

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dilakukan dengan dosis 0 ppm, 0,01 ppm, 0,1 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm ekstrak daun sirsak (*A. muricata* L.) bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terendah yang mampu menghambat atau membunuh bakteri *V. harveyi*. Pengamatan uji MIC menggunakan spektrofotometer. Hasil pengamatan uji MIC dengan dosis ekstrak kasar daun sirsak (*A. muricata* L.) yang berbeda disajikan pada **Tabel 3**.

**Tabel 3** . Hasil Pengamatan Uji MIC dengan Spektrofotometer

konsentrasi ekstrak (ppm)	Absorbansi	Indikator warna
0	0,201	Keruh
0,01	0,200	Keruh
0,1	0,200	Keruh
1	0,214	Keruh
10	0,247	Keruh
100	0,303	Keruh
1000	1,507	Bening
Kontrol +	1,509	Bening
Kontrol -	2,090	Keruh

Keterangan :

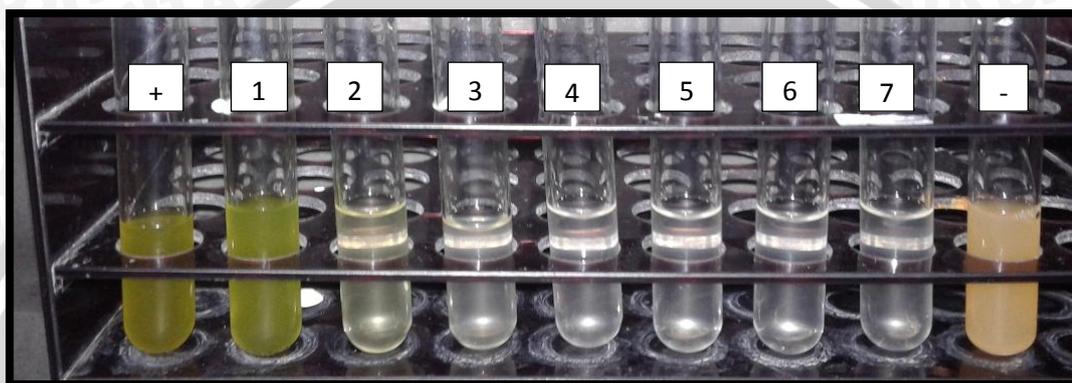
Kontrol + : perlakuan ditambahkan ekstrak kasar daun sirsak (*A. muricata* L.) dengan dosis 100%.

Kontrol - : perlakuan tidak ditambahkan dengan ekstrak daun sirsak (*A. muricata* L.)

Pengamatan uji MIC menggunakan spektrofotometer dilakukan di Laboratorium Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Pengamatan uji MIC didapatkan hasil mulai dosis 0 ppm sampai dosis 100 ppm menunjukkan indikator warna keruh. Pada dosis 1000 ppm menunjukkan indikator warna bening dan nilai absorbansi mendekati kontrol positif (+) dan menghambat pertumbuhan bakteri. Kontrol negatif (-) menunjukkan warna

keruh karena tidak adanya penghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada kontrol positif menunjukkan indikator warna bening karena hanya larutan ekstrak saja. Jadi dosis terkecil yang digunakan adalah dosis 1000 ppm, karena dalam dosis tersebut sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*.

Pada pengamatan uji MIC bisa dilakukan melihat warna secara visual dan membandingkan dengan kontrol yang disajikan pada **Gambar 5**.



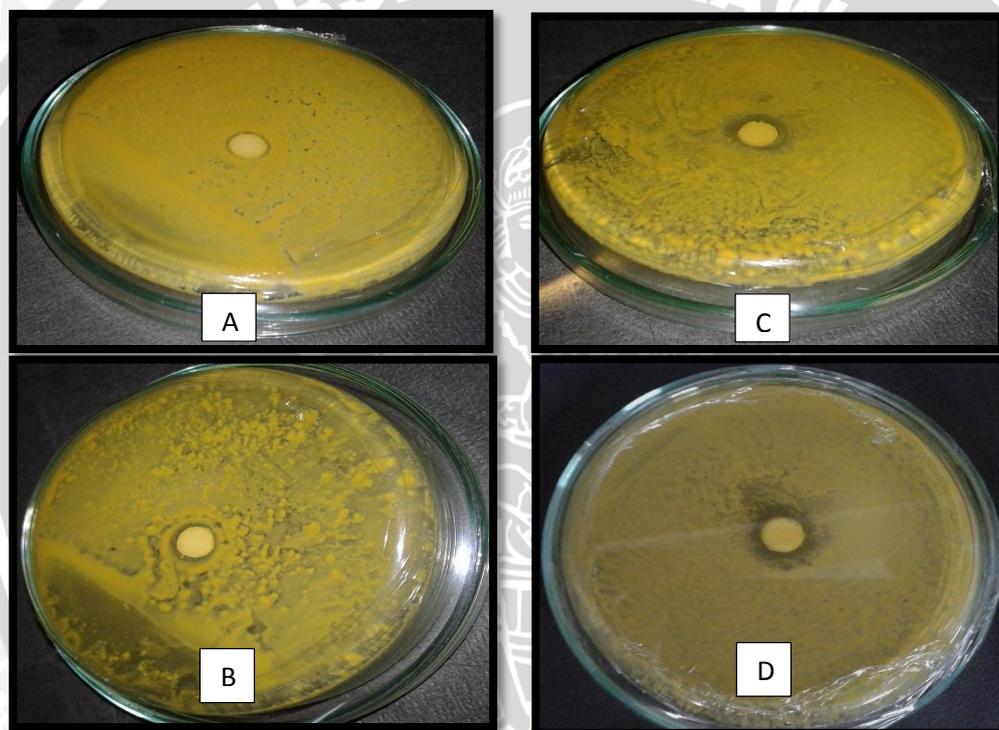
**Gambar 5.** Hasil Uji MIC dari kiri-kanan : tabung (+) sebagai kontrol positif konsentrasi tertinggi pada nomor 1 sampai konsentrasi terendah pada nomor 7 kemudian tabung (-) sebagai kontrol negatif

Berdasarkan Gambar diketahui bahwa kontrol (+) dengan dosis 1000 ppm memiliki warna yang bening, dan dosis lainnya keruh. Hasil pengamatan dibandingkan dengan larutan kontrol positif sehingga dapat diketahui adanya media yang mulai bening yang menunjukkan nilai MIC. Nilai-nilai MIC ditafsirkan sebagai pengenceran tertinggi dan konsentrasi terendah dari sampel (Rinawati, 2012).

## 1.2. Uji Cakram

Berdasarkan hasil uji MIC ditentukan konsentrasi yang digunakan sebagai perlakuan untuk uji cakram. Tujuan dilakukannya uji cakram yaitu untuk mengetahui kepekatan zat anti bakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Hikma *et al.* (2015), daya hambat yang terbentuk merupakan daerah bening yang berada di sekitar cakram.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh data diameter daya hambatan (daerah yang tidak ditumbuhi bakteri). Nampak pada setiap perlakuan dan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun sirsak mampu menghambat laju pertumbuhan *V. harveyi*. Daerah hambat terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi* menunjukkan dengan adanya wilayah jernih disekitar kertas cakram, dimana kertas cakram yang berdiameter 6 mm tersebut telah mengandung ekstrak kasar daun sirsak sesuai dosis masing- masing perlakuan. Dari uji cakram didapat gambar hasil penelitian zona bening yang disajikan pada **Gambar 6**.



**Gambar 6.** Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Sirsak (*A. muricata* L.) terhadap Bakteri *V. harveyi*. (A) perlakuan dengan dosis 1000 ppm, (B) perlakuan dengan dosis 1100 ppm, (C) perlakuan dengan dosis 1200 ppm, (D) perlakuan dengan dosis 1300 ppm

Adanya zona hambat pada masing- masing perlakuan konsentrasi ekstrak kasar daun sirsak (*A. muricata* L) karena adanya zat-zat aktif yang terkandung dalam daun sirsak seperti tanin, alkaloid, saponin (Permatasari *et al.*, 2013). Hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh pemberian ekstrak kasar daun sirsak (*A. muricata* L.) terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*,

diperoleh data yang berbeda yang ditunjukkan pada Gambar. Untuk perhitungan data diameter daerah hambatan dapat dilihat pada **Tabel 4**.

**Tabel 4.** Hasil Uji Cakram Ekstrak Kasar Daun Sirsak Terhadap Daya Hambat *V.harveyi* dengan Konsentrasi 1000, 1100, 1200, 1300 ppm.

Konsentrasi	Ulangan			Total (mm)	Rerata ± Standar Deviasi
	1 (mm)	2 (mm)	3 (mm)		
(A)1000 ppm	0,76	0,89	0,53	2,18	0,73± 0,18
(B)1100 ppm	1,22	1,24	0,76	3,22	1,07± 0,27
(C)1200 ppm	1,23	2,06	2,18	5,47	1,82± 0,52
(D)1300 ppm	1,32	3,33	3,58	8,23	2,74± 1,23

Rata-rata luas zona hambatan yang dihasilkan oleh perlakuan A sebesar 0,73 mm, perlakuan B sebesar 1,07 mm, perlakuan C sebesar 1,82 mm, dan perlakuan D sebesar 2,74 mm.

Menurut Afriani (2010) dalam Widyana *et al.* (2014), menyatakan bahwa respon hambatan dari suatu bahan aktif dapat diklasifikasikan menjadi 4 respon seperti yang ditunjukkan pada **Tabel 5** berikut.

**Tabel 5.** Klasifikasi Respon Hambatan Ekstrak terhadap Pertumbuhan Bakteri

No.	Diameter zona bening (mm)	Respon hambatan pertumbuhan
1	>20	Sangat kuat
2	11-19	Kuat
3	5-10	Sedang
	<5	Lemah

Berdasarkan Tabel diatas diketahui respon hambatan dari ekstrak kasar daun sirsak (*A. Muricata* L.) terhadap bakteri *V. harveyi* tergolong lemah karena ukuran diameter zona bening yang dihasilkan <5 mm. Dari hasil rata-rata uji cakram tersebut dapat diketahui nilai daya hambatan tertinggi terhadap pada konsentrasi 1300 ppm dengan rata-rata diameter hambatan 2,74 mm, sedangkan terendah terdapat pada konsentrasi 1000 ppm dengan rata-rata diameter hambatan

0,73 mm. Kemudian dilakukan analisa sidik ragam untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan ekstrak kasar daun sirsak (*A. muricata* L.) yang berbeda seperti pada **Tabel 6** berikut.

**Tabel 6.** Hasil Analisa Sidik Ragam Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Sirsak Terhadap Daya Hambatan Bakteri *V. harveyi*

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F. Hit	F5%	F1%
Perlakuan	3	7,19	2,40	5,02*	4,07	7,59
Acak	8	3,82	0,48			
Total	11	11,01				

Keterangan : \* = berbeda nyata

Tabel sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak kasar daun sirsak (*A. Muricata* L.) memberikan pengaruh yang berbeda nyata dalam menghambat bakteri *V. harveyi*. Perbedaan konsentrasi perlakuan pada penelitian ini menghasilkan zona hambat yang berbeda pula. Perbedaan masing-masing perlakuan terhadap zona hambat *V. harveyi* didukung dengan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf  $5\% > p < 1\%$ . Hasil Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) didapatkan untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan seperti dilihat pada **Tabel 7** berikut.

**Tabel 7.** Uji BNT kasar Daun sirsak (*A. Muricata* L.) Terhadap Daya Hambat Bakteri *V. harveyi*

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		0,73	1,07	1,82	2,74	
A	0,73	-				a
B	1,07	0,34 <sup>ns</sup>	-			a
C	1,82	1,09 <sup>ns</sup>	0,75 <sup>ns</sup>	-		a
D	2,74	2,01 <sup>**</sup>	1,67 <sup>*</sup>	0,92 <sup>ns</sup>	-	ab

Keterangan :

Ns : tidak berbeda nyata

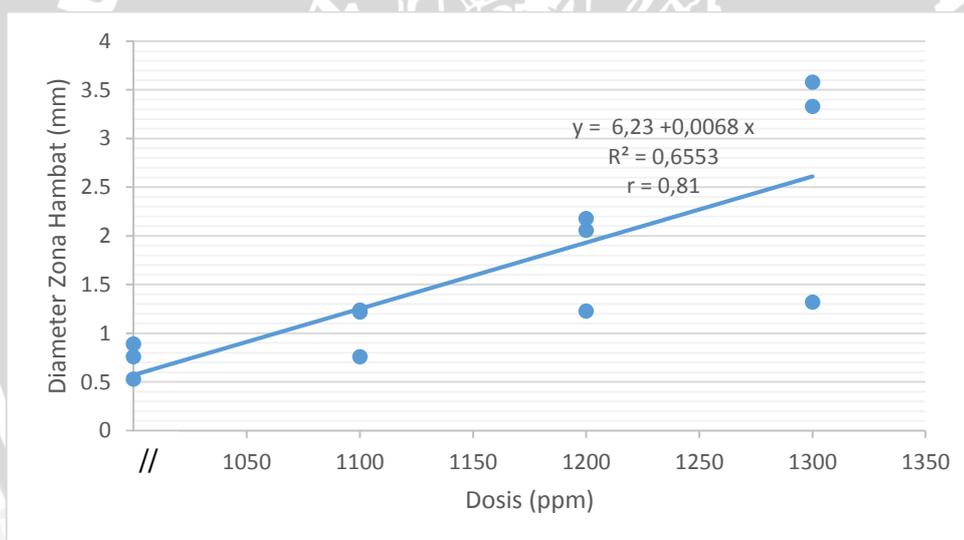
\* : berbeda nyata

\*\* : berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel diatas diketahui bahwa pada perlakuan A tidak berbeda nyata terhadap B,C, dan D sehingga diberi notasi a. Perlakuan B tidak berbeda nyata terhadap perlakuan A, C, dan D sehingga diberi notasi a. Perlakuan C tidak

berbeda nyata terhadap perlakuan A dan B sehingga diberi notasi a. Perlakuan D terhadap perlakuan A menunjukkan selisih nilai yang berbeda sangat nyata, terhadap perlakuan B menunjukkan selisih nilai berbeda nyata dan terhadap perlakuan C menunjukkan selisih nilai yang tidak berbeda nyata sehingga diberi notasi ab.

Kemudian dilanjutkan dengan menghitung polinomial orthogonal setelah mengetahui nilai selisih dari uji BNT untuk mengetahui kurva regresi yang dihasilkan. Berdasarkan perhitungan polinomial orthogonal didapatkan grafik regresi yang membentuk pola linier dari diameter zona bening yang dihasilkan ekstrak kasar daun sirsak (*A. muricata* L.) dengan beberapa konsentrasi yang berbeda terhadap bakteri *V. harveyi* seperti terlihat pada **Gambar 7**.



**Gambar 7.** Grafik Hubungan Dosis Ekstrak Kasar Daun Sirsak (*A. muricata* L.) dengan Diameter Zona Hambat

Berdasarkan gambar diatas, penambahan dosis ekstrak kasar daun sirsak (*A. muricata* L.) terhadap diameter zona hambat menunjukkan pola linier dengan persamaan  $y = 6,23 + 0,0068 x$  dan koefisien korelasi  $r = 0,81$ . Sehingga dapat disimpulkan semakin tinggi dosis ekstrak kasar daun sirsak (*A. muricata* L.) yang

digunakan dalam menghambat bakteri *V. harveyi* maka semakin meningkat pula zona hambat yang dihasilkan.

Hubungan antara pemberian ekstrak kasar daun sirsak (*A. muricata* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* dengan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan menunjukkan respon yang mengikat seiring dengan bertambahnya dosis ekstrak kasar daun sirsak (*A. muricata* L.) dari dosis 1000 ppm, 1100 ppm, 1200 ppm, dan 1300 ppm.

Peningkatan zona hambat seiring dengan peningkatan dosis diakibatkan karena adanya peningkatan senyawa aktif pada ekstrak kasar daun sirsak (*A. muricata* L.) sehingga zona hambat yang terbentuk semakin lebar. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Permatasari *et al.* (2013), menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirsak maka semakin besar secara sangat nyata ( $p > 0,01$ ) menghambat pertumbuhan bakteri.

Hasil penelitian ini menyimpulkan ekstrak kasar daun sirsak (*A. Muricata* L.) memiliki sifat bakteriostatik terhadap bakteri *V. harveyi*. Dilihat dari cara kerjanya antibakteri dibagi menjadi dua yaitu antibakteri yang bersifat bakteriostatik dan bakteriosidal. Bakteriostatik adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan bakteriosidal adalah zat yang dapat membunuh bakteri. Berdasarkan uji MIC dan uji cakram diketahui ekstrak kasar daun sirsak (*A. Muricata* L.) mampu menghambat bakteri *V. harveyi*. Hal tersebut dilihat dari panjangnya zona bening yang terjadi perubahan ukuran setelah pengamatan 2 x 24 jam.

Mekanisme ekstrak kasar daun sirsak sebagai antibakteri adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak berbentuk secara utuh, terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel.

Menurut Sumarsih (2003) dalam Lamapaha (2008), rangka dasar dinding sel bakteri adalah lapisan peptidoglikan. Peptidoglikan tersusun dari N-asetil glukosamin dan N-asetil asam muramat, yang terikat melalui ikatan 1,4-glikosida. Pada N-asetil asam muramat terdapat rantai pendek asam amino yaitu: alanine, glutamate, diaminopimelat, lisisin dan alanine, yang terikat melalui ikatan peptide. Peranan ikatan peptida ini sangat penting dalam menghubungkan antara rantai satu dengan rantai yang lain. Mekanisme kerusakan dinding bakteri terjadi karena proses perakitan dinding sel bakteri yang diawali dengan pembentukan rantai peptide yang akan membentuk jembatan silang peptide yang menggabungkan rantai glikan dari peptidoglikan pada rantai yang lain sehingga menyebabkan dinding sel terakit sempurna. Keadaan ini menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis, baik berupa fisik maupun osmotik dan menyebabkan kematian sel *V. harveyi*. Sehingga lebih sensitif terhadap senyawa-senyawa yang punya potensi merusak atau menghambat sintesis dinding sel. Diduga kerja alkaloid terlebih dahulu merusak dinding sel dan dilanjutkan kerja flavonoid yang merusak membran sel bakteri.

Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanismenya yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Sedangkan senyawa flavonoid menghambat perakitan dinding sel dan mengakibatkan penggabungan rantai glikan tidak terhubung ke dalam peptidoglikan dinding sel menuju suatu struktur yang lemah dan menyebabkan kematian mikroba (Hikma *et al.*, 2015).

#### 4.3 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dari penelitian ini yaitu lama perendaman kertas cakram selama  $\pm 15$  menit pada ekstrak kasar daun sirsak (*A. muricata* L.). lama perendaman dilakukan agar bahan aktif dapat meresap kedalam kertas cakram dan mencegah rusaknya kertas cakram akibat terlalu lama direndam. Selain itu, kondisi lingkungan seperti suhu juga merupakan parameter penunjang. Suhu inkubator yang diterapkan pada penelitian ini adalah 33°C.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

