

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK KASAR DAUN SELEDRI
(*Apium graveolens* L.) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens*
SECARA *IN VITRO***

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

Oleh :

**AMELIA YULIANA ANGGRAENI
NIM. 115080500111030**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK KASAR DAUN SELEDRI
(*Apium graveolens* L.) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens*
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 :

AMELIA YULIANA ANGGRAENI

NIM. 115080500111030



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK KASAR DAUN SELEDRI
(*Apium graveolens* L.) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens*
SECARA *IN VITRO***

Oleh :

AMELIA YULIANA ANGGRAENI

NIM. 115080500111030

Telah dipertahankan di depan penguji

Pada tanggal 06 Mei 2015

Dan dinyatakan memenuhi syarat

DOSEN PENGUJI I

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

DOSEN PENGUJI II

(Ir. Ellana Sanoesi, MP)
NIP. 19630924 199803 2 002
Tanggal :

**MENYETUJUI,
DOSEN PEMBIMBING I**

Prof.Dr.Ir. Arief Prajitno, MS
NIP. 19550213 198403 1 001
Tanggal :

DOSEN PEMBIMBING II

Ir. Heny Suprastyani, MS
NIP. 19620904 198701 2 001
Tanggal :

**MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP**

Dr. Ir. Arning Wilujeng 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 ditulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 08 Mei 2015

Penulis

Amelia Yuliana Anggareni

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan atas terselesaikannya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih sebesar besarnya kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan kelancaran dan berbagai kemudahan pada penulis dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
2. Bapak Dwi Sutjipto Widodo dan Ibu Susiyati selaku kedua orang tua, serta Junita Alvianti (mbak) terimakasih atas doa, bimbingan dan dukungan baik moril dan materil kepada penulis dari awal hingga akhir terselesaikannya laporan skripsi ini.
3. Mbak Titin dan Mbak Heni yang telah membantu penulis dalam melakukan penelitian di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan.
4. Teman senasib dan seperjuangan Nur Waki'ah Oktavia yang selalu menemani dan membantu penulis untuk menyelesaikan laporan skripsi ini, Siti Kusnatul Wahidah, Alvin Maulana, Nayaka Imaduddin Al Ayubi, Anggita Rizki Novitasari dan Ike Indah Safitri yang memberikan motivasi untuk terselesaikannya laporan skripsi ini. Seluruh rekan-rekan tim parasiters yang telah banyak membantu penulis dan selalu memberikan dukungan dan motivasi untuk terselesaikannya laporan skripsi ini. Teman-teman kost KR3 D 3 A yang selalu memberikan semangat dan selalu menemani penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Seluruh pihak yang sudah membantu penulis selama penelitian.

Malang, Mei 2015

Penulis

RINGKASAN

Amelia Yuliana Anggareni. Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In Vitro*. Di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS.** Dan **Ir. Heny Suprastyani, MS**

Perikanan merupakan suatu bidang ilmu yang terus berubah dan berkembang tiap tahunnya karena ikan merupakan suatu produk utama dari bidang perikanan yang merupakan salah satu penghasil protein hewani yang dibutuhkan oleh manusia. Salah satu kendala dalam usaha peningkatan dan pengembangan perikanan adalah masalah-masalah penyakit yang sering menyerang pada ikan yang dibudidayakan. Diantara penyakit-penyakit tersebut adalah penyakit infeksi yang diakibatkan oleh parasit, virus, bakteri dan jamur (Nurdiyanto dan Sumartono, 2006). Salah satu jenis bakteri yang sering menginfeksi ikan air tawar yaitu *Pseudomonas fluorescens*, gejala klinis yang diakibatkan oleh bakteri ini yaitu berupa munculnya bisul pada bagian rongga perut dan sirip kulit. Aktivitas dari bakteri *P. fluorescens* ini dapat menyebabkan pendarahan pada bagian yang luka atau sering disebut dengan *Haemorrhagic septicemia*, serta dapat menyebabkan kematian masal terhadap ikan yang terserang bakteri ini (Kordi, 2004). 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. Upaya pencegahan lain dapat dilakukan dengan menggunakan bahan yang berasal dari alam, contohnya daun seledri (*Apium graveolens* L.). Daun seledri (*A. graveolens* L.) mengandung flavonoid yang bersifat antibakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, pada bulan Januari sampai bulan Maret 2015. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu penelitian yang dilakukan terhadap variabel yang data-datanya belum ada sehingga perlu dilakukan proses manipulasi melalui pemberian treatment atau perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian yang kemudian diamati dan diukur dampaknya, teknik pengambilan datanya dilakukan secara langsung. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), menggunakan 4 perlakuan dosis ekstrak kasar daun seledri yaitu : dosis (A) 950 ppt; (B) 960 ppt; (C) 970 ppt; (D) 980 ppt. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Parameter utama yaitu diameter daerah hambatan yang diukur dengan menggunakan kertas cakram. Parameter penunjangnya adalah lama perendaman kertas cakram pada ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun seledri memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* dan bersifat bakteriostatik. Hubungan antara penambahan dosis perlakuan ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) terhadap diameter daya hambat menunjukkan pola linier dengan persamaan $y = 0,291x - 271,65$ dan koefisien $R^2 = 0,994$. Diameter daya hambat yang dihasilkan semakin meningkat seiring dengan semakin tingginya dosis perlakuan yang digunakan.

KATA PENGANTAR

Puji Syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga kami dapat menyusun Laporan Skripsi dengan judul Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In Vitro* dengan baik dan tepat waktu tanpa ada halangan suatu apapun. Laporan Skripsi ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar – besarnya kepada Prof. Dr.Ir. Arief Prajitno, MS sebagai dosen pembimbing 1 dan Ir. Heny Suprastyani, MS sebagai dosen pembimbing 2 yang selalu sabar dalam membimbing, memberi motivasi, saran dan dukungan kepada penulis Kami sudah berusaha semaksimal mungkin untuk menyelesaikan laporan ini. Namun, kritik dan saran yang bersifat membangun masih kami harapkan dari pembaca untuk penyempurnaan laporan ini. Akhir kata semoga laporan ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua.

Malang, Mei 2015

Penulis

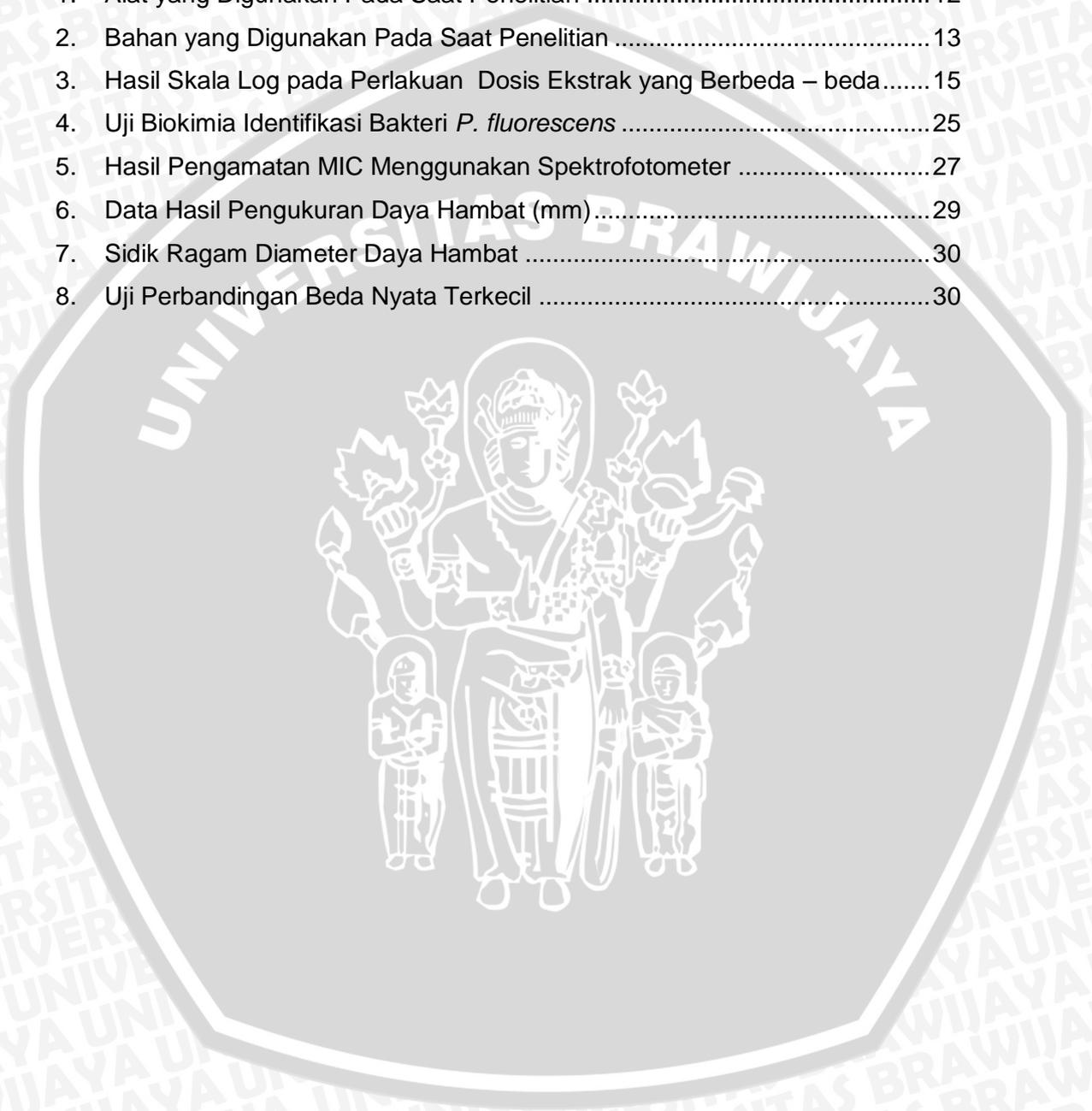
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Tempat dan Waktu Penelitian	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i>	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Habitat dan Penyebaran	6
2.1.3 Infeksi dan Tanda Penyerangan	6
2.2 Tumbuhan Seledri (<i>Apium graveolens</i> L.)	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	7
2.2.2 Bahan Aktif Daun Seledri (<i>Apium graveolens</i> L.)	8
2.2.3 Aktivitas Antimikroba	9
2.3 Uji Efektifitas Antibakteri Secara <i>In Vitro</i>	10
2.3.1 Uji MIC (<i>Minimum Inhibitory Concertation</i>)	10
2.3.2 Uji Cakram	11
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	12
3.1.1 Alat penelitian	12

3.1.2	Bahan Penelitian	13
3.2	Metode Penelitian	14
3.3	Rancangan Penelitian	14
3.4	Prosedur Penelitian	16
3.4.1	Persiapan Penelitian	16
3.4.1.1	Strelisasi Alat dan Bahan	16
3.4.1.2	Strelisasi Tempat Perlakuan	17
3.4.1.3	Pembuatan Ekstrak Kasar Seledri	18
3.4.1.4	Pembuatan Media Agar Miring	18
3.4.1.5	Pembuatan Media PSA (<i>Pseudomonas Selective Agar</i>) untuk Uji Cakram	19
3.4.1.6	Pembuatan <i>Triptycase Soy Broth</i> (TSB) untuk Bakteri	19
3.4.1.7	Pembuatan <i>Triptycase Soy Broth</i> (TSB) untuk MIC.....	20
3.4.1.8	Peremajaan Bakteri <i>P. fluorescens</i>	20
3.4.1.9	Kultur Bakteri <i>P. fluorescens</i>	21
3.4.2	Pelaksanaan Penelitian	21
3.4.2.1	Uji MIC (<i>Minimum Inhibitory Concertation</i>).....	21
3.4.2.2	Uji Cakram	22
3.5	Parameter Uji.....	24
3.6	Analisa Data	24
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1	Identifikasi Bakteri <i>P. fluorescens</i>	25
4.2	Uji MIC (Minimun Inhibitory Concentration)	27
4.3	Uji Cakram	28
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1	Kesimpulan	35
5.2	Saran	35
	DAFTAR PUSTAKA	36
	LAMPIRAN	40

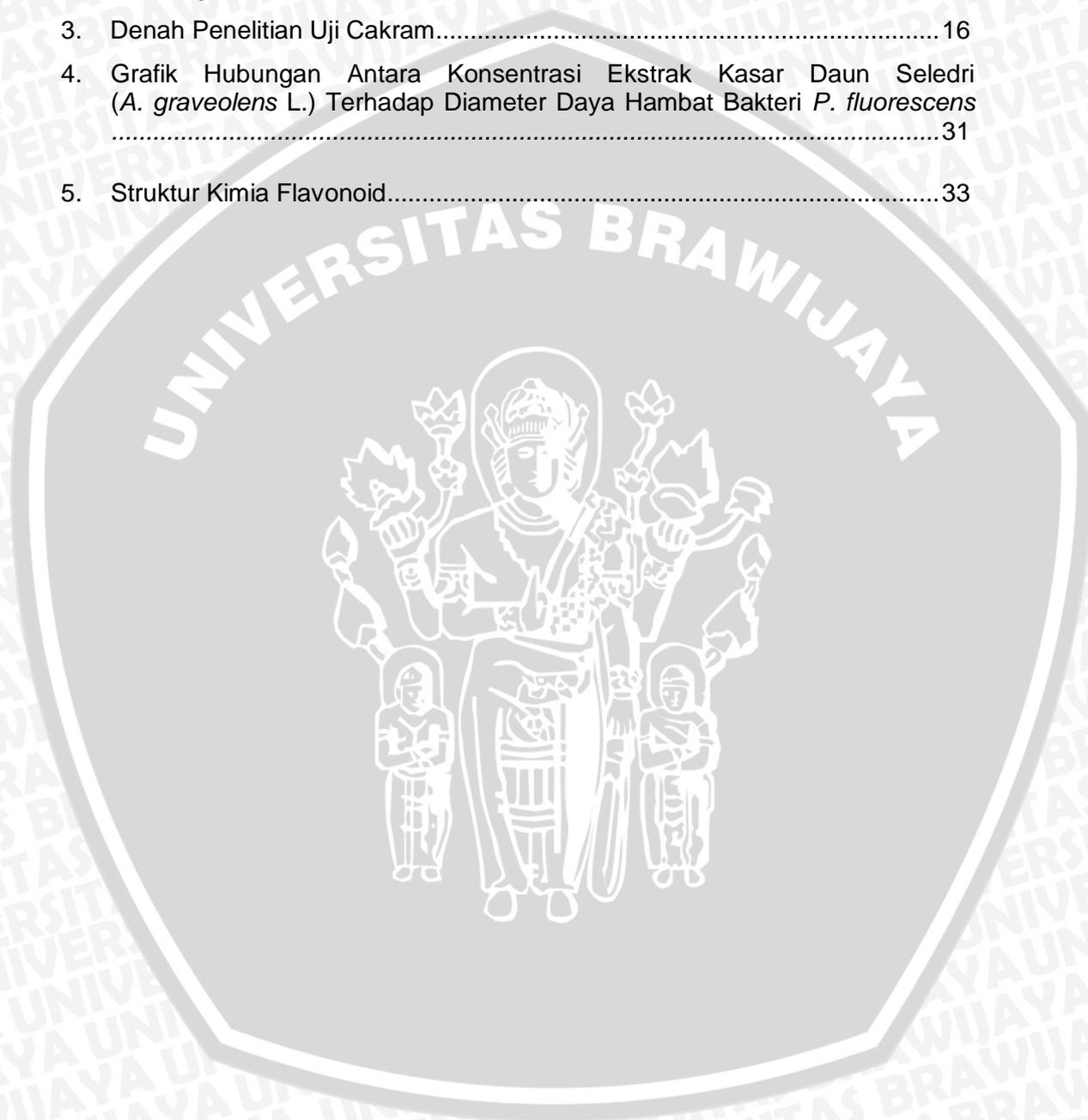
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat yang Digunakan Pada Saat Penelitian	12
2. Bahan yang Digunakan Pada Saat Penelitian	13
3. Hasil Skala Log pada Perlakuan Dosis Ekstrak yang Berbeda – beda.....	15
4. Uji Biokimia Identifikasi Bakteri <i>P. fluorescens</i>	25
5. Hasil Pengamatan MIC Menggunakan Spektrofotometer	27
6. Data Hasil Pengukuran Daya Hambat (mm).....	29
7. Sidik Ragam Diameter Daya Hambat	30
8. Uji Perbandingan Beda Nyata Terkecil	30



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bakteri <i>P. fluorescens</i>	5
2. Morfologi Seledri.....	7
3. Denah Penelitian Uji Cakram.....	16
4. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak Kasar Daun Seledri (<i>A. graveolens</i> L.) Terhadap Diameter Daya Hambat Bakteri <i>P. fluorescens</i>	31
5. Struktur Kimia Flavonoid.....	33



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Foto Alat Penelitian.....	40
2. Foto Kegiatan Penelitian.....	42
3. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>P. Fluorescens</i> Dari BBPBAP Jepara.....	43
4. Proses Ekstraksi Daun Seledri (<i>A. graveolens</i> L.).....	45
5. Penentuan Dosis Ekstrak Daun Seledri (<i>A. graveolens</i> L.).....	46
6. Skema Kerja MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>).....	48
7. Skema Kerja Uji Cakram.....	49
8. Hasil Uji MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>) dan Uji Cakram.....	50
9. Analisis Data Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Seledri (<i>A. graveolens</i> L.) Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i> Secara <i>In vitro</i>	54



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara kepulauan, dimana wilayahnya dikelilingi oleh lautan yang luas dan sangat potensial untuk mengembangkan kegiatan perikanan. Menurut Lasabuda (2013), secara geografis Indonesia membentang dari 6⁰ LU sampai 11⁰ LS dan 92⁰ sampai 142⁰ BT, terdiri dari pulau-pulau besar dan kecil yang jumlahnya kurang lebih 17.504 pulau. Tiga perempat wilayah Indonesia adalah laut yaitu sekitar 5,9 juta km² (terdiri atas 3,2 juta km² perairan teritorial dan 2,7 km² perairan Zona Ekonomi Eksklusif, luas perairan ini belum termasuk landas kontinen) serta panjang garis pantai yaitu 95.161 km. Luas laut yang besar ini menjadikan Indonesia unggul dalam bidang perikanan dan kelautan. Landas kontinen merupakan dasar laut yang merupakan kelanjutan dari benua, kedalaman landas kontinen tidak lebih dari 150 meter.

Perikanan merupakan suatu bidang ilmu yang terus berubah dan berkembang tiap tahunnya karena ikan merupakan suatu produk utama dari bidang perikanan yang merupakan salah satu penghasil protein hewani yang dibutuhkan oleh manusia, terutama dalam bentuk lauk pauk yang amat digemari oleh masyarakat Indonesia. Salah satu kendala dalam usaha peningkatan dan pengembangan perikanan adalah masalah-masalah penyakit yang sering menyerang pada ikan yang dibudidayakan. Diantara penyakit-penyakit tersebut adalah penyakit infeksi yang diakibatkan oleh parasit, virus, bakteri dan jamur. Hal tersebut terjadi karena Indonesia merupakan negara tropis dimana iklim tersebut sesuai untuk perkembangan parasit (Nurdiyanto dan Sumartono, 2006).

Penyakit ikan merupakan segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun tidak langsung. Penyakit pada ikan dalam kondisi alami terjadi karena adanya interaksi yang tidak

seimbang antara inang, jasad patogen dan kondisi lingkungan. Suatu kegiatan pembudidayaan ikan, pastinya tidak akan terlepas dari adanya permasalahan yang dapat mempengaruhi dan mengganggu kondisi fisiologis ikan, sehingga ikan jatuh sakit bahkan mati (Prajitno, 2005). Ikan yang sakit karena jasad hidup seperti parasit, jamur, virus dan bakteri dapat menularkan penyakit kepada ikan-ikan lainnya. Faktor-faktor tersebut disebut dengan “Agen” penyakit (Suprastyani, 2008).

Salah satu jenis bakteri yang sering menginfeksi ikan air tawar yaitu *Pseudomonas fluorescens*. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif yang bersifat motil dan oksidatif. *P. fluorescens* sering menyerang ikan kerapu macan, misalnya yang terjadi di Pulau Rempang tepatnya di daerah kampung ketapang dan menyerang ikan kakap yang terjadi di Pulau Galang Baru. Infeksi bakteri ini menunjukkan tanda-tanda klinis yaitu pendarahan pada pangkal ekor, lendir yang berlebihan serta ikan berenang lamban (Anonymous, 2009). Bakteri *P. fluorescens* menyebabkan infeksi eksternal atau sistemik (Suprastyani, 1989).

Selama ini pencegahan terhadap serangan bakteri pada umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia. Antibiotik sudah lama digunakan dalam pengobatan penyakit ikan, namun penggunaan antibiotik secara berkelanjutan dapat menyebabkan resistensi mikroorganisme patogen serta terakumulasi pada ikan dan lingkungannya (Lengka, Manoppo dan Kolopita, 2013). Sedangkan penggunaan bahan kimia dapat menyebabkan keracunan, kematian hewan piaraan dan biota air, terjadinya resistensi serta pencemaran lingkungan hidup (Pangaribuan, Pribadi dan Indriyati, 2012). Upaya pencegahan lain dapat dilakukan dengan menggunakan bahan yang berasal dari alam. Hal ini dikarenakan bahan yang berasal dari alam lebih mudah di dapat dan lebih ekonomis bila dibandingkan dengan bahan kimia (Kris, Ardianor dan

Djanang, 2009). Contoh bahan-bahan alami yang dapat digunakan untuk pengobatan ikan yaitu kunyit, kulit manggis, bawang putih, lidah buaya, mengkudu, bunga rosella, blimbing wuluh dan seledri.

Seledri dapat digunakan sebagai antibakteri, hal ini sesuai dengan pendapat Majidah, Fatmawati dan Gunadi (2014), Ekstrak daun seledri memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* serta konsentrasi terendah dari ekstrak daun seledri yang masih memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S.mutans* adalah konsentrasi 12,5 %. Serta dalam penelitian lain disebutkan bahwa efektifitas ekstrak seledri (*Apium graveolens* L.) secara *in vitro* dapat menghambat pertumbuhan *Malassezia sp.* (Nitihapsari, 2010).

Seledri merupakan tumbuhan dataran tinggi, yang ditemukan pada ketinggian di atas 900 m dpl. Di daerah ini seledri yang tumbuh memiliki tangkai daun yang menebal. Untuk pertumbuhannya, seledri memerlukan cuaca yang lembap. Seledri juga bisa ditanam di dataran rendah, hanya saja ukuran batangnya menjadi lebih kecil (Anonymous, 2006). Bahan aktif yang terkandung dalam seledri antara lain yaitu flavonoid, saponin, tanin, apiin, minyak atsiri, apigenin, kolin, vitamin A, B, C, zat pahit asparagin. Diantara kandungan yang dimiliki seledri, flavonoid, saponin, dan tanin merupakan senyawa yang bersifat antibakteri. Flavonoid merupakan senyawa yang mempunyai efek antibakteri yang paling banyak terdapat pada daun seledri. Mekanisme antibakteri dari flavonoid ada tiga macam, yaitu dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi (Majidah, Fatmawati dan Gunadi, 2014).

1.2 Perumusan Masalah

Penggunaan antibiotik dan bahan kimia untuk ikan dapat menyebabkan

keracunan, kematian hewan piaraan dan biota air, terjadinya resistensi, serta pencemaran lingkungan hidup. Oleh karena itu, diperlukan bahan alami yang mampu digunakan sebagai antibakteri. Berdasarkan latar belakang di atas, masalah yang dihadapi yaitu belum diketahuinya pengaruh penggunaan ekstrak daun seledri terhadap uji daya hambat bakteri *P. fluorescens*.

Berdasarkan uraian di atas rumusan masalah dalam penelitian ini adalah : Apakah pemberian ekstrak kasar daun seledri (*Apium graveolens* L.) dengan cara pemberian kertas cakram yang direndam di dalam ekstrak kasar daun seledri berpengaruh terhadap daya hambat dari bakteri *P. fluorescens*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*.

1.4 Hipotesis

H_0 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) dengan dosis yang berbeda tidak mempengaruhi daya hambat dari bakteri *P. fluorescens*.

H_1 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) dengan dosis yang berbeda dapat mempengaruhi daya hambat dari bakteri *P. fluorescens*.

1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 05 Januari 2015 – 03 Maret 2015.

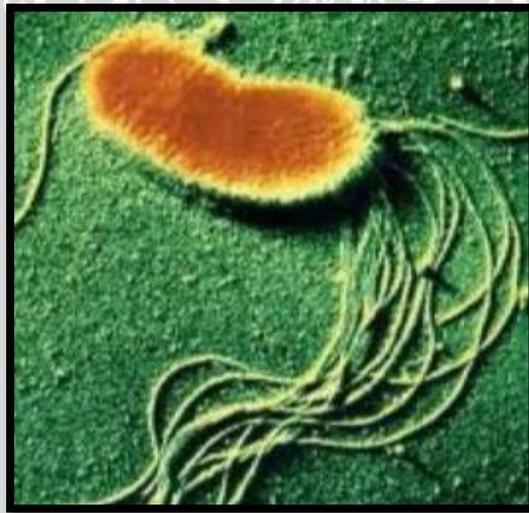
2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *P. fluorescens*

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi Bakteri *P. fluorescens* seperti pada Gambar 1 menurut Kartika (2009) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas fluorescens</i>



Gambar 1. Bakteri *P. Fluorescens* (Google image, 2015)

Menurut Suprasyani (1989), *P. fluorescens* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang. Bakteri ini hanya diisolasi dari bagian kulit yang terkena penyakit tidak dari organ-organ dalam. Sedangkan menurut Kartika (2009), *Pseudomonas* merupakan salah satu genus dari Famili

Pseudomonadaceae. Bakteri ini berbentuk batang lurus atau lengkung, ukuran tiap sel bakteri 0.5-0.1 μm x 1.5- 4.0 μm , tidak membentuk spora dan bereaksi negatif terhadap pewarnaan Gram, aerob, menggunakan H_2 atau karbon sebagai energinya, kebanyakan tidak dapat tumbuh dalam kondisi yang asam yaitu pada pH 4,5.

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Menurut Arwiyanto, Maryudani dan Azizah (2007), semua isolat *P. fluorescens* tumbuh baik pada kisaran pH 6-7 serta suhu antara 20⁰–41⁰C. Pada medium yang mengandung NaCl semua bakteri tumbuh sampai pada konsentrasi NaCl 2%.

Bakteri *P. fluorescens* merupakan bakteri yang banyak terdapat di lingkungan perairan. Bakteri *P. fluorescens* diketahui terdapat pada beberapa macam makanan antara lain yaitu sushi, daging, hamburger, salad, susu pasteurisasi, daging, tanah, air tawar dan air laut (Irianto, 2005).

2.1.3 Infeksi dan Tanda Penyerangan

Bakteri *P. fluorescens* merupakan salah satu jenis bakteri gram negatif yang biasanya ditemukan di lingkungan perairan tawar. Ikan yang terserang bakteri *P. fluorescens* ini menunjukkan gejala klinis diantaranya yaitu berupa munculnya bisul pada bagian rongga perut dan sirip kulit. Aktivitas dari bakteri *P. fluorescens* ini dapat menyebabkan pendarahan pada bagian yang luka atau sering disebut dengan *Haemorrhagic septicemia*, serta dapat menyebabkan kematian masal terhadap ikan yang terserang bakteri ini (Kordi, 2004).

P. fluorescens merupakan jenis patogen yang tidak berbahaya. Bakteri ini hanya diisolasi dari kulit yang terkena penyakit, tidak dari organ-organ dalam. Penyerangan oleh bakteri *P. fluorescens* ini tampaknya melemahkan specimen,

mengganggu metabolisme tetapi pada beberapa kasus menyebabkan kematian (Suprastyani, 1989).

2.2 Tumbuhan Seledri (*Apium graveolens* L.)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Tambunan (2012), Klasifikasi dari Seledri seperti pada Gambar 2

yaitu sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Apiales
Suku	: Apiaceae
Marga	: Apium
Jenis	: <i>Apium graveolens</i> L.



Gambar 2. Morfologi Seledri (Dokumentasi Penelitian, 2015)

Tanaman seledri yang disajikan pada Gambar 2 mempunyai tinggi sekitar 50–60 cm, berbatang persegi, beralur membujur dan berwarna hijau pucat. Daunnya berwarna hijau, menjari tak teratur serta berlekuk-lekuk dan majemuk

menyirip, tipis dengan anak daun terdiri dari 3 - 7 helai, daunnya berbentuk belah ketupat miring, pangkal dan ujung daun runcing serta tepi daun beringgit.

2.2.2 Bahan Aktif Daun Seledri (*A. graveolens* L.)

Seledri (*A. graveolens* L.) merupakan tanaman dari famili Apiaceae, bahan aktif yang terkandung dalam seledri (*A. graveolens* L.) antara lain yaitu flavonoid, koumarin, furanokoumarin, isokuersetin, umbelliferon, asparagin, selenium dan minyak atsiri (Juheini, 2002). Daun seledri mengandung flavonoid, minyak atsiri, saponin, tanin, flavoglukosida (apiin), apigenin, kolin, lipase, asparagin, alkaloid dan vitamin. Seluruh herba seledri mengandung glikosida apiin (glikosida flavon), isoquersetin dan umbelliferon serta mengandung mannite, inosite, asparagines, glutamine, choline, linamarose, provitamin A, vitamin C dan vitamin B (Sudarsono, Pudjoanto, Gunawan, Wahyuono dan Ngatidjan, 1996).

Bahan aktif yang terkandung dalam seledri (*A. graveolens* L.) antara lain yaitu flavonoid, saponin, minyak atsiri, tanin, flavo-glukosida (apiin), apigenin, kolin, lipase, asparagin, zat pahit dan vitamin A, B dan C. Akar mengandung zat pati, minyak atsiri, asparagin, manit, lendir, pentosan, glutamin dan tirosin. Sedangkan dalam biji mengandung apiin, minyak menguap, apigenin dan alkaloid. Setiap 100 gram herba seledri mengandung air sebesar 93 ml, protein sebesar 0,9 gram, lemak sebesar 0,1 gram, karbohidrat sebesar 4 gram, serat sebesar 0,9 gram, kalsium sebesar 50 mg, besi sebesar 1 mg, fosfor sebesar 40 mg, yodium sebesar 150 mg, kalium sebesar 400 mg, magnesium sebesar 85 mg, vitamin A130IU, vitamin C15 mg, riboflavin sebesar 0,05 mg, tiamin sebesar 0,03 mg dan nikotinamid sebesar 0,4 mg (Anonymous, 2006).

2.2.3 Aktivitas Antimikroba

Antimikroba merupakan suatu zat yang mampu mengganggu pertumbuhan dan aktivitas dari metabolisme mikroba. Apabila zat tersebut mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri disebut dengan antibakteri. Mekanisme kerja antimikroba antara lain yaitu dengan jalan merusak dinding sel mikroorganisme, merusak membran sitoplasma, mendenaturasi protein sel dan menghambat kerja enzim dalam sel (Prajitno, 2007). Zat antibakteri dari ekstrak daun seledri (*A. graveolens* L.) antara lain yaitu flavonoid, saponin dan tanin (Majidah *et al.*, 2014). Semua senyawa flavonoid, menurut strukturnya merupakan turunan dari senyawa induk flavon dan semuanya mempunyai jumlah sifat yang sama flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air dan senyawa fenol (Harbone, 1987).

Menurut Majidah *et al* (2014), Flavonoid merupakan kumpulan dari polifenol yang terdiri dari lima belas karbon dan dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga rantai karbon. Turunan dari flavonoid yang terkandung dalam seledri (*A. graveolens* L.) adalah flavon, yaitu seperti luteolin, apigenin, dan chrysoeriol. Flavonoid memiliki beberapa manfaat selain sebagai agen antibakteri yaitu sebagai agen anti jamur dan anti virus. Mekanisme antibakteri dari flavonoid ada tiga macam, yaitu dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma dengan merusak fluiditas membran pada regio hidrofilik dan hidrofobik sehingga fluiditas lapisan luar dan lapisan dalam membran akan menurun, serta dengan menghambat metabolisme energi.

2.3 Uji Efektivitas Antibakteri Secara *In Vitro*

2.3.1 Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) merupakan metode yang digunakan untuk menentukan konsentrasi terkecil dari suatu obat yang dapat menghambat pertumbuhan kuman secara kualitatif. Pada prinsipnya uji MIC ini adalah penghambatan pertumbuhan kuman dalam media cair oleh suatu obat yang dicampurkan dalam media tersebut. Media cair yang dipakai harus merupakan media yang dapat membunuh kuman secara optimum dan tidak menetralkan obat yang digunakan (Lay, 1994). Konsentrasi yang paling kecil dari antibiotik yang menghambat timbulnya kekeruhan dianggap sebagai nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC).

Metode pengujian MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) merupakan salah satu metode yang bertujuan untuk menguji aktivitas zat antimikroba secara *in vitro*. Dengan cara menentukan konsentrasi terendah dari suatu zat yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan dari mikroorganisme yang akan diuji. Dalam pengujian MIC terdapat 2 metode yaitu teknik tabung pengenceran (*tube dilution technique*) dan metode difusi agar (*agar diffusion method*). Dalam teknik tabung pengenceran disiapkan beberapa seri tabung yang berisi medium kultur yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang akan diujikan dan diberi zat antimikroba dengan konsentrasi berbeda-beda. Adanya aktivitas zat antimikroba ditentukan dengan kekeruhan yang terlihat pada tabung tersebut. MIC dipengaruhi oleh jenis organisme, ukuran, komponen media kultur, inokulan, waktu inkubasi dan kondisi inkubasi berupa suhu, pH, atau aerasi. Metode tabung pengenceran ini tidak dapat digunakan untuk menentukan zat tersebut bersifat sidal, statis atau litik (Schegel and Schmidt, 1994 dalam Gunawan, 2007).

2.3.2 Uji cakram

Menurut Lay (1994), Uji cakram pertama kali diperkenalkan oleh William Kirby dan Alfred Bauer pada tahun 1966. Kertas cakram berisi zat antimikroba diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme penguji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah yang jernih atau bening disekitar pertumbuhan mikroorganisme. Adapun cara peletakkan cakram yaitu kertas cakram dengan *petridisc* minimal 15mm dan jika jumlah cakram lebih dari satu, maka jarak antar cakram minimal 24 mm.

Metode difusi dilakukan dengan metode Kirby-Bauer yang dikenal dengan sebutan metode kertas cakram. Tiap-tiap kertas cakram kosong sebelumnya dipanaskan dalam oven pada suhu 70°C selama 15 menit, kemudian kertas cakram dicelupkan ke dalam larutan uji. Kertas cakram yang telah berisi supernatan, kemudian didiamkan selama 15 menit sebelum diletakkan pada media uji. Kemudian secara aseptik, setelah kertas cakram menyerap supernatan tersebut, masing-masing diletakkan pada permukaan medium yang telah berisi mikroba uji dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah itu dilakukan pengukuran diameter zona hambat, yaitu zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram dengan menggunakan penggaris millimeter (Noverita, Fitria dan Sinaga, 2009).

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1, foto alat-alat penelitian disajikan pada Lampiran 1.

Tabel 1. Alat yang digunakan pada saat penelitian

Alat	Fungsi
Timbangan analitik	Sebagai alat untuk menimbang berat ekstrak kasar daun seledri, media PSA dan TSB yang dibutuhkan dengan ketelitian 10^{-3}
Timbangan digital	Sebagai alat untuk menimbang NaCl dengan ketelitian 10^{-2}
Lemari pendingin	Sebagai wadah penyimpanan bahan penelitian
Autoclaf	Sebagai alat untuk mensterilisasi alat dan bahan yang hendak digunakan
Inkubator	Sebagai wadah penyimpanan bakteri uji
Toples Kaca	Sebagai wadah perendaman daun seledri saat proses maserasi
<i>Laminar Air Flow</i>	Sebagai tempat pengkulturan bakteri dalam keadaan steril
Spektrofotometer	Sebagai alat untuk mengetahui nilai absorbansi dari bakteri pada media TSB
<i>Rotary vacum evaporator</i>	Sebagai alat untuk mendapatkan ekstrak kasar daun seledri
Oven	Sebagai alat untuk memanaskan daun seledri
Blender	Sebagai alat untuk menggiling daun seledri kering
Hot plate	Sebagai alat pemanas media
<i>Washing bottle</i>	Sebagai tempat menyimpan akuades
Sprayer	Sebagai tempat untuk menyimpan alkohol 70 %
Mikropipet	Sebagai alat untuk mengambil larutan dalam skala micrometer
<i>Blue tip</i>	Sebagai alat untuk tempat larutan yang diambil dengan mikropipet
Mistar	Sebagai alat untuk mengukur zona hambat bakteri
Cawan petri	Sebagai wadah pengkulturan bakteri
<i>Cotton Swab</i>	Sebagai alat untuk menggosokkan bakteri pada media PSA saat hendak uji cakram
Tabung reaksi	Sebagai wadah dari larutan
Erlenmeyer	Sebagai wadah dari media PSA dan TSB
Rak tabung reaksi	Sebagai tempat tabung reaksi

Tabel 1 (Lanjutan)

Gelas ukur	Sebagai alat untuk mengukur volume larutan
Jarum osse	Sebagai alat untuk mengambil dan mengkultur bakteri pada media miring
Spatula	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan
Gunting	Sebagai alat untuk memotong bahan
Bola hisap	Sebagai alat untuk mengambil larutan
Pipet volume	Sebagai alat untuk mengambil larutan
Vortex	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan
Bunsen	Sebagai alat sterilisasi
Korek gas	Sebagai alat untuk menyalakan Bunsen
Corong	Sebagai alat untuk membantu memasukkan larutan
Pinset	Sebagai alat untuk mengambil kertas cakram

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ini disajikan pada Tabel 2 sebagai berikut :

Tabel 2. Bahan yang digunakan saat penelitian

Bahan	Fungsi
Daun seledri (<i>A.graveolens</i> L.)	Sebagai bahan yang hendak diuji kemampuan daya hambatnya
Bakteri <i>P. fluorescens</i>	Sebagai bahan uji daya hambat
Alkohol 70%	Sebagai bahan pengkondisian aseptis pada tangan
PSA (<i>Pseudomonas Selective Agar</i>)	Sebagai bahan tumbuh bakteri dalam bentuk agar
TSB (<i>Triptycase Soy Broth</i>)	Sebagai bahan tumbuh bakteri dalam bentuk cair
Etanol 96 %	Sebagai bahan pelarut daun seledri pada proses perendaman
Akuades	Sebagai bahan sterilisasi awal dan pelarut dalam ekstraksi
NaCl	Sebagai bahan untuk membuat Nafis
Spiritus	Sebagai bahan bakar dari Bunsen
Kertas cakram	Sebagai bahan untuk mengetahui besar daya hambat ekstrak kasar daun seledri
Aluminium Foil	Sebagai bahan untuk menutup ujung tabung reaksi dan Erlenmeyer pada saat disterilkan
Kapas	Sebagai bahan untuk menutup tabung reaksi

Tabel 2 (Lanjutan)

Kertas Saring	Sebagai bahan untuk menyaring ekstrak basah daun seledri
Tali kasur	Sebagai bahan untuk mengikat kertas bekas pada saat proses sterilisasi
Tissue	Sebagai bahan untuk membersihkan alat yang telah digunakan
Kertas label	Sebagai penanda
Plastik	Sebagai pembungkus media yang sudah steril
Kertas bekas	Sebagai bahan untuk membungkus alat yang hendak disterilkan

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Penelitian eksperimen merupakan penelitian yang dilakukan terhadap variabel yang data-datanya belum ada sehingga perlu dilakukan proses manipulasi melalui pemberian treatment atau perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian yang kemudian diamati dan diukur dampaknya (data yang akan datang) (Jaedun, 2011).

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung. Observasi langsung yaitu dengan melakukan pengamatan secara langsung terhadap gejala-gejala obyek yang diteliti baik situasi sebenarnya maupun dalam situasi buatan dalam rangka pengujian hipotesis (Surachmad, 1986).

3.3 Rancangan Penelitian

Menurut Sastrosupadi (2002), Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam sehingga kondisi lingkungan tempat yang digunakan dalam penelitian keadaannya sama.

$$Y = \mu + \tau + \varepsilon$$

Keterangan :

μ = nilai rerata harapan (*mean*)

τ = pengaruh faktor perlakuan

ε = pengaruh galat

Penelitian ini menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) dengan perlakuan yang diberikan adalah perbedaan konsentrasi ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) terhadap bakteri *P. fluorescens*. Dasar penelitian ini adalah penelitian pendahuluan untuk mengetahui dosis daya hambat yang tepat dalam penggunaan ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.). Hal pertama yang dilakukan yaitu menggunakan skala log dengan dosis 0 ppt, 0,01 ppt, 0,1 ppt, 1 ppt, 10 ppt, 100 ppt, 1000 ppt serta K+ dan K-. Hasil dari skala log disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Skala Log pada Perlakuan Dosis Ekstrak yang Berbeda - beda

Dosis	Hasil Spektrofotometri	Keterangan
0 ppt	1,391	Keruh
0,01 ppt	1,214	Keruh
0,1 ppt	1,189	Keruh
1 ppt	1,532	Keruh
10 ppt	1,252	Keruh
100 ppt	0,997	Keruh
1000 ppt	2,280	Bening
Kontrol +	2,096	Bening
Kontrol -	1,391	Keruh

Berdasarkan hasil dari penelitian pendahuluan didapatkan hasil skala log yang mendekati K+ yaitu pada dosis 1000 ppt menjadi bening pertama kali. Sehingga untuk uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) menggunakan dosis 750 ppt, 800 ppt, 850 ppt, 900 ppt, 950 ppt, 1000 ppt, 1050 ppt, serta K+ dan K-.

Dalam penelitian ini terdiri dari 4 perlakuan kontrol yang masing-masing diulang sebanyak 3 kali dan 2 kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Denah penelitian yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 3.

K+	A1	B1	C1	D1	A2	B2
C2	D2	A3	B3	C3	D3	K-

Gambar 3. Denah Penelitian

Keterangan :

- A : Bakteri *P. fluorescens* ditanam pada media diberi ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) dengan dosis 950 ppt.
- B : Bakteri *P. fluorescens* ditanam pada media diberi ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) dengan dosis 960 ppt.
- C : Bakteri *P. fluorescens* ditanam pada media diberi ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) dengan dosis 970 ppt.
- D : Bakteri *P. fluorescens* ditanam pada media diberi ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) dengan dosis 980 ppt.
- K+ : Bakteri *P. fluorescens* ditanam pada media diberi ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) 100%.
- K- : Bakteri *P. fluorescens* ditanam pada media tanpa diberi ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.).

1,2,3 : Ulangan

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

3.4.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

- a) Alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan sabun cuci, ditunggu hingga kering kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas bekas dan

- diikat menggunakan benang (untuk tabung reaksi dan erlenmeyer bagian atas diberi kapas).
- b) Air secukupnya dituang ke dalam autoklaf, kemudian alat yang telah dibungkus kertas bekas dimasukkan ke dalam keranjang autoklaf dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara diagonal. Klep keluaranya uap (*safety valve*) dipastikan pada posisi berdiri atau tegak.
 - c) Tombol ON dinyalakan dan temperature diputar pada posisi maksimal. Ditunggu hingga keluar uap air lalu klep ditutup, setelah itu ditunggu mencapai suhu 121°C dan tekanan menunjukkan 1 atm. Selanjutnya temperature diturunkan sampai lampu pada *sterilizing* berwarna kuning dan timer diatur pada posisi 15 menit. Setelah alarm berbunyi maka tanda sterilisasi berakhir dan temperature diturunkan minimal.
 - d) Tombol OFF ditekan, ditunggu beberapa saat sampai suhu menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka kran uap lalu buka penutup autoclaf dengan cara diagonal.
 - e) Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
 - f) Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

3.4.1.2 Sterilisasi Tempat Perlakuan

Selain alat dan bahan, tempat dan laboran harus steril guna menghindari kontaminan. Tangan laboran yang bersinggungan, barang dan meja disekitar tempat perlakuan harus selalu dalam kondisi yang steril. Sterilisasi tempat dapat dilakukan dengan cara kimia menggunakan alkohol 70 % maupun cara fisika yaitu dengan pembakaran langsung maupun dengan penyinaran dengan menggunakan sinar UV.

3.4.1.3 Pembuatan Ekstrak Kasar Seledri

Permulaan proses pembuatan ekstrak kasar seledri (*A. graveolens* L.) maka terlebih dahulu disiapkan seledri segar sebanyak 8 kg, lalu dipisahkan seledri antara daun dan batangnya. Selanjutnya daun seledri segar sebanyak 4 kg dicuci bersih dan dipotong kecil-kecil, kemudian dikeringkan dengan cara di oven dengan suhu 40–50°C. Setelah itu dihaluskan dengan menggunakan blender dan ekstrak seledri kering disimpan diruangan yang kedap udara.

Ekstrak seledri kering sebanyak 200 gram dimaserasi dengan menggunakan etanol 96% sebanyak 2 liter ada toples kaca yang ditutup dengan alumunium foil dengan perbandingan 1 :10 b/v selama 24 jam dengan 6 jam pertama dilakukan pengadukan sesekali dan 18 jam berikutnya didiamkan. Selanjutnya hasil rendaman disaring, filtrat dari rendaman tersebut dilakukan proses remaserasi menggunakan pelarut yang sama dengan proses maserasi sebelumnya yaitu menggunakan etanol 96%. Semua larutan yang didapat diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada sehingga dihasilkan ekstrak kental daun seledri sebanyak 24, 53 gram dengan nilai rendemen 12,26%. Proses ekstraksi daun seledri (*A. graveolens* L.) disajikan pada Lampiran 4.

3.4.1.4 Pembuatan Media Agar Miring

Media Agar miring digunakan sebagai media untuk peremajaan bakteri.

Adapun proses pembuatan media Agar miring adalah sebagai berikut:

- Media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*) ditimbang 0,75 gr dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer.
- Media dilarutkan dengan aquades sebanyak 30 ml dan dihomogenkan.
- Media yang sudah homogen dimasukkan ke dalam 5 tabung reaksi sebanyak 6 ml disetiap tabung reaksinya.

- e) Tabung reaksi ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil serta diikat oleh tali.
- f) Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.
- g) Tabung reaksi yang berisi media steril dimiringkan dengan kemiringan 30°.
- h) Media ditunggu sampai menjadi padat.

3.4.1.5 Pembuatan Media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*) untuk Uji Cakram

- a) PSA dengan dosis 25 gram/l.
- b) Ditimbang 7 gram PSA.
- c) Dimasukkan dalam erlenmeyer berisi 280 ml akuades. PSA diaduk dengan menggunakan spatula hingga benar-benar larut secara homogen.
- d) Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil serta diikat dengan tali kasur, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- e) Media ditunggu hingga hangat kuku kemudian dituang ke dalam cawan petri dalam kondisi steril, foto – foto kegiatan penelitian seperti yang disajikan pada Lampiran 2. Media selanjutnya ditunggu hingga mengeras dan siap untuk digunakan.
- f) Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari pendingin dan diberi label.

3.4.1.6 Pembuatan *Triptycase Soy Broth* (TSB) untuk Bakteri

- a) TSB ditimbang 0,6 gram dilarutkan dalam 20 ml akuades dalam erlenmeyer kemudian diaduk hingga larut sempurna dan berwarna kuning.

- b) Erlenmeyer ditutup kapas dan alumunium foil lalu diikat dengan menggunakan tali kasur, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
- c) Media yang akan digunakan untuk pembiakan bakteri dibiarkan dingin karena bakteri akan mati bila diinokulasi pada media yang masih panas

3.4.1.7 Pembuatan *Triptycase Soy Broth* (TSB) untuk MIC

- a) Media TSB ditimbang sebanyak 2,43 gr menggunakan timbangan digital.
- b) Media dimasukkan ke dalam Erlenmeyer.
- c) Media dilarutkan dengan aquades sebanyak 81 ml.
- d) Media yang sudah homogen dimasukkan ke dalam 9 tabung reaksi sebanyak 9 ml disetiap tabung reaksinya.
- e) Tabung reaksi ditutup kapas dan dibungkus alumunium foil serta diikat oleh tali.
- f) Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

3.4.1.8 Peremajaan Bakteri *P. fluorescens*

- a) Media Agar miring yang sudah dibuat disiapkan terlebih dahulu.
- b) Bakteri diambil dengan menggunakan jarum osse dari stok bakteri.
- c) Bakteri yang terdapat pada jarum ose digoreskan ke dalam media Agar miring dengan metode gores.
- d) Jarum osse dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum osse disentuhkan ke biakan murni *P. fluorescens* kemudian dicelupkan ke TSB.
- e) Media Agar miring diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

3.4.1.9 Kultur Bakteri *P. Fluorescens*

- a) Biakan bakteri yang sudah diremajakan pada media Agar miring diambil dengan menggunakan jarum ose sebanyak 1 gores.
- b) Ose yang sudah ada bakterinya dicelupkan pada media TSB yang sudah di persiapkan.
- c) Media disimpan pada inkubator dengan suhu 37⁰C selama 24 jam.
- d) Semua kegiatan pengkulturan dilakukan secara steril.
- e) Setelah 24 jam media TSB akan berubah menjadi keruh yang menandakan bahwa bakteri telah tumbuh. Bakteri ini kemudian dilihat kepadatannya dengan Metode Mc Farland dengan cara mencocokkan kekeruhannya berdasarkan kepadatan bakteri pada Mc Farland.
- f) Sebelum bakteri dibiakkan pada media PSA, disiapkan terlebih dahulu larutan Na fisiologis untuk mengencerkan bakteri agar didapatkan kepadatan sesuai yang diinginkan yaitu 10⁷.
- g) Setelah kepadatan bakteri sudah sesuai yang diinginkan selanjutnya menyiapkan petridisk yang sudah berisi media PSA kemudian dibiakkan bakteri dengan menyelupkan *cotton swab* pada bakteri yang sudah diencerkan lalu digoreskan ke dalam media PSA secara zig – zag.
- h) Kemudian media PSA diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37⁰C selama 24 jam.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

3.4.2.1 Uji MIC MIC (*Minimum Inhibitory Consentrasion*)

Sebelum MIC (*Minimum Inhibitory Consentrasion*) dilakukan skala log terlebih dahulu dengan dosis 0 ppt, 0,01 ppt, 0,1 ppt, 1 ppt, 10 ppt, 100 ppt, 1000 ppt serta K+ dan K-. Berdasarkan hasil dari penelitian pendahuluan didapati hasil skala log yang mendekati K+ yaitu pada dosis 1000 ppt menjadi bening

pertama kali. Sehingga untuk uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) menggunakan dosis 750 ppt, 800 ppt, 850 ppt, 900 ppt, 950 ppt, 1000 ppt, 1050 ppt, serta K+ dan K-.

Uji MIC dilakukan untuk mengetahui dosis minimum yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan filtrat simplisa seledri (*Apium graveolens* L.). Pengamatan MIC dilakukan dengan pengamatan kualitatif yakni dengan melihat adanya kekeruhan pada media uji yang menandakan bahwa bakteri tersebut tumbuh dan bila media uji bening berarti menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri.

Prosedur pelaksanaan Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) adalah sebagai berikut :

- a) 9 tabung reaksi yang sudah berisi media TSB steril sebanyak 9 ml disiapkan terlebih dahulu.
- b) Ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) diberikan pada 7 tabung reaksi dengan dosis yang berbeda setiap tabungnya. Adapun dosisnya terdiri dari 750 ppt, 800 ppt, 850 ppt, 900 ppt, 950 ppt, 1000 ppt, 1050 ppt. Pada 2 tabung reaksi sisa dijadikan kontrol positif dan kontrol negatif.
- c) Setiap tabung reaksi diberi isolat bakteri 2 osse.
- d) Media diinkubasi di inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.
- e) Media dicek kekeruhannya dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 550 nm. Skema kerja MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dapat dilihat pada Lampiran 6.

3.4.2.2 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). Metode ini dilakukan dengan meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Pertumbuhan bakteri diamati setelah diinokulasi untuk melihat zona bening disekitar cakram (Mulyadi, Wuryanti dan Ria, 2013).

Uji cakram digunakan untuk mengetahui pada konsentrasi tertentu yang dapat menghambat bakteri yang bersifat bakteristatik (menghambat bakteri) setelah pengamatan 24 jam, maupun bakteriosidal (membunuh bakteri) setelah pengamatan 48 jam. Kertas cakram yang telah direndam dengan zat antibakteri diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganismenya yang diuji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganismenya oleh zat antibakteri terlihat sebagai wilayah yang jernih di sekitar pertumbuhan mikroorganismenya.

Prosedur pelaksanaan Uji cakram adalah sebagai berikut :

- a) Disiapkan petridisk yang telah terdapat media PSA.
- b) Disiapkan konsentrasi ekstrak kasar daun seledri untuk uji cakram.
- c) Kertas cakram direndam ke dalam ekstrak daun seledri berdasarkan konsentrasi yang telah ditentukan selama 15 menit.
- d) Bakteri pada media TSB dengan kepadatan 10^8 disiapkan dan diencerkan dengan menggunakan Nafis untuk mendapatkan bakteri *Pseudomonas fluorescens* dengan kepadatan 10^7 . Penanaman bakteri pada media PSA dilakukan dengan mencelupkan *cotton swab* pada bakteri yang sudah diencerkan ke Nafis, selanjutnya digoreskan pada media PSA dengan metode zig-zag.
- e) Kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak kasar daun seledri ditiriskan dan diletakkan pada permukaan lempeng agar.
- f) Dibaca hasil setelah diinkubasi pada suhu ruang 37°C selama 24 jam dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong. Zona hambat bakteri ini ditunjukkan

dengan adanya area zona bening yang berada di sekitar kertas cakram.

Skema uji cakram dapat dilihat pada Lampiran 7.

3.5 Parameter Uji

Parameter uji terdiri dari parameter utama dan parameter penunjang. Parameter utamanya yaitu melakukan pengamatan terhadap daya hambat bakteri yang dilakukan dengan cara mengukur diameter zona bening di sekeliling kertas cakram dari masing – masing perlakuan. Parameter penunjangnya adalah lama perendaman kertas cakram pada ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) selama 15 menit.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman atau uji f (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur (uji f). Apabila nilai uji f berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan perbedaan antar dua perlakuan.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi Bakteri *P. fluorescens*

Pada penelitian ini bakteri yang digunakan adalah isolat murni yang diperoleh dari Balai Besar Budidaya Air Payau Jepara. Tahapan selanjutnya yang dilakukan adalah peremajaan bakteri *P. fluorescens* melalui dua jenis media yaitu media agar PSA (*Pseudomonas Selective Agar*) dan media cair TSB (*Triptycase Soy Broth*). Media agar PSA untuk pembiakkan bakteri dengan metode gores, sedangkan media cair TSB sebagai substrat untuk menumbuhkan bakteri, isolasi dan perhitungan jumlah mikroba. Menggunakan media PSA, karena PSA merupakan media yang selektif untuk bakteri *P. fluorescens*.

Bakteri *P. fluorescens* diperoleh dari Balai Besar Penelitian Budidaya Air Payau Jepara, dilakukan identifikasi bakteri *P. fluorescens* dan didapatkan hasil sebagai berikut seperti pada Tabel 4 dan Lampiran 3.

Tabel 4. Uji Biokimia Identifikasi Bakteri *P. fluorescens*

Uji Biokimia	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Bentuk	Batang
Gram	-
Swarming	-
Oxidase	+
Indol	-
Metil Red	-
VP	-
Citrat	+
OF medium	O
Growth 37°C	+
Pigmen fluorescens	+
Urea Hyrdolysis	-

Bakteri *P. fluorescens* merupakan salah satu jenis bakteri yang menyerang komoditas ikan air tawar. Bakteri ini berbentuk batang, tidak membentuk spora dan bereaksi negatif terhadap pewarnaan gram, aerob, menggunakan H₂ atau karbon sebagai energinya. Bakteri *P. fluorescens* merupakan bakteri yang bercahaya, akan tampak bercahaya apabila dalam bentuk koloni dan dilihat pada waktu malam hari. Menurut Azeredo, Meinders, Feijo dan Olivera (1997), *P. fluorescens* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang dengan ujung agak lengkung, memiliki ukuran panjang 1,5–5 µm dan diameter 0,5–1 µm. Bakteri ini tergolong dalam bakteri aerob, dapat bergerak dengan cara melompat karena memiliki lebih dari satu flagel dibagian ujung. Bakteri *P. fluorescens* memiliki fili dan tidak membentuk spora (Yulstiani, 2008).

Dalam penelitian ini digunakan biakan bakteri dengan kepadatan 10⁷ CFU/ml. Untuk mendapatkan kepadatan bakteri tersebut maka dibandingkan kekeruhannya dengan larutan Mc Farland, yaitu dengan melakukan penanaman bakteri uji ke dalam media agar PSA, kemudian diambil 1 osse menggunakan jarum osse dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media cair TSB. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam, setelah itu bakteri yang ada di dalam media cair TSB dilihat kepadatannya dan dibandingkan kekeruhannya dengan kepadatan bakteri pada Mc Farland. Hasil dari Mc Farland yaitu 10⁸ CFU/ml, sehingga untuk mendapatkan bakteri dengan kepadatan 10⁷ CFU/ml, maka diambil 1 ml bakteri dari media cair TSB dan dimasukkan ke dalam 9 ml Nafis dalam tabung reaksi. Dengan demikian, didapatkan bakteri dengan kepadatan 10⁷ CFU/ml. Larutan Mc Farland merupakan larutan yang digunakan untuk mengetahui kepadatan bakteri yang digunakan saat penelitian. Menurut Noverita, Fitria dan Sinaga (2009), komposisi dari larutan Mc Farland yaitu 0,5 ml larutan BaCl₂ 1% ditambah dengan 9,5 ml H₂SO₄ 1%.

4.2 Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dilakukan dengan menggunakan berbagai macam dosis dari ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) yang bertujuan untuk mengetahui dosis terkecil dalam menghambat bakteri *P. fluorescens*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ibrahim, Adiputra, Agus dan Siti (2013), Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dilakukan untuk mengetahui dosis terendah pada ekstrak untuk menghambat bakteri. Hasil uji MIC menunjukkan adanya perbedaan setiap perlakuan setelah dilakukan pengamatan dengan menggunakan spektrofotometer seperti yang ditunjukkan pada tabel 5 dibawah ini.

Tabel 5. Hasil Pengamatan Uji MIC Menggunakan Spektrofotometer

No	Dosis	Absorbansi	Keterangan
1	750 ppt	1,078	Keruh
2	800 ppt	1,292	Keruh
3	850 ppt	1,462	Keruh
4	900 ppt	1,767	Keruh
5	950 ppt	2,025	Bening
6	1000 ppt	2,321	Bening
7	1050 ppt	2,566	Bening
8	Kontrol -	1,060	Keruh
9	Kontrol +	2,096	Bening

Keterangan :

Kontrol - = Perlakuan ditambahkan bakteri saja

Kontrol + = Perlakuan ditambahkan bakteri dan ekstrak murni 100%

Berdasarkan hasil spektrofotometer pada tabung nomor lima yaitu pada dosis 950 ppt menghasilkan nilai absorbansi sebesar 2,025, nilai absorbansi ini mendekati kontrol positif yaitu sebesar 2,096. Hasil Uji MIC dengan cara pengamatan perubahan warna bening pertama kali dan pengukuran nilai absorbansi dengan spektrofotometer yang mendekati dengan kontrol positif yaitu terdapat pada dosis 950 ppt, dosis tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*. Untuk hasil uji MIC disajikan pada lampiran 8.

4.3 Uji Cakram

Uji cakram ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak daun seledri (*A. graveolens* L.) yang ditandai dengan adanya daya hambat (zona bening) di daerah kertas cakram. Daya hambat (zona bening) ditunjukkan dengan tidak ditumbuhinya bakteri *P. fluorescens* di daerah sekitar cakram ukuran 6 mm yang telah direndam oleh ekstrak daun seledri (*A. graveolens* L.) dengan konsentrasi yang berbeda - beda. Untuk hasil uji cakram disajikan pada Lampiran 8.

Dalam penelitian ini menggunakan dosis antara lain 950 ppt, 960 ppt, 970 ppt dan 980 ppt. Penentuan dosis ini didasarkan pada hasil uji MIC, yaitu pada dosis 950 ppt dapat menghambat bakteri *P. fluorescens*. Berdasarkan hasil pengamatan diameter zona bening pada uji cakram selama penelitian, setiap perlakuan didapatkan zona bening. Diameter zona bening hasil penelitian dipengaruhi oleh jumlah dosis yang digunakan, semakin tinggi dosis yang digunakan maka diameter zona bening yang dihasilkan juga semakin besar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Katno, Sari dan Agus (2009), bahwa kecenderungan peningkatan zona bening (daya hambat) seiring dengan peningkatan dosis ekstrak yang digunakan karena perbedaan besarnya daerah zona bening masing - masing perlakuan dosis diakibatkan perbedaan besarnya kandungan senyawa aktif dari masing – masing perlakuan.

Pernyataan tersebut sesuai dengan pernyataan Ibrahim *et al* (2013), semakin tinggi dosis ekstrak, maka semakin dapat menghambat pertumbuhan bakteri, hal ini berarti semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin tinggi pula kandungan bahan antibakteri yang terkandung didalamnya. Atau dengan kata lain semakin tinggi dosis ekstrak maka senyawa aktif antimikroba yang terkandung semakin banyak sehingga kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba semakin tinggi pula (Pelczar dan Chan, 1986).

Untuk mengetahui nilai dari kenormalan data maka dilakukan uji kenormalan data yang ditunjukkan pada Lampiran 9. Dosis perlakuan ditentukan dengan cara perhitungan yang ditunjukkan pada Lampiran 5. Sedangkan hasil data rata – rata pengukuran daya hambat ditunjukkan pada Tabel 6 dibawah ini.

Tabel 6. Data Rata – rata Hasil Pengukuran Diameter Daya Hambat(mm)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata- rata	Total Kuadrat
	1	2	3			
A (950 ppt)	3,79	3,85	3,99	11,63	3,88	45,11
B (960 ppt)	8,76	8,71	8,25	25,72	8,57	220,66
C (970 ppt)	11,93	11	11,87	34,8	11,6	404,22
D (980 ppt)	12,7	12,38	12,69	37,77	12,59	475,59
				109,92		1145,58

Pada Tabel 6 di atas menunjukkan hasil pengukuran diameter daya hambat ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) terhadap bakteri *P. fluorescens*. Berdasarkan tabel tersebut hasil rata – rata diameter daya hambat terbesar yaitu terdapat pada perlakuan D yaitu dengan dosis 980 ppt sebesar 12,59 mm, sedangkan hasil rata – rata diameter daya hambat terkecil terdapat pada perlakuan A yaitu dengan dosis 950 ppt sebesar 3,88 mm. Kemudian dilakukan analisa sidik ragam untuk mengetahui pengaruh dari perlakuan, hasil sidik ragam daya hambat yang dihasilkan dari berbagai perlakuan ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) terhadap bakteri *P. fluorescens* dapat dilihat pada tabel 7, sedangkan perhitungan sidik ragamnya disajikan pada Lampiran 9.

Tabel 7. Sidik Ragam Diameter Daya Hambat

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	137.9289	45.9763	467.28**	4.07	7.59
Acak	8	0.787133	0.09839			
Total	11	138.716				

Keterangan : ** = Berbeda Sangat Nyata

Pada perhitungan sidik ragam di atas menunjukkan pengaruh pemberian ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* adalah berbeda sangat nyata. Hal ini ditunjukkan pada hasil perhitungan F hitung lebih besar dari F tabel 5 % maupun F tabel 1 %, yaitu nilai 467,28 lebih besar dari 4,07 maupun 7,59. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang ditunjukkan pada Tabel 8 berikut ini.

Tabel 8. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

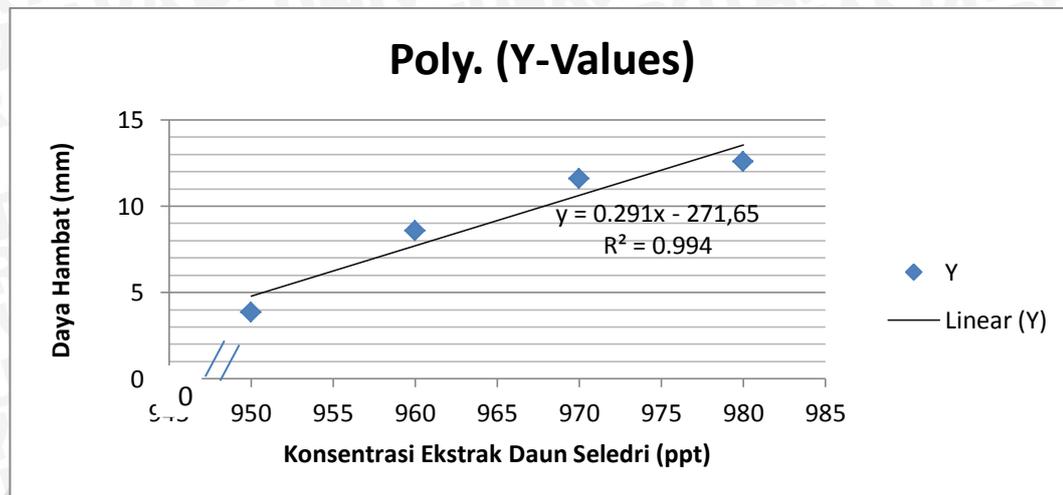
Rerata perlakuan	A (3.877)	B (8.5733)	C (11.6)	D (12.59)	Notasi
A (3.8767)	0.00				A
B (8.573)	4.696**	0.00			B
C (11.6)	7.72**	3.0267**	0.00		C
D (12.59)	8.713**	4.0167**	0.99**	0.00	D

**) berbeda sangat nyata

Pada Tabel 8 menunjukkan bahwa perlakuan A tidak memberikan nilai yang signifikan antar perlakuan dan diberi notasi a. Perlakuan B terhadap perlakuan A memberikan pengaruh berbeda sangat nyata sehingga diberi notasi b. Perlakuan C memberi pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A dan perlakuan B sehingga diberi notasi c. Perlakuan D memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A, perlakuan B dan perlakuan C sehingga diberi notasi d.

Untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan perhitungan uji polinomial orthogonal pada

Lampiran 9. Kemudian dari hasil penelitian didapat grafik regresi diameter daya hambat yang dihasilkan dengan perlakuan yang berbeda seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak Kasar Daun Seledri (*A. graveolens* L.) Terhadap Diameter Daya Hambat Bakteri *P. fluorescens*

Berdasarkan hasil uji polinomial orthogonal yang ditunjukkan pada Gambar 4 di atas menunjukkan bahwa hubungan antara penambahan dosis perlakuan ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) terhadap diameter daya hambat menunjukkan pola linier dengan persamaan $y = 0,291x - 271,65$ dan koefisien $R^2 = 0,994$. Hubungan antara pemberian ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* dengan rata – rata diameter daya hambat yang dihasilkan menunjukkan respon yang meningkat seiring dengan bertambahnya dosis ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) yaitu dari dosis 950 ppt, 960 ppt, 970 ppt dan 980 ppt. Hasil perhitungan uji polinomial orthogonal dapat dilihat pada Lampiran 9.

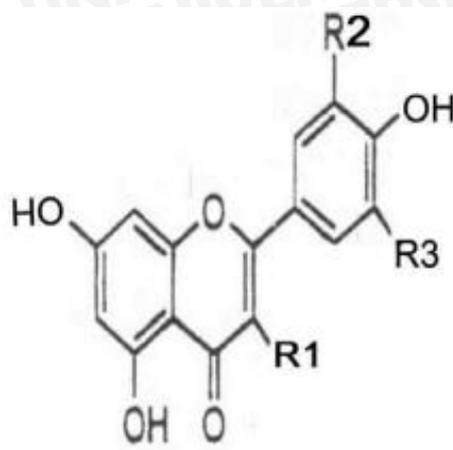
Untuk mengetahui sifat antibakteri dari ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) maka dilakukan pengamatan setelah inkubasi selama 48 jam. Menurut Davis dan Stout (1971) dalam Rokhman (2007), antibakteri dibedakan menjadi dua berdasarkan cara kerjanya, yaitu antibakteri bakteriostatik dan bakteriosida. Antibakteri bakteriostatik bekerja menghambat pertumbuhan bakteri

dan tidak membunuh bakteri, sedangkan antibakteri bakteriosida bekerja membunuh bakteri. Tetapi dalam konsentrasi yang tinggi antibakteri bakteriostatik dapat bertindak sebagai antibakteri bakteriosida. Setelah inkubasi selama 48 jam, diketahui bahwa diameter daya hambat ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) terhadap bakteri *P. fluorescens* masih bersifat bakteriostatik (menghambat pertumbuhan mikroba).

Dari hasil Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*) dan uji cakram yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun seledri (*A. graveolens* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*, hal tersebut dilihat dari adanya daya hambat disekitar kertas cakram. Kemampuan ekstrak daun seledri (*A. graveolens* L.) untuk dapat memberikan diameter daya hambat ini diduga disebabkan adanya bahan aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* yaitu flavonoid. Menurut Dewi, Natalia dan Sri (2011), flavonoid bersifat antibakteri dengan mengganggu fungsi dari metabolisme yaitu dengan merusak dinding sel serta mendenaturasi protease sel bakteri.

Menurut Waji dan Andis (2009), Flavonoid merupakan zat warna merah, ungu dan biru serta sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuhan. Senyawa ini mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C_6) terikat pada suatu rantai propane (C_3) sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$. Struktur kimia dari flavonoid seperti pada Gambar 5. Flavonoid merupakan suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Hal ini sesuai dengan pernyataan Haryani, Roffi, Ibnu dan Ayi (2012), Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Flavonoid dan flavonol disintesis tanaman dalam responnya dalam infeksi mikroba. Flavonoid merupakan antimikroba karena senyawa ini memiliki kemampuan untuk membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut serta dinding sel mikroba. Mekanisme senyawa flavonoid dalam

menghambat aktivitas bakteri adalah dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel (Brooks *et al*, 2005 *dalam* Ibrahim *et al.*, 2013).



Gambar 5. Struktur Kimia Flavonoid (Batari, 2007)

Mekanisme kerja dari flavonoid yaitu dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sitoplasma Retnowati, Nurhayati dan Nona, (2011). Menurut Volk dan Wheeler (1988) *dalam* Prajitno (2007), senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktivkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan – bahan aktif ke dalam sel, keadaan inilah yang dapat menyebabkan kematian bakteri. Pada perusakan membran sitoplasma, ion H⁺ dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal inilah yang mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel, akibatnya membran sel akan bocor dan bakteri mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian (Gillman, Rall, Nies dan Taylor, (1991) *dalam* Sari dan Shofi, (2009)).

Menurut Retnowati *et al* (2011), Rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport

zat ke dalam sel dan keluar sel menjadi tidak terkontrol. Zat yang berada di dalam sel seperti ion organik enzim, asam amino, dan nutrisi dapat keluar dari sel. Apabila enzim-enzim keluar dari sel bersama dengan zat – zat seperti air dan nutrisi yang dapat menyebabkan metabolisme terhambat sehingga terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel, selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel.

Parameter penunjang dalam penelitian ini lama waktu perendaman kertas cakram pada perlakuan ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) dengan perlakuan dosis yang berbeda-beda. Dalam penelitian ini kertas cakram direndam selama ± 15 menit. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ibrahim *et al* (2013) Pengujian penghambatan dilakukan dengan menggunakan kertas cakram. Uji cakram dilakukan untuk melihat diameter daya hambat dari ekstrak yang digunakan. Cakram direndam di dalam ekstrak selama ± 15 menit. Lama waktu perendaman tersebut dilakukan agar bahan aktif dapat meresap ke dalam kertas cakram dan mencegah rusaknya kertas cakram akibat terlalu lama dilakukan perendaman. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan lama perendaman kertas cakram memberikan pengaruh terhadap daya serap bahan aktif ke dalam kertas cakram.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang uji daya hambat ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro* diperoleh kesimpulan bahwa pemberian ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap bakteri *P. fluorescens* dan bersifat bakteristatik. Hubungan antara penambahan dosis perlakuan ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) terhadap diameter daya hambat menunjukkan pola linier dengan persamaan $y = 0,291x - 271,65$ dan koefisien $R^2 = 0,994$. Diameter daya hambat yang dihasilkan semakin meningkat seiring dengan semakin tingginya dosis perlakuan yang digunakan.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disarankan menggunakan daun seledri (*A. graveolens* L.) untuk menghambat bakteri *P. fluorescens* yaitu pada dosis 950 ppt sudah mampu menghambat bakteri *P. fluorescens* serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) secara *in vitro* dengan menggunakan dosis yang lebih tinggi untuk mengetahui dosis yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2006. Acuan Sediaan Herbal Volume Kedua Edisi Pertama. Jakarta: BPOM RI. 58 hlm.
- _____. 2009. Laporan Pemantauan HPI/HPIK Stasiun Karantina Ikan Kelas I Hang Nadim. Batam. 37 hlm.
- Arwiyanto, T., Y.M.S Maryudani dan N. Azizah. 2007. Sifat-Sifat Fenotipik *Pseudomonas fluorescens*, Agensia Pengendalian Hayati Penyakit Lincat Pada Tembakau Temanggung. *Biodiversitas*. **8** (2) : 147-151.
- Azeredo, J., J. Meinders., J. Feijo dan R. Oliveira. 1997. Determination of Cell Number and Size of a Population of *P. fluorescens* by Image Analysis. *Biology Techniques*. **11** (5) : 355-358.
- Batari, Ratna. 2007. Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Sayuran *Indigenous* Jawa Barat. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 140 hlm.
- Dewi, R. S., N. D. Hapsari., S. Mulyani. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Dan Etanol Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) Terhadap Bakteri *Bacillus licheniformis* Lebih Besar Dari *Salmonella typhi*. Seminar Nasional IX Pendidikan Biologi. Fakultas Ilmu Pengetahuan. Universitas Negeri Solo. Solo. 4 hlm.
- Gunawan, I. 2007. Penapisan awal ekstraksi senyawa bioaktif sebagai antibakteri serta uji toksisitas dan *Uji Minimum Inhibitory* (MIC) dari karang lunak asal perairan pulau panggang, kepulauan seribu. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Halaman 18-19. Tidak dipublikasikan.
- Harbone, J. B. 1987. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terjemahan oleh K. Padmawinata dan Iwang S. Edisi Kedua. ITB. Bandung. 354 hlm.
- Haryani, A., R. Grandiosa., I. D. Buwono dan A. Santika. 2012. Uji Efektivitas Daun Pepaya (*Carica papaya*) Untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*). *Perikanan dan Kelautan*. **3** (3) : 213-220.
- Ibrahim, A., Y. T. Adiputra., A. Setyawan dan S. Hudaidah. 2013. Potensi Ekstrak Kulit Buah Dan Biji Rambutan (*Nephelium lappaceum*) Sebagai Senyawa Antibakteri Patogen Pada Ikan. *Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. **1** (2) : 135-144.
- Irianto, A. 2005. Patologi Ikan Teleostei. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 256 hlm.
- Jaedun, A. 2011. Metodologi Penelitian Eksperimen. Artikel. Fakultas Teknik UNY. Yogyakarta. Tidak dipublikasikan. 62 hlm.

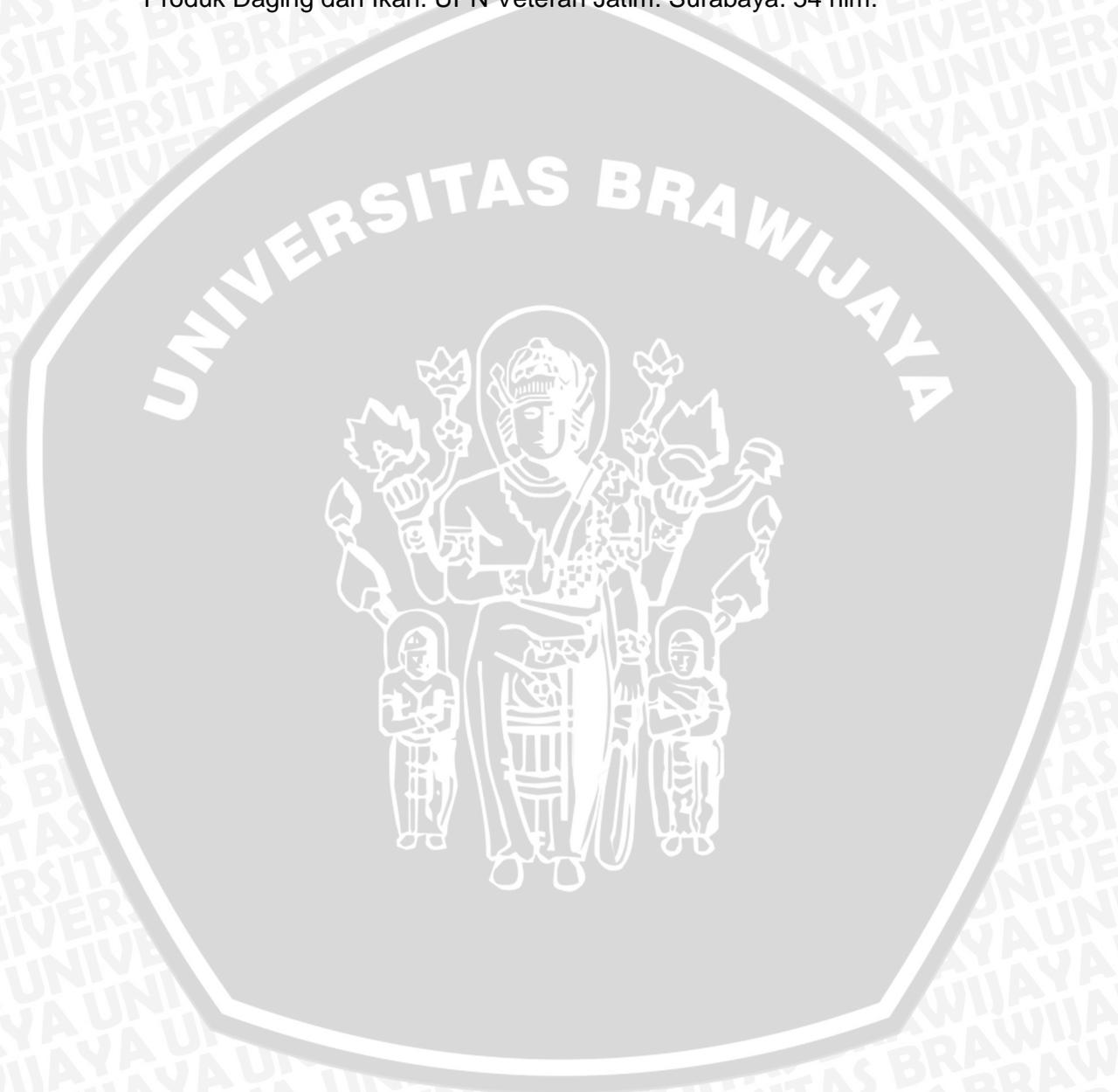
- Juheini. 2002. Pemanfaatan Herba Seledri (*Apium graveolens* L.) Untuk Menurunkan Lolesterol dan Lipid Dalam darah Tikus Putih Yang Diberi Diit Tinggi Kolesterol Dan Lemak. *Makara Sains*. **6** (2) : 65-69.
- Kartika, A. 2009. Teknik Eksplorasi Dan Pengembangan Bakteri *Pseudomonas fluorescens*. 18 hlm.
- Katno,, S. Haryanti., A. Triyono. 2009. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Sembung (*Blumea balsamifera* L.) DC Terhadap Pertumbuhan Mikroba *E. coli*, *S. aureus* dan *C. albicans*. *Indonesian Medicinal Plant*. **2** (1) : 33-36.
- Kordi, K. M. 2004. Penanggulangan Hama Dan Penyakit Ikan. Rineka Cipta Dan Bina Aksara. Jakarta. 190 hlm.
- Kris, Belyada A., Ardianor dan B. Th. Djanang. 2009. Penentuan Konsentrasi Tepat Tanaman Obat Lengkuas (*Alpinia Galanga*) Dalam Mengatasi Penyakit Jamur Pada Ikan Lais (*Kryptopterus macrocephalus*) Yang Didomestikasi. *Tropical Fisheries* **4** (2): 397-407.
- Lasabuda, R. 2013. Pembangunan Wilayah Pesisir Dan Lautan Dalam Perspektif Negara Kepulauan Republik Indonesia. *Ilmiah Platax*. **1** (2) : 2302-3589.
- Lay, B. H. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 168 hlm.
- Lengka, K., H. Manoppo, M. E.F. Kolopita. 2013. Peningkatan Respon Imun Non Spesik Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) Melalui Pemberian Bawang Putih (*Allium sativum*). *Budidaya Perairan*. **1** (2) : 21-28
- Majidah, D., D.W.A. Fatmawati dan A. Gunadi. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai Alternatif Obat Kumur. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember. 6 hlm.
- Mulyadi, M., Wuryanti, P. Ria. 2013. Konsentrasi Hambat Minimum (Khm) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) Dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Chem Info* **1** (1) : 35-42.
- Nitihapsari, G. Y. 2010. Efektivitas Ekstrak Seledri (*Apium graveolens*) 50% Dibandingkan Ketokonazol 2% Terhadap Pertumbuhan *Malassezia* sp. Pada Ketombe. Artikel Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. 14 hlm.
- Nontji, A. 2005. Laut Nusantara. Cetakan Keempat. Djambatan. Jakarta 67 hlm.
- Noverita., D. Fitria., dan E. Sinaga. 2009. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri Jamur endofit dari daun dan rimpang *Zingiber ottensii* val. *Jurnal Farmasi Indonesia*. **4** (4): 171-176.

- Nurdiyanto dan Sumartono. 2006. Model Distribusi Monegenea Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Di Daerah Istimewa Yogyakarta. *Jurnal Sain Vet.* **24** (2) : 135 – 142.
- Pangaribuan M., T. A. Pribadi, D. R. Indriyanti. 2012. Uji Ekstrak Daun Sirsak Terhadap Mortalitas Ektoparasit Benih Udang Windu *Penaeus Monodon*. *Unnes Journal of Life Science.* **1** (1) : 2252-6277
- Pelczar, M.J dan E.C.S. Chan. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi I. Universitas Indonesia. Jakarta. 443 hlm.
- Prajitno, Arief. 2005. Diktat Kuliah Parasit dan Penyakit Ikan. Fakultas Perikanan Malang. Universitas Brawijaya. Malang. 105 hlm.
- _____. 2007. Penyakit Ikan – Udang “BAKTERI”. UM Press : Malang. 115 hlm.
- _____. 2007. Uji Sensitifitas Flavonoid Rumput Laut (*Euचेuma cottoni*) Sebagai Bioaktif Alami Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*. *Protein.* **15** (2) : 66-107.
- Retnowati, Y., N. Bialangi dan N. W. Posangi. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Saintek.* **6** (2).
- Rokhman, Fatkur. 2007. Aktivitas Antibakteri Filtrat Bunga Teleng (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri Penyebab Konjungtivitis. Skripsi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 14 hlm.
- Sari, F. P.dan S. M. Sari. 2009. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba Dari Tanaman Yodium (*Jatropha Multifida* Linn) Sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. Artikel Ilmiah. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang. 7 hlm.
- Sastrosupadi, A. 2002. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 276 hlm.
- Sudarsono, Pudjoanto, A., Gunawan D., Wahyuono S. dan Ngatidjan. 1996. Tumbuhan Obat, Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan. Yogyakarta : Pusat Penelitian Obat Tradisional UGM. 190 hlm.
- Suprastyani, H. 1989. Dasar – Dasar Mempelajari Penyakit Bakterial Pada Ikan. Fakultas Perikanan Malang. Universitas Brawijaya. Malang. 52 hlm.
- _____. 2008. Diktat Parasit Dan Penyakit Ikan Penyakit Non Infeksi Pada Ikan. Fakultas Perikanan Malang. Universitas Brawijaya. Malang. 52 hlm.
- Surachmad, W. 1986. Dasar dan Teknik Research: Pengantar Metodologi Ilmiah. Tarsito. Bandung. 105 hlm.
- Tambunan, L. R. 2012. Uji Stabilitas Mikroemulsi Ekstrak Daun Seledri Dan Mikroemulsi Ekstrak Daun Urang Aring Dan Efektivitasnya Terhadap Pertumbuhan Rambut Tikus Jantan *Sprague dawley*. Skripsi. Fakultas

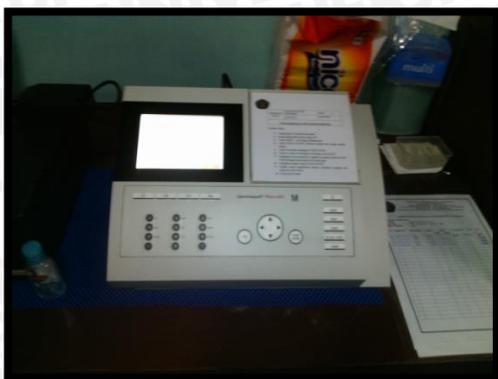
Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok. 152 hlm.

Waji, R. A. dan A. Sugrani. 2009. Flavonoid (Quercetin). Makalah Kimia Organik Bahan Alam. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin. Makassar. 23 hlm.

Yulstiani, R. 2008. Monograf Asap Cair sebagai Bahan Pengawet Alami Pada Produk Daging dan Ikan. UPN Veteran Jatim. Surabaya. 54 hlm.



Lampiran 1. Foto Alat Penelitian



Spektrofotometer



Inkubasi



Oven



LAF (Laminar Air Flow)



Autoklaf Sterilisasi



Kulkas

Lampiran 1. (Lanjutan)



Timbangan Digital



Timbangan Analitik



Cawan Petri



Tabung Reaksi



Erlenmeyer



Beaker Glass

Lampiran 2. Foto Kegiatan Penelitian



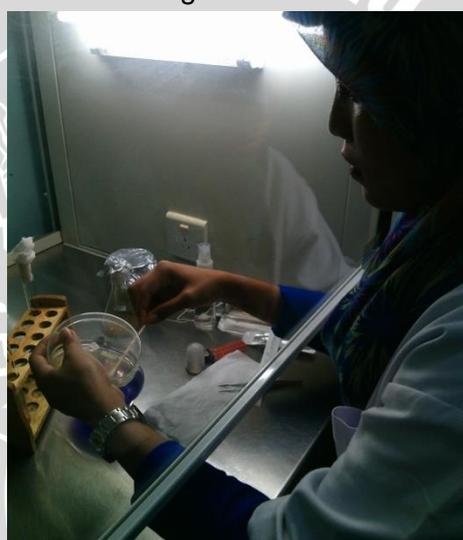
Penimbangan PSA



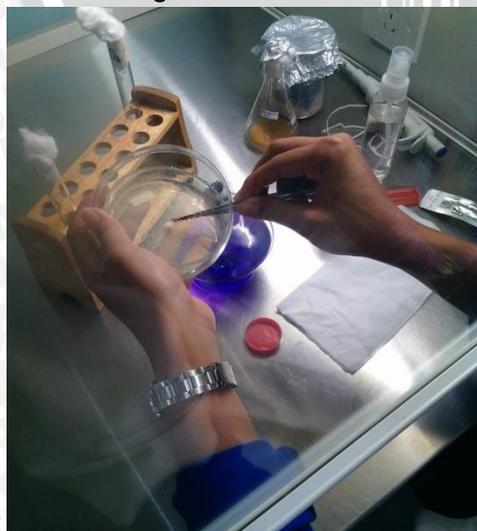
Penuangan media PSA



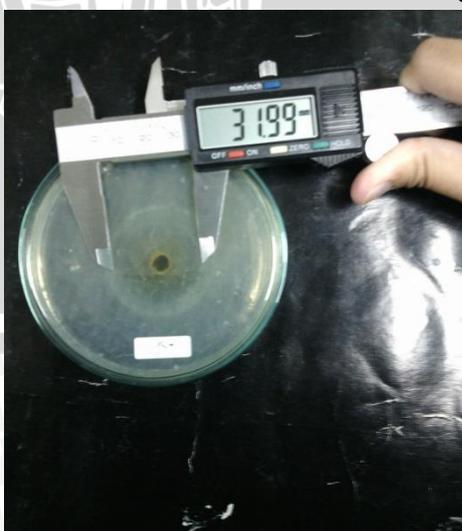
Pengenceran Bakteri



Penumbuhan Bakteri Pada Media Agar



Peletakkan Kertas Cakram



Pengukuran Diameter Daya Hambat

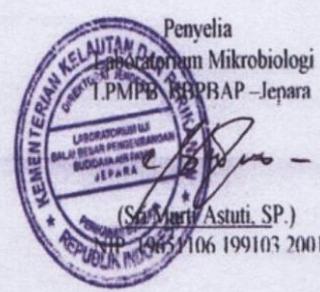
Lampiran 3. Hasil Uji Biokimia Bakteri *P. fluorescens* dari BBPBAP Jepara

LAPORAN HASIL UJI BIOKIMIA

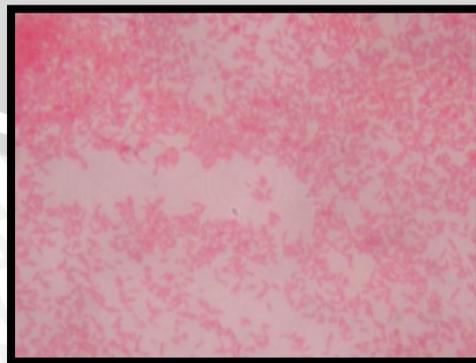
Hal : Uji biokimia Identifikasi Bakteri
 Jenis contoh : Isolat bakteri
 Metode : Lewis (1973)
 Hasil :

Uji Bio Kimia	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Bentuk	batang
Gram	-
Swarming	-
Oxidase	+
Indol	-
Metil Red	-
VP	-
Citrat	+
OF Medium	0
Growth 37 °C	+
Pigmen fluorescens	+
Urea Hydrolysis	-

Penyelia
 Laboratorium Mikrobiologi
 I.PMPB -BBPBAP -Jepara



(Sri Mari Astuti, SP.)
 0651106 199103 2001



P. fluorescens perbesaran 1.000x (Dokumentasi pribadi, 2015).



Lampiran 3. (Lanjutan)

Proses pengidentifikasian bakteri untuk memastikan bahwa bakteri tersebut merupakan *P. fluorescens* dan untuk mengetahui sifat-sifat biokimianya, maka perlu dilakukan beberapa pengujian biokimia yakni antara lain adalah uji gram, uji oksidase, uji motilitas (indol) dan uji O/F (Oksidasi/Fermentatif).

Pada uji gram yaitu dengan membuat preparat lalu difiksasi menggunakan Kristal violet, larutan iodine, ethyl alkohol, safranin, setelah itu diamati. Setelah pengamatan, apabila preparat memperlihatkan warna merah atau merah muda, maka hal ini menunjukkan bahwa bakteri termasuk gram positif dan warna ungu gelap bakteri gram negatif (Suprastyani, 1989).

Pada uji oksidase yaitu dengan meletakkan filter paper (diameter 7 cm) pada cawan petri kemudian ditetesi dengan reagent oksidase (Dipheny aniline oxalate) sebanyak 2-3 tetes, kemudian bakteri diinokulasi. Lalu diamati dengan menggunakan loope platina, apabila ada warna kuning berarti termasuk bakteri gram negatif, warna ungu bakteri gram positif (Suprastyani, 1989).

Pada uji motility yaitu dengan menyiapkan tabung yang berisi media motility sulfide (Difco). Lalu diinokulasikan bakteri pada tabung, tetesi dengan erlich A dan B sebanyak 3 tetes dan kocok tabung tersebut kemudian diinkubasi selama 24 jam, lalu diamati apabila ada warna putih – putih di luar atau di atas inokulasi maka bakteri motilyti (bergerak) (Suprastyani, 1989).

Pada uji O/F (Oxidasi Fermentasi) yaitu dengan menyiapkan dua tabung reaksi O/F kemudian diinokulasi bakteri ke dalam kedua tabung tersebut. Pada salah satu tabung yang telah diinokulasi tetesi dengan paraffin cair yang steril. Lalu kedua tabung tersebut diinkubasi selama 24 jam. Amati, apabila warna tabung kuning / kuning maka itu termasuk fermentasi, warna kuning / hijau maka itu termasuk oksidasi, warna hijau / hijau maka itu termasuk non oksidasi fermentasi (Suprastyani, 1989).

Lampiran 4. Proses Ekstraksi Daun Seledri (*A. graveolens* L.)



Disiapkan seledri



Dipisahkan daun



Daun dibersihkan



Daun dihaluskan



Daun dioven



Daun dipotong kecil-kecil



Daun ditimbang



Daun dimaserasi



Hasil maserasi disaring



Hasil



Dilakukan pemisahan pelarut dengan Vaccum Rotary Evaporator

Lampiran 5. Penentuan Dosis Ekstrak Daun Seledri (*A. graveolens* L.)

Permulaan proses pembuatan ekstrak kasar seledri (*A. graveolens* L.) maka terlebih dahulu disiapkan seledri segar sebanyak 8 kg, lalu dipisahkan seledri antara daun dan batangnya. Selanjutnya daun seledri segar sebanyak 4 kg dicuci bersih dan dipotong kecil-kecil, kemudian dikeringkan dengan cara di oven dengan suhu 40–50°C. Setelah itu dihaluskan dengan menggunakan blender. Ekstrak seledri kering sebanyak 200 gram dimaserasai dengan menggunakan etanol 96% sebanyak 2 liter ada toples kaca yang ditutup dengan alumunium foil dengan perbandingan 1 :10 b/v selama 24 jam dengan 6 jam pertama dilakukan pengadukan sesekali dan 18 jam berikutnya didiamkan. Selanjutnya hasil rendaman disaring, filtrat dari rendaman tersebut dilakukan proses remaserasi menggunakan pelarut yang sama dengan proses maserasi sebelumnya yaitu menggunakan etanol 96%. Semua larutan yang didapat diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada sehingga dihasilkan ekstrak kental daun seledri sebanyak 24,53 gram dengan nilai rendemen 12,26%. Selanjutnya dilakukan pengukuran untuk menentukan konsentrasi yang diinginkan dengan menambahkan larutan pengencer aquades.

➤ 950 ppt

Ditimbang ekstrak kasar daun seledri sebesar 0,95 gram dan ditambahkan pengencer menggunakan aquades sebanyak 1 ml sehingga dihasilkan ekstrak kasar daun seledri dengan konsentrasi 950 ppt.

➤ 960 ppt

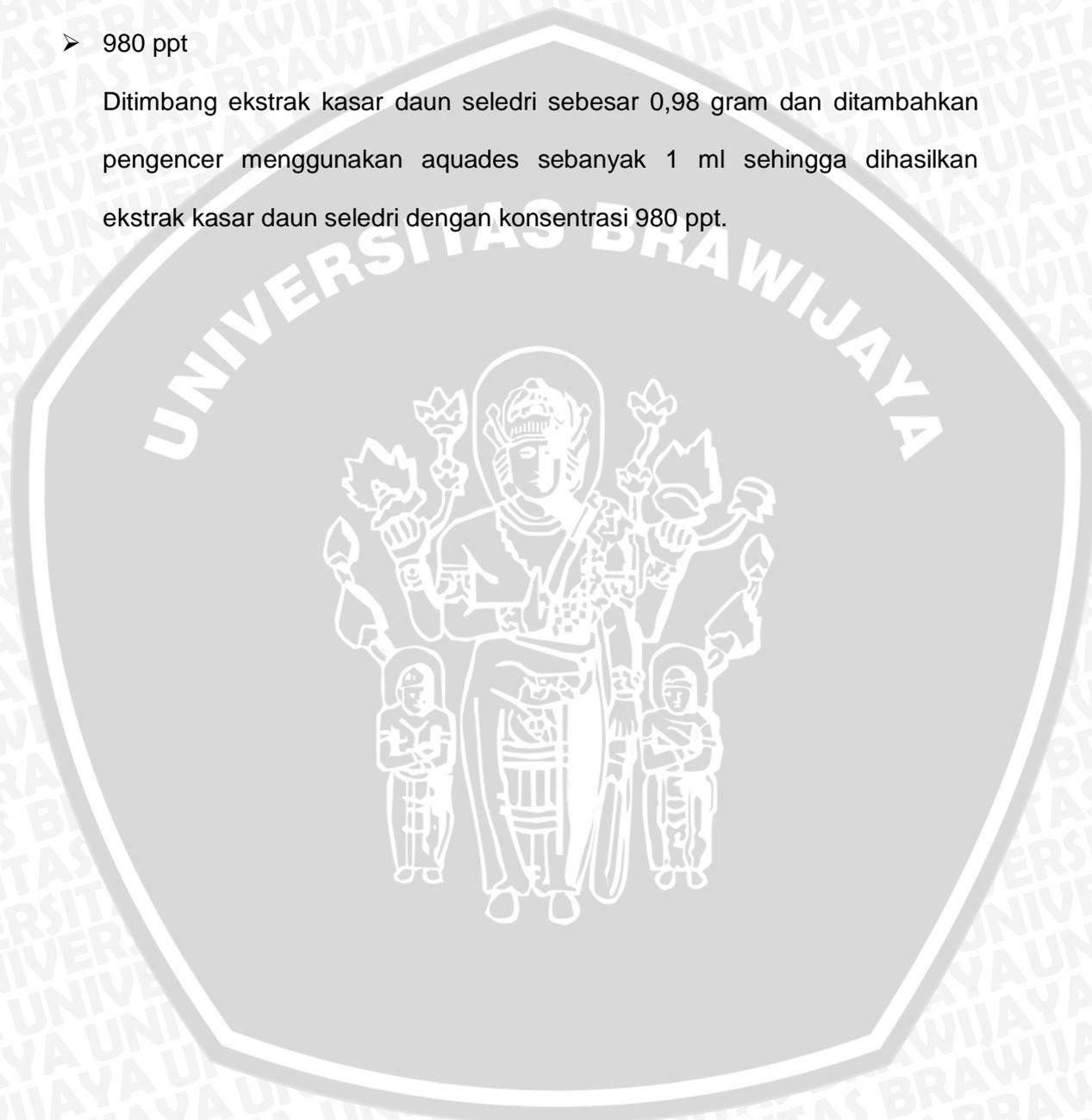
Ditimbang ekstrak kasar daun seledri sebesar 0,96 gram dan ditambahkan pengencer menggunakan aquades sebanyak 1 ml sehingga dihasilkan ekstrak kasar daun seledri dengan konsentrasi 960 ppt.

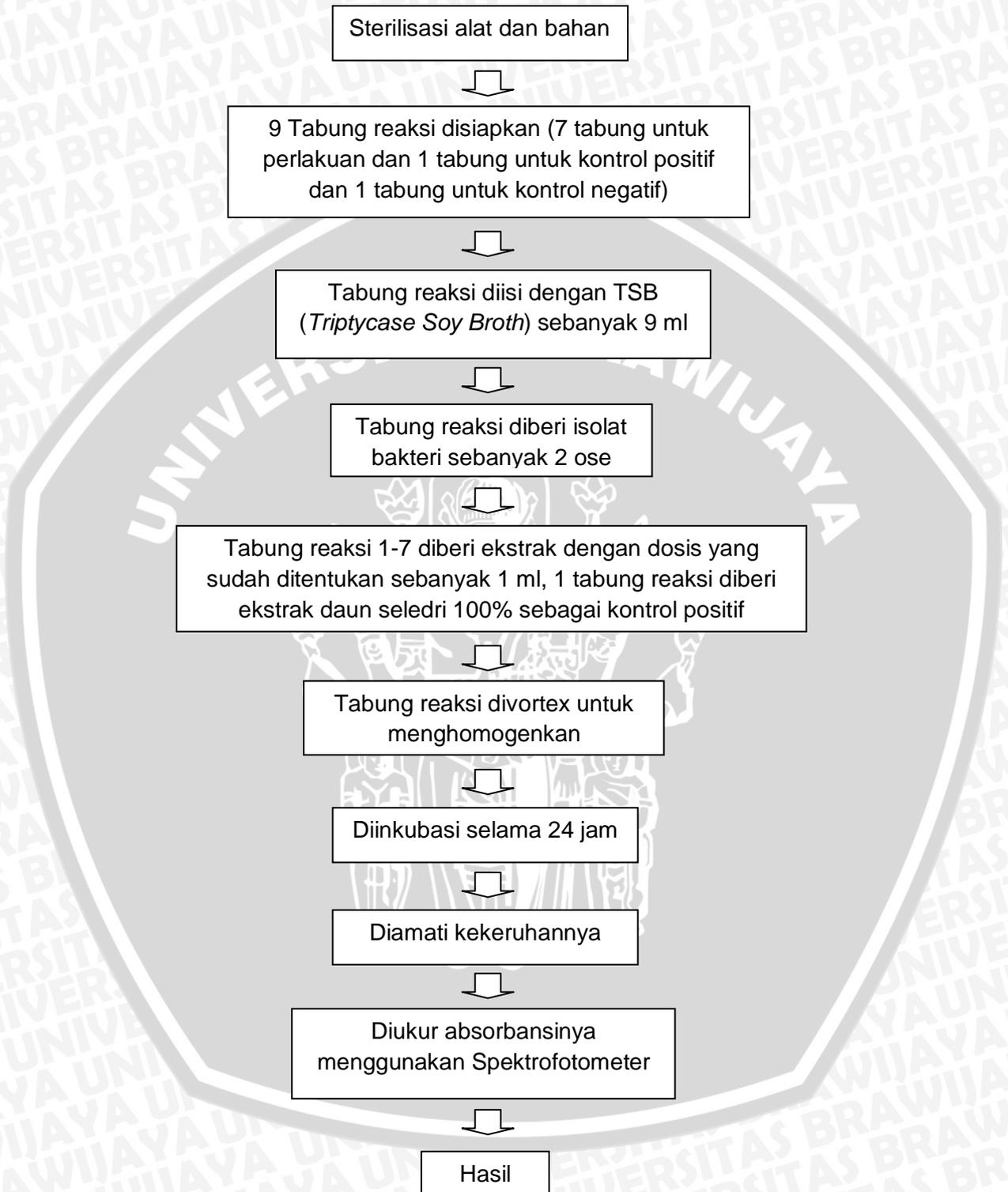
➤ 970 ppt

Ditimbang ekstrak kasar daun seledri sebesar 0,97 gram dan ditambahkan pengencer menggunakan aquades sebanyak 1 ml sehingga dihasilkan ekstrak kasar daun seledri dengan konsentrasi 970 ppt.

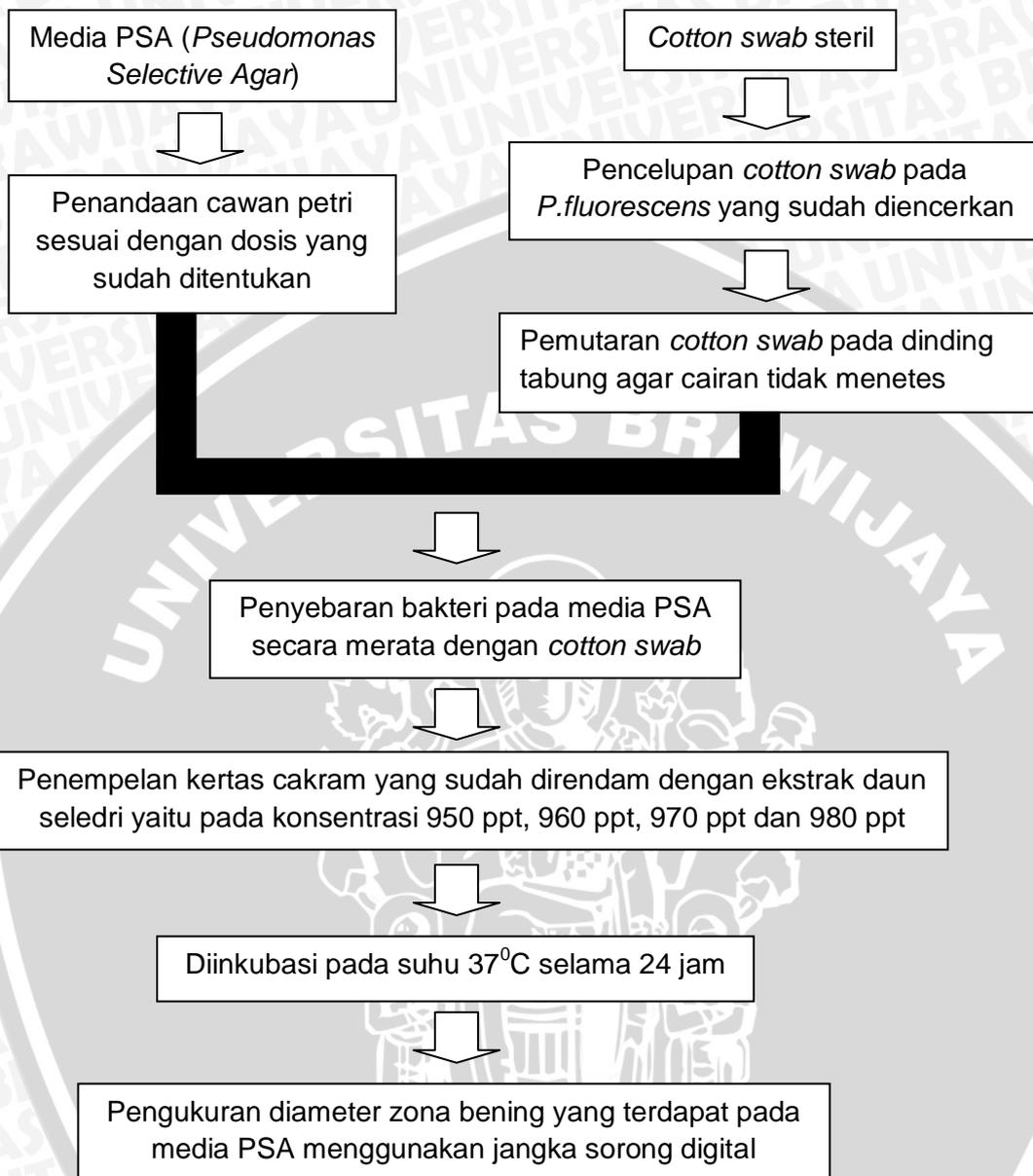
➤ 980 ppt

Ditimbang ekstrak kasar daun seledri sebesar 0,98 gram dan ditambahkan pengencer menggunakan aquades sebanyak 1 ml sehingga dihasilkan ekstrak kasar daun seledri dengan konsentrasi 980 ppt.



Lampiran 6. Skema Kerja MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Lampiran 7. Skema Kerja Uji Cakram



Lampiran 8. Hasil Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan Uji Cakram

a) Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

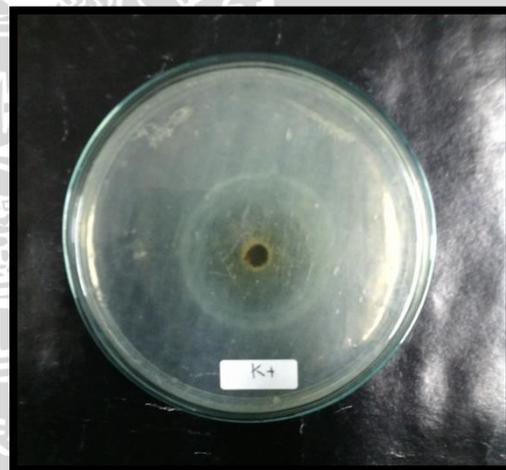


b) Uji Cakram

➤ Kontrol Negatif dan Kontrol Positif



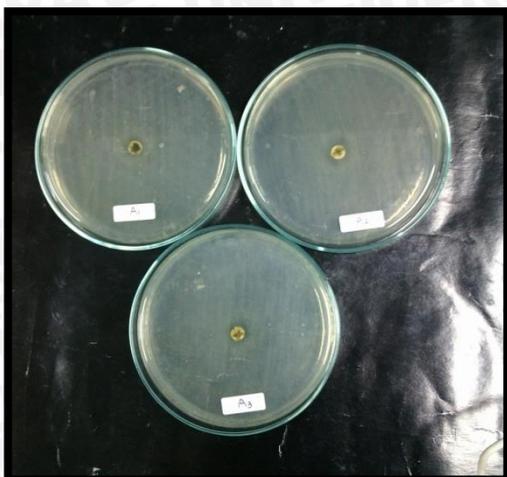
Kontrol K-



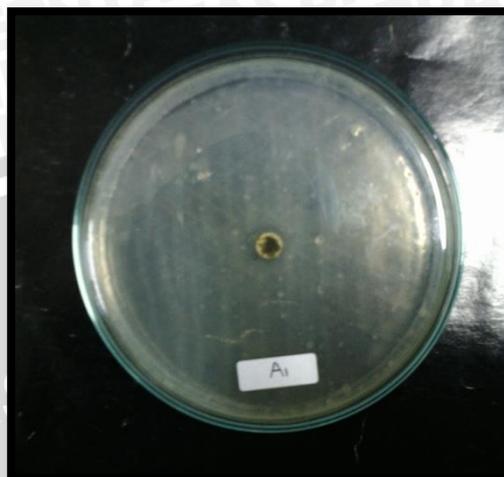
Kontrol K+

Lampiran 8. (Lanjutan)

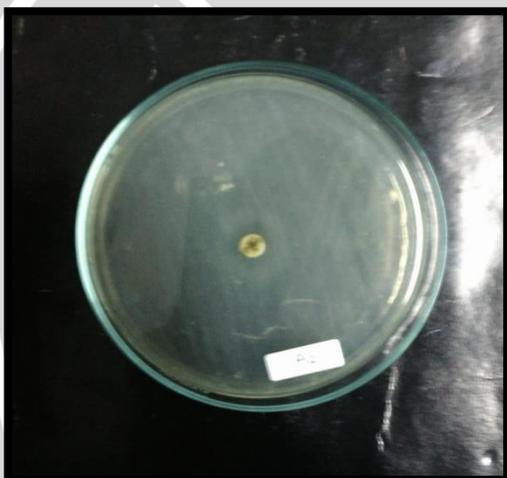
➤ Perlakuan A



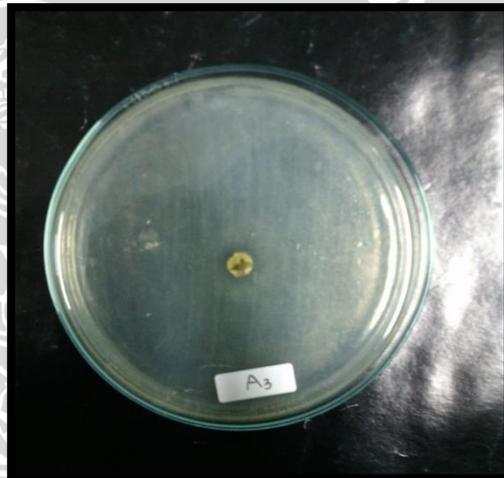
Perlakuan A



Perlakuan A₁ = 950 ppt

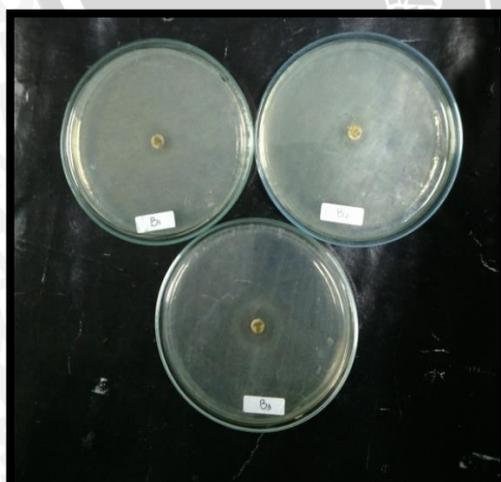


Perlakuan A₂ = 950 ppt

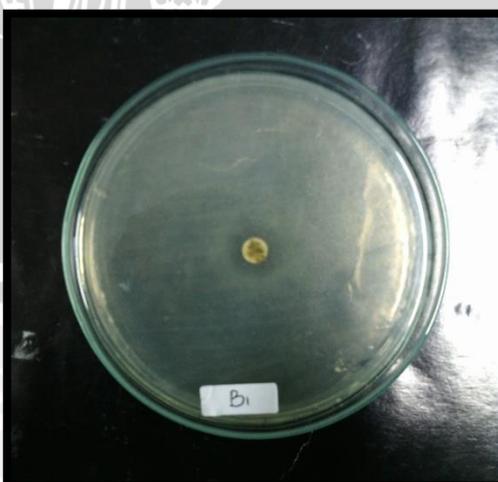


Perlakuan A₃ = 950 ppt

➤ Perlakuan B

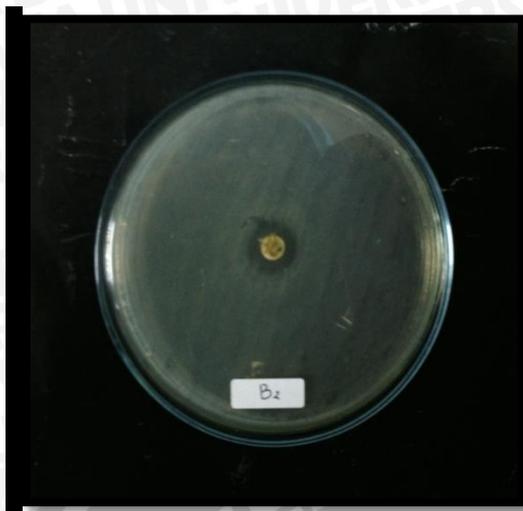


Perlakuan B

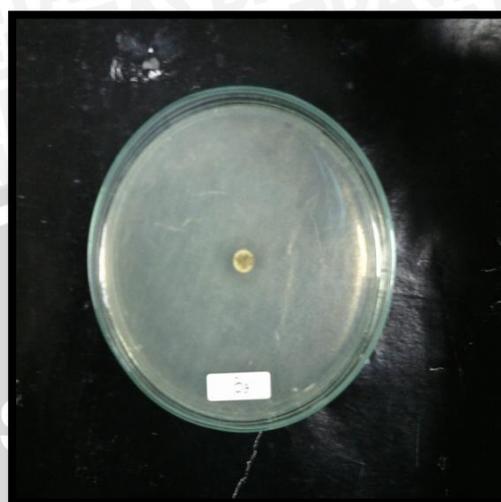


Perlakuan B₁ = 960 ppt

Lampiran 8. (Lanjutan)



Perlakuan B₂ = 960 ppt

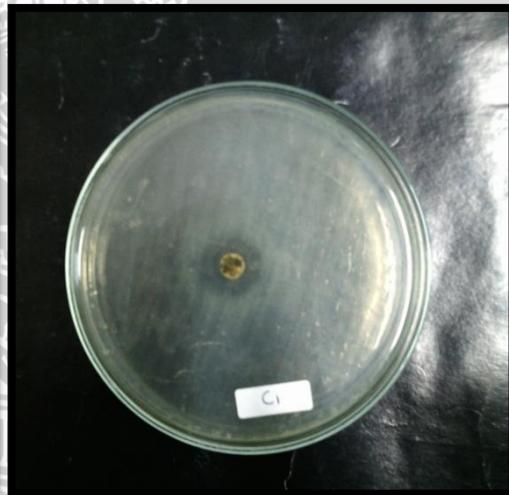


Perlakuan B₃ = 960 ppt

➤ Perlakuan C



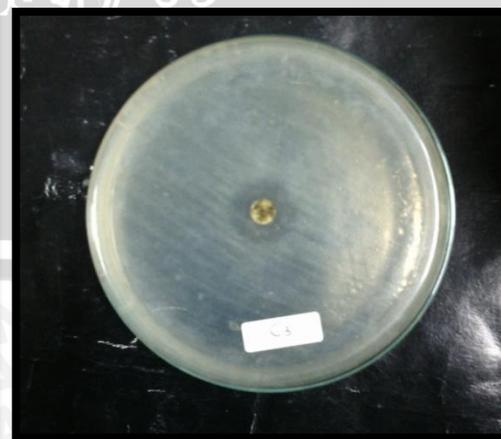
Perlakuan C



Perlakuan C₁ = 970 ppt



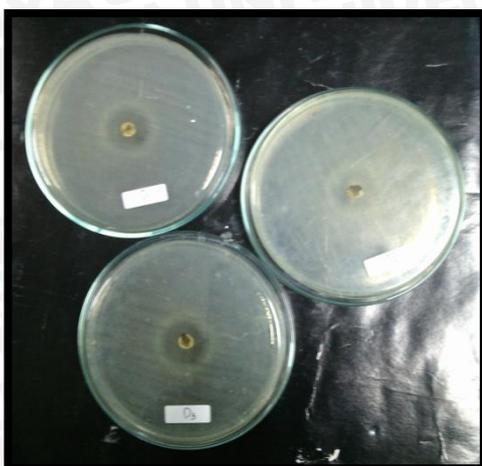
Perlakuan C₂ = 970 ppt



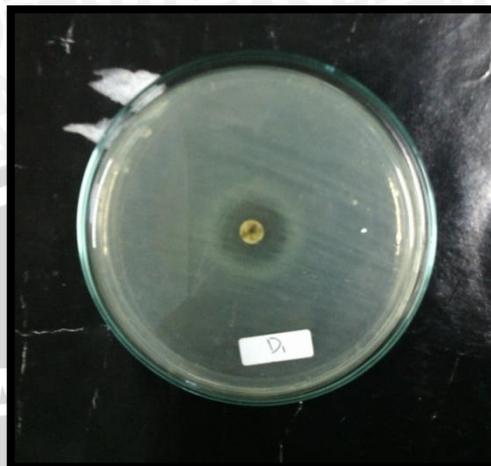
Perlakuan C₃ = 970 ppt

Lampiran 8. (Lanjutan)

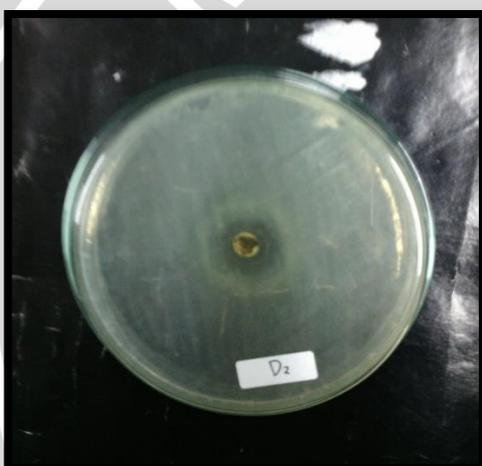
➤ Perlakuan D



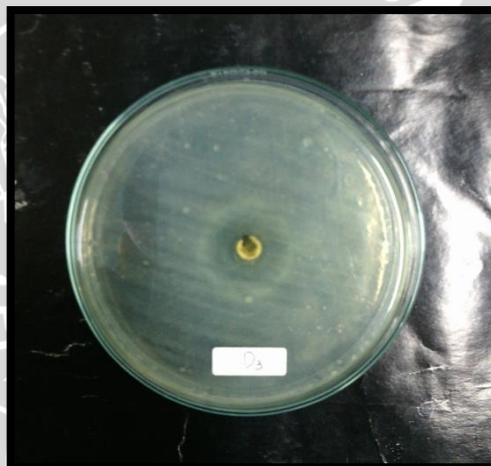
Perlakuan D



Perlakuan D₁ = 980 ppt



Perlakuan D₂ = 980 ppt



Perlakuan D₃ = 980 ppt



Lampiran 9. Analisis Data Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Seledri (*A. graveolens* L.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In vitro*

➤ Data Diameter Hambatan (mm) Bakteri *P. fuorescens*

Perlakuan	R1	R2	R3	Total	Rata-rata	R1 ²	R2 ²	R3 ²	ΣR ²
A	3,79	3,85	3,99	11,63	3,88	14,36	14,82	15,92	45,11
B	8,76	8,71	8,25	25,72	8,57	76,74	75,86	68,06	220,66
C	11,93	11	11,87	34,8	11,6	142,33	121	140,89	404,22
D	12,7	12,38	12,69	37,77	12,59	161,29	153,26	161,03	475,59
				109,92					1145,58

Perhitungan :

1. Faktor Koreksi (FK)

$$= \frac{G^2}{N}$$

$$= \frac{109,9^2}{12}$$

$$= 1006,867$$

2. Jumlah Kuadrat (JK Total) = $\sum x_{ij}^2 - FK$

$$= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK$$

$$= (3,79^2 + 3,85^2 + \dots + 12,69^2) - 1006,867$$

$$= 138,716$$

3. JK Perlakuan

$$= \frac{\sum (\sum x_i)^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - FK$$

$$= \frac{(11,63^2 + 25,72^2 + 34,8^2 + 37,77^2)}{3} - 1006,867$$

$$= 137,929$$

4. JK Galat

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

$$= 138,716 - 137,929$$

$$= 0,787$$

Lampiran 9. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 5. \text{ db Total} &= (n \times r) - 1 \\
 &= (4 \times 3) - 1 \\
 &= 11 \\
 6. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 4 - 1 \\
 &= 3 \\
 7. \text{ db Galat} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\
 &= 11 - 3 \\
 &= 8
 \end{aligned}$$

- **Analisa Sidik Ragam dengan Uji F tabel dalam Statistik Rancangan Percobaan Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Seledri (*A. graveolens* L.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In vitro***

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	137.9289	45.9763	467.2783	4.07	7.59
Acak	8	0.787133	0.09839			
Total	11	138.716				

Berdasarkan hasil analisa sidik ragam diatas menunjukkan bahwa nilai F hitung yaitu 467,2783 lebih besar dari F tabel 5% yaitu 4,07 maupun F tabel 1% yaitu 7,59 maka H_0 ditolak, hal ini berarti bahwa perbedaan perlakuan berpengaruh sangat nyata. Setelah H_0 ditolak, selanjutnya apabila ingin mengetahui antar perlakuan (rata-rata) mana yang berbeda nyata, maka dilakukan uji nilai tengah (rata-rata) antar perlakuan atau disebut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Lampiran 9. (Lanjutan)

- Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Seledri (*A. graveolens* L.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In vitro*

Rerata perlakuan	A (3.877)	B (8.5733)	C (11.6)	D (12.59)	Notasi
A (3.8767)	0.00				a
B (8.573)	4.696**	0.00			b
C (11.6)	7.72**	3.0267**	0.00		c
D (12.59)	8.713**	4.0167**	0.99**	0.00	d

**) berbeda sangat nyata

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{\text{ulangan } (r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,0984}{3}} = 0,256$$

$$BNT \ 5\% = t_{(0,05;dbG)} SED = 2,31 \times 0,256 = 0,592$$

$$BNT \ 1\% = t_{(0,01;dbG)} SED = 3,36 \times 0,256 = 0,86$$

- Tabel Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan Ci		
		Linear	Kuadratik	Kubik
A	11.63	-3	1	-1
B	25.72	-1	-1	3
C	34.8	1	-1	-3
D	37.77	3	1	1
Q=∑Ci*Ti		87.5	-11.12	-1.1
Kr=(∑Ci^2)*r		60	12	60
JK=Q^2/Kr		127.604	10.30453	0.0201667
		1.45833	-0.926667	

Perhitungan sidik ragam Regresi :

$$\begin{aligned}
 KT \text{ Linear} &= \frac{JK \text{ Linear}}{db \text{ Linear}} \\
 &= \frac{127,60}{1} \\
 &= 127,60
 \end{aligned}$$



Lampiran 9. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 F \text{ Hitung Linear} &= \frac{KT \text{ Linear}}{KT \text{ Acak}} \\
 &= \frac{127,60}{0,0987} \\
 &= 1296,90
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KT \text{ Kuadratik} &= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{db \text{ Kuadratik}} \\
 &= \frac{10,30}{1} \\
 &= 10,30
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F \text{ Hitung Kuadratik} &= \frac{KT \text{ Kuadratik}}{KT \text{ Acak}} \\
 &= \frac{10,30}{0,0987} \\
 &= 104,73
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KT \text{ Kubik} &= \frac{JK \text{ Kubik}}{db \text{ Kubik}} \\
 &= \frac{0,020}{1} \\
 &= 0,020
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F \text{ Hitung Kubik} &= \frac{KT \text{ Kubik}}{KT \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,020}{0,0987} \\
 &= 0,20
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KT \text{ Acak} &= \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,79}{8} \\
 &= 0,0987
 \end{aligned}$$

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 9. (Lanjutan)

- Tabel Sidik Ragam Regresi Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Seledri (*A. graveolens* L.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In vitro*

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	137.93			4.07	7.59
Linear	1	127.60	127.60	1296.90		
Kuadratik	1	10.30	10.30	104.73		
Kubik	1	0.02	0.02	0.20		
Acak	8	0.79	0.10			
Total	11					

Perhitungan Regresi :

$$a = \bar{y} - b \bar{x}$$

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

$$= \frac{35503,43 - \frac{3860 \times 36,64}{4}}{3725400 - \frac{(3860)^2}{4}}$$

$$= \frac{35503,43 - 35357,6}{3725400 - 3724900}$$

$$= 0,291$$

$$a = \bar{y} - b \bar{x}$$

$$= 9,16 - 0,291 \times 965$$

$$= 9,16 - 280,815$$

$$= - 271,65$$

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

$$= \frac{137,92}{138,71}$$

$$= 0,994$$



Lampiran 9. (Lanjutan)

- Grafik Pengaruh Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Seledri (*A. graveolens* L.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In vitro*

