

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR
DAUN MAHONI (*Swietenia macrophylla*) TERHADAP DAYA HAMBAT
BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA *IN VITRO***

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

**Oleh:
RELEASE AURORA MONICA PRASETYO
NIM. 125080500111026**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR
DAUN MAHONI (*Swietenia macrophylla*) TERHADAP DAYA HAMBAT
BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA *IN VITRO***

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

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

**Oleh:
RELEASE AURORA MONICA PRASETYO
NIM. 125080500111026**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR
DAUN MAHONI (*Swietenia macrophylla*) TERHADAP DAYA HAMBAT
BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA *IN VITRO*

Oleh :

RELEASE AURORA MONICA PRASETYO
NIM. 125080500111026

Telah dipertahankan didepan penguji
Pada tanggal 29 April 2016
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat
SK Dekan No. : _____
Tanggal : _____

Dosen Penguji I

Dr. Ir. Abd. Rahem Faqih, M.Si
NIP. 19671010 199702 1 001
Tanggal :

Dosen Penguji II

M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc
NIP. 19860717 201504 1 001
Tanggal :

Menyetujui
Dosen Pembimbing I

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

Dosen Pembimbing II

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

Mengetahui,
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal :

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya 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 penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, April 2016

Mahasiswa

Release Aurora M. P.



RINGKASAN

RELEASE AURORA MONICA PRASETYO. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mahoni (*Swietenia macrophylla*) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *In Vitro*. Di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS dan Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc.**

Budidaya perikanan merupakan salah satu aktivitas penting untuk memenuhi kebutuhan manusia berupa produk-produk perikanan. Potensi yang besar dan prospek pengembangan yang begitu terbuka, bukanlah jaminan bahwa budidaya ikan akan berjalan mulus tanpa permasalahan. Salah satu kendala dalam budidaya adalah penyakit pada organisme budidaya. Timbulnya penyakit dapat disebabkan karena kondisi perairan yang kurang baik. Salah satu spesies bakteri yang paling banyak menyebabkan penyakit pada organisme budidaya adalah *Aeromonas hydrophila*. Penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicaemia*) biasanya ditanggulangi menggunakan senyawa kimia seperti antibiotik. Penggunaan antibiotik dalam waktu lama akan menimbulkan penimbunan residu obat-obatan di dalam tubuh ikan dan lingkungan perairan. Oleh karena itu, dibutuhkan senyawa – senyawa antibakteri alternatif dari bahan alam yang tidak mengandung efek samping. Salah satu bahan alami yang memiliki sifat antibakteri adalah daun Mahoni (*Swietenia macrophylla*)

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari hingga bulan Maret 2016 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap daya hambat dari bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah melakukan percobaan untuk melihat suatu hasil dan rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 5 perlakuan konsentrasi ekstrak kasar daun Mahoni yaitu : A (5%), B (10%), C (15%), D (20%) dan E (25%). Masing – masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali ulangan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun Mahoni memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap daya hambat pertumbuhan *A. hydrophila* dan bersifat bakteristatis. Konsentrasi maksimal diperoleh pada perlakuan E (25%) dengan rata – rata diameter zona hambat 10,58 mm. Hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) dengan diameter hambatan yang terbentuk adalah linear, dimana persamaannya didapatkan $y = 2,240 + 0,342x$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,973.

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dimana zona hambat terbaik diperoleh pada perlakuan dengan konsentrasi 20%.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mahoni (*Swietenia macrophylla*) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *In Vitro*” telah diselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Maret 2016 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan pada Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Brawijaya.

Pada kesempatan kali ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku dosen pembimbing I dan Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc selaku dosen pembimbing II yang telah karena senantiasa dengan sabar dalam membimbing, mengarahkan serta memberikan motivasi semangat dan jangan mudah menyerah kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah skripsi ini masih belum sempurna, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan dan kesempurnaan karya tulis ilmiah ini di masa mendatang. Penulis berharap karya tulis ilmiah skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan informasi yang berguna bagi pembaca.

Malang, April 2016

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

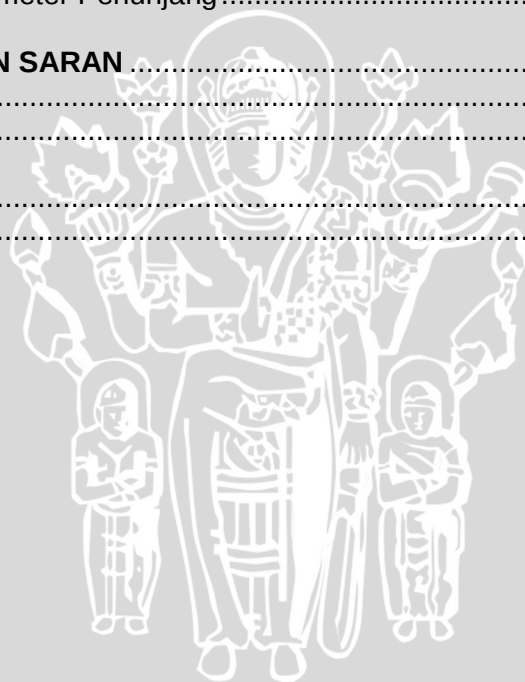
Puji syukur penulis ucapkan atas terselesaikannya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih sebesar besarnya kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa mengiringi dan memberi petunjuk-Nya dalam setiap langkah serta, Nabi Muhammad SAW yang menjadi suri tauladan bagi umatnya.
2. Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno MS selaku Dosen Pembimbing Akademik, pembimbing Praktek Kerja Magang (PKM) dan pembimbing skripsi yang telah banyak memberikan motivasi, saran, bimbingan, arahan dan nasihat bagi penulis selama masa studi.
3. Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, saran dan arahan kepada penulis selama penelitian.
4. Dr. Ir. Abd. Rahem Faqih, M.Si selaku dosen penguji I dan M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc selaku dosen penguji II yang telah memberikan saran dan nasehat bagi penulis.
5. Ayah Drs. Prasetyo Wibowo, M.Si dan Ibu Dra. Supiyatun yang selalu menjadi penuntun, memberi ilmu yang bermanfaat dan memberikan doa yang terbaik bagi penulis. Serta adikku, Satriyo Ichrom Anggoro yang telah memberikan semangat.
6. Seluruh rekan tim *Aeromonas* dan seluruh rekan Skripsi Penyakit yang telah banyak membantu penulis dan selalu memberikan dukungan dan motivasi untuk terselesaikannya laporan skripsi ini
7. Seluruh pihak yang sudah membantu penulis selama penelitian.

DAFTAR ISI

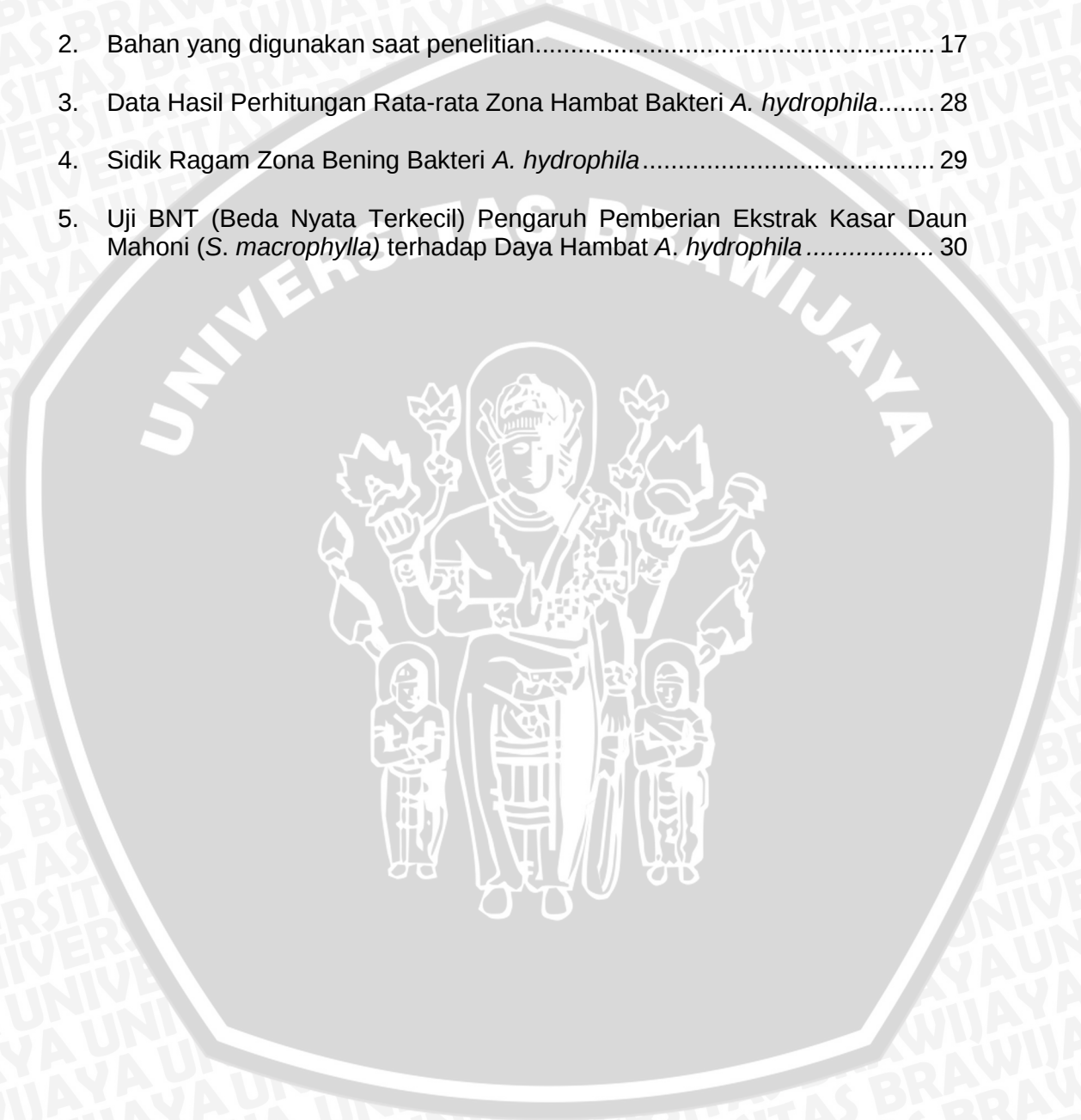
	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Kegunaan Penelitian	4
1.5 Hipotesis	5
1.6 Tempat dan Waktu	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Biologi <i>A. hydrophila</i>	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	6
2.1.2 Habitat dan Penyebaran	7
2.1.3 Pertumbuhan	8
2.1.4 Patogenitas	9
2.1.5 Infeksi dan Tanda Penyerangan	10
2.2 Biologi Mahoni (<i>S. macrophylla</i>)	11
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	11
2.2.2 Habitat dan Penyebaran	12
2.2.3 Manfaat	12
2.2.4 Bahan Aktif	13
2.2.5 Aktivitas Antimikroba	14
2.3 Uji Efektivitas Antibakteri secara In Vitro	14
2.3.1 Uji Cakram	14
3. METODE PENELITIAN	16
3.1 Materi Penelitian	16
3.1.1 Alat Penelitian	16
3.1.2 Bahan Penelitian	17
3.2 Metode Penelitian	18

3.3 Pengambilan Data.....	18
3.4 Rancangan Penelitian	19
3.5 Prosedur Penelitian	20
3.5.1 Persiapan Penelitian	20
3.5.1.1 Uji Pendahuluan Penentuan Dosis Daya Hambat.....	20
3.5.1.2 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	20
3.5.1.3 Sterilisasi Tempat Perlakuan	21
3.5.1.4 Pembuatan Ekstrak Kasar	21
3.5.1.5 Pembuatan Media	23
3.5.1.6 Pemiakkan Bakteri	24
3.5.2 Pelaksanaan Penelitian.....	24
3.5.2.1 Prosedur Pelaksanaan Uji Cakram.....	24
3.5.2.2 Parameter Uji	25
3.6 Analisis Data	26
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Daya Antibakteri Ekstrak Daun Mahoni (<i>S. macrophylla</i>) dengan Uji Cakram	27
4.2 Hasil dari Parameter Penunjang	36
5 KESIMPULAN DAN SARAN	37
5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	43



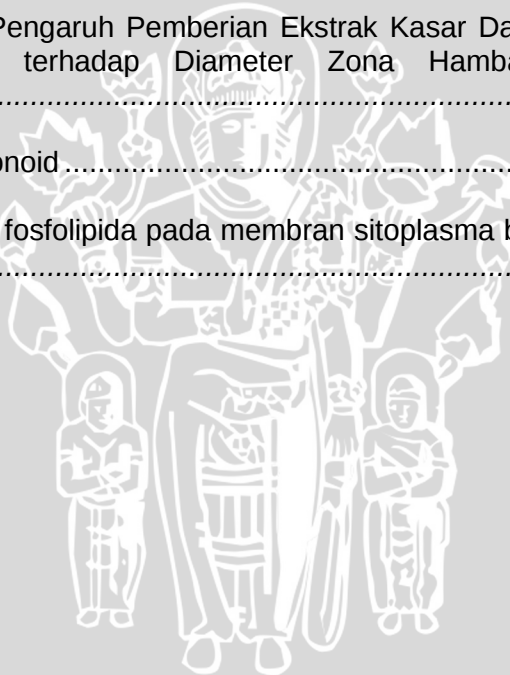
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat yang digunakan saat penelitian.....	16
2. Bahan yang digunakan saat penelitian.....	17
3. Data Hasil Perhitungan Rata-rata Zona Hambat Bakteri <i>A. hydrophila</i>	28
4. Sidik Ragam Zona Bening Bakteri <i>A. hydrophila</i>	29
5. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mahoni (<i>S. macrophylla</i>) terhadap Daya Hambat <i>A. hydrophila</i>	30



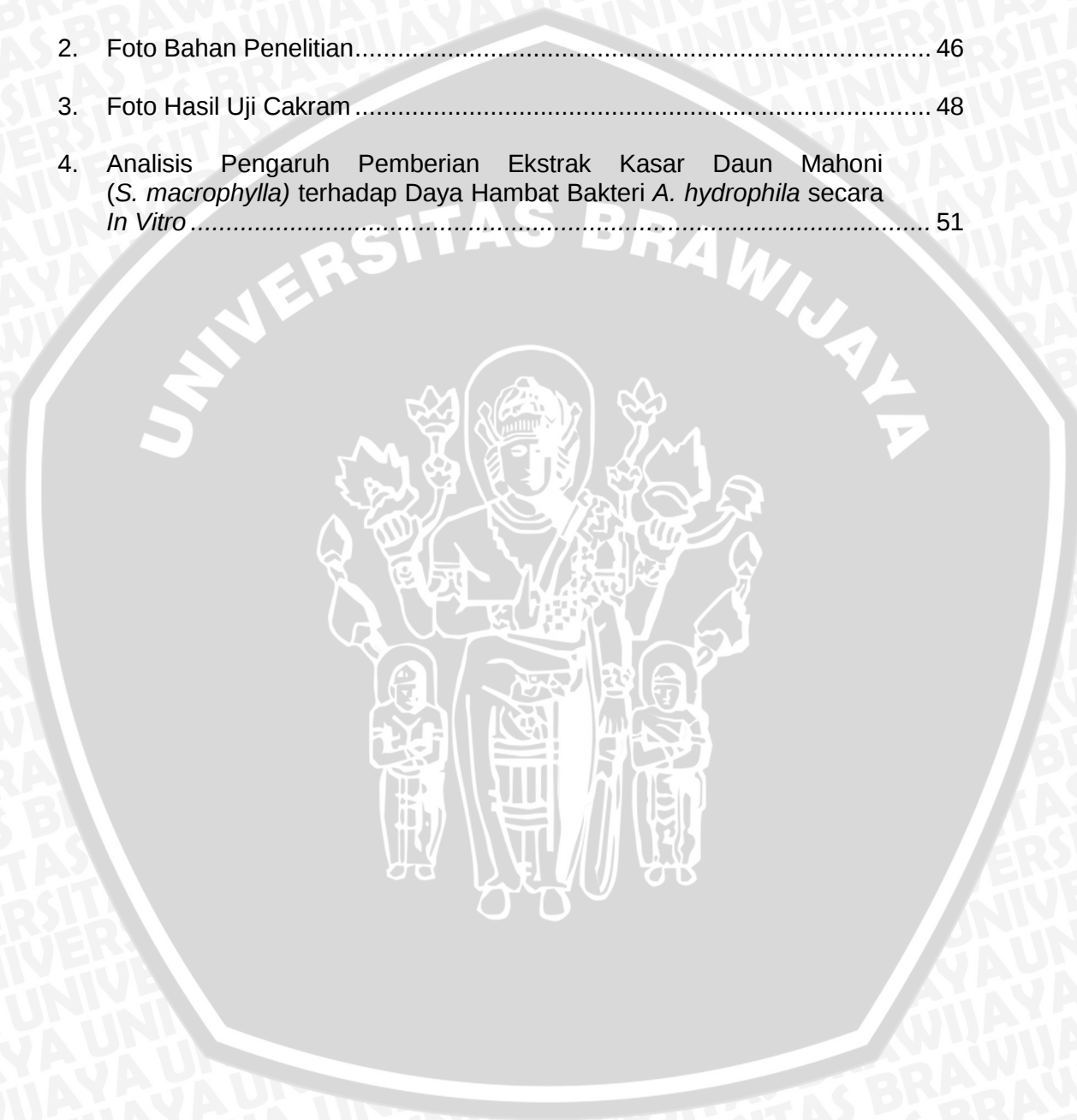
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bakteri <i>A. hydrophila</i>	7
2. Grafik Pertumbuhan Bakteri.....	9
3. <i>S. macrophylla</i>	11
4. Uji Cakram.....	15
5. Denah Penelitian Uji Cakram.....	20
6. Hasil Uji Daya Hambat Bakteri <i>A. hydrophila</i> setelah Pemberian Ekstrak Daun Mahoni (<i>S. macrophylla</i>).....	27
7. Grafik Hubungan Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mahoni (<i>S. macrophylla</i>) terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri <i>A. hydrophila</i>	31
8. Struktur dasar flavonoid.....	34
9. Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon.....	35



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Foto Alat Penelitian.....	43
2. Foto Bahan Penelitian.....	46
3. Foto Hasil Uji Cakram	48
4. Analisis Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mahoni (<i>S. macrophylla</i>) terhadap Daya Hambat Bakteri <i>A. hydrophila</i> secara <i>In Vitro</i>	51



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Produksi perikanan di dunia didominasi oleh perikanan laut. Tercatat pada tahun 2003, produksi perikanan darat dunia sebesar 34,2 juta ton, sedangkan produksi perikanan laut dunia mencapai 98 juta ton. Pada tahun yang sama, produksi terbesar perikanan laut dunia berasal dari perikanan tangkap, yaitu 81,3 juta ton, sedangkan perikanan budidaya sekitar 16,7 juta ton (Zulkarnain, Purwanti dan Indrayani, 2013).

Budidaya perikanan merupakan salah satu aktivitas penting untuk memenuhi kebutuhan manusia berupa produk-produk perikanan. Pada saat ini budidaya perikanan telah memberikan kontribusi sebesar 37% dari total produksi ikan sedunia. Maka dari itu, budidaya perikanan merupakan usaha alternatif untuk pemenuhan kebutuhan produk perikanan yang masih didominasi oleh perikanan air tawar (Riffiani, 2010).

Potensi yang besar dan prospek pengembangan yang begitu terbuka, bukanlah jaminan bahwa budidaya ikan akan berjalan mulus tanpa permasalahan. Permasalahan yang dihadapi oleh sektor budidaya ikan merupakan hal yang dianggap sering menjadi penghambat terbesar pada budidaya ikan yakni munculnya serangan penyakit (Kordi, 2004).

Penyakit ikan didefinisikan sebagai sesuatu yang dapat mengganggu proses kehidupan ikan, sehingga pertumbuhannya menjadi tidak normal. Definisi tersebut juga berlaku untuk organisme hidup lainnya yang terserang penyakit. Organisme yang dapat menyebabkan penyakit antara lain parasit, jamur, bakteri dan virus (Supriyadi, 2002).

Salah satu jenis dari penyakit ikan adalah bakteri, yang merupakan mikroorganisme bersel satu dengan dinding sel yang kaku. Diameter bakteri

sejati (Eubacteria) biasanya tidak lebih dari 2-3 μm , hanya dapat dilihat dengan mikroskop. Bakteri bersifat motil bila berflagella, prokariotik dan umumnya berkembangbiak dengan membelah diri (Prajitno, 2005).

Aeromonas hydrophila merupakan bakteri bersifat gram negatif, berbentuk batang dan motil, yang merupakan agensia penyebab hemoragik septikemia (*Bacterial Hemorrhagic Septicemia*, BHS) atau MAS (*Motile Aeromonas Septicaemia*) pada beragam spesies ikan air tawar (Irianto, 2005). Penyakit tersebut seringkali terjadi saat musim pancaroba atau perubahan musim dari musim kemarau ke musim penghujan. Terjadinya perbedaan suhu antara siang dan malam yang tinggi juga berperan sebagai pencetus penyakit tersebut. Faktor pemicu lainnya yakni melemahnya daya tahan tubuh ikan akibat stres karena kualitas air yang menurun, kekurangan pakan atau penanganan yang kurang baik (Mahyuddin, 2010).

Penyakit MAS pada ikan dapat menimbulkan kematian pada ikan budidaya, sehingga harus dilakukan upaya penanggulangan. Upaya penganggulangan terhadap penyakit dapat dilakukan melalui tindakan pencegahan maupun pengobatan. Upaya pencegahan dapat dilakukan dengan cara mengontrol kualitas air dan pemberian pakan sedangkan pengobatan dilakukan dengan menggunakan antibiotik. Namun beberapa bahan kimia bersifat presistensi, artinya bahan kimia tersebut tidak mudah terurai secara alami sehingga dikategorikan tidak ramah lingkungan (Rosidah dan Afizia, 2012).

Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Lukistyowati (2012), bahwa umumnya pembudidaya melakukan pemberian berbagai macam antibiotik seperti *ampicillin*, *chloramphenicol*, *tetracycline* dan disinfektan pada ikan. Penggunaan antibiotik secara terus menerus akan menyebabkan bakteri patogen menjadi resisten. Terjadi penimbunan residu obat-obatan di dalam tubuh ikan dan

lingkungan perairan, akhirnya dapat membahayakan manusia yang mengonsumsinya.

Sehubungan dengan permasalahan tersebut, maka diperlukan bahan alternatif yang aman dan dapat digunakan untuk pengendalian penyakit. Salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi serangan penyakit bakterial adalah dengan menggunakan antibiotik alami yang berasal dari tumbuhan. Antibiotik alami memiliki keunggulan mudah didapat dan ramah lingkungan (Muharrama, Syawal dan Lukistyawati, 2015).

Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antibiotik alami adalah Mahoni (*Swietenia macrophylla*). *S. macrophylla* merupakan tumbuhan yang mudah ditemukan karena terdistribusi di lebih dari 40 negara termasuk di Brazil, Bolivia, Meksiko, Guatemala, Peru dan negara-negara Amerika Tengah. Tumbuhan ini memiliki tinggi lebih dari 30 meter dengan batang lurus berbentuk silindris, dan berwarna coklat kemerahan (Eid, Elmarzugui dan El-Enshasy, 2013).

Tanaman Mahoni memiliki khasiat sebagai tanaman obat, terutama pada bagian daun karena pada bagian tersebut mengandung senyawa antimikroba seperti MeOH, diklorometana, n-heksan, fenol, tanin dan juga terdapat flavonoid (Tan, Osman, Wong, Boey dan Ibrahim, 2009). Selain itu daun Mahoni juga memiliki aktivitas antimikroba, anti-infeksi, antivirus dan aktivitas fitoremediasi pada logam berat (Moghadamtousi, Goh, Chan, Shabab dan Kadir, 2013).

Berdasarkan permasalahan tersebut maka perlu dilakukan penelitian terhadap pengaruh pemberian ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* yang dapat berperan sebagai alternatif penggunaan antibiotik yang lebih aman bagi lingkungan perairan.

1.2 Perumusan Masalah

Penyakit bakterial yang sering menginfeksi ikan pada kegiatan budidaya adalah penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Upaya pengendalian penyakit MAS sampai saat ini masih menggunakan antibiotik. Namun, pemakaian antibiotik untuk jangka panjang akan menimbulkan munculnya strain bakteri-bakteri resisten terhadap antibiotik (Sukenda, Jamal, Wahjuningrum dan Hasan, 2008).

Berdasarkan kerugian yang disebabkan oleh penggunaan antibiotik, maka diperlukan bahan alternatif yang aman bagi biota dan lingkungannya, salah satunya dengan penggunaan ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) yang memiliki kandungan senyawa antibakteri. Menurut Meety (2015), Mahoni memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif maupun negatif. Senyawa antibakteri yang dimiliki antara lain golongan alkaloid, terpenoid, antrakuinon, glikosida, saponin dan minyak atsiri. Dari uraian yang telah dipaparkan, maka didapat permasalahan yang dirumuskan sebagai berikut:

- Bagaimana pengaruh daya hambat ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh daya hambat ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*.

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi yang bermanfaat bagi masyarakat mengenai potensi ekstrak kasar daun Mahoni

(*S. macrophylla*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang menginfeksi ikan, khususnya bakteri *A. hydrophila*.

1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*.

H_1 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Januari - Maret 2016.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi *Aeromonas hydrophila*

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Kabata (1985), klasifikasi dan morfologi *A. hydrophila* adalah sebagai berikut:

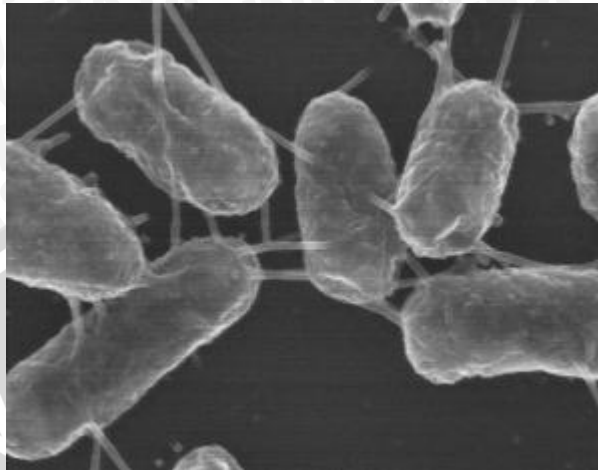
Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schyzomycetes
Ordo	: Pseudomonasdales
Famili	: Vibrionaceae
Genus	: Aeromonas
Spesies	: <i>A. hydrophila</i>

Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit *haermorrhagic septicemia* yaitu penyakit yang merusak jaringan dan organ pembuat sel darah. Bakteri ini berbentuk batang dengan ukuran $0,7-0,8 \mu\text{m} \times 1,0-1,5 \mu\text{m}$, bersifat anaerob fakultatif. Meragikan glukosa, fruktosa, maltose dan trehalosa menjadi asam atau asam dengan gas. Bakteri ini dapat juga mereduksi nitrat menjadi nitrit (Prajitno, 2007).

Aeromonas memiliki motil yang bergerak aktif dengan menggunakan flagella polar tunggal, dan memproduksi gas, asam dan karbohidrat. *Aeromonas* merupakan gram negatif yang berbentuk basilus atau *cocco-bacillus* berukuran $0,5 \mu \times 1,0-1,5 \mu$. Bakteri tersebut bersifat aerob dan fakultatif anaerob serta mampu menghasilkan 3-butanediol (Inglis, Roberts dan Bromage, 1993).

Penyakit bercak merah pada ikan disebabkan oleh bakteri *Aeromonas* yang memiliki ukuran tubuh $1-4 \times 0,4-1$ mikron. *Aeromonas* bersifat gram negatif, fakultatif aerob (dapat hidup dengan atau tanpa oksigen), tidak memiliki spora, bersifat motil (bergerak aktif) karena mempunyai satu flagel (*monotrichous*

flagella) yang keluar dari salah satu kutubnya. Bakteri ini senang hidup di lingkungan yang bersuhu 15-30 °C dan pH antara 5,5 – 9 (Kordi, 2004). Adapun bentuk bakteri *A. hydrophila* disajikan pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Bakteri *A. hydrophila* (Castro, Vera, Munoz, Blazques, Gonzales, Sand dan Ballester, 2014)

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

A. hydrophila merupakan organisme yang hidup bebas di lingkungan perairan, dikenal sebagai patogen umum *poikilotherms* (terutama pada ikan), sebagai patogen oportunistik pada mamalia, dan sebagai penyebab utama infeksi intestin pada manusia. Kemampuannya untuk bertahan hidup di berbagai macam lingkungan menunjukkan bahwa *A. hydrophila* memiliki dua atau lebih gen fenotip adaptif, yang disesuaikan dengan habitat atau inang tertentu (Ho, Mietzner, Smith dan Schoolnik, 1990).

A. hydrophila ditemukan di berbagai lingkungan perairan, termasuk danau, sungai, mata air, air hujan, kolam renang, dan air laut, serta ditemukan pula pada air keran dan tanah. Spesies ini telah diteliti sebagai patogen ikan, reptil, dan amfibi. *A. hydrophila* dapat menginfeksi melalui luka yang diakibatkan oleh paparan air atau tanah yang terkontaminasi. Infeksi

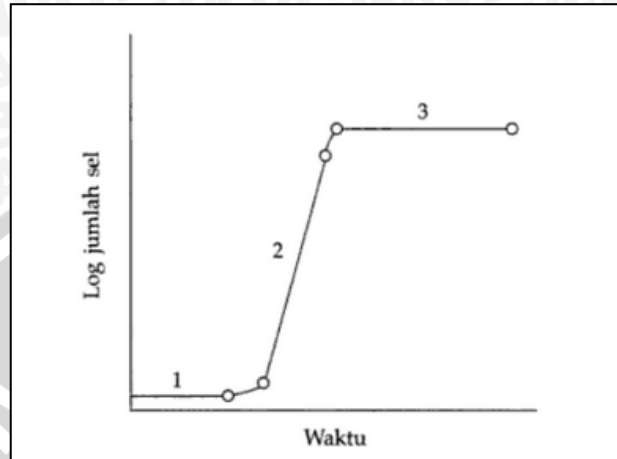
tersebut terjadi secara sporadik dan lebih sering terjadi pada lingkungan yang beriklim hangat (Vally, White, Cameron, Dowse dan Watson, 2004).

2.1.3 Pertumbuhan *A. hydrophila*

Pertumbuhan jasad renik diikuti secara teratur dengan selang waktu tertentu, dan hasil perhitungannya kemudian diplot sebagai grafik dan akan diperoleh pola pertumbuhan yang spesifik. Grafik pertumbuhan bakteri disajikan pada **Gambar 2**. Menurut Yuwono (2010), fase pertumbuhan bakteri adalah sebagai berikut:

- Fase lag, merupakan fase pertumbuhan. Pada fase ini, bakteri akan beradaptasi terlebih dahulu dengan media pertumbuhannya sehingga memiliki grafik yang relatif lebih datar. Panjang fase lag tergantung pada macam bakteri dan kondisi pertumbuhannya, misalnya komposisi media, faktor lingkungan dan sebagainya.
- Fase logaritmik, merupakan fase dimana bakteri sudah beradaptasi secara lebih baik dengan lingkungan pertumbuhannya sehingga mempunyai waktu penggandaan (*doubling time*) yang lebih singkat. Waktu penggandaan adalah waktu yang diperlukan bakteri untuk tumbuh menjadi dua kali lipat jumlahnya.
- Fase stationer, merupakan fase dimana konsentrasi nutrisi pada media pertumbuhan bakteri akan semakin berkurang karena digunakan secara terus menerus. Hal tersebut akan mengakibatkan pertumbuhan bakteri menjadi melambat. Dalam fase ini jumlah sel yang hidup seimbang dengan jumlah sel yang mati.

- Fase kematian, merupakan lanjutan dari fase stationer, dimana jumlah sel yang mati lama kelamaan akan menjadi lebih besar dibandingkan jumlah sel yang hidup.



Gambar 2. Grafik Pertumbuhan Bakteri.
Pertumbuhan bakteri menunjukkan beberapa fase pertumbuhan, yaitu:
(1) fase lag, (2) fase eksponensial, (3) fase stationer
(Yuwono, 2010)

Suhu untuk pertumbuhan optimum merupakan suhu yang menunjang rendemen sel terbesar pada awal fase stationer. Suhu optimum untuk pertumbuhan spesies *Aeromonas* adalah berkisar antara 20-37 °C. Pada *A. hydrophila*, spesies tersebut memiliki suhu optimal antara 15-20 °C, bahkan 30 °C, sehingga *A. hydrophila* dikategorikan sebagai bakteri psikrofilik (Rouf dan Rigney, 1971).

2.1.4 Patogenitas

A. hydrophila menghasilkan enzim eksoprotease yang merupakan penyebab virulensi. Protease yang bersifat proteolitik mampu mengambil persediaan nutrisi dan melawan pertahanan tubuh inang sehingga berfungsi untuk berkembangnya penyakit pada inang. Enzim protease pada suatu bakteri berperan memecah ikatan peptida protein sehingga dihasilkan komponen asam amino dalam bentuk bebas yang merupakan sumber nutrisi bagi bakteri.

Protease mampu menghidrolisis kasein dan elastin (Cascon, Yugueros, Temprano, Sanchez, Hernanz, Luengo dan Naharro 2000).

Enzim eksoprotease ini juga dapat merusak atau mendegradasi jaringan konektif atau jaringan otot seperti kolagen, gelatin, dan sebagainya sehingga dapat merusak jaringan tubuh inang. Enzim eksoprotease merupakan faktor virulensi utama bakteri patogen, berperan dalam perusakan jaringan inang yang akan menimbulkan infeksi pada jaringan inang (Secades dan Guijarro, 1999).

2.1.5 Infeksi dan Tanda Penyerangan

Dalam menginfeksi inang, *Aeromonas* menghasilkan berbagai faktor virulensi, dan patogenesis dari infeksi *Aeromonas* sangat kompleks dan multifaktorial. Tingkah laku bakteri dan enzim ekstraseluler lainnya yang dihasilkan oleh *Aeromonas* juga merupakan faktor virulensi penting yang terlibat dalam patogenesis infeksi *Aeromonas*. Faktor virulensi *Aeromonas* meliputi hemolisin, sitotoksin, enterotoksin, protease, lipase atau fosfolipasi, leukosidin, endotoksin, fimbriae atau adhesins, dan kemampuan untuk membentuk S-layer (Chopra, Xu, Ribardo, Gonzales, Kuhl, Peterson dan Houston, 2000).

Proses invasi bakteri patogen ke dalam tubuh inang diawali dengan melekatnya bakteri pada permukaan kulit, dengan memanfaatkan pili, flagella dan kait untuk bergerak, dan melekat kuat pada lapisan terluar tubuh ikan yakni sisik yang dilindungi zat kitin. Selama proses invasi tersebut *A. hydrophila* akan memproduksi enzim kitinase (Mangunwardoyo, 2010).

Gejala klinis ikan yang diinfeksi *A. hydrophila* adalah adanya bercak kemerahan di sekitar tubuh ikan, pendarahan pada sirip ekor dan punggung dan terjadinya luka pada daerah bekas suntikan. Selain itu, pergerakan tingkah laku ikan tidak normal, hal ini terlihat dengan pergerakan renang yang lamban, warna

tubuh menjadi lebih gelap, lendir yang berlebihan dan respon terhadap makanan menurun (Rahmaningsih, 2012).

2.2 Biologi Mahoni (*S. macrophylla*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi Mahoni (*S. macrophylla*) menurut Sunanto (2009) adalah sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Meliaceae
Genus	: Swietenia
Spesies	: <i>S. macrophylla</i>

Mahoni termasuk pohon besar dengan tinggi pohon mencapai 30-45 meter dan diameter mencapai 125 cm. Batang lurus berbentuk silindris dan tidak berbanir. Kulit luar berwarna cokelat kehitaman, beralur dangkal seperti sisik, sedangkan kulit batang berwarna abu-abu dan halus ketika masih muda. Ada beberapa jenis Mahoni yaitu Mahoni berdaun kecil (*S. mahagony*) dan Mahoni berdaun lebar (*S. macrophylla*). *S. macrophylla* memiliki kelebihan yakni lebih cepat tumbuh besar dan lurus (Hadi dan Napitupulu, 2011). Adapun gambar dari *S. macrophylla* disajikan pada **Gambar 3**.



Gambar 3. *S. macrophylla* (Schmidt dan Joker, 2000)

S. macrophylla merupakan pohon yang berukuran sangat besar, memiliki tinggi pohon mencapai 30-40 meter dengan diameter sebesar 3-4 meter. Jika dalam kondisi yang baik, *S. macrophylla* dapat tumbuh hingga 60 meter dengan diameter sebesar 9 meter. Bentuk batang silindris dan berkulit kasar. Daun berbentuk *paripinnate* berukuran 60 cm. Pada saat muda, daun berwarna merah tua, sedangkan daun yang sudah menua akan berwarna hijau muda atau hijau tua (Schmidt dan Joker, 2000).

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Mahoni hidup di lahan yang berketinggian maksimum 1.500 mdpl (meter di atas permukaan laut), curah hujan 1.524 - 5.085 mm/tahun, dan suhu udara 11-36 °C. Tanaman ini dapat tumbuh di lahan yang gersang dengan sedikit air, bahkan di daerah payau. Lokasi yang baik untuk menanam Mahoni adalah lahan dengan sinar matahari langsung (Mulyana dan Asmarahman, 2010).

S. macrophylla tumbuh secara alami di Belize, Bolivia, Brazil, Colombia, Costa Rica, Ekuador, El Salvador, Guatemala, Honduras, Meksiko, Nikaragua, Panama, Peru dan Venezuela. Mahoni juga banyak ditanam di Asia Selatan dan Pasifik termasuk India, Indonesia, Filipina dan Sri Lanka. Namun pada beberapa negara yakni Ekuador, Kolombia, Panama dan Costa Rica, Mahoni dinyatakan hampir punah, dan bahkan hampir tidak ditemukan sama sekali di Guatemala, Peru, Nikaragua dan Honduras (Krisnawati, Kallio dan Kanninen, 2011).

2.2.3 Manfaat Daun Mahoni

S. macrophylla telah banyak digunakan di Asia dan negara lainnya untuk mengobati berbagai macam penyakit. Hampir semua bagian tanaman dapat digunakan dalam pengobatan tradisional. *S. macrophylla* dapat digunakan dalam produk perawatan kesehatan, seperti untuk perbaikan sirkulasi darah, kecantikan kulit, mengobati hipertensi, diabetes dan mengurangi rasa sakit. Di Indonesia,

S. macrophylla seringkali digunakan untuk pengobatan diabetes, hipertensi dan malaria (Moghadamtousi, Goh, Chan, Shabab dan Kadir, 2013).

Ekstrak dari Mahoni dapat bersifat sebagai antibakteri karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Semua bakteri tersebut dapat menyebabkan penyakit pada manusia maupun pada ikan. Pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak juga telah dibandingkan dengan antibiotik yang telah dikomersialkan yaitu Streptomisin (10 µg/disc), hasilnya menunjukkan bahwa memiliki kemampuan yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* (Hartati, Salleh, Azis dan Yunos, 2013).

2.2.4 Bahan Aktif Daun Mahoni

Mahoni mengandung alkaloid, terpenoid, antraquinones, saponin, fenol, flavonoid, minyak atsiri, fosfolipid dan rantai panjang asam tak jenuh. Pada analisis fitokimia, menunjukkan bahwa daun Mahoni mengindikasikan adanya kandungan alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, glikosida, kadar gula rendah dan antrakuinon. Selain itu, telah diteliti pula bahwa flavonoid, terpenoid dan tanin memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai bakteri patogen (Ayyappadhas, Jestin, Kenneth, Dayana dan Dhanalekshmi, 2012).

Ekstrak daun Mahoni (*S. macrophylla*) dapat dilakukan dengan menggunakan metanol, diklorometana dan n-heksana. Ekstraksi dengan menggunakan ketiga bahan kimia tersebut menunjukkan aktivitas inhibisi dan antibakteri. Beberapa kandungan kimia dari daun Mahoni dianalisis dan ditemukan komponen minyak atsiri dalam bentuk asam lemak dan terpenoid seperti y-himachalene, germacrene D, germacrene A, cadina-1,4-dene, asam heksakanoat dan etil heksadekanoat (Eid, Elmarzugi dan El-Enshasy, 2013).

2.2.5 Aktivitas Antimikroba

Antimikroba merupakan suatu zat yang mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba. Apabila zat tersebut mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri disebut antibakteri. Mekanisme kerja antimikroba antara lain dengan jalan merusak dinding sel, merusak membran sitoplasma, mendenaturasi protein sel dan menghambat kerja enzim dalam sel (Prajitno, 2007).

Senyawa antimikroba akan merusak dinding mikroba karena terjadi proses perakitan dinding sel mikroba yang diawali dengan pembentukan rantai peptida dengan membentuk jembatan silang peptida. Jembatan tersebut akan menggabungkan rantai glikan dari peptidoglikan pada rantai yang lain. Keadaan ini menyebabkan sel mudah mengalami lisis, baik fisik maupun osmotik dan menyebabkan kematian sel mikroba (Retnowati, Bialangi dan Posangi, 2011).

Aktivitas antimikroba terbentuk ketika nutrisi yang diterima oleh bakteri berkurang, yakni pada fase pertumbuhan stasioner yang diikuti dengan mekanisme *quorum sensing*. *Quorum sensing* merupakan sistem komunikasi antar sel untuk merespon perubahan lingkungan. Komunikasi antar sel bakteri tersebut berperan penting dalam proses adaptasi terhadap kondisi lingkungan sekitar (Nofiani, Nurbetty dan Sapar, 2009).

2.3 Uji Efektivitas Antibakteri secara In Vitro

2.3.1 Uji Cakram

Metode uji antibakteri yang sering digunakan dalam penelitian adalah metode uji cakram. Parameter yang digunakan untuk mengetahui adanya daya antibakteri adalah dengan cara mengukur luas zona hambat yang terjadi di sekeliling kertas cakram. Pengujian aktivitas antibakteri dinyatakan positif apabila di sekitar kertas cakram terdapat zona bening yang bebas dari pertumbuhan

bakteri (Wijaya dan Nopriansyah, 2012). Adapun bentuk uji cakram pada cawan petri disajikan pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Uji Cakram (Boyle, Fancher dan Ross, 1973).

Uji yang dapat digunakan dalam mengetahui efektivitas bakteri terhadap aktivitas mikroba adalah uji cakram. Dalam prosedur uji cakram, kertas cakram (berdiameter +6 mm) yang mengandung senyawa uji ditempatkan pada permukaan agar yang sebelumnya diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Senyawa uji berdifusi ke medium agar menyebabkan penghambatan pertumbuhan mikroorganisme. Cawan petri diletakkan pada suhu kamar sebelum inkubasi, kemudian zona hambat diukur (Choma dan Grzelak, 2010).

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

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

Tabel 1. Alat yang digunakan saat penelitian

No.	Alat	Fungsi
1.	Timbangan Analitik	Sebagai alat untuk menimbang dengan ketelitian 10^{-2}
2.	<i>Autoclave</i>	Sebagai alat untuk mensterilisasi alat dan bahan yang hendak digunakan
3.	Lemari pendingin	Sebagai wadah penyimpanan bahan penelitian
4.	<i>Hotplate</i>	Sebagai alat untuk memanaskan media
5.	Cawan petri	Sebagai wadah pengkulturan bakteri
6.	<i>Laminar Air Flow</i>	Sebagai tempat pengkulturan bakteri dalam keadaan steril
7.	Inkubator	Sebagai wadah penyimpanan bakteri uji
8.	Toples Kaca	Sebagai wadah perendaman saat proses maserasi
9.	Tabung reaksi	Sebagai wadah dari larutan
10.	Rak Tabung Reaksi	Sebagai tempat meletakkan tabung reaksi
11.	Erlenmeyer	Sebagai wadah dari media TSA dan TSB
12.	Gelas ukur	Sebagai alat untuk mengukur volume larutan
13.	Jarum osse	Sebagai alat untuk mengambil dan mengkultur bakteri
14.	Spatula	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan
15.	Mikropipet	Sebagai alat untuk mengambil larutan dalam skala micrometer
16.	Timbangan digital	Sebagai alat untuk menimbang dengan ketelitian 10^{-3}
17.	Pinset	Sebagai alat untuk mengambil kertas cakram
18.	<i>Beaker glass</i>	Sebagai tempat tabung reaksi saat proses sterilisasi
19.	Blender	Sebagai alat menghaluskan bahan kering menjadi serbuk
20.	Oven	Sebagai alat untuk mengeringkan cawan petri setelah proses sterilisasi
21.	Bunsen	Sebagai alat untuk pembakaran dan pengkondisian steril
22.	<i>Sprayer</i>	Sebagai tempat alkohol
23.	Vortex	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan

24.	<i>Rotary vacuum evaporator</i>	Sebagai alat untuk memisahkan cairan dan padatan pada proses pembuatan ekstrak
25.	<i>Blue tip</i>	Sebagai alat untuk menuang campuran bakteri dalam media TSB
26.	Nampan	Sebagai alat untuk meletakkan alat dan bahan
27.	Gunting	Sebagai alat untuk memotong benang
28.	Botol film	Sebagai tempat untuk mengencerkan ekstrak
29.	Jangka sorong digital	Sebagai alat untuk menghitung zona hambat
30.	Corong	Untuk membantu memindahkan larutan
31.	<i>Triangle</i>	Untuk meratakan bakteri
32.	Destruksi	Sebagai alat untuk melarutkan sampel sebelum dibuang dan dibersihkan

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada **Tabel 2**, beberapa foto bahan penelitian yang digunakan disajikan pada **Lampiran 2**.

Tabel 2. Bahan yang digunakan saat penelitian

No.	Bahan	Fungsi
1.	Daun Mahoni (<i>S. macrophylla</i>)	Sebagai bahan yang hendak diuji kemampuan daya hambatnya
2.	Bakteri <i>A. hydrophila</i>	Sebagai bahan uji daya hambat
3.	Alkohol 70%	Sebagai bahan pengkondisian aseptis
4.	TSA (<i>Tryptic Soy Agar</i>)	Sebagai bahan tumbuh bakteri dalam bentuk agar
5.	TSB (<i>Tryptic Soy Broth</i>)	Sebagai bahan tumbuh bakteri dalam bentuk cair
6.	Tali kasur	Sebagai bahan untuk mengikat kertas koran pada saat proses sterilisasi
7.	<i>Tissue</i>	Sebagai bahan untuk membersihkan alat yang telah digunakan
8.	Kapas	Sebagai bahan untuk menutup tabung reaksi dan <i>erlenmeyer</i> yang hendak disterilkan
9.	Etanol 96%	Sebagai bahan pelarut pada proses perendaman
10.	Kertas Saring	Sebagai bahan untuk menyaring ekstrak
11.	Akuades	Sebagai bahan pelarut dalam pengenceran bakteri
12.	Alumunium Foil	Sebagai bahan untuk menutup ujung tabung reaksi dan <i>Erlenmeyer</i> pada saat disterilkan
13.	Spiritus	Sebagai bahan bakar dari bunsen
14.	Kertas cakram 6mm	Sebagai bahan untuk mengetahui besar daya hambat
15.	DMSO 10%	Sebagai pelarut ekstrak
16.	Kertas label	Sebagai pemberi tanda pada setiap perlakuan

- | | | |
|-----|--------------------------|---|
| 17. | Kertas berkas atau koran | Sebagai bahan pembungkus alat saat proses sterilisasi |
| 18. | Plastik bening | Sebagai pembungkus alat yang akan didestruksi |

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Wasis (2008), metode eksperimen merupakan metode penelitian yang menguji hipotesis berbentuk hubungan sebab-akibat melalui pemanipulasian variabel independen dan menguji perubahan yang diakibatkan oleh pemanipulasian. Selama pemanipulasian perlakuan, peneliti melakukan kontrol terhadap variabel luar agar perubahan yang terjadi benar-benar akibat pemanipulasian, bukan disebabkan variabel lainnya.

Metode eksperimen merupakan langkah-langkah lengkap yang diambil sebelum eksperimen dilakukan agar data yang diperlukan dapat diperoleh sehingga analisis menjadi objektif. Variabel bebas dijadikan sebagai variabel eksperimen, variabel penyebab atau variabel perlakuan yang karakteristiknya diyakini dapat menghasilkan perbedaan sedangkan variabel terikat atau variabel akibat merupakan hasil dari suatu penelitian. Dikatakan terikat karena tergantung variabel bebas. Eksperimen biasanya dilakukan di laboratorium (Umar, 2005).

3.3 Pengambilan Data

Pada penelitian ini dilakukan pengambilan data dengan cara observasi secara langsung. Observasi merupakan teknik pengumpulan data secara langsung dari lapangan. Proses observasi dimulai dengan mengidentifikasi tempat yang hendak diteliti. Setelah tempat penelitian diidentifikasi, dilanjutkan dengan membuat pemetaan, sehingga diperoleh gambaran umum tentang sasaran penelitian. Kemudian peneliti mengidentifikasi siapa yang akan diobservasi, kapan, berapa lama dan bagaimana proses observasi (Raco, 2010).

Observasi merupakan metode pengumpulan data melalui pengamatan visual dengan menggunakan panca indra. Kemampuan melakukan observasi merupakan keterampilan tingkat tinggi yang memerlukan banyak latihan. Unsur terpenting dalam observasi adalah mempertahankan objektivitas penelitian. Mencatat hasil observasi secara khusus tentang apa yang dilihat, dirasa, didengar, dicium dan dikecap akan lebih akurat dibandingkan mencatat interpretasi seseorang akan hal tersebut (Asmadi, 2008).

3.4 Rancangan Penelitian

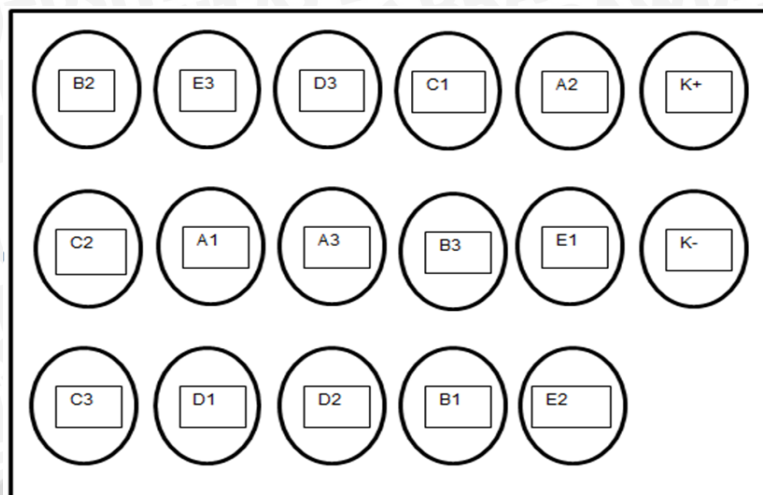
Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). RAL digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam sehingga kondisi lingkungan tempat penelitian dalam keadaan sama (Sastrosupadi, 2002).

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

Keterangan :

- μ : nilai rerata harapan (*mean*)
- τ : pengaruh faktor perlakuan
- ε : pengaruh galat

Penelitian ini menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) dengan perlakuan yang diberikan adalah perbedaan konsentrasi ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap bakteri *A. hydrophila*. Dasar penelitian ini adalah menggunakan penelitian pendahuluan untuk mengetahui konsentrasi daya hambat yang tepat dalam penggunaan ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*). Dalam penelitian ini, dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, sedangkan perlakuan tersebut diperoleh total sampel sebanyak 5 perlakuan dan 2 kontrol, kontrol positif dan kontrol negatif. Sehingga tiap perlakuan disajikan pada **Gambar 5** sebagai berikut ini:



Gambar 5. Denah Penelitian Uji Cakram

Keterangan :

- A : Perlakuan konsentrasi 5 %
- B : Perlakuan konsentrasi 10 %
- C : Perlakuan konsentrasi 15 %
- D : Perlakuan konsentrasi 20 %
- E : Perlakuan konsentrasi 25 %
- K+ : Perlakuan konsentrasi 100% (kontrol positif)
- K- : Perlakuan konsentrasi tanpa diberi ekstrak 0% (kontrol negatif)

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

3.5.1.1 Uji Pendahuluan Penentuan Konsentrasi Daya Hambat

Uji pendahuluan pada kegiatan awal penelitian dilakukan dengan melakukan uji kertas cakram difusi pada media TSA yang sudah ditanam bakteri *A. hydrophila* dengan menggunakan ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) sebagai antibakteri. Dalam uji pendahuluan ini konsentrasi ekstrak kasar daun Mahoni adalah dalam bentuk persentase (%).

3.5.1.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sebelum alat dan bahan yang akan digunakan saat penelitian maka perlu dilakukan proses sterilisasi. Proses sterilisasi tersebut adalah sebagai berikut ini :

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu menggunakan sabun cuci, dikeringkan kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas koran dan diikat menggunakan benang.

- Aquades secukupnya dituang ke dalam *autoclave*, kemudian alat yang telah dibungkus kertas koran dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris.
- Tombol ON dinyalakan, setelah mencapai suhu 121°C dan tekanan menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan hingga 15 menit dengan cara membuka dan atau menutup klep uap yang berada di bagian atas tutup *autoclave*.
- Tombol OFF ditekan, ditunggu beberapa saat hingga suhu menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka klep uap lalu buka penutup *autoclave* secara simetris.
- Alat dan bahan diambil dari *autoclave*, kemudian alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

3.5.1.3 Sterilisasi Tempat Perlakuan

Selain alat dan bahan, tempat dan laboran harus steril guna menghindari kontaminan. Tangan laboran yang bersinggungan, meja dan barang di sekitar tempat perlakuan harus selalu dalam kondisi aseptis. Sterilisasi tempat dapat dilakukan dengan cara kimia menggunakan alkohol 70% maupun cara fisika dengan pembakaran langsung maupun dengan penyinaran dengan sinar UV. Pada penelitian ini sterilisasi tempat dilakukan dengan menggunakan sinar UV yang terdapat pada *laminar air flow*.

3.5.1.4 Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Mahoni (*S. macrophylla*)

Sebelum ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) digunakan saat penelitian maka perlu dilakukan proses pembuatan ekstrak. Proses pembuatan

ekstrak kasar daun Mahoni menurut Hidayati, Yuliani dan Kuswanti (2013) adalah sebagai berikut ini:

- Daun Mahoni segar disiapkan seberat 5 kg.
- Daun Mahoni dikeringkan dengan cara diangin-anginkan agar kandungan fitokimia pada daun tersebut tidak hilang.
- Daun Mahoni yang telah kering ditimbang ulang dan mengalami penyusutan sehingga beratnya menjadi sebesar 500 gr.
- Daun Mahoni didiamkan selama 24 jam, tujuannya agar didapatkan hasil pengeringan yang sempurna.
- Daun Mahoni yang telah didiamkan selama 24 jam, dilakukan proses penggilingan dengan menggunakan blender hingga didapatkan ukuran daun Mahoni yang lebih halus.
- Daun Mahoni yang sudah berbentuk serbuk, disiapkan untuk proses perendaman (*maserasi*).
- Serbuk daun Mahoni seberat 200 gram dimaserasi sebanyak 3 kali dalam etanol 96% selama 3x24 jam dalam suhu kamar.
- Pada hari pertama, serbuk daun Mahoni direndam dalam etanol 96% sebanyak 600 ml. Maserasi pertama ini digunakan untuk membasahi serbuk yang kering (pembasahan).
- Pada hari kedua dan ketiga maserasi, serbuk ditambahkan etanol 96% masing-masing sebanyak 400 ml.
- Larutan dari proses maserasi selanjutnya disaring menggunakan kertas saring, dan dilakukan tahap pengentalan ekstrak (evaporasi) dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*.
- Ekstrak daun Mahoni hasil dari evaporasi ditimbang dan didapatkan ekstrak seberat 27,34 gram.

3.5.1.5 Pembuatan Media

a. *Tryptic Soy Agar (TSA)*

- TSA merk OXOID dengan dosis 40 gram/liter.
- TSA ditimbang seberat 20 gram dan dimasukkan dalam erlenmeyer berisi 500 ml akuades.
- Larutan TSA diaduk pada kondisi hangat di atas *hotplate* hingga tercampur dengan rata.
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil kemudian disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
- Media yang akan dipakai dibiarkan dingin hingga mencapai suhu $\pm 33^{\circ}\text{C}$ karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.
- Media TSA yang digunakan untuk peremajaan bakteri dituangkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya tabung reaksi dimiringkan dan ditunggu hingga padat
- Sedangkan media TSA yang digunakan untuk penelitian, dituang pada cawan petri tunggu hingga dingin dan siap digunakan.
- Media yang tidak langsung digunakan dapat disimpan dalam lemari pendingin.

b. *Tryptic Soy Broth (TSB)*

- TSB ditimbang 0,6 gram dilarutkan dalam 20 ml akuades dalam erlenmeyer kemudian diaduk hingga larut sempurna dan berwarna kuning.
- Erlenmeyer ditutup kapas dan aluminium foil lalu dibungkus dan diikat kemudian disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
- Media yang akan digunakan untuk pembiakan bakteri dibiarkan dingin karena bakteri akan mati bila diinokulasi pada media yang masih panas.

3.5.1.6 Pembiakkan Bakteri *A. hydrophila*

a. Media TSA (*Tryptic Soy Agar*)

- Jarum ose dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar
- Jarum ose didinginkan kemudian disentuhkan ke biakan murni *A. hydrophila*
- Jarum ose digoreskan secara zig-zag pada media TSA (*Tryptic Soy Agar*) miring dan dibiarkan 12 - 24 jam dalam inkubator dengan suhu 33°C.

b. Media TSB (*Tryptic Soy Broth*)

- Media TSB (*Tryptic Soy Broth*) disiapkan sebanyak 20 ml dalam erlenmeyer
- Jarum ose dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin diambil satu ose ke biakan *A. hydrophila* kemudian dicelupkan pada media TSB (*Tryptic Soy Broth*) dan dibiarkan 12 - 24 jam dalam inkubator dengan suhu 33°C.

3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

3.5.2.1 Prosedur Pelaksanaan 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). Prosedur pelaksanaan uji cakram adalah sebagai berikut:

- Cawan petri yang telah terdapat media TSA disiapkan.
- Konsentrasi ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) yang akan diuji untuk mengetahui kemampuan daya hambatnya disiapkan.
- Bakteri disiapkan pada media TSB
- Suspensi cairan diambil sebanyak 0,1 ml menggunakan mikropipet dan ditetaskan di atas permukaan agar yang telah memadat.

- Suspensi cairan bakteri disebarakan dengan ditempelkan pada permukaan agar supaya tetesan suspensi merata. Penyebaran suspensi dilakukan dengan cara memutar cawan petri.
- Penanaman bakteri dilakukan secara steril dalam *laminar air flow* agar tidak terjadi kontaminasi.
- Kertas cakram steril ukuran 6 mm direndam ke dalam ekstrak daun Mahoni (*S. macrophylla*) selama 15 menit berdasarkan konsentrasi yang telah ditentukan.
- Kertas cakram yang telah direndam, dalam ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) ditiriskan dan diletakkan pada permukaan media agar.
- Hasilnya dibaca setelah diinkubasi pada suhu ruang 33°C selama 24 jam dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk pada sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong.

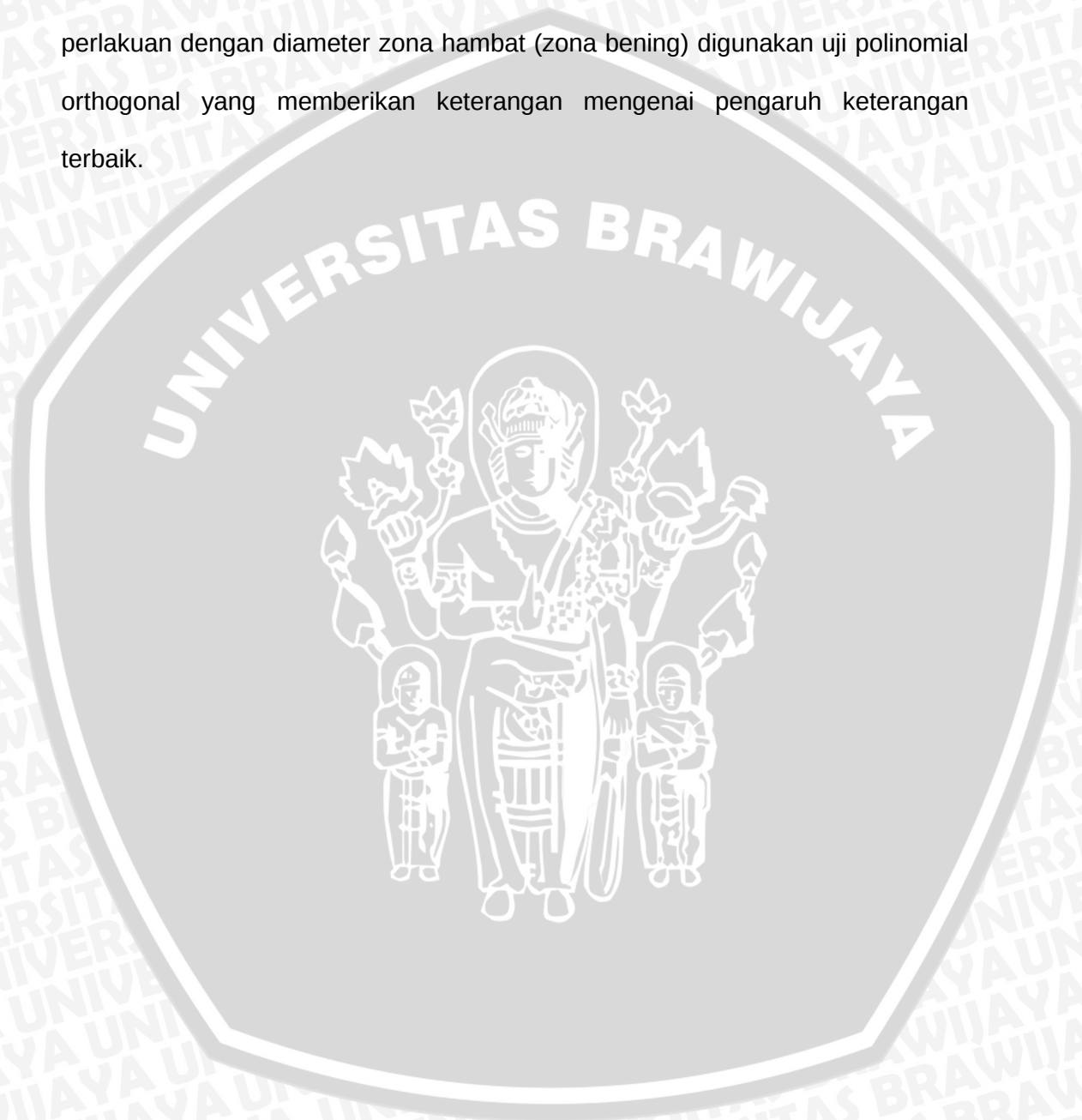
3.5.2.2 Parameter Uji

Parameter uji terdiri dari parameter utama dan parameter penunjang. Parameter utama yaitu mengukur diameter daerah hambatan dengan menggunakan kertas cakram yang dinyatakan dengan mm ditambah daerah bening yang ada di sekeliling kertas cakram. Sedangkan parameter penunjang adalah lama perendaman kertas cakram dan suhu inkubasi.

3.6 Analisis Data

Berdasarkan hasil uji daya hambat (zona bening) ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap bakteri *A. hydrophila* maka dilakukan analisa data secara statistik dengan menggunakan analisa keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Uji ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel

bebas) terhadap respon zona hambat (zona bening) yang diukur atau uji F 1% dan F 5%. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yaitu untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Kemudian untuk mengetahui hubungan antar perlakuan dengan diameter zona hambat (zona bening) digunakan uji polinomial orthogonal yang memberikan keterangan mengenai pengaruh keterangan terbaik.

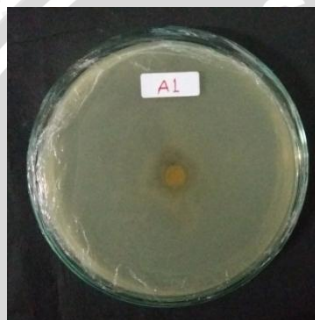


4. HASIL DAN PEMBAHASAN

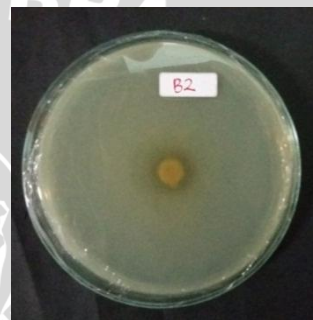
4.1 Daya Antibakteri Ekstrak Daun Mahoni (*S. macrophylla*) dengan Uji Cakram

Uji cakram dilakukan untuk mengetahui kemampuan daya hambat dari ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) yang ditandai dengan adanya zona bening di area kertas cakram sesuai konsentrasi pada masing-masing perlakuan.

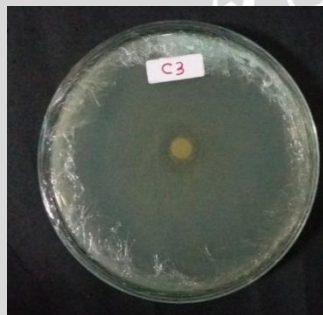
Hasil dari uji cakram disajikan pada **Gambar 6** dan **Lampiran 3**.



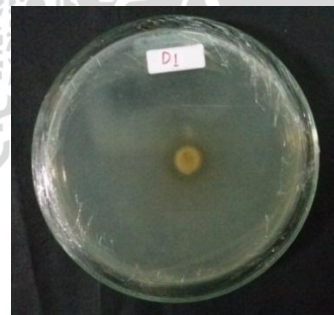
Perlakuan A dengan konsentrasi 5%



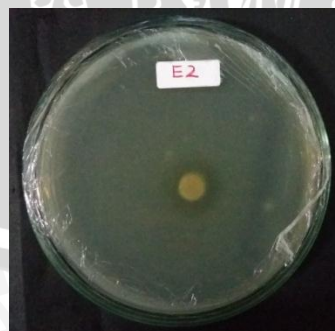
Perlakuan B dengan konsentrasi 10%



Perlakuan C dengan konsentrasi 15%



Perlakuan D dengan konsentrasi 20%



Perlakuan E dengan konsentrasi 25%

Gambar 6. Hasil Uji Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mahoni (*S. macrophylla*)

Pada **Gambar 6** dapat diketahui bahwa hasil uji daya hambat bakteri *A. hydrophila* menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri di sekitar kertas cakram yang telah direndam pada ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) sesuai dengan perlakuan konsentrasi yang berbeda yang ditunjukkan dengan adanya zona bening. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan dari Sukandar, Radiastuti, Jayanegara dan Hudaya (2010), bahwa semakin rendah konsentrasi yang diberikan, maka semakin kecil diameter zona hambat yang terbentuk oleh bakteri uji, karena semakin kecil zat aktif yang terlarut pada ekstrak. Sedangkan semakin tinggi konsentrasi yang diberikan, maka semakin luas pula diameter zona hambat yang terbentuk oleh bakteri uji.

Menurut Tan, Osman, Wong, Boey, dan Ibrahim (2009), aktivitas antibakteri pada ekstrak daun Mahoni (*S. macrophylla*) ditunjukkan dengan adanya kandungan methanol, diklorometana dan n-heksan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan atas aktivitas antibakteri, disimpulkan bahwa kandungan metanol menjadi kandungan yang paling berperan aktif dalam ekstrak. Aktivitas antibakteri yang tinggi pada ekstrak daun ini dapat dikaitkan dengan kandungan bioaktif yang cukup tinggi. Selain itu, aktivitas antibakteri juga ditunjukkan dengan adanya fenol seperti tannin dan flavonoid di dalamnya.

Senyawa fenol merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antimikroba, dengan merusak dinding sel sehingga mengakibatkan lisis, mengubah permeabilitas membran sitoplasma yang menyebabkan kebocoran nutrient, mendenaturasi protein sel, dan merusak sistem metabolisme di dalam sel dengan cara menghambat kerja enzim intraseluler (Peoloengan, Chairul, Komala, Salmah dan Susan, 2006). Hasil rata-rata daya hambat dari ekstrak daun Mahoni (*S. macrophylla*) secara in vitro diperoleh data yang disajikan pada

Tabel 3.

Tabel 3. Data Hasil Perhitungan Rata-Rata Zona Hambat Bakteri *A. hydrophila*

PERLAKUAN	ULANGAN			RATA-RATA
	1	2	3	
A (5%)	4,84	3,37	3,49	3,90 ± 0,82
B (10%)	5,29	5,94	5,70	5,64 ± 0,33
C (15%)	6,92	7,95	6,83	7,23 ± 0,62
D (20%)	9,56	9,24	9,34	9,38 ± 0,16
E (25%)	10,41	10,78	10,56	10,58 ± 0,19

Berdasarkan pada **Tabel 3** di atas, menunjukkan bahwa nilai rata-rata dari konsentrasi ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) menghasilkan diameter zona hambat terkecil pada konsentrasi 5% yakni sebesar 3,90 mm sedangkan untuk nilai rata-rata diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 25% yakni sebesar 10,58 mm. Kemudian dilanjutkan dengan perhitungan sidik ragam untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Hasil dari sidik ragam pada pengaruh pemberian ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* disajikan pada **Tabel 4**, dan untuk perhitungan secara lengkap disajikan pada **Lampiran 4**.

Tabel 4. Sidik Ragam Zona Bening Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	88,21	22,05	95,86**	3,48	5,99
Acak	10	2,38	0,23			
Total	14					

Keterangan: ** = Berbeda Sangat Nyata

Pada **Tabel 4** yaitu tabel sidik ragam zona bening bakteri *A. hydrophila* didapatkan hasil bahwa pengaruh pemberian ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* adalah berbeda sangat nyata. Hal tersebut dikarenakan hasil dari F hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1% atau nilai 95,86 lebih besar daripada 3,48 dan 5,99, sehingga H_0 ditolak karena hasil dari perlakuan tersebut adalah berbeda sangat nyata. Kemudian, untuk mengetahui beda antar perlakuan maka dilakukan uji BNT

(Beda Nyata Terkecil) yang disajikan pada **Tabel 5**, dan untuk perhitungan secara lengkap disajikan pada **Lampiran 4**.

Tabel 5. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap Daya Hambat *A. hydrophila*

Perlakuan	Rata-rata	A	B	C	D	E	Notasi
		3,90	5,64	7,23	9,38	10,58	
A	3,90	-	-	-	-	-	a
B	5,64	1,74**	-	-	-	-	b
C	7,23	3,33**	1,59**	-	-	-	c
D	9,38	5,48**	3,74**	2,15**	-	-	d
E	10,58	6,68**	4,94**	3,35**	1,20 ^{ns}	-	d

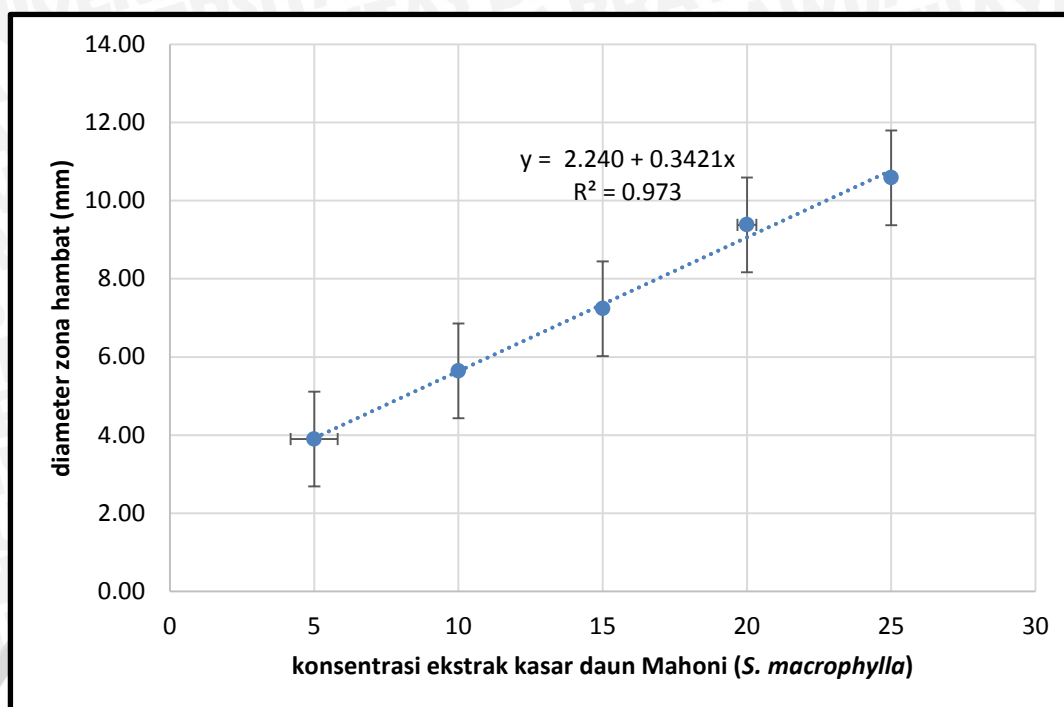
Keterangan: ns = tidak berbeda nyata

* = berbeda nyata

** = berbeda sangat nyata

Pada uji BNT (**Tabel 5**) menunjukkan perbedaan notasi yang diberikan pada masing-masing perlakuan. Pada perlakuan A memiliki notasi a dikarenakan hasil dari perlakuan A tidak berbeda nyata. Pada perlakuan B memiliki notasi b dikarenakan nilai rata-rata perlakuan B berbeda sangat nyata dengan perlakuan A. Pada perlakuan C memiliki notasi c dikarenakan nilai rata-rata perlakuan C berbeda sangat nyata dengan perlakuan A dan B. Sedangkan pada perlakuan D dan E memiliki notasi d dikarenakan nilai rata-rata perlakuan D dan E berbeda sangat nyata dengan perlakuan A, B dan C. Perbedaan pemberian notasi pada setiap perlakuan dikarenakan pada setiap perlakuan dengan konsentrasi yang berbeda memiliki hasil rata-rata zona hambat dari bakteri *A. hydrophila* yang berbeda pula.

Untuk mengetahui hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter uji, maka dilakukan uji polynomial orthogonal yang disajikan pada **Gambar 7**, dan untuk perhitungan secara lengkap disajikan pada **Lampiran 4**.



Gambar 7. Grafik Hubungan Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *A. hydrophila*

Berdasarkan gambar di atas (**Gambar 7**), grafik zona hambat antar perlakuan ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap bakteri *A. hydrophila* menunjukkan perpotongan garis secara linear dengan menggunakan persamaan $y = 2,240 + 0,342x$ dengan koefisien nilai determinasi (R^2) sebesar 0,973. Pada grafik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) berpengaruh terhadap bakteri *A. hydrophila* dengan nilai rata-rata diameter zona hambat berkisar antara 3,90 mm sampai dengan 10,56 mm. Diameter zona hambat bakteri *A. hydrophila* terendah diperoleh pada perlakuan A dengan konsentrasi 5% yaitu sebesar 3,90 mm dan diameter zona hambat tertinggi diperoleh pada perlakuan E dengan konsentrasi 25% yaitu sebesar 10,58 mm. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) memiliki aktivitas antibakteri kuat.

Pengukuran kekuatan antibiotik-antibakteri apabila diameter zona bening ≤ 5 mm menunjukkan aktivitas antibakteri lemah, diameter 5-10 mm

menunjukkan aktivitas antibakteri sedang, diameter 10-20 mm menunjukkan aktivitas antibakteri kuat dan diameter > 20 mm menunjukkan aktivitas antibakteri sangat kuat (Jannata, Gunadi dan Ermawati, 2014).

Hasil analisa sidik ragam menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) memberikan pengaruh yang sangat nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Hal tersebut dikarenakan pada daun Mahoni (*S. macrophylla*) terdapat bahan aktif flavonoid, tannin, methanol, diklorometana dan n-heksan. Hasil ekstraksi yang mengandung bahan-bahan kimia tersebut menunjukkan aktivitas inhibisi, karena bahan-bahan tersebut merupakan komponen dalam aktivitas antibakteri (Eid, Elmarzugi dan El-Enshasy, 2013).

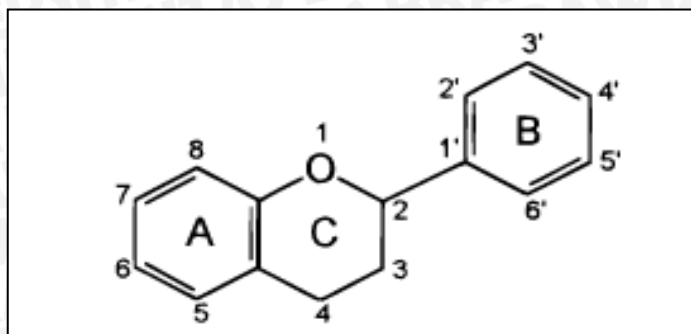
Untuk mengetahui sifat antibakteri yakni bakteriostatik atau bakterisidal maka inkubasi dilanjutkan hingga 24 jam (ditandai adanya zona bening di area sekitar kertas cakram). Menurut Pelczar dan Chan (2005), berdasarkan cara kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi bakteriostatik dan bakterisidal. Bakteriostatik bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan bakterisidal bekerja dengan cara mematikan bakteri secara langsung. Berdasarkan hasil dari inkubasi tersebut, diketahui bahwa ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) bersifat bakteriostatik yakni menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan hasil dari penelitian, diameter zona hambat bakteri *A. hydrophila* tertinggi diperoleh pada perlakuan E dengan konsentrasi 25% yaitu sebesar 10,58 mm, sedangkan diameter zona hambat bakteri *A. hydrophila* terendah diperoleh pada perlakuan A dengan konsentrasi 5% yaitu sebesar 3,90 mm. Dari hasil pengukuran tersebut diketahui bahwa ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) mempunyai efek yang cukup baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*. Selain itu, tingkat konsentrasi

juga mempengaruhi keefektifan dalam menghambat bakteri *A. hydrophila*. Hal tersebut telah disajikan pada **Gambar 7** dimana pada gambar tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka zona bening yang dihasilkan akan semakin besar, sedangkan apabila semakin rendah konsentrasi maka diameter zona bening yang dihasilkan akan semakin kecil. Hal tersebut dikarenakan efek penghambatan ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) diduga berkaitan dengan flavonoid sebagai senyawa antibakteri yang dikandungnya.

Flavonoid merupakan suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C₆) terikat pada suatu rantai propan (C₃) sehingga membentuk suatu susunan C₆-C₃-C₆. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur yakni 1,3-diarilpropan atau neoflavonoid (Gafur, Isa dan Bialangi, 2014). Klasifikasi flavonoid sangat beragam diantaranya ada yang mengklasifikasikan flavonoid menjadi flavon, flavonon isoflavon, flavanol, flavanon, antosianin dan kalkon. Kebanyakan flavonoid berbentuk monomer, tetapi terdapat pula bentuk dimer (biflavonoid), trimer, tetramer, dan polimer (Setyawan dan Darusman, 2008).

Flavonoid umumnya terdapat pada tanaman sebagai derivatif glikosilasi, dan berkontribusi pada nuansa biru, merah, dan oranye, terdapat pada daun, bunga dan buah-buahan. Selain terdapat pada sayuran dan buah-buahan, flavonoid juga ditemukan dalam biji, kacang-kacangan, rempah-rempah dan tanaman obat (Pietta, 2000). Struktur dasar flavonoid disajikan pada **Gambar 8**.

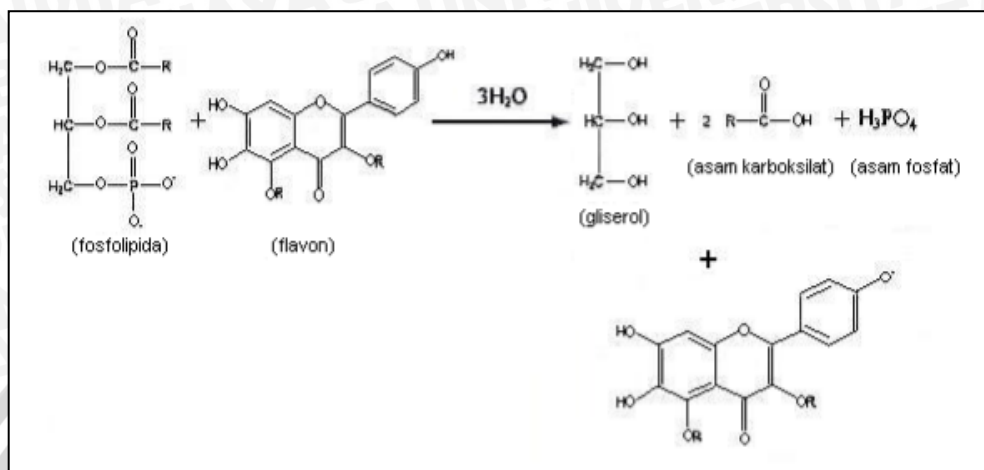


Gambar 8. Struktur dasar flavonoid (Pietta, 2000)

Flavonoid dapat menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Selain itu, flavonoid mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri dan menghambat motilitas bakteri (Sabir, 2005). Flavonoid bekerja dengan cara denaturasi protein. Proses ini juga menyebabkan gangguan dalam pembentukan sel sehingga mengubah komposisi komponen protein. Fungsi membran sel yang terganggu dapat menyebabkan peningkatan permeabilitas sel, diikuti dengan terjadinya kerusakan sel bakteri. Kerusakan tersebut menyebabkan kematian sel bakteri. Flavonoid berfungsi untuk menjaga pertumbuhan normal, pertahanan terhadap pengaruh infeksi dan kerusakan (Liantari, 2014).

Menurut Volk dan Wheeler (1998) dalam Prajitno (2007), senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri. Pada kerusakan membran sitoplasma, ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran

sitoplasma, akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian. Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri disajikan pada **Gambar 9**.



Gambar 9. Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon (Prajitno, 2007).

Mekanisme kerja antibakteri secara umum akan menghambat sintesis dinding sel, fungsi dinding sel, sintesis protein dan metabolisme sel. Penghambatan fungsi dinding sel oleh senyawa antibakteri akan mengubah tegangan permukaan sel sehingga merusak permeabilitas membran sel bakteri. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen sel. Senyawa antibakteri juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri melalui penghambatan sintesis protein dan menghambat kerja enzim yang berperan dalam pertumbuhan bakteri (Mardiana, Ibram dan Lisdiana, 2015).

Dinding sel yang mengandung lapisan peptidoglikan dapat ditembus oleh senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid. Senyawa flavonoid dapat menembus dinding sel bakteri dengan mudah sehingga pertumbuhan bakteri menjadi menurun dalam jumlah yang banyak. Dinding bakteri yang terkena flavonoid akan kehilangan permeabilitas sel (Munfaati, Ratnasari, Trimulyono, 2015).

4.2 Hasil dari Parameter Penunjang

Parameter penunjang merupakan parameter pendukung yang digunakan selama penelitian. Pada penelitian ini, parameter penunjang yang digunakan adalah suhu inkubasi dan lama perendaman kertas cakram. Parameter penunjang pertama yakni suhu inkubasi, yang merupakan faktor utama yang mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan peningkatan jumlah sel dalam suatu populasi juga ditandai dengan meningkatnya nilai densitas/kekeruhan medium sejalan dengan meningkatnya lama waktu inkubasi. Pengukuran terhadap peningkatan jumlah sel ini salah satunya dapat dilakukan dengan cara densitas pada medium pertumbuhan (Umniyati, Astuti, Oktavia dan Pramiadi, 2009). Selama 24 jam masa inkubasi, suhu yang digunakan dalam penelitian adalah 33°C. Menurut Prajitno (2007), pertumbuhan maksimal bakteri *A. hydrophila* adalah pada kisaran 28-41°C sedangkan pertumbuhan minimum terjadi pada suhu 0-5°C.

Parameter penunjang kedua yakni lama perendaman kertas cakram. Ukuran kertas cakram yang digunakan adalah 6 mm. Lama perendaman kertas cakram ini bertujuan agar ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) benar-benar terserap sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Lama perendaman kertas cakram dalam penelitian ini adalah selama 15 menit. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Ibrahim, Adiputra, Setyawan dan Hudaidah (2013), uji cakram dilakukan untuk melihat daya hambat dari ekstrak yang digunakan. Cakram direndam di dalam ekstrak selama ± 15 menit. 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 pemberian ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro* didapatkan kesimpulan bahwa pemberian ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap bakteri *A. hydrophila*. Hubungan antara pemberian konsentrasi perlakuan pada ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap diameter daya hambat menunjukkan pola linier dengan persamaan $y = 2,240 + 0,342x$ dengan koefisien nilai determinasi (R^2) sebesar 0,973. Diameter daya hambat yang dihasilkan semakin meningkat seiring dengan besarnya konsentrasi perlakuan yang digunakan. Diameter zona hambat tertinggi diperoleh pada perlakuan E dengan konsentrasi 25% yaitu sebesar 10,58 mm dan diameter zona hambat bakteri *A. hydrophila* terbaik diperoleh pada perlakuan D dengan konsentrasi 20% yaitu sebesar 9,38 mm.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka didapatkan saran menggunakan ekstrak daun Mahoni (*S. macrophylla*) untuk menghambat bakteri *A. hydrophila* pada konsentrasi 20%. Selain itu diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian ekstrak kasar daun Mahoni (*S. macrophylla*) secara *in vitro* dengan menggunakan konsentrasi yang lebih tinggi untuk mengetahui konsentrasi yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, D., C. Yulvizar dan R. Nursanty. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Kembung (*Rastrelliger* sp.) Asin Berkitosan. *Biospecies*. **6** (1): 15–19
- Asmadi. 2008. Konsep Dasar Keperawatan. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 188 hlm.
- Ayyappadhas, R., C. Jestin, N. Kenneth, N. Dayana dan U. M. Dhanalekshmi. 2012. Preliminary Studies on Antimicrobial Activity of *Swietenia macrophylla* Leaf Extract. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* **16** (2): 1-4
- Boyle, V. J., M. E. Fancher dan R. W. Ross. 1973. Rapid, Modified Kirby-Bauer Susceptibility Test with Single, High-Concentration Antimicrobial Disks. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **3** (3): 418-424
- Cascon, A., J. Yugueros, A. Temprano, M. Sanchez, C. Hernanz, J. M. Luengo dan G. Naharro. 2000. A Major Secreted Elastase is Essential for Pathogenicity of *Aeromonas hydrophila*. *Infection and Immunity*. **68** (6): 3233-3241
- Castro, L., M. Vera, J. A. Munoz, M. L. Blazquez, F. Gonzales, W. Sand, dan A. Ballester. 2014. *Aeromonas hydrophila* Produces Conductive nanowires. *Research in Microbiology* **165**: 794-802
- Choma, I. M. dan E. M. Grzelak. 2010. Bioautography Detection in Thin-layer Chromatography. *Journal of Chromatography*. **1218** (9): 1-8
- Chopra, A. K., X. J. Xu, D. Ribardo, M. Gonzales, K. Kuhi, J. W. Peterson dan C. W. Houston. 2000. The Cytotoxic Enterotoxin of *Aeromonas hydrophila* Induces Proinflammatory Cytokine Production and Activates Arachidonic Acid metabolism in Macropages. *Infection and Immunity*. **68** (5): 2808-2818
- Cipriano, R. C. 2001. *Aeromonas hydrophila* and Motile Aeromonad Septicemias of Fish. Fish and Wildlife Service Division of Fishery Research. Washington DC. 25 hlm.
- Eid, A. M. M., N. A. Elmarzugli, dan H. A. El-Enshasy. 2013. A Review on The Phytopharmacological Effect of *Swietenia macrophylla*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. **5** (3): 47-53
- Gafur, M. A., I. Isa, dan N. Bialangi. 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Jamblang (*Syzigium cumini*). 1-11.
- Hadi, A. Q. dan R. M. Napitupulu. 2011. 10 Tanaman Investasi Pendulang Rupiah. Penebar Swadaya. Depok. 204 hlm.

- Hartati, L. M. Salleh, A. A. Azis dan M. A. Yunus. 2013. Pengaruh Jenis Pelarut Ekstraksi Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq) terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri. *Jurnal Bionature*. **14** (1): 11-15
- Hidayati, N. N., Yuliani, dan N. Kuswanti. 2013. Pengaruh Ekstrak Daun Suren dan Daun Mahoni terhadap Mortalitas dan Aktivitas Makan Ulat Daun (*Plutella xylostella*) pada Tanaman Kubis. *LenteraBio*. **2** (1): 95-99
- Ho, A. S. Y., T. A. Mietzner, A. J. Smith dan G. K. Schoolnik. 1990. The Pili of *Aeromonas hydrophila*: Identification of Environmentally Regulated "Mini Pilin". *J. Exp. Med.* **172** (3): 795-806
- Ibrahim, A., Y. T. Adiputra, A. Setyawan dan S. Hudaidah. 2013. Potensi Ekstrak Kulit Buah dan Biji Rambutan (*Nephelium lappaceum*) sebagai Senyawa Anti Bakteri Patogen pada Ikan. *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. **1** (2): 135-144
- Inglis, V., R. J. Roberts, dan N. R. Bromage. 1993. *Bacterial Diseases of Fish*. Blackwell Science Ltd. London. 312 hlm.
- Irianto, A. 2005. *Patologi Ikan Teleostei*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 256 hlm.
- Jannata, R. H., A. Gunadi, dan T. Ermawati. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *eJurnal Pustaka Kesehatan*. **2** (1): 23-28
- Kabata, Z. 1985. *Parasites And Diseases Of Fish Cultured In The Tropics*. Pasific Biological Station Nanaimo, British Colombia. Canada. 318 hlm.
- Kismiyati, S. Subekti, R. W. N. Yusuf, dan R. Kusdarwati. 2009. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Gram Negatif pada Luka Ikan MasKoki (*Carassius auratus*) akibat Infestasi Ektoparasti *Argulus* sp. *Jurnal Ilmial Perikanan dan Kelautan*. **1** (2): 129-134
- Kordi, K. M. G. H. 2004. *Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan*. PT Rineka Cipta dan PT Bina Adiaksara. Jakarta. 190 hlm.
- Krisnawati, H., M. Kallio dan M. Kanninen. 2011. *Swietenia macrophylla* King: Ecology, Silviculture and Productivity. Center for Internasional Forestry Research. Bogor. 24 hlm.
- Liantari, D. S. 2014. Effect of Wuluh Starfruit Leaf Extract for *Sterptococcus mutans* Growth. *J. Majority*. **37** (7): 27-33
- Lukistyowati, I. 2012. Studi Efektifitas Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) untuk Mencegah Penyakit *Edwardsiellosis* pada Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). *Berkala Perikanan Terubuk*. **40** (2): 56-74
- Mahyuddin, K. 2010. *Panduan Lengkap Agribisnis Patin*. Penebar Swadaya. Jakarta. 212 hlm.

- Mangunwardoyo, W., R. Ismayasari dan E. Riani. 2010. Uji Patogenitas dan Virulensi *Aeromonas hydrophilal* Stanier pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) melalui Postulat Koch. *J. Ris. Akuakultur*. **5** (2): 245-255
- Mardiana, A. D., M. Ibrahim dan L. Lisdiana. 2015. Potensi Filtrat Daun *Sansevieria trifasciata* terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *LenteraBio*. **4** (1): 6-12
- Metty. 2015. Uji Aktivitas Antimikrobia Senyawa Aktif Hasil Isolasi Biji Mahoni *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq. Terhadap Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. *Jurnal Medika Respirasi*. **10** (2): 68-77
- Moghadamtousi, S. Z., B. H. Goh, C. K. Chan, T. Shabab dan H. A. Kadir. 2013. Biological Activities and Phytochemicals of *Swietenia macrophylla* King. *Molecules*. **18** (9): 1-19
- Muharrama, A. R. W., H. Syawal, dan I. Lukistyowati. 2015. Sensitivitas Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhdap Bakteri *Streptococcus agalactiae*. *Jurnal Perikanan*. **2** (1): 1-10
- Mulyana, D. dan C. Asmarahman. 2010. 7 Jenis Kayu Penghasil Rupiah. Agromedia Pustaka. Jakarta. 134 hlm.
- Munfaati, P. N., E. Ratnasari, dan G. Trimulyono. 2015. Aktivitas Senyawa Antibakteri Esktrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara *In Vitro*. *LenteraBio*. **4** (1): 64-71
- Nofiani, R., S. Nurbetty, dan A. Sapar. 2009. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Bakteri Berasosiasi Spons dari Pulau Lemukutan, Kalimantan Barat. *E-Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. **1** (2): 33-41
- Pelczar, M.J dan E.C.S. Chan. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi I. Universitas Indonesia. Jakarta. 443 hlm.
- _____. 2005. Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 2. Universitas Indonesia. Jakarta. 997 hlm.
- Peoloengan, M., Chairul, I. Kolama, S. Salmah dan M. N. Susan. 2006. Aktivitas Antimikroba dan Fitokimia dari Beberapa Tanaman Obat. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. 974 – 978
- Pietta P. G. 2000. Flavonoids as Antioxidant. *J. Nat. Prod*. **63** (7): 1035-1042
- Prajitno, A. 2005. Diktat Kuliah Parasit dan Penyakit Ikan. Universitas Brawijaya Fakultas Perikanan. Malang. 103 hlm.
- _____. 2007^a. Uji Sensitifitas Flavonoid Rumput Laut (*Eucheuma Cottoni*) Sebagai Bioaktif Alami Terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi*. *Jurnal Protein*. **15** (2): 66-71
- _____. 2007^b. Penyakit Ikan – Udang: Bakteri. UM Press. Malang. 115 hlm.

- Raco, J. R. 2010. Metode Penelitian Kualitatif. Grasindo. Jakarta. 145 hlm.
- Rahmaningsih, S. 2012. Pengaruh Ekstrak Sidawayah dengan Konsentrasi yang Berbeda untuk Mengatasi Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Aquasains*. **1** (1): 1-8
- Rashid, M. M., M. S. Hossain dan M. F. Ali. 2013. Isolation and Identification of *Aeromonas hydrophila* from Silver Carp and Its Culture Environment from Mymensingh Region. *J. Bangladesh Agril. Univ.* **11** (2): 373–376
- Retnowati, Y., N. Bialangi, N. W. Posangi, 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Saintek*. **6** (2): 1-9
- Riffiani, R. 2010. Penggunaan Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* Chick Amobil untuk Meningkatkan Kualitas Air dalam Akuakultur. *J. Hidrosfir Indonesia*. **5** (2): 25-33
- Rochdianto, A. 2005. Budidaya Ikan di Jaring Terapung. Penebar Swadaya. Jakarta. 97 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*). *Jurnal Akuatika*. **3** (1): 19-27
- Rouf, M. A. dan M. M. Rigney. 1971. Growth Temperatures and Temperature Characteristic of *Aeromonas*. *Applied Microbiology*. **22** (4): 503-506
- Sabir, A. 2005. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigon asp.* Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). *Maj. Kedokteran Gigi*. **38** (3): 135-141
- Sastrosupadi, A. 2002. Rancangan percobaan Praktis Bidang Pertanian. Kanisius. Yogyakarta. 244 hlm.
- Schmidt, L. dan D. Joker. 2000. *Swietenia macrophylla* King. Danida Forest Seed Centre. 2 hlm.
- Secades, P. dan J. A. Guijarro. 1999. Purification and Chracterization of an Extracellular Protase from the Fish Pathogen *Yersinia ruckeri* and effect of Culture Conditions on Production. *Applied and Environmental Microbiology*. **65** (9): 3969-3975
- Setyawan, A. D. dan L. K. Darusman. 2008. Review: Senyawa Biflavonoid pada *Sellagnella* Pal. Beauv. Dan Pemanfaatannya. *Biodiversitas*. **9** (1): 64–81
- Sukadi, M. F. 2002. Peningkatan Teknologi Budidaya Perikanan. *Jurnal Ikhtologi Indonesia*. **2** (2): 61-66

- Sukandar, D., N. Radiastuti, I. Jayanegara dan A. Hudaya. 2010. Karakterisasi Senyawa Aktif Antibakteri Ekstrak Air Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*) sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Valensi*. **2** (1): 333-339
- Sukenda, L. Jamal, D. Wahjuningrum dan A. Hasan. 2008. Penggunaan Kitosan untuk Pencegahan Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **7** (2): 159-169
- Sunanto, H. 2009. 100 Resep Sembuhkan Hipertensi, Obesitas dan Asam Urat. PT Elex Media Komputindo, Jakarta. 161 hlm.
- Supriyadi, H. 2002. Mewaspadai dan Menanggulangi Penyakit pada Lou Han. Agromedia Pustaka. Jakarta. 24 hlm.
- Tan, S., H. Osman, K. Wong, P. Boey dan P. Ibrahim. 2009. Antimicrobial and Antioxidant activities of *Swietenia macrophylla* Leaf Extract. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*. **2** (2): 181-188
- Tanjung, L. R., N. H. Sadi, M. Maghfroh, R. Dina dan D. S. Said. 2013. Keanekaragaman Bakteri *Aeromonas* dari KJA di Waduk Jatiluhur dan Kolam Budidaya di Pulau Lombok dan Sumbawa. *Limnotek*. **20** (1): 100-110
- Umar, H. 2005. Riset Sumber Daya Manusia. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 320 hlm.
- Umniyati, S., B. Oktavia, dan D. Pramiadi. 2009. Pengaruh Garam Empedu terhadap Pertumbuhan dan Produksi Asam Laktat *Streptococcus* sp. dari Cyme Usus Halus Ayam Broiler Strain Lohman. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian Pendidikan dan Penerapan MIPA*. 166 – 181
- Vally, H., A. Whittle, S. Cameron, G. K. Dowse dan T. Watson. 2004. Outbreak of *Aeromonas hydrophila* Wound Infections Associated with Mud Football. *Clin Infect Dis*. **38** (3): 1084-1089
- Wasis. 2008. Pedoman Riset Praktis untuk Profesi Perawat. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakrta. 231 hlm.
- Wijaya, S. dan H. Nopriansyah. 2012. Uji In Vitro Efek Entibakteri Ekstrak Daging Muda Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap *Klebsiella pneumoniae*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran*. **1** (1): 1-9
- Yuwono, T. 2010. Biologi Molekular. Penerbit Erlangga. Jakarta. 261 hlm.
- Zulkarnain, M., P. Purwanti dan E. Indrayani. 2013. Analisis Pengaruh Nilai Produksi Perikanan Budidaya Terhadap Produk Domestik Bruto Sektor Perikanan di Indonesia. *Jurnal ESCOFiM*. **1** (1): 52-69

LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto Alat – alat Penelitian



Timbangan Analitik



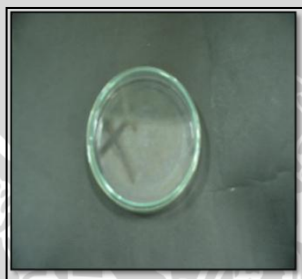
Autoclave



Lemari pendingin



Hotplate



Cawan petri



Laminar Air Flow



Inkubator



Toples kaca



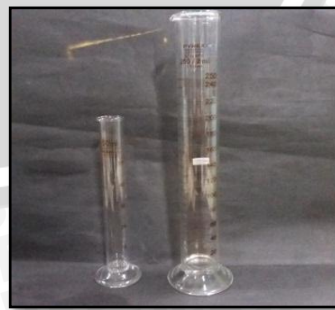
Tabung reaksi



Rak tabung reaksi



Erlenmeyer



Gelas ukur

Lampiran 1 (Lanjutan)



Jarum osse



Spatula



Mikropipet



Timbangan digital



Pinset



Beaker glass



Blender



Oven



Bunsen



Sprayer



Vortex



Rotary vacuum evaporator

Lampiran 1 (Lanjutan)



Blue tip



Nampan



Gunting



Botol film



Jangka sorong digital



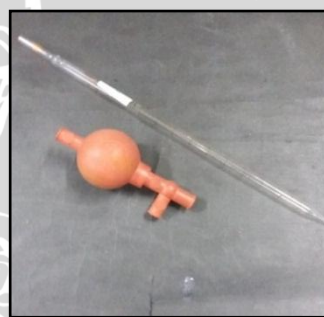
Corong



Triangle



Destruksi

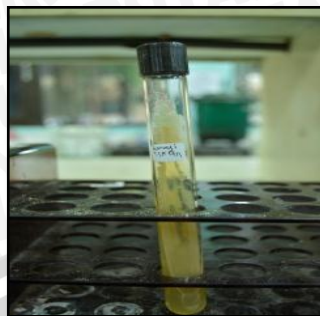


Pipet volume dan bola hisap

Lampiran 2. Foto Bahan Penelitian



Daun Mahoni
(*S. macrophylla*)



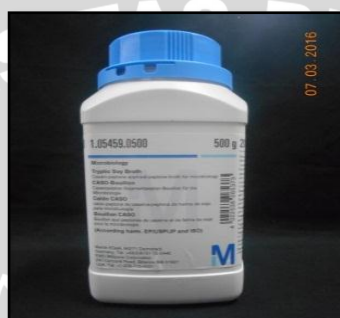
Bakteri *A. hydrophila*



Alkohol 70%



TSA (Tryptic Soy Agar)



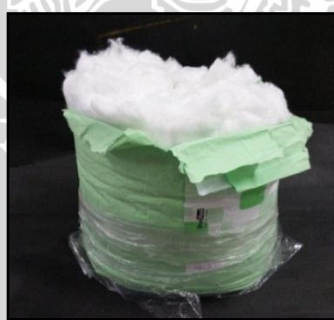
TSB (Tryptic Soy Broth)



Tali kasur



Tissue



Kapas



Etanol 96%



Kertas Saring



Akuades



Alumunium Foil

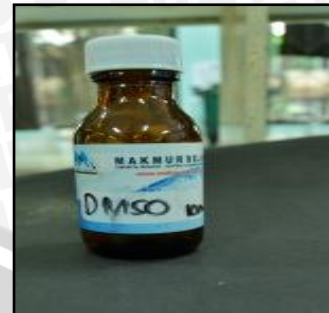
Lampiran 2 (Lanjutan)



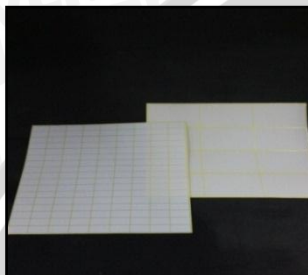
Spiritus



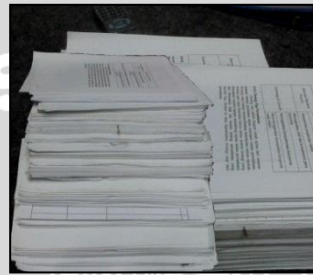
Kertas cakram 6mm



DMSO 10%



Kertas label



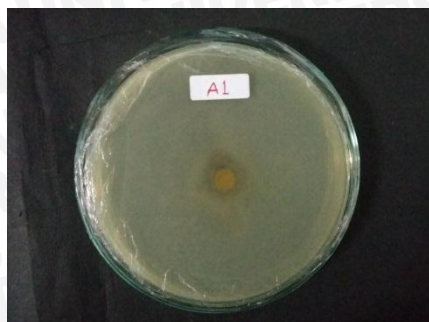
Kertas berkas atau Koran



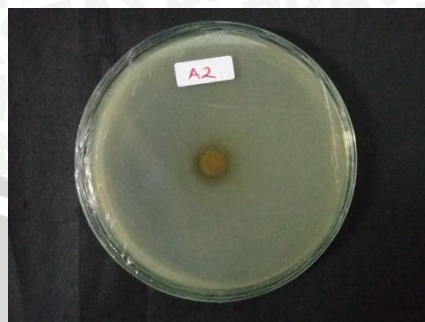
Plastik bening



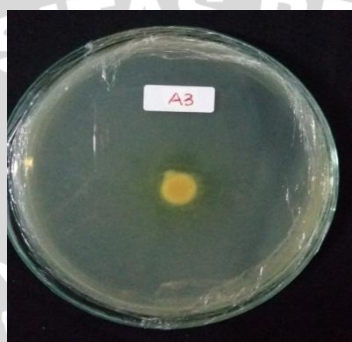
Lampiran 3. Foto Hasil Uji Cakram



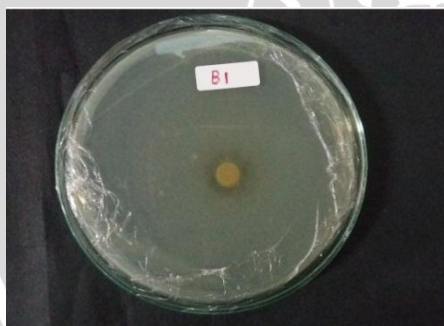
A1 (5 %)



A2 (5%)



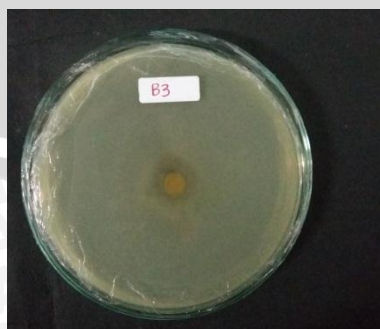
A3 (5%)



B1 (10%)

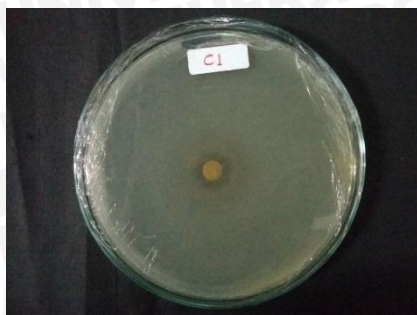


B2 (10%)

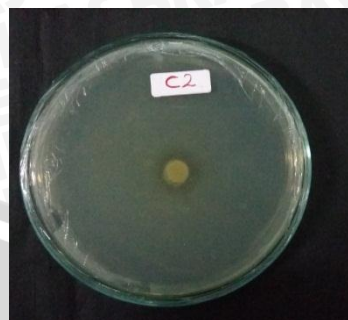


B3 (10%)

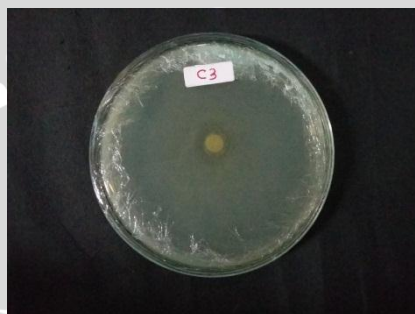
Lampiran 3. (Lanjutan)



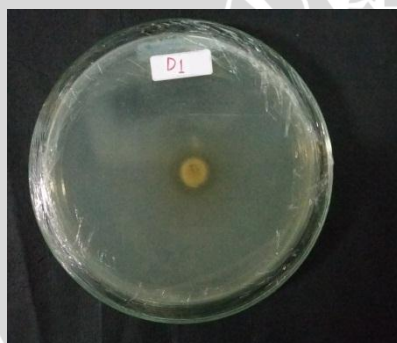
C1 (15%)



C2 (15%)



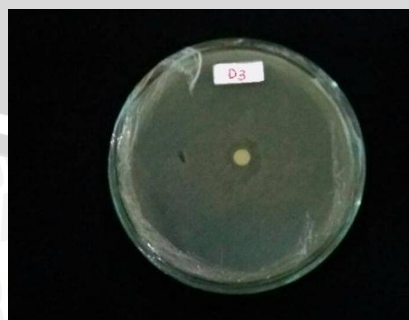
C3 (15%)



D1 (20%)

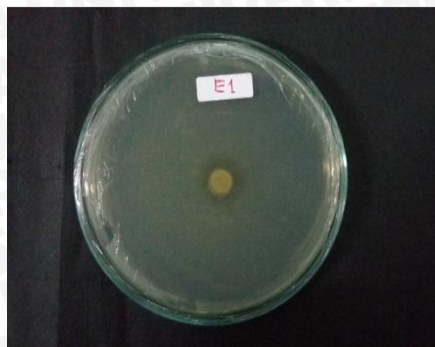


D2 (20%)



D3 (20%)

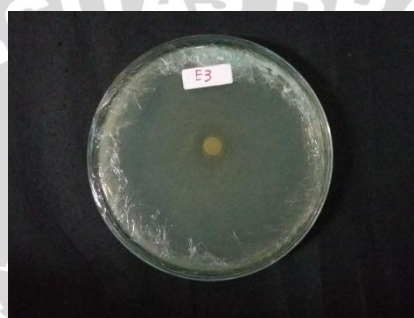
Lampiran 3. (Lanjutan)



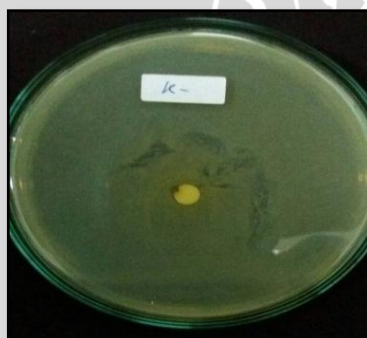
E1 (25%)



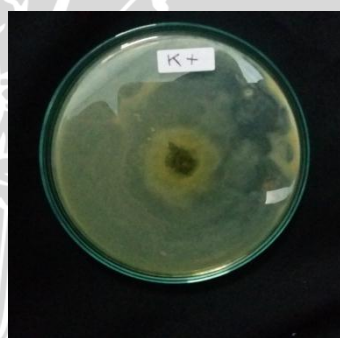
E2 (25%)



E3 (25%)



K-



K+

Lampiran 4. Analisis Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* secara *In Vitro*

➤ **Data Diameter Hambatan (mm) Bakteri *A. hydrophila***

Per lakuan	R1	R2	R3	Rata -rata	R1 ²	R2 ²	R3 ²	Σ R ²
A (5%)	4,84	3,37	3,49	3,90 ± 0,82	23,42	11,35	12,18	46,95
B (10%)	5,29	5,94	5,70	5,64 ± 0,33	27,98	35,28	32,49	95,75
C (15%)	6,92	7,95	6,83	7,23 ± 0,62	47,88	63,20	46,64	157,72
D (20%)	9,56	9,24	9,34	9,38 ± 0,16	91,39	85,37	87,32	263,99
E (25%)	10,41	10,78	10,56	10,58 ± 0,19	108,36	116,20	111,51	336,07
								900,48

Perhitungan:

1. Faktor Koreksi (FK)

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

$$= \frac{110,22^2}{15}$$

$$= 809,89$$

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

$$= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + E3^2) - FK$$

$$= (4,84^2 + 3,37^2 + 3,49^2 + \dots + 10,56^2) - 809,89$$

$$= 90,59$$

3. JK Perlakuan

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

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

$$= \frac{11,70^2 + 16,93^2 + 21,70^2 + 28,14^2 + 31,75^2}{3} - 809,89$$

$$= 88,21$$

4. JK galat

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

$$= 90,59 - 88,21 = 2,38$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 5. \text{ db Total} &= (n \times r) - 1 \\
 &= (5 \times 3) - 1 \\
 &= 14 \\
 6. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 5 - 1 \\
 &= 4 \\
 7. \text{ db Galat} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\
 &= 14 - 4 \\
 &= 10
 \end{aligned}$$

- **Analisa Sidik Ragam dengan Uji F tabel dalam Statistik Rancangan Percobaan Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* secara *In Vitro***

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	88,21	22,05	95,86	3,48	5,99
Acak	10	2,38	0,23			
Total	14	90,59				

Berdasarkan hasil analisa sidik ragam di atas menunjukkan bahwa nilai F hitung 95,86 lebih besar dari F tabel 5% yaitu 3,48 maupun F tabel 1% sebesar 5,99 maka H_0 ditolak, hal ini berarti bahwa perbedaan perlakuan berpengaruh sangat nyata. Setelah H_0 ditolak, selanjutnya apabila ingin diketahui antar perlakuan (rata-rata) mana yang berbeda nyata, maka untuk mengetahui hal tersebut dilakukan uji nilai tengah (rata-rata) antar perlakuan atau disebut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Lampiran 4. (Lanjutan)

- Hasil Uji BNT Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* secara *In Vitro*

Rerata perlakuan	A (3,18)	B (4,91)	C (6,33)	D (8,73)	E (10,58)	Notasi
A (3,90)	-					a
B (5,64)	1,74**	-				b
C (7,23)	3,33**	1,59**	-			c
D (9,38)	5,48**	3,74**	2,15 **	-		d
E (10,58)	6,68**	4,94**	3,35 **	1,2 ^{ns}	-	d

*) berbeda nyata

**) berbeda sangat nyata

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{\text{ulangan}(r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,23}{3}} = 0,3872$$

$$BNT \ 5\% = t_{(0,05;dbG)} SED = 2,228 \times 0,3872 = 0,8626$$

$$BNT \ 1\% = t_{(0,01;dbG)} SED = 3,169 \times 0,3872 = 1,227$$

- Tabel Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan Ci			
		Linear	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A (5%)	11,70	-2	2	-1	1
B (10%)	16,93	-1	-1	2	-4
C (15%)	21,70	0	-2	0	6
D (20%)	28,14	1	-1	-2	-4
E (25%)	31,75	2	2	1	1
Q=ΣCi*Ti		51,31	-1,7	-2,37	-6,63
Kr=(ΣCi^2)*r		30	42	30	210
JK=Q^2/Kr		87,75	0,05	0,18	0,20

- Tabel Sidik Ragam Regresi Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* secara *In Vitro*

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	88,21			3,48	5,99
Linear	1	87,75	87,75	381,52		
Kuadratik	1	0,05	0,05	0,21		
Kubik	1	0,18	0,18	0,78		
Kuartik	1	0,20	0,20	0,86		
Acak	10	2,38	0,23			
Total	14	90,59				

Lampiran 4. (Lanjutan)

- Grafik Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mahoni (*S. macrophylla*) terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* secara *In Vitro*

