakuan konsentrasi ekstrak kasar biji mahoni. Konsentrasi minimum didapatkan berdasarkan hasil uji MIC.
- Untuk menentukan konsentrasi ekstrak biji mahoni yang menggunakan rumus pengenceran : $N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$

Keterangan:

N_1 = Stok yang ada (%)

V_1 = Ekstrak yang dibutuhkan (ml)

N_2 = Konsentrasi ekstrak biji mahoni yang digunakan (%)

V_2 = Volume aquades yang digunakan (ml)

- Penentuan konsentrasi ekstrak biji mahoni untuk uji cakram disajikan pada tabel.
- Kertas cakram steril direndam ke dalam ekstrak kering biji mahoni selama 30 menit berdasarkan konsentrasi yang telah ditentukan.
- Bakteri ($6 \times 10^9 \text{ sel/ml}$) diambil sebanyak 0,05 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media agar dengan ketebalan ± 6 mm.
- Diratakan bakteri dengan triangle.
- Diletakkan kertas cakram yang telah ditiriskan pada permukaan lempeng agar.
- Dilakukan pembacaan hasil setelah diinkubasi pada suhu ruang (37°C) selama 18-24 jam dengan cara mengukur daerah hambat yang terbentuk.

Cara peletakan kertas cakram dalam petridisk harus memenuhi kaidah – kaidah sebagai berikut :

- i. Jarak kertas cakram dengan tepi petridisk tidak boleh kurang dari 15 mm.

- ii. Jika jumlah kertas cakram lebih dari satu, maka jarak antar cakram tidak boleh kurang dari 24 mm.
- iii. Saat meletakkan kertas cakram tidak boleh sedikitpun bergeser, karena mengurangi validasi pengukuran.
- iv. Pengukuran berdasarkan diameter daerah hambatan dalam milimeter.

3.5 Parameter Uji

Parameter uji terdiri dari parameter utama dan parameter penunjang. Parameter utama yaitu pengukuran diameter kertas cakram yang dinyatakan dengan mm ditambah daerah bening yang ada di sekeliling kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong. Sedangkan parameter penunjangnya pH media dan suhu inkubasi.

3.6 Analisa Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur dilakukan uji keragaman atau uji F. apabila nilai F berbeda nyata atau sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil), untuk menentukan perlakuan yang memberikan respon terbaik pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%).

Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil yang dipengaruhi digunakan analisa regresi yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan yang terbaik.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembiakan Bakteri *Vibrio harveyi*

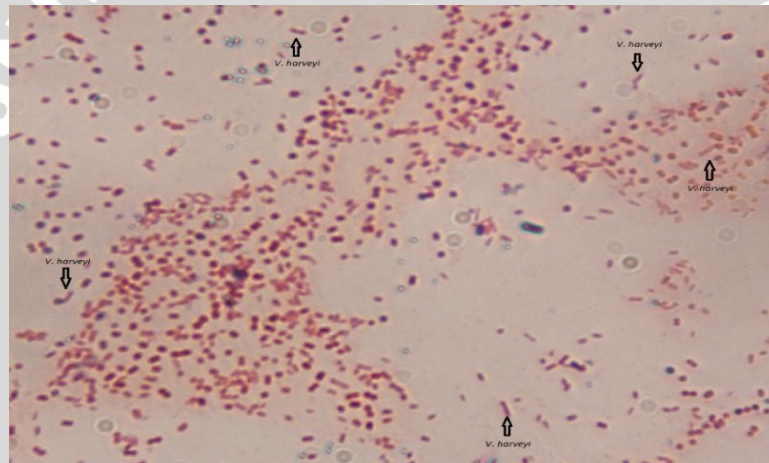
Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat murni yang diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau Jepara (BBPBAP). Selanjutnya dilakukan peremajaan kembali terhadap bakteri *V. harveyi* yang telah ada. Media yang digunakan untuk pembiakan bakteri *V. harveyi* selama penelitian ada dua jenis yaitu media cair NB (*Nutrient Broth*) dan media agar TCBSA (*Thiosulfate Citrat Bilesalt Source Agar*).

Untuk memperbanyak dan peremajaan kembali bakteri *V. harveyi*, 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 tuang. Metode pembiakan tuang dilakukan pada media agar yang diletakkan pada cawan petri dengan cara menuangkan NB yang telah mengandung bakteri dengan arah gerakan memutar ke kiri dan ke kanan sampai meliputi seluruh permukaan media agar, sehingga akan diperoleh koloni yang rata di seluruh permukaan media agar. Bakteri *V. harveyi* yang dibiakkan pada media TCBSA membentuk koloni berwarna kuning. Pembiakan dengan metode tuang dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Biakan Murni *V. harveyi* Metode Tuang.

Dalam penelitian digunakan pembiakan bakteri dengan kepadatan 10^9 bakteri/ml. Untuk mendapatkan kepadatan bakteri ini, dilakukan pembiakan bakteri dengan kepadatan sebesar 1 Mc Farland (1 Mc. Farland = 10^9 bakteri/ml). dengan melakukan penanaman bakteri uji ke dalam media tanam TCBSA, 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 1 ml dan dimasukkan ke dalam 45 ml NB lagi. Dengan demikian telah didapatkan kepadatan 10^6 bakteri/ml setelah 24 jam di inkubasi.

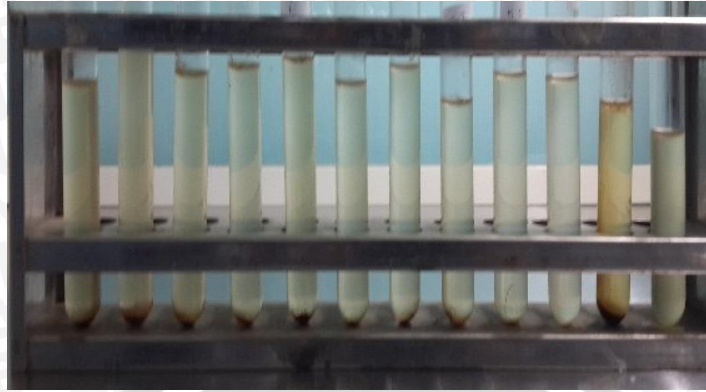


Gambar 5. Bakteri *V. harveyi* dengan Perbesaran 100x.

4.2 Daya Antibakterial Ekstrak Kasar Biji Mahoni

4.2.1 Uji MIC (*Minimum Inhibitor Concentration*)

Dalam pengujian MIC (Gambar 6) dilakukan berbagai dosis yang bertujuan untuk mencari dosis terkecil dalam membunuh bakteri *V. harveyi*. Dosis yang digunakan dalam penelitian pendahuluan diurut dari dosis terkecil yaitu 0,5 ppt; 0,6 ppt; 0,7 ppt; 0,8 ppt; 0,9 ppt; 1 ppt; 1,1 ppt ; 1,2 ppt; 1,3 ppt; 1,4 ppt; pengamatan uji MIC menggunakan spektrofotometer.



Gambar 6. Hasil Uji MIC

Tabel 3. Pengamatan Uji MIC Dengan Spektrofotometer

Kosentrasi ekstrak (ppt)	Pengukuran spektrofotometer	Indikator warna
0,5	2,455	Keruh
0,6	2,454	Keruh
0,7	2,456	Keruh
0,8	2,459	Keruh
0,9	2,452	Keruh
1	2,441	Jernih
1,1	2,451	Jernih
1,2	2,449	Jernih
1,3	2,447	Jernih
1,4	2,447	Jernih
Kontrol +	0,164	Jernih
Kontrol -	2,451	Keruh

Keterangan : Kontrol + : Larutan biji mahoni saja

Kontrol - : Bakteri *V. harveyi*

Pengamatan uji MIC menggunakan spektrofotometer dilakukan di Laboratorium Hidrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Pengamatan uji MIC didapatkan hasil (Tabel 3) mulai dari dosis 0,5 ppt sampai dosis 0,9 ppt menunjukkan indikator warna keruh. Pada dosis 1 ppt sampai 1,4 ppt menunjukkan indikator warna jernih dan menghambat pertumbuhan bakteri. Kontrol – (negatif) menunjukkan indikator warna keruh karena tidak adanya penghambatan pertumbuhan bakteri, sedangkan pada kontrol + (positif) menunjukkan indikator warna jernih karena hanya larutan ekstrak saja. Jadi dosis terkecil yang digunakan adalah dosis 1 ppt, karena dalam dosis tersebut sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*.

Hasil pengamatan dibandingkan dengan larutan pambanding (medium TSB 2% ditambahkan konsentrasi ekstrak tanpa suspensi bakteri) sehingga dapat diketahui adanya media yang mulai bening/ jernih yang menunjukkan nilai MIC. Nilai-nilai MIC ditafsirkan sebagai pengenceran tertinggi dan konsentrasi terendah dari sampel (Rinawati, 2012).

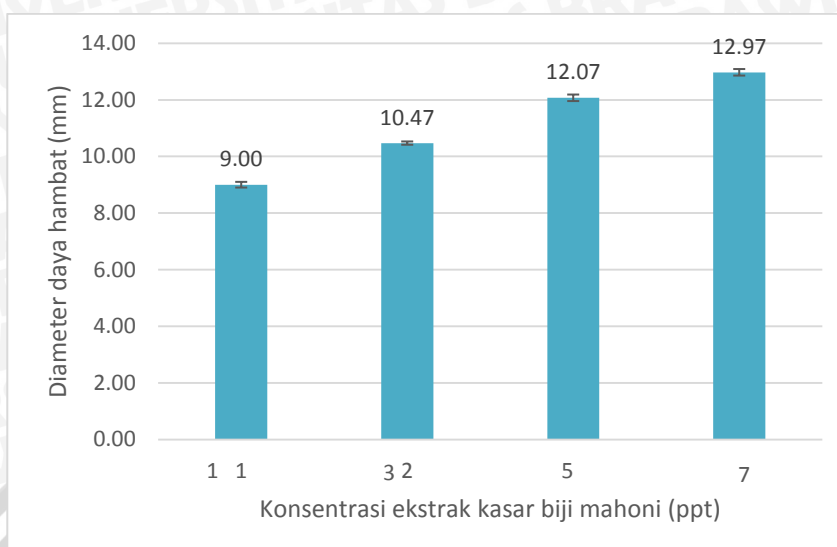
4.2.2 Uji Cakram

Untuk mengetahui kepekaan zat anti bakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat digunakan uji cakram. Menurut Idris (2013), Disc diffusion test atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (clear zone) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak.

Pada penelitian ini, daerah hambat terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi* ditunjukkan dengan adanya wilayah jernih di sekitar kertas cakram, dimana kertas cakram yang berdiameter 6 mm tersebut telah mengandung ekstrak kasar biji mahoni sesuai dengan dosis masing-masing perlakuan. Hasil dari uji cakram dapat dilihat pada Lampiran 1.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh data diameter daya hambatan (daerah yang tidak ditumbuhi bakteri). Nampak pada setiap perlakuan dan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar biji mahoni mampu menghambat laju pertumbuhan *V. harveyi*.

Hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh pemberian ekstrak kasar biji mahoni terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*, diperoleh data yang berbeda yang ditunjukkan pada Gambar 7. Untuk perhitungan data diameter daerah hambatan dapat dilihat pada Lampiran 3.



Gambar 7. Diameter Zona Hambat pada Masing-masing Perlakuan Selama Penelitian

Berdasarkan Gambar 7 di atas diketahui bahwa konsentrasi ekstrak kasar biji mahoni 1 ppt menunjukkan diameter hambatan paling kecil yaitu 9 mm, sementara pada konsentrasi 7 ppt menunjukkan diameter hambatan paling besar yaitu 12,97 mm. 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 biji mahoni yang berbeda konsentrasi terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* ditunjukkan pada Tabel 4. Sementara untuk perhitungan sidik ragam dapat dilihat pada Lampiran 5.

Tabel 4. Sidik ragam diameter zona hambat

Sumber	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Keragaman Perlakuan	3	24,86	8,29	106,01**	4,07	7,59
Acak	8	0,63	0,08			
Total	11	25,49				

Keterangan : ** = Berbeda Sangat Nyata

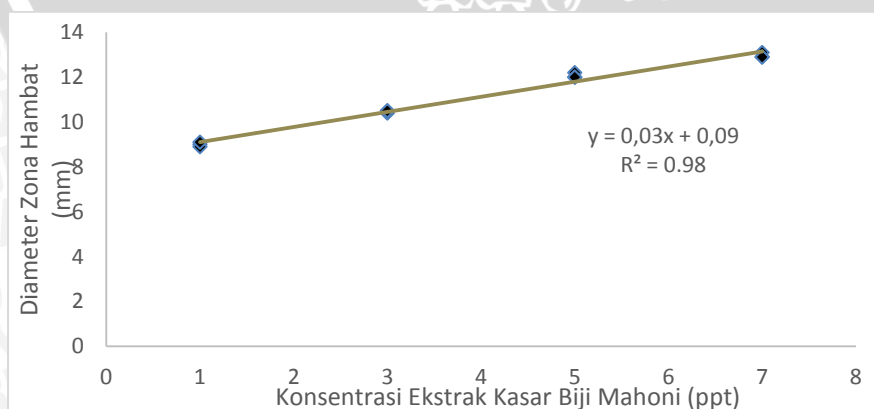
Hasil perhitungan sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar biji mahoni terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* adalah berbeda sangat nyata. Karena nilai F hitung lebih besar dari nilai F1%. Selanjutnya untuk mengetahui perbandingan antar perlakuan, dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Hasil uji BNT disajikan dalam Tabel 5.

Tabel 5. Uji perbandingan BNT konsentrasi ekstrak kasar biji mahoni terhadap diameter zona hambat bakteri *V. harveyi*

Perlakuan (ppt)	Rata-rata	Notasi
A = 1 ppt	9,00	a
B = 3 ppt	10,47	b
C = 5 ppt	12,07	c
D = 7 ppt	12,97	d

Tabel 3 di atas menunjukkan notasi a, b, c dan d yang artinya bahwa perlakuan D berbeda sangat nyata dengan perlakuan C karena notasinya berbeda yaitu c dan d. Perbedaan notasi tersebut didapat dari perhitungan yang menunjukkan bahwa selisih perlakuan D dan C lebih besar dari pada nilai SED yang ditunjukkan pada Lampiran 5. Perlakuan C berbeda sangat nyata dengan perlakuan B, dan perlakuan B berbeda sangat nyata dengan perlakuan A.

Untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji, maka dilakukan perhitungan polinomial orthogonal. Hasil perhitungan polinomial orthogonal ditunjukkan pada Lampiran 6 dan Gambar 8.



Gambar 8. Hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar biji mahoni terhadap diameter zona hambat bakteri *V. harveyi*

Gambar 8 dapat diketahui hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar biji mahoni dan diameter yaitu $y = 0,03x + 0,09$ dan nilai korelasi (r^2) sebesar 0,98. Semakin besar konsentrasi ekstrak biji mahoni maka semakin besar pula diameter hambatan bakteri *V. harveyi*.

Untuk mengetahui sifat suatu antibakteri termasuk bakteristatik atau bakteriosidal maka inkubasi diteruskan sampai 24 jam berikutnya dengan kondisi yang sama. Dari penelitian yang dilakukan, dapat diketahui bahwa pada perlakuan kontrol, 1 ppt dan 3 ppt ekstrak kasar biji mahoni hanya mampu menghasilkan diameter daerah hambatan yang kecil dan bersifat bakteristatik. Hal ini disebabkan karena kepekaan kuman terhadap obat dari ekstrak kasar biji mahoni pada perlakuan kontrol, 1 ppt dan 3 ppt masih termasuk dalam kategori yang rendah. Menurut Rosida dan Afizia (2012), jika diameter zona hambat yang terbentuk lebih besar atau sama dengan 6 mm, maka ekstrak dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri dan bila diameter zona hambat yang terbentuk lebih kecil dari 6 mm atau tidak terbentuk maka ekstrak tersebut dikategorikan tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Menurut Hartono, Nurlaila, dan Batubara (2011), antibakteri adalah zat yang mampu membasmi mikroba yang bersifat patogen terhadap manusia atau hewan tetapi relatif tidak toksik terhadap inangnya. Cara kerja antibakteri ada yang bersifat mematikan bakteri (bakterisida) dan ada yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri (bakteristatik). Kerja antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat uji, jumlah bakteri, adanya bahan organik dan pH.

Besar kecilnya diameter daerah hambatan di sekitar cakram tergantung dari konsentrasi obat. Pada konsentrasi 5 ppt dan 7 ppt bersifat bakteriosidal, artinya ekstrak kasar biji mahoni mempunyai senyawa antibakteri yang dapat membunuh *V. harveyi*. Hal ini dapat diketahui dari diameter daerah hambatan di

sekitar kertas cakram yang tetap jernih (tidak ditumbuhi bakteri) dan diameter daerah hambatan yang tetap setelah inkubasi 48 jam. Kemampuan antibakterial ekstrak kasar biji mahoni ini diperoleh karena adanya kandungan zat antibakteri pada ekstrak kasar biji mahoni ini.

Ekstrak kasar biji mahoni mengandung bahan aktif yang dapat dijadikan sebagai zat antibakteri, diantaranya adalah flavonoid. Flavonoid dalam biji mahoni mempunyai aktivitas penghambatan lebih besar terhadap bakteri gram positif antara lain adalah bakteri MRSA, hal ini dikarenakan senyawa flavonoid merupakan bagian yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid yang nonpolar, sehingga menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri gram positif lebih besar daripada bakteri gram negatif. Aktivitas penghambatan dari kandungan biji mahoni pada bakteri Gram positif menyebabkan terganggunya fungsi dinding sel sebagai pemberi bentuk sel dan melindungi sel dari lisis osmotik. Dengan terganggunya dinding sel akan menyebabkan lisis pada sel (Puspitasari, Murwani dan Herawati. 2010).

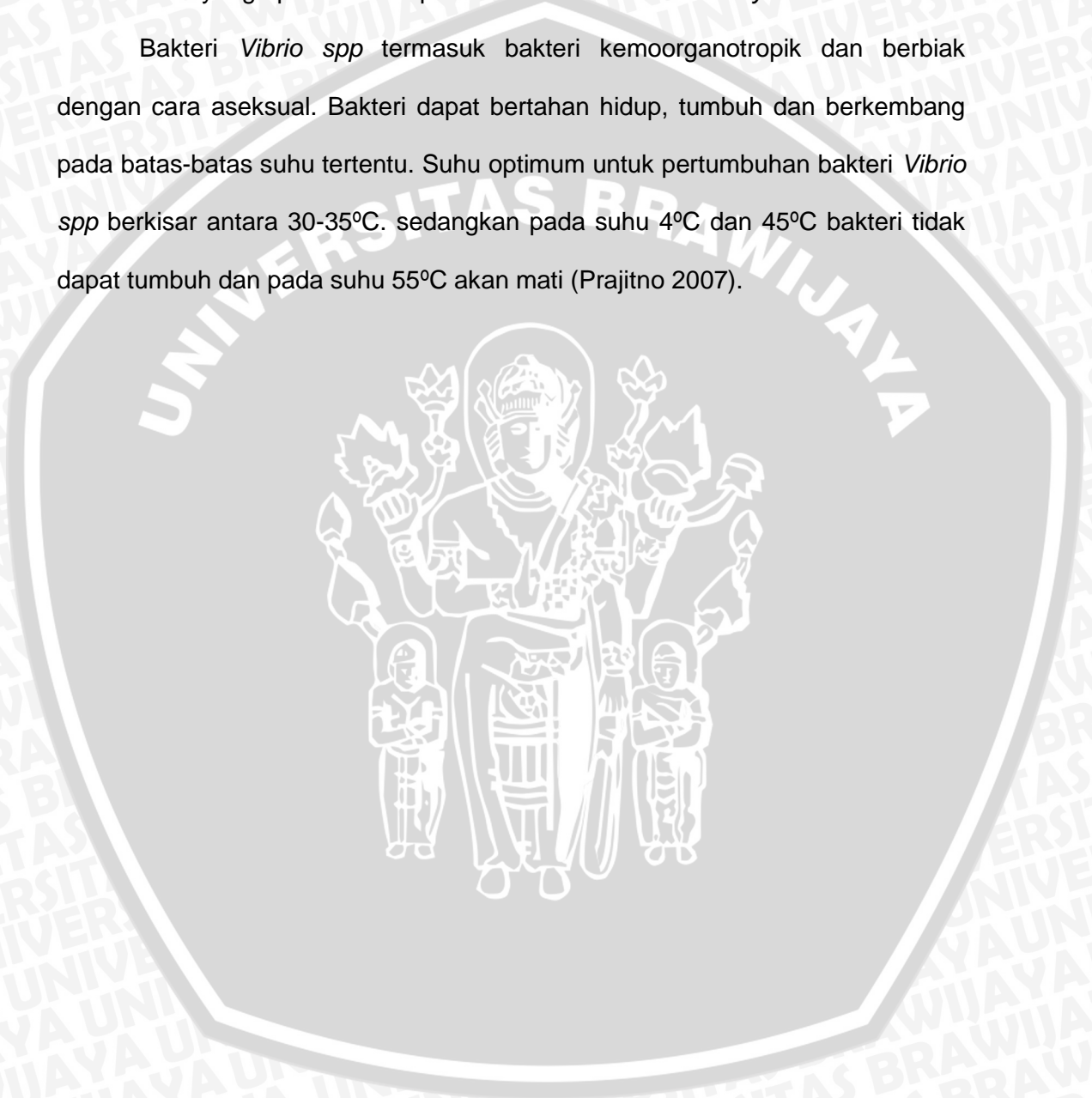
Menurut Wiyanto (2010), menjelaskan bahwa senyawa antibakteri bekerja dengan cara berinteraksi dengan dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan permeabilitas pada sel bakteri dan juga berdifusi ke dalam sel sehingga mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat (bakteriostatik) dan atau mati (bakteriosidal). Selain itu, senyawa antibakteri juga dapat menembus membran dan berinteraksi dengan material genetik sehingga bakteri mengalami mutasi.

4.3 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 35°C. Dikarenakan suhu tersebut adalah suhu yang optimal untuk pertumbuhan bakteri *V. harveyi*.

Bakteri *Vibrio spp* termasuk bakteri kemoorganotropik dan berbiak dengan cara aseksual. Bakteri dapat bertahan hidup, tumbuh dan berkembang pada batas-batas suhu tertentu. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio spp* berkisar antara 30-35°C. sedangkan pada suhu 4°C dan 45°C bakteri tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55°C akan mati (Prajitno 2007).



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian tentang “Pengaruh Ekstrak Kasar Biji Mahoni (*Swietenia Macrophylla*) terhadap Daya Hambat *Vibrio harveyi* Secara *In Vitro*” diperoleh beberapa kesimpulan sebagai berikut :

- Hasil uji cakram, konsentrasi ekstrak kasar biji mahoni dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*.
- Dari hasil penelitian didapat konsentrasi yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah konsentrasi 7 ppt.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan :

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan konsentrasi diatas 7 ppt untuk mengetahui konsentrasi optimum daya hambat bakteri *V. harveyi*.
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak kasar biji mahoni secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

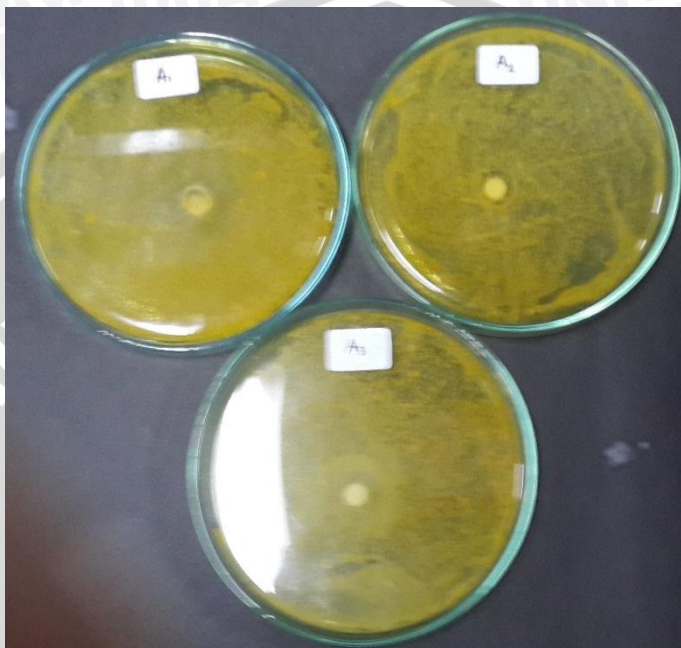
- Anonymous. 2012^a. Warta Ekspor. <http://www.DitenPEN/MJL/003/6/2012>. Diakses tanggal 20 September 2014. 20 hlm.
- _____. 2014^b. *Vibrio harveyi* Taxonomi. www.zipcodezoo.com. Diakses tanggal 20 September 2014. 1 hlm.
- _____. 2014^c. Klasifikasi Mahoni. www.zipcodezoo.com. Diakses tanggal 20 September 2014. 1 hlm.
- _____. 2014^d. Mahoni Taxonomi. www.google_images.com. Diakses tanggal 20 September 2014. 1 hlm.
- Atmomarsono, M., Muliani dan B. R. Tampangallo. 2010. Aplikasi Bakteri Probiotik untuk Peningkatan Sintasan dan Produksi Udang Windu di Tambak. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur 2010*. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau. Sulawesi Selatan. 10 hlm.
- Dwidjoseputro, D. 1987. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Penerbit Djambatan. Jakarta. 214 hlm.
- Evan, Y. 2009. Uji Ketahanan Beberapa Strain Larva Udang Galah (*Macrobrachium rosenbergii de Man*) Terhadap Bakteri *V. harveyi*. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. 51 hlm.
- Felix, F., T. T. Nugroho., S. Silalahi dan Y. Octavia. 2011. Skrining Bakteri *Vibrio* sp. Asli Indonesia sebagai Penyebab Penyakit Udang Berbasis Teknik 16S Ribosomal DNA. Universitas Riau. Pekanbaru. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. **3**(2): 15 hlm.
- Hartono, M., Nurlaila dan I. Batubara. 2011. Potensi Temu Putih (*Curcuma zedoaria*) Sebagai Anti Bakteri Dan Kandungan Senyawa Kimia. Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Bogor. *Jurnal Science*. **2**(7): 10 hlm.
- Hatmanti, A. 2003. Penyakit Bakterial Pada Budidaya Krustasea Serta Cara Penanganannya. LIPI. Jakarta. *Oseana*. **28**(3) : 10 hlm.
- Hernani., T. Marwati dan C. Winarti. 2007. Pemilihan Pelarut pada Pemurnian Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galanga*) secara Ekstraksi. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Bogor. *Jurnal Pascapanen*. **4**(1): 8 hlm.
- Idris, M. 2013. Efektifitas Ekstrak *Aloe Vera* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus sanguis*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Hasanuddin. Makassar. 71 hlm.

- Kusmiyati dan N. W. S. Agustini. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*). LIPI. Cibinong. *Biodiversitas*. **8**(1): 6 hlm.
- Lay, B. W. 1994. Analisis Mikroba di Labotatorium. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. 168 hlm.
- Lestari, P., E. W. Kusuma, H. Agustina, L. D. Ameria dan Oktavianus. 2013. Pemanfaatan Biji Mahoni Untuk Pembuatan Salep Anti Jamur Kulit. Stikes Kusuma Husada. Surakarta. *Jurnal KesMaDaSka*. **5**(2): 6 hlm.
- Maulina, I., A. A. Handaka dan I. Riyantini. 2012. Analisis Prospek Budidaya Tambak Udang di Kabupaten Garut. Universitas Padjadjaran. Bandung. *Jurnal Akuatika*. **3**(1) : 14 hlm.
- Nasi, L., S. B. Prayitno dan Sarjito. 2013. Kajian Bakteri Penyebab Vibriosis Pada Udang Secara Biomolekuler. Universitas Diponegoro. Semarang. *Jurnal Biomolekuler*. **8**(4): 22 hlm.
- Ningsih, F. 2010. Kandungan Flavonoid Kulit Kayu Mahoni (*Swietenia Macrophylla* King.) Dan Toksisitas Akutnya Terhadap Mencit. *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 37 hlm.
- Pastra, D. A., Melki dan H. Surbakti. 2012. Penapisan Bakteri yang Bersimbiosis dengan Spons Jenis *Aplysina* sp sebagai Penghasil Antibakteri dari Perairan Pulau Tegal Lampung. UNSRI. Sumatera Selatan. *Maspari Journal*. **4**(1): 6 hlm.
- Pelczar, M. I. dan E. C. S. Chan. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi. Jilid 1. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 443 hlm.
- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan dan Udang (Bakteri). Universitas Brawijaya. Malang. 113 hlm.
- Puspitasari, G., S. Murwani dan Herawati. 2010. Uji Daya Antibakteri Perasan Buah Mengkudu Matang (*Morinda citrifolia*) Terhadap Bakteri *Methicillin Resistan Staphylococcus aureus* (MRSA) M.2036.T Secara *In Vitro*. Universitas Brawijaya. Malang. *Jurnal Kedokteran Hewan*. **4**(1): 7 hlm.
- Rasyad, A. A., P. Mahendra dan Y. Hamdani. 2012. Uji Nefrotoksik dari Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *JPS MIPA UNSRI*. Sumatera Selatan. **15**(2): 4 hlm.
- Retnowati, Y., N. Bialangi dan N. W. Posangi. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). Universitas Negeri Gorontalo. Gorontalo. *Siantek*. **6**(2): 9 hlm.

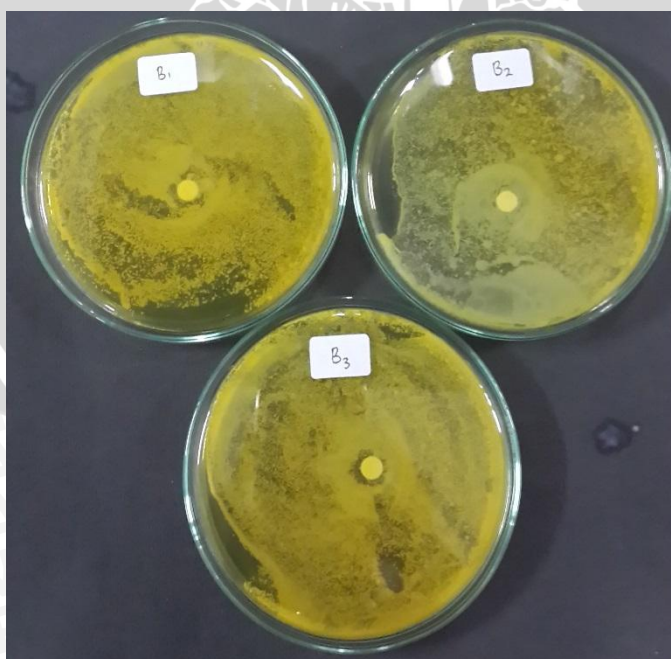
- Rinawati, N. D. 2012. Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia Cujete* L.) Terhadap Bakteri *V. Alginolyticus*. Institut Teknologi Surabaya. Surabaya. *Jurnal Biologi*. **12**(3): 13 hlm.
- Rosidah, dan W. M. Afizia. 2012. Potensi Ekstrak Daun Jambu Biji Sebagai Antibakterial Untuk Menanggulangi Serangan Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Gurame (*Osphronemus gourami lacepede*). Universitas Padjadjaran. Bandung. *Jurnal Akuatiaka*. **3**(1): 26 hlm.
- Sarjono, P. R dan N. S. Mulyani. 2007. Aktivitas Antibakteri Rimpang Temu Putih (*Curcuma mangga, Vall*). Universitas Diponegoro. Semarang. *Jurnal Sains & Matematika (JSM)*. **15**(2): 11 hlm.
- Sarida, M., Tarsim dan I. Faizal. 2010. Pengaruh Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *V. harveyi* Secara In vitro. Universitas Lampung. Lampung. *Jurnal Penelitian Sains*. **13**(3) : 5 hlm.
- Senja, R. Y., E. Issusilaningtyas., A. K. Nugroho dan E. P. Setyowati. 2014. Perbandingan Metode Ekstraksi dan Variasi Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kubis Ungu (*Brassica oleracea L. var. capitata f. rubra*). Universitas Gajahmada. Yogyakarta. *Traditional Medicine Journal*. **19**(1): 6 hlm.
- Tepu, I. 2006. Seleksi Bakteri Probiotik Untuk Biokontrol Vibriosis Pada Larva Udang Windu *Penaeus Monodon* Menggunakan Cara Kultur Bersama. *Skripsi*. Departemen Budidaya Perairan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 50 hlm.
- Trianto , A., E. Wibowo., Suryono dan R. S. Sapta. 2004. Ekstrak Daun Mangrove *Aegiceras corniculatum* Sebagai Antibakteri *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus*. Universitas Diponegoro. Semarang. *Ilmu Kelautan*. **9**(4): 4 hlm.
- Wiyanto, D. B. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Euचेuma denticullatum* Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *V. harveyii*. Universitas Islam Madura. Madura. *Jurnal Kelautan*. **3**(1): 17 hlm.
- Yanuhar, U. 2011. Respon Immun Sel Interleukin -4 (IL-4) Pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang Dipapar Protein Immunogenik *V. harveyi*. Universitas Brawijaya. Malang. *Jurnal Kelautan*. **4**(2): 10 hlm.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Cakram Ekstrak Kasar Biji Mahoni terhadap Daya Hambat *Vibrio harveyi*

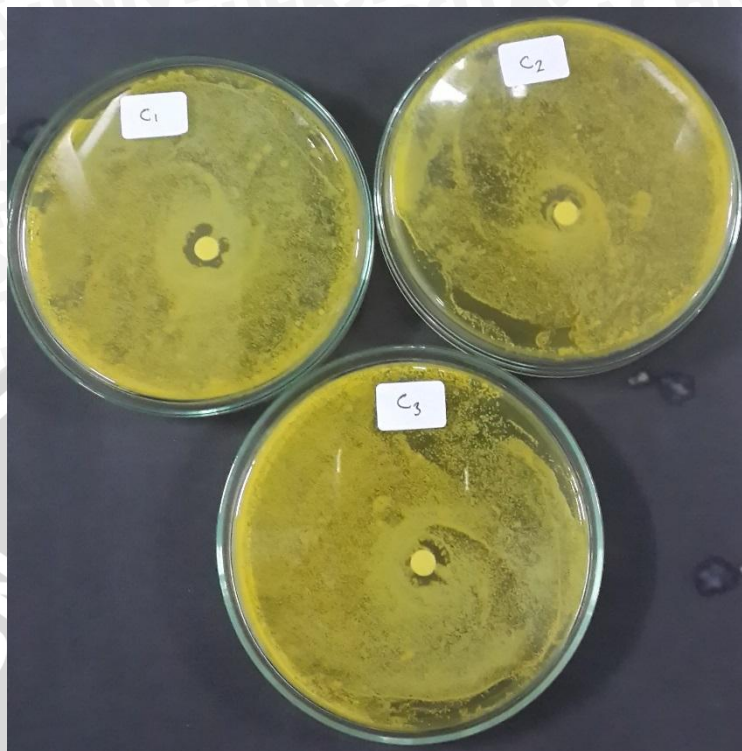


Perlakuan A = konsentrasi 0 ppt (Kontrol)

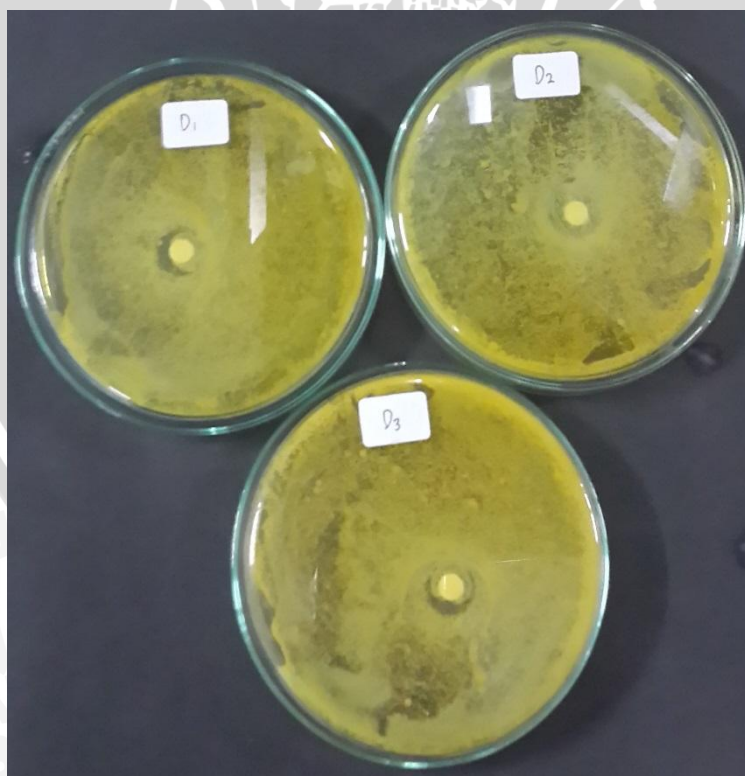


Perlakuan B = konsentrasi 1 ppt

Lampiran 1. (Lanjutan)

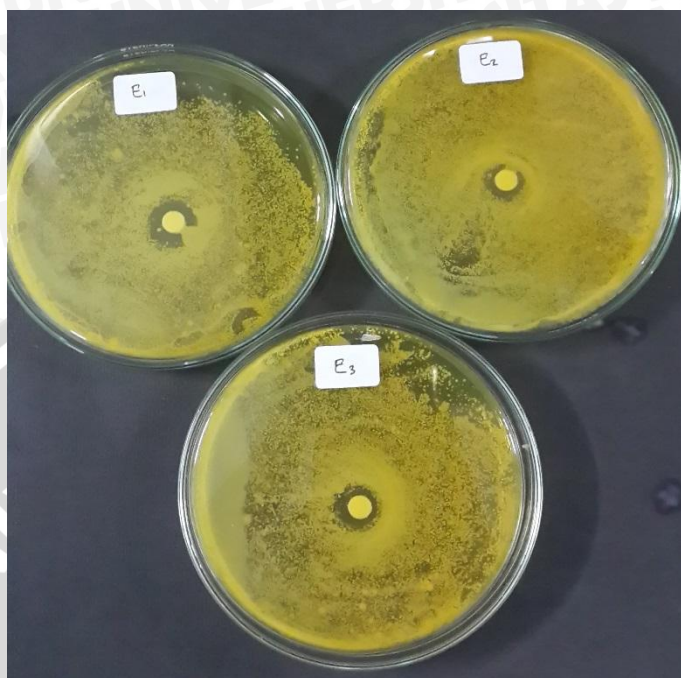


Perlakuan C = konsentrasi 3 ppt

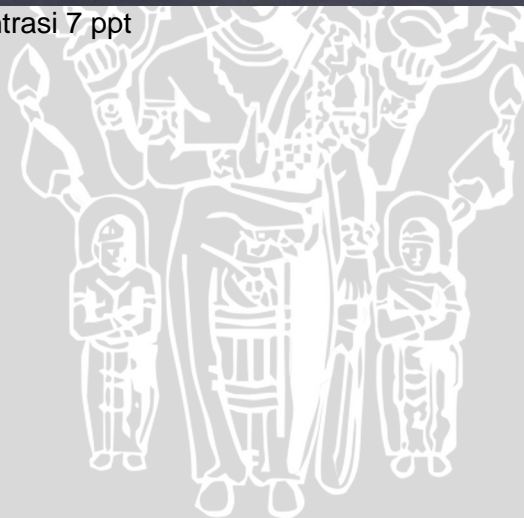


Perlakuan D = konsentrasi 5 ppt

Lampiran 1. (Lanjutan)



Perlakuan E = konsentrasi 7 ppt



Lampiran 2. Penentuan Konsentrasi Ekstrak Kasar Biji Mahoni untuk Perendaman Cakram

1 gram biji mahoni yang sudah dikeringkan, dihaluskan kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquadest steril. Kemudian dipanaskan diatas beaker glass dengan suhu maksimal 70°C sampai larutan berkurang 50%. Maka didapat larutan ekstrak kasar biji mahoni sebanyak 50 ml. setelah itu dilakukan pengukuran dosis (ml) untuk menentukan konsentrasi ekstrak kasar biji mahoni dan ditambahkan 100 ml aquadest steril untuk pengenceran.

➤ Konsentrasi 1 ppt

$$1 * 10 \text{ ml} = 100 \text{ ml} * N_2$$

$$N_2 = \frac{1 * 10}{100} = 0,1 \text{ gr}$$

➤ Konsentrasi 3 ppt

$$3 * 10 = 100 \text{ ml} * N_2$$

$$N_2 = \frac{3 * 10}{100} = 0,3 \text{ gr}$$

➤ Konsentrasi 5 ppt

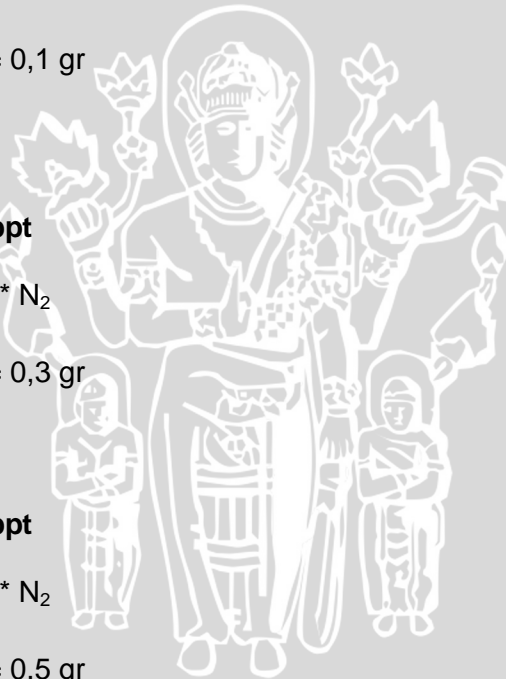
$$5 * 10 = 100 \text{ ml} * N_2$$

$$N_2 = \frac{5 * 10}{100} = 0,5 \text{ gr}$$

➤ Konsentrasi 7 ppt

$$7 * 10 = 100 \text{ ml} * N_2$$

$$N_2 = \frac{7 * 10}{100} = 0,07 \text{ gr}$$



Lampiran 3. Analisis Data Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Kasar Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla*) Terhadap Diameter Hambatan (mm) Bakteri *Vibrio harveyi*

Data Diameter Hambatan (mm) Bakteri *Vibrio harveyi*

Perlakuan (ppt)	Ulangan			Total (mm)	Rata-rata (mm)	Standart deviasi
	1	2	3			
A = 1 ppt	9.00	8.90	9.10	27,00	9.00	0.10
B = 3 ppt	10.40	10.50	10.50	31,40	10.47	0.06
C = 5 ppt	12.20	12.00	12.00	36,20	12.07	0.12
D = 7 ppt	13.10	12.90	12.90	38,90	12.97	0.12
Total				133,50		

Perhitungan :

$$\begin{aligned}
 1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{G^2}{N} \\
 &= \frac{(132,69)^2}{12} \\
 &= \frac{17582,76}{12} = 1467,21
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK total)} &= \sum x_{ij}^2 - FK \\
 &= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK \\
 &= (9^2 + 8,9^2 + \dots + 12^2) - 14675,21 \\
 &= 1467,21 - 1467,21 \\
 &= 25,49
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum (\sum xi)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2 + TE^2)}{r} - FK \\
 &= \frac{18^2 + 27^2 + 31.4^2 + 36.2^2 + 38^2}{3} - 1467,21 \\
 &= 1597,8 - 1467,21 \\
 &= 24,87
 \end{aligned}$$

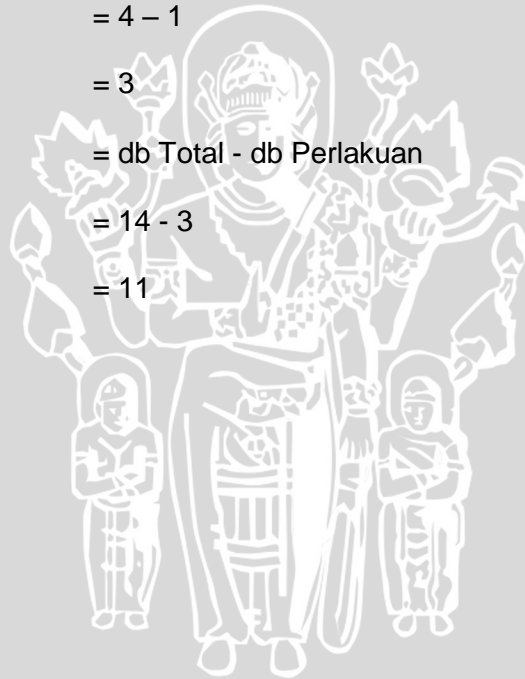
Lampiran 3. (lanjutan)

$$\begin{aligned} 4. \text{ JK galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 25,49 - 24,87 \\ &= 0,62 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 5. \text{ db Total} &= (n \times r) - 1 \\ &= (4 \times 3) - 1 \\ &= 11 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 6. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\ &= 4 - 1 \\ &= 3 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 7. \text{ db Galat} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\ &= 11 - 3 \\ &= 8 \end{aligned}$$



Lampiran 4. Uji Kenormalan Data Diameter Hambatan

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

Hasil analisis uji normalitas.

		Standardized Residual
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	0E-7
	Std. Deviation	.96362411
Most Extreme Differences	Absolute	.290
	Positive	.147
	Negative	-.290
Kolmogorov-Smirnov Z		1.123
Asymp. Sig. (2-tailed)		.160

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil pengujian tersebut menunjukkan probabilitas hitung = 0.160 > *level of significance* ($\alpha=5\%$). Hal ini berarti residual berdistribusi normal. Dengan demikian asumsi normalitas terpenuhi.

Lampiran 5. Sidik Ragam Diameter Hambatan

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					F 5%	F 1%
Perlakuan	3	24.86	8.29	106.01**	4.07	7,59
Acak	8	0.62	0,08			
Total	11	25.49				

Keterangan **: Berbeda Sangat Nyata

Perhitungan KT (Kuadrat Tengah)

$$\begin{aligned}
 \text{KT Perlakuan} &= \frac{\text{JKPerlakuan}}{\text{dbPerlakuan}} \\
 &= \frac{24,86}{3} \\
 &= 8,29
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Galat / acak} &= \frac{\text{JkGalat}}{\text{dbGalat}} \\
 &= \frac{0,62}{8} \\
 &= 0,08
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung} &= \frac{\text{KTPerlakuan}}{\text{KTGalat}} \\
 &= \frac{8,29}{0,08} \\
 &= 106,01
 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	24.86	8.29	106.01**	4.07	7.59
Linier	1	24.16	24.16	308.99**	4.07	7.59
Kuadratik	1	0.53	0.53	6.72*	4.07	7.59
Kubik	1	0.18	0.18	2.34 ^{ns}	4.07	7.59
Acak	8	0.63	0.08			
Total	11					

Keterangan : ** = Berbeda Sangat Nyata

* = Berbeda Nyata

Ns = Tidak Berbeda Nyata



Lampiran 5. (lanjutan)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK_{regresiliner}}{JK_{totalterkoreksi}} = \frac{24,86}{24,86 + 0,63} = 0,97$$

$$r = \sqrt{0,97} = 0,98$$

$$R^2 \text{ Kuadrat} = \frac{JK_{regresikuadrat}}{JK_{total terkoreksi}} = \frac{0,53}{0,53 + 0,63} = 0,46$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK_{regresikubik}}{JK_{totalterkoreksi}} = \frac{0,18}{0,18 + 0,63} = 0,23$$

Dari perhitungan di atas dapat diketahui bahwa $R^2 \text{ Linier} > R^2 \text{ Kuadrat} > R^2 \text{ Kuartik}$, maka dapat dikatakan regresi yang sesuai adalah regresi linier.

Tabel Perhitungan Persamaan Regresi Linier : $y = b_0 + b_1x$

x	y	xy	x ²
1	9	18	1
2	10,4	31,2	4
3	12,2	48,8	9
4	13,1	65,5	24
1	8,9	17,8	1
2	10,5	31,5	4
3	12	48	9
4	12,9	64,5	24
1	9,1	18,2	1
2	10,5	31,5	4
3	12	48	9
4	12	60	24
$\Sigma x = 30$ $\bar{x} = 2,5$	$\Sigma y = 132,6$ $\bar{y} = 11,05$	$\Sigma xy = 483$	$\Sigma x^2 = 114$

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

$$b_1 = \frac{483 - \frac{30(132,6)}{12}}{114 - \frac{12996}{12}} = 0,09$$

$$b_0 = y - b_1x$$

$$b_0 = 0,09$$



Lampiran 5. (lanjutan)

sehingga persamaan regresi liniernya dapat dituliskan menjadi :

$$y = 0,03x + 0.09$$

Dari tabel sidik ragam dan tabel sidik ragam regresi di atas diperoleh nilai F hitung lebih besar dari F5%, dan lebih besar dari F1% ($F5% < F_{hitung} > F1%$), maka dapat disimpulkan pengaruh pemberian ekstrak kasar biji mahoni dengan konsentrasi berbeda terhadap daya hambat bakteri *Vibrio harveyi* sangat berbeda nyata. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji BNT.

Perhitungan Uji BNT :

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{\text{ulangan}}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 \times 0,07}{3}} = 0,22$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak) } \times SED \\ &= 2,306 \times 0,23 \\ &= 0,53 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db acak) } \times SED \\ &= 3,35 \times 0,22 \\ &= 0,76 \end{aligned}$$

Tabel Uji BNT

Perlakuan	A	B	C	D	Notasi
Rata-rata	9.00	10.47	12.07	12.67	
A 9.00	-	-	-	-	a
B 10.47	1.47**	-	-	-	b
C 12.07	3.07**	1.60**	-	-	c
D 12.70	3.70**	2.23**	0.63*	-	d

Lampiran 6. Hasil Pengukuran Polinomial Orthogonal Diameter Hambatan



Tabel Polinomial Orthogonal

Perlakuan (ppt)	Total (Ti)	Pembanding untuk Regresi (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A=1	27.00	-3	1	-1
B=3	31.40	-1	-1	3
C=5	36.20	1	-1	-3
D=7	38.09	3	1	1
$Q = \sum Ti \cdot Ci$		38.07	-2.51	-3.31
$Kr = \sum Ci^2 \cdot r$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kr$		24.15	0.52	0.18

Keterangan :
r = jumlah ulangan

