

AKTIFITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA IN VITRO

SKRIPSI

Oleh :

**AISYAH AMINI
NIM. 155080501111033**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

AKTIFITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA IN VITRO

SKRIPSI

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

Oleh :

**AISYAH AMINI
NIM. 155080501111033**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
201**

SKRIPSI

AKTIFITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SAMBUNG NYAWA
(*Gynura procumbens*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens*
SECARA *IN VITRO*

Oleh :

AISYAH AMINI
NIM. 155080501111033

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 23 April 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

Menyetujui,
Dosen Pembimbing



(Dr. Ir. M. Firdaus, MP)
NIP. 19680919 200501 1 001
TANGGAL : 09 MAY 2019

(Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS)
NIP. 19550213 198403 1 001
TANGGAL : 09 MAY 2019

IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*G. procumbens*) terhadap Bakteri *Pseudomonas flourescens* secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Aisyah Amini

NIM : 155080501111033

Program Studi : Budidaya Perairan

Penguji Pembimbing:

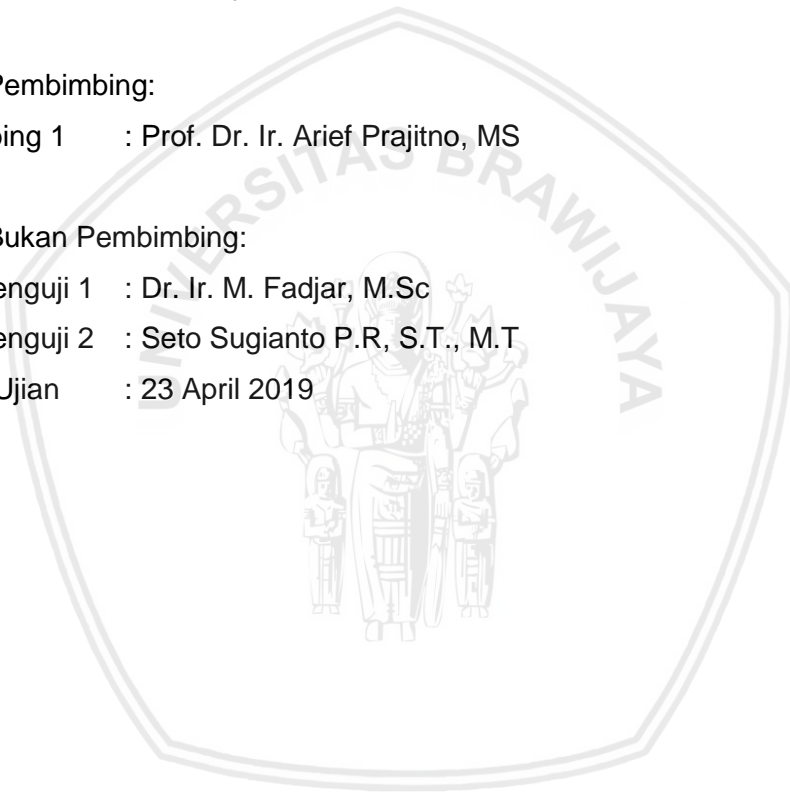
Pembimbing 1 : Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS

Penguji Bukan Pembimbing:

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc

Dosen Penguji 2 : Seto Sugianto P.R, S.T., M.T

Tanggal Ujian : 23 April 2019



PERNYATAAN ORISINALITAS

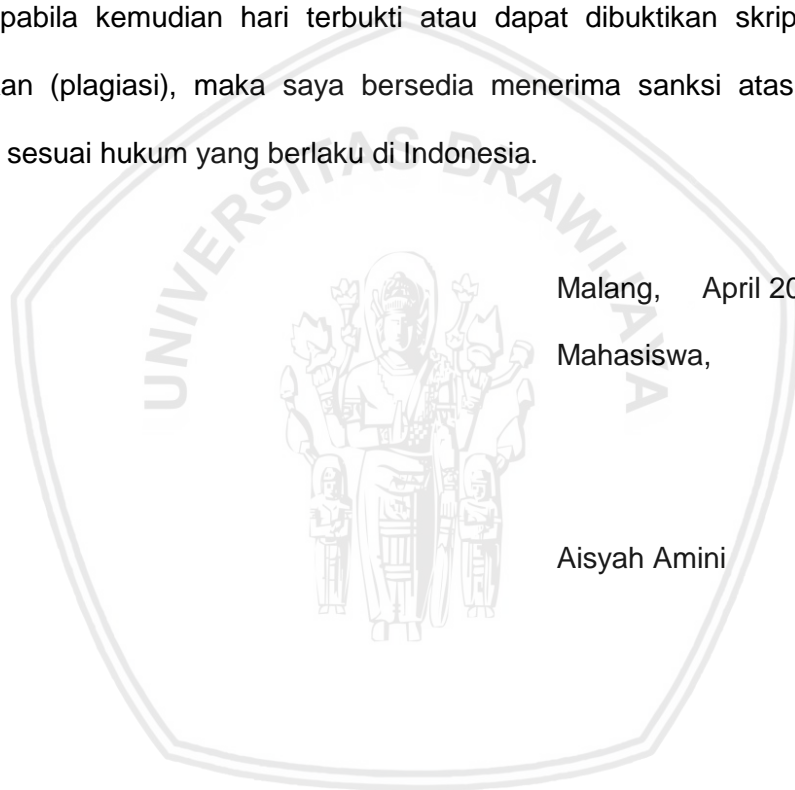
Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar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

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

Malang, April 2019

Mahasiswa,

Aisyah Amini



UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah *rabbi* *lamin*. Segala puji hanya milik Allah *Subhanahu Wa Ta'ala*, satu-satunya Tuhan Penguasa semesta alam. Penulis bersyukur kepada Allah yang memudahkan Laporan Skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan sebaik-baiknya. Sungguh tidak ada sesuatupun di dunia ini kecuali atas kuasa-Nya.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan Laporan Skripsi ini, khususnya kepada:

1. Ayah, Ibu dan Kakak atas dukungan serta do'a yang tidak henti-hentinya.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, petunjuk dan bimbingan sejak penyusunan usulan hingga selesainya penyusunan laporan Skripsi.
3. Bapak Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc dan Bapak Seto Sugianto P.R, S.T., M.T selaku dosen penguji atas perbaikan, masukan dan saran yang diberikan
4. Semua pihak yang telah telah membantu sehingga Laporan Skripsi ini bisa terselesaikan atas segala do'a, bantuan, dukungan dan motivasi yang di berikan.

Malang, April 2019

Penulis

RINGKASAN

Aisyah Amini. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*G. procumbens*) terhadap Bakteri *P. fluorescens* Secara *In Vitro* (di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS**).

Saat ini perikanan tangkap dieksploitasi secara berlebihan yang menyebabkan stok sumberdaya ikan dunia menipis. Maka salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah dengan penggunaan perikanan budidaya yang tepat dan optimal untuk meningkatkan pertumbuhan ekonomi sektor perikanan. Sejalan dengan berkembangnya usaha budidaya sering mengalami beberapa kendala salah satunya yaitu munculnya serangan penyakit seperti bakteri *P. fluorescens*. Bakteri *P. fluorescens* dapat menyebabkan kematian massal pada semua spesies ikan air tawar pada berbagai tahapan pertumbuhan. Usaha yang telah dilakukan untuk mengatasi baik pencegahan maupun pengobatan penyakit bakteri adalah dengan pemberian antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat meningkatkan resistensi bakteri terhadap antibiotik. Salah satu alternatif untuk pengobatan dari alam yang memiliki aktivitas antibakteri adalah daun sambung nyawa (*G. procumbens*).

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium budidaya ikan divisi parasit dan penyakit ikan pada bulan Desember-Februari 2018. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yaitu dengan sengaja memanipulasi suatu variable dengan memunculkan atau tidak memunculkan suatu variable, kemudian memeriksa efek atau akibat yang ditimbulkan. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Percobaan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan dengan dosis perlakuan (A) 200 ppm ; (B) 400 ppm ; (C) 600 ppm ; (D) 800 ppm dan (E) 1000 ppm serta kontrol positif dan kontrol negatif.

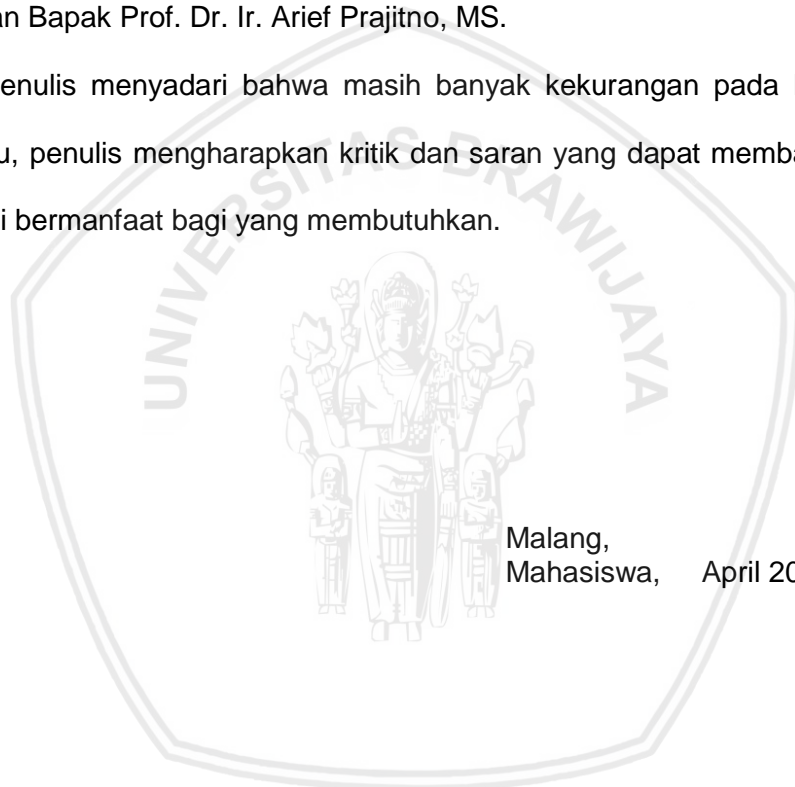
Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak daun sambung nyawa terhadap bakteri *P. fluorescens* berbeda sangat nyata yaitu pada pengamatan diameter zona bening didapatkan nilai tertinggi pada perlakuan E dengan rata-rata 8,32 mm. Sedangkan diameter rata – rata zona bening terendah pada perlakuan A sebesar 7,32 mm. Hubungan zona bening antar perlakuan ekstrak daun sambung nyawa terhadap bakteri *P. fluorescens* menunjukkan perpotongan garis secara linear dengan persamaan $y = 7,200667 + 0,00111x$ dan koefisien $R^2 = 0,64219$.

Dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) dapat menghambat aktivitas *P. fluorescens* dan bersifat bakteriostatik. Dari hasil uji cakram didapatkan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin besar zona bening yang terbentuk. Zona bening terendah didapatkan pada perlakuan A (200 ppm) sebesar 7,23 mm dan zona bening terbesar ada pada perlakuan E (1000 ppm) sebesar 8,32 mm.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*G. procumbens*) terhadap Bakteri *P. fluorescens* secara *In Vitro*” sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana perikanan di fakultas perikanan dan ilmu kelautan universitas brawijaya. Di bawah bimbingan Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan pada laporan ini. Sebab itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.



Malang,
Mahasiswa, April 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	ii
SKRIPSI	Error! Bookmark not defined.
IDENTITAS TIM PENGUJI	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
RINGKASAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Kegunaan	4
1.6 Tempat dan Waktu	5
2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Biologi <i>P. fluorescens</i>	6
2.1.1 Klasifikasi	6
2.1.2 Morfologi	6
2.1.3 Habitat	7
2.1.4 Gejala Klinis	8
2.1.5 Pertumbuhan Bakteri <i>P. fluorescens</i>	8
2.2 Biologi Sambung Nyawa (<i>G. procumbens</i>)	11
2.2.1 Klasifikasi	11
2.2.2 Morfologi	11
2.2.3 Habitat dan Penyebaran	12
2.2.4 Kandungan Daun Sambung Nyawa (<i>G. procumbens</i>)	13
2.3 Aktivitas Antimikroba	13
2.4 Uji Bakteri Secara <i>In Vitro</i>	15
3 METODE PENELITIAN	17
3.1 Materi Penelitian	17
3.1.1 Alat Penelitian	17
3.1.2 Bahan Penelitian	17
3.2 Metode Penelitian	17
3.3 Rancangan Penelitian	18

3.4	Prosedur Penelitian	20
3.4.1	Sterilisasi Alat dan Bahan	20
3.4.2	Pembuatan Ekstrak Daun Sambung Nyawa	20
3.4.3	Pembuatan Media Agar Miring	21
3.4.4	Pembuatan TSB (<i>Tryptone Soy Broth</i>).....	21
3.4.5	Pembuatan PSA (<i>Pseudomonas Selective Agar</i>)	22
3.4.6	Pembuatan Natrium Fisiologis	22
3.4.7	Peremajaan Bakteri <i>P. fluorescens</i>	22
3.4.8	Kultur Bakteri <i>P. fluorescens</i>	23
3.4.9	Pengenceran Bakteri <i>P. fluorescens</i>	23
3.5	Pelaksanaan Penelitian.....	23
3.5.1	Pewarnaan Gram	23
3.5.2	Uji Biokimia bakteri <i>P. fluorescens</i>	24
3.5.3	Uji Fitokimia.....	27
3.5.4	Pembuatan Dosis	28
3.5.5	Uji Cakram.....	29
3.6	Parameter Uji	29
4	PEMBAHASAN.....	30
4.1	Identifikasi Bakteri <i>P. fluorescens</i>	30
4.2	Hasil Uji Fitokimia.....	31
4.3	Uji Cakram	33
4.4	Parameter Penunjang	39
5	KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1	Kesimpulan	40
5.2	Saran	40
	DAFTAR PUSTAKA.....	41
	LAMPIRAN.....	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kategori Hambatan Diameter Zona Bening.....	35
2. Data hasil pengukuran Zona bening ekstrak daun sambung nyawa (<i>G. procumbens</i>) terhadap bakteri <i>P. fluorescens</i> setelah 24 Jam	35
3. Uji Sidik Ragam	36
4. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)	36



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>P. fluorescens</i>	7
2. Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	10
3. Daun Sambung Nyawa (<i>G. procumbens</i>).....	12
4. Denah Rancangan Penelitian	19
5. Pewarnaan Gram Bakteri <i>P. fluorescens</i> dengan perbesaran 1000x	30
6. Hasil Uji Cakram	34
7. Grafik Uji Polinomial Ortogonal.....	37



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>P. fluorescens</i>	48
2. Hasil Uji Fitokimia Daun Sambung Nyawa (<i>G. procumbens</i>).....	49
3. Fungsi Alat dan Bahan Penelitian	50
4. Alat dan Bahan	52
5. Pembuatan Ekstrak Daun Sambung Nyawa (<i>G. procumbens</i>).....	60
6. Peremajaan Bakteri <i>P. flurescens</i>	62
7. Kultur Bakteri <i>P. flurescens</i>	64
8. Pengenceran Bakteri <i>P. flurescens</i>	66
9. Pembuatan Dosis	68
10. Proses Uji Cakram	70
11. Hasil Uji Cakram Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sambung Nyawa (<i>G. procumbens</i>) terhadap bakteri <i>P. fluorescens</i>	72
12. Perhitungan Ekstrak Dosis Uji.....	75
13. Analisis Data Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sambung Nyawa (<i>G. procumbens</i>) terhadap bakteri <i>P. fluorescens</i> secara <i>in vitro</i>	77

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selama ini produksi perikanan dunia masih didominasi oleh perikanan laut. Perikanan tangkap yang dilakukan secara terus menerus akan menyebabkan stok sumberdaya ikan dunia berada dalam kondisi *overexploited*, depleksi atau sedang mengalami *recovery*. Maka salah satu alternatif yang dapat dilakukan ialah penggunaan perikanan budidaya yang tepat dan optimal guna meningkatkan pertumbuhan ekonomi sektor perikanan di Indonesia (Zulkarnain, Purwanti dan Indrayani, 2013). Produksi perikanan budidaya selalu mengalami kenaikan dari tahun ke tahun. Pada tahun 2015 produksi perikanan budidaya sebesar 15,64 ton, pada tahun 2016 meningkat menjadi 16,68 ton dan pada tahun 2017 yaitu sebesar 17,22 ton (Anonymous, 2017).

Sejalan dengan berkembangnya usaha budidaya, proses budidaya tersebut sering mengalami beberapa kendala. Salah satu kendala dalam budidaya yaitu muncul serangan penyakit. Penyakit dapat menyebabkan terjadinya pertumbuhan lambat sampai kematian, sehingga target produksi tidak sesuai dengan yang di harapkan dan mengakibatkan kerugian yang besar untuk pembudidaya (Nurlaila, Dewiyanti, dan Wijaya, 2016). Timbulnya penyakit adalah suatu proses yang dinamis dan merupakan interaksi antara inang (*host*), jasad penyakit (patogen) dan lingkungan. Dalam kegiatan budidaya ikan, apabila hubungan ketiga faktor adalah seimbang maka tidak timbul adanya penyakit (Sarjito, Prayitno, dan Haditomo, 2013). Penyakit pada ikan budidaya banyak disebabkan oleh jamur, parasit, virus dan bakteri (Sumino, Supriyadi dan Wardiyanto, 2013).

Bakteri adalah patogen paling umum dari ikan budidaya yang menyebabkan kerugian besar bagi industri akuakultur. Bakteri dapat

menyebabkan penyakit saat ikan mengalami gangguan imun oleh beberapa bentuk stresor yang memungkinkan infeksi bakteri oportunistik untuk berkembang (El-Kader dan Mousa-Balabel, 2017).

Salah satu penyakit pada ikan antara lain akibat serangan bakteri patogen *P. fluorescens* yang dapat menyebabkan infeksi klinis pada ikan mas (Yulvizar, Dewiyanti dan Defira, 2014). *P. fluorescens* adalah salah satu kelompok dari Genus *Pseudomonas*. Anggota kelompok ini telah diisolasi dari beragam habitat, termasuk air, tanah, jaringan tanaman, jamur, hewan dan manusia (Sanz, Arrebola, Granero, Mendez, Muriel, Romeo, Martin dan Nieto, 2017). *P. fluorescens* merupakan bakteri gram negatif dengan bentuk batang berukuran 0.8–1.0 μ (Hardi dan Pebrianto, 2012). *P. fluorescens* bersifat Gram negatif, membentuk enzim katalase, oksidase positif, memerlukan oksigen untuk tumbuh (aerob) (Arwiyanto, Maryudadi dan Azizah, 2007). *P. fluorescens* mempunyai kemampuan untuk menghasilkan pigmen warna hijau sampai biru (Adiathy, Suniti dan Suada, 2017).

Infeksi *P. fluorescens* pada ikan menyebabkan penyakit yang disebut kulit merah. Karena kurangnya cara yang efektif untuk mengendalikan penyakit ini sering menyebabkan kematian yang tinggi, sehingga menyebabkan kerugian besar (Mastan, 2013). Serangan *P. fluorescens* dapat menyebabkan kematian pada ikan mas sebesar 30-80% (Murwantoko, Rozi, Istoqomah dan Nitimulyo, 2013).

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri memperlihatkan gejala-gejala seperti kehilangan nafsu makan, luka-luka pada permukaan tubuh, pendarahan pada insang, perut membesar berisi cairan, sisik lepas, sirip ekor lepas, jika dilakukan pembedahan akan terlihat pembengkakan dan kerusakan pada hati, ginjal dan limpa (Ashari, Tumbol dan Kolopita, 2014). Bakteri *P. fluorescens* dapat menyebabkan pembengkakan dan kerusakan pada hati, ginjal dan limpa

pada ikan dan juga menyebabkan kematian massal pada semua spesies ikan air tawar pada berbagai tahapan pertumbuhan. Bakteri patogen dapat menginfeksi ke dalam tubuh ikan melalui insang dan kulit yang terluka dan dapat menimbulkan gejala penyakit seperti pembengkakan pada kulit, pembengkakan perut, luka kemerahan, nekrosis, borok/luka, dan *septicaemia* (Budianto dan Suprastyani, 2017).

Usaha yang telah dilakukan untuk mengatasi baik pencegahan maupun pengobatan penyakit yang disebabkan bakteri adalah dengan pemberian bahan-bahan kimia maupun pemberian antibiotik sintetis. Pemberian bahan kimia ini memang dapat mencegah maupun mengobati penyakit pada ikan bila digunakan dengan dosis yang tepat, akan tetapi bila digunakan tidak terkontrol maka dapat menimbulkan beberapa efek negatif. Residu antibiotik dapat mencemari lingkungan dan juga dapat dijumpai di tubuh ikan, sehingga ikan tidak aman untuk dikonsumsi oleh manusia (Lukistyowati dan Kurniasih, 2011).

Salah satu bahan pengobatan alternatif dari alam yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri adalah daun sambung nyawa (*G. procumbens*). Tanaman sambung nyawa merupakan tanaman yang tumbuh rebah atau merayap yang berwarna hijau keunguan dan memiliki daun berbentuk bulat memanjang. Kandungan kimia yang dimiliki daun sambung nyawa (*G. procumbens*) adalah alkaloid, minyak atsiri, flavonoid, fenolik, saponin, dan terpenoid. flavonoid berperan langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme, seperti bakteri atau virus (Bakhtra, Jubahar dan Rusdi, 2018). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktifitas antibakteri ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Penggunaan antibiotik untuk pengobatakn ikan dapat mengakibatkan resistensi bakteri terhadap bahan kimia yang digunakan. Alternatif yang efektif untuk pengobatan yaitu menggunakan tanaman obat. Saat ini belum diketahui aktivitas antibakteri daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens*. Berdasarkan uraian diatas dapat diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

- Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*?

1.4 Hipotesis

H0 : Diduga pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) dengan dosis yang berbeda tidak memiliki aktifitas antibakteri terhadap bakteri *P. fluorescens*.

H1 : Diduga pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) dengan dosis yang berbeda memiliki aktifitas antibakteri terhadap bakteri *P. fluorescens*.

1.5 Kegunaan

Penelitian ini berguna untuk mengetahui ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) dengan dosis yang berbeda sebagai aktifitas antibakteri terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in Vitro*

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada Januari 2019 sampai dengan Februari 2019.



2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi *P. fluorescens*

2.1.1 Klasifikasi

Menurut Scales, Dickson, Lipuma dan Huffnagle (2014), klasifikasi *P. fluorescens* adalah sebagai berikut:

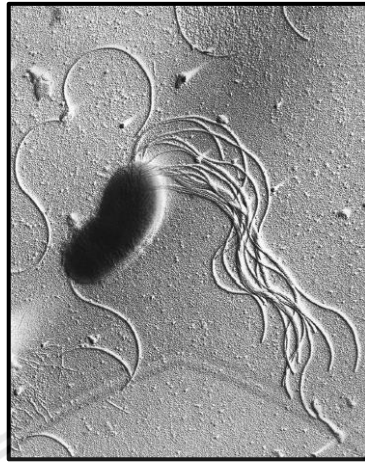
Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>P. fluorescens</i>

2.1.2 Morfologi

Koloni *P. fluorescens* memberi warna yang mengkilat dengan pigmen hijau kebiruan. Bakteri ini adalah bakteri gram negatif dan bersifat aerob. (Sembiring dan Swiwuryandari, 2000). *P. fluorescens* merupakan bakteri gram negatif dengan uji katalase positif (Rahayuniati dan Mugistuti, 2012). *P. fluorescens* merupakan bakteri gram negatif dengan bentuk batang berukuran 0.8 – 1.0 μ (Hardi dan Pebrianto, 2012). Bakteri *P. fluorescens* berbentuk basil atau batang (Imawati, 2015).

Bakteri *P. fluorescens* memiliki karakteristik gram negatif, berbentuk batang, aerob obligat, motil mempunyai flagel polar (Rahmadian, Ismail, Abrar, Erina, Rastina dan Fahrimal, 2018). Bakteri *P. fluorescens* bersifat aerob, berbentuk batang pendek, katalase positif, oksidase positif, dapat mengoksidasi glukosa/karbohidrat lain. Bakteri ini termasuk dalam keluarga

Pseudomonadaceae (Manurung dan Susantie, 2017). Bakteri *P. fluorescens* disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. *P. Fluorescens*
(Scales, Dickson, Lipuma dan Huffnagle, 2014)

2.1.3 Habitat

P. fluorescens adalah bakteri yang dominan hidup pada ekosistem air tawar (Mastan, 2013). Kemampuan metabolisme *P. fluorescens* yang sangat fungsional membuat bakteri ini memiliki kemampuan untuk bertahan dalam berbagai lingkungan di luar inang mamalia, termasuk tanah, rizosfer dan permukaan tanaman. Tumbuh pada pH 4 sampai 8 (Scales, Dickson, Lipuma dan Huffnagle, 2014). Bakteri *P. fluorescens* dapat hidup optimum berada pada kisaran suhu 30°C - 34°C (Sembiring dan Swiwuryandari, 2000).

P. fluorescens adalah salah satu bakteri yang ada di lingkungan. Bakteri ini hidup di tanah, air dan di permukaan atau rizosfer tanaman (Zhigang, Chunlong, Yimin, Weihui, Zhihang, Zeping, Wenjing, Yiran, Junhe, 2019). Kisaran pH untuk pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* yaitu 6-8, sehingga dimungkinkan pada kisaran tersebut bakteri *P. fluorescens* dapat tumbuh secara optimal (Luturnas, 2013).

2.1.4 Gejala Klinis

Ikan yang terinfeksi *P. fluorescens* akan mengalami 'kulit merah' dan penyakit ini dapat menyebabkan kematian berat (Yuan-Yuan Chun, Heng Chi dan Li Sun, 2015). Gejala klinis ikan yang terserang bakteri *P. fluorescens* yaitu borok/luka pada tubuh ikan, kembung, mata menonjol (*exophthalmia*), warna tubuh menjadi gelap, timbul pendarahan, gerak lamban, sirip geripis, warna tubuh pucat, insang dan permukaan tubuh luka, *hemoragik*, produksi lendir berlebih, dan sisik lepas dan kasar serta diikuti *hemoragik* yang membentuk spot putih dikelilingi zona merah, dan pendarahan pada organ dalam (Nurjanah, Prayitno dan Sarjito, 2014).

Bakteri *P. fluorescens* merupakan patogen oportunistik yang menyerang ikan air tawar dan digolongkan ke dalam kelompok bakteri perusak sirip (*bacterial fin rot*). Gejala ikan yang terinfeksi bakteri ini adalah terdapat benjolan merah pada pangkal sirip dada, perut membengkak, tubuh penuh borok, pendarahan pada organ internal, sekitar mulut, opercula dan daerah, terjadi nekrosis pada jaringan limpa dan ginjal (Manurung dan susantie, 2017).

2.1.5 Pertumbuhan Bakteri *P. fluorescens*

Harti (2015), menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri terbagi menjadi 4 fase yaitu:

1. Fase lag = fase permulaan

Kecepatan pertumbuhan nol atau > 0 (tidak maksimum), disebut juga fase adaptasi. Tidak ada penambahan populasi, tetapi penambahan substansi intraseluler sehingga ukuran sel bertambah

2. Fase logaritma = fase eksponensial

Kecepatan pertumbuhan mencapai maksimum. Massa dan jumlah sel bertambah secara eksponensial dengan waktu generasi sebagai konstanta, sehingga pertumbuhan akan seimbang, yaitu sel membelah dengan konstan

serta aktivitas metabolisme konstan. Biakan dalam keadaan homogeny dengan pertumbuhan sel pada kecepatan dan interval sama.

3. Fase tahap maksimum = fase stasis

Kecepatan pertumbuhan mulai menurun, terjadi akumulasi metabolit. Jumlah sel hidup tetap, namun terjadi pengurangan nutrisi maka jumlah total sel mati dan hidup tetap serta akumulasi metabolit.

4. Fase kematian = fase penurunan

Laju kematian secara eksponensial dan terjadi penurunan populasi sel-sel hidup hingga mencapai 0

Amaliyah dan Gunawan (2012), menyatakan bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba yaitu:

1. Suhu

Bakteri tumbuh baik dalam batas-batas tertentu. Mereka digolongkan berdasarkan batas suhu yang mereka sukai

- Psychrophilic: bakteri yang menyukai suhu dingin. Batas suhu pertumbuhan antara -15 sampai 20°C. suhu optimum 10 - 15°C
- Psychrotop: suhu -5 sampai 45°C. optimum 25 – 37°C
- Mesophilic: bakteri yang menyukai suhu pertengahan. Suhu -5 sampai 45°C. optimum 20 – 30°C
- Thermophilic: bakteri yang menyukai suhu panas. Suhu 40 sampai 55°C
- Thermotof: suhu 15 sampai 55°C

2. Waktu

Jika bakteri menemukan kondisi yang cocok, pertumbuhan dan reproduksi dapat terlaksana. Bakteri berkembang baik dengan membelah diri menjadi dua bagian yang sama. Dalam lingkungan dan suhu yang cocok, bakteri membelah diri setiap 20 sampai 30 menit.

3. Kelembaban

Sel-sel bakteri terdiri dari 80% air. Air adalah kebutuhan esensial mereka, tetapi bakteri tidak dapat menggunakan air yang mengandung zat-zat yang terlarut dosis tinggi seperti gula dan garam. Larutan pekat misalnya larutan garam 200 mg/lit tidak menunjang pertumbuhan bakteri

4. Oksigen

Berdasarkan kebutuhan oksigen bakteri terbagi menjadi 3 golongan:

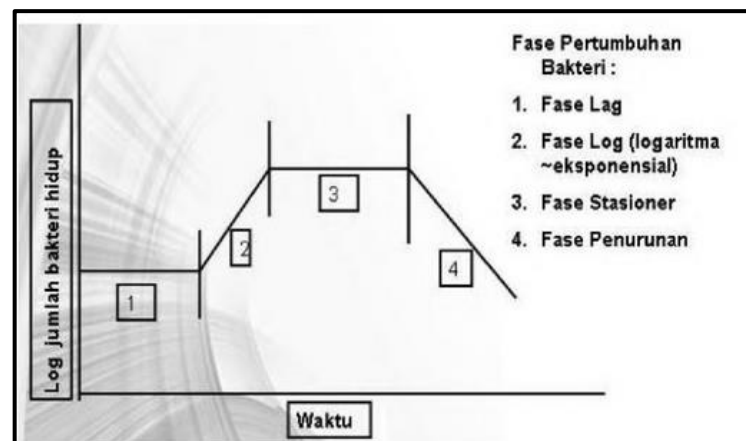
- golongan aerobik yaitu memerlukan oksigen untuk pertumbuhannya
- golongan anaerobik yaitu bakteri yang dapat tumbuh apabila tidak ada oksigen
- golongan fakultatif yaitu bakteri yang dapat tumbuh dalam kondisi tidak ada oksigen tetapi lebih suka pada lingkungan yang ada oksigen

5. Keasaman (pH)

Derajat keasaman suatu substansi diukur dengan skala pH. pH netral yaitu 7, asam yaitu <7 dan basa yaitu >7 . Bakteri akan tumbuh baik apabila kadar pH nya sesuai dengan pertumbuhannya

6. Cahaya

Bakteri biasanya tumbuh dalam gelap, walaupun ini bukan suatu keharusan tetapi sinar ultraviolet dapat mematikan bakteri dan dapat digunakan untuk prosedur sterilisasi. Kurva pertumbuhan bakteri disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Bakteri
(Harti, 2015)

2.2 Biologi Sambung Nyawa (*G. procumbens*)

2.2.1 Klasifikasi

Sinaga, Siagian dan Ariska (2017), menyatakan bahwa klasifikasi sambung nyawa adalah sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta

Subdivisio : Angiospermae

Class : Dicotyledoneae

Familia : Atractaceae

Genus : *Gynura*

Spesies : *G. procumbens*

2.2.2 Morfologi

G. procumbens atau yang lebih dikenal dengan tanaman Sambung Nyawa berasal dari famili Asteraceae, termasuk semak dengan tinggi sekitar 20-60 cm. Jika di memarkan akan menimbulkan bau aromatic (Christiningrum, Budiraharjo dan Kusdiantini, 2016). Tanaman *G. procumbens* memiliki daun berwarna keunguan dan berbentuk bulat panjang (Chaw-Sen Hew, Boon-Yin Khoo dan Lay-Harn Gam, 2013). Tanaman sambung nyawa merupakan tanaman yang tumbuh rebah atau merayap yang berwarna hijau keunguan dan memiliki daun berbentuk bulat memanjang (Bakhtra, Jubahar dan Yusdi, 2018).

Sambung Nyawa merupakan tanaman herbal yang termasuk famili Compositae, merupakan tanaman menahun. Tanaman ini tingginya mencapai 3 meter atau lebih, batangnya bersegi agak lunak dan berair. Helai daun berwarna hijau muda dengan bentuk bulat telur. Panjang daun sampai 6 cm dan lebar 3,5 cm. Ujung daun runcing, pangkal daun membulat, pinggir daun bergerigi dangkal, tangkai daun 1,5 cm atau lebih. Kedua permukaan daun

berambut halus dengan pertulangan menyirip (Sinaga, Siagian dan Ariska, 2017). Daun Sambung nyawa (*G. procumbens*) disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Daun Sambung Nyawa (*G. procumbens*)
(Dokumentasi Pribadi, 2019)

2.2.3 Habitat dan Penyebaran

Tanaman *G. procumbens* biasa ditemukan di negara-negara Asia tropis seperti Cina, Thailand, Indonesia, Vietnam dan Malaysia (Rohin, Jumli, Ridzwan, Baig, Latif dan Hadi, 2018). Dalam bahasa Melayu, *G. procumbens* disebut Sambung Nyawa yang berarti "perpanjangan kehidupan" dan dalam bahasa Cina, disebut Bai Bing Cao yang berarti "100 penyakit" (Hui-Li Tan, Kok-Gan Chan, P. Pusparajah, Learn-Han Lee dan Bey-Hing Goh. 2016). Distribusi geografis asli *G. procumbens* adalah Afrika Barat tropis, India, Cina, Myanmar, Thailand, Malaysia, Filipina, Indonesia, dan Papua Nugini (Wuen Yen Teoh, Wahab, Richardson dan Kae Shin Sim, 2016).

Sambung nyawa (*G. procumbens*) berasal dari Tiongkok dan Myanmar, dibawa masuk ke Indonesia oleh orang-orang Tiongkok, dibudidayakan dan digunakan sebagai obat herbal dalam menyembuhkan berbagai penyakit. Tanaman sambung nyawa tersebar di negara-negara Asia Tenggara termasuk Indonesia, Thailand dan Malaysia. Tanaman sambung nyawa dapat tumbuh

pada ketinggian 0-1.200 m dpl, namun tumbuh optimal pada ketinggian 500 m dpl (Rismayani dan Rohimatun, 2017).

2.2.4 Kandungan Daun Sambung Nyawa (*G. procumbens*)

Tanaman sambung nyawa terbukti mengandung flavonoid, sterol tak jenuh, triterpenoid, polifenol, saponin, steroid, asam klorogenat, asam kafeat, asam vanilat, asam para kumarat, asam para hidroksi benzoat, dan minyak atsiri. Lebih spesifik lagi, dari hasil uji isolasi flavonoid dilaporkan keberadaan 2 macam senyawa flavonoid, yaitu kaemferol (suatu flavonol), flavonol, dan auron diduga juga keberadaan isoflavon dengan gugus hidroksil pada posisi 6 atau 7, 8 (cincin A) tanpa gugus hidroksil pada cincin B pada kandungan daun sambung nyawa.6,7 (Fadli, 2015).

Daun sambung nyawa (*G. procumbens*) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, antrakuinon, tanin dan terpenoid. Flavonoid adalah salah satu golongan fenol alam yang terbesar (Musanti, Fachriyah dan Kusriani, 2016). Tanaman sambung nyawa dapat digunakan sebagai antijamur, *antiamebic*, larvasida, antimikroba, antioksidan, antialergi, analgetik dan antikarsinogenik (Rismayani dan Rohimatun, 2017).

2.3 Aktivitas Antimikroba

Suatu antibakteri adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Rosyidah, Nurmuhaimina, Komari dan Astuti, 2010). Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membrane sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam

nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein (Riany, Sulistyawati dan Mardhiah, 2015). Berdasarkan cara kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi bakterisidal dan bakteriostatik. Antibakteri bakteriostatik adalah zat yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan antibakteri bakterisida adalah zat yang bekerja mematikan bakteri (Siregar, Sabdono dan Pringgenies, 2012).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Selain berperan dalam inhibisi pada sintesis DNA – RNA dengan interkalasi atau ikatan hidrogen dengan penumpukan basa asam nukleat, flavonoid juga berperan dalam menghambat metabolisme energi. Senyawa ini akan mengganggu metabolisme energi dengan cara yang mirip dengan menghambat sistem respirasi, karena dibutuhkan energi yang cukup untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan untuk biosintesis makromolekul. Senyawa terpenoid juga diketahui aktif melawan bakteri, tetapi mekanisme antibakterial triterpenoid masih belum benar-benar diketahui. Aktifitas antibakteri terpenoid diduga melibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipofilik. Selain itu senyawa fenolik dan terpenoid memiliki target utama yaitu membran sitoplasma yang mengacu pada sifat alamnya yang hidrofobik (Ngajow, Abidjulu dan Kamu, 2013).

Saponin merupakan metabolit sekunder yang banyak terdapat di alam. Saponin ini berasa pahit, berbusa dalam air dan bersifat antimikroba. Dalam menekan pertumbuhan bakteri, saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel. Senyawa saponin merupakan zat yang apabila berinteraksi dengan dinding bakteri maka dinding tersebut akan pecah atau lisis. Saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel, maka saat tegangan permukaan

terganggu zat antibakteri akan dat dengan mudah masuk kedalam sel dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadilah kematian bakteri. Tannin tersebar luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Senyawa tannin mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengkoagulasi protoplasma bakteri. Tannin memiliki peran sebagai antibakteri dengan cara mengikat protein sehingga pembentukan dinding sel akan terhambat. Mekanisme penghambatan tannin yaitu dengan cara dinding bakteri yang telah lisis akibat senyawa saponin dan flavonoid, sehingga menyebabkan senyawa tannin dapat dengan mudah masuk ke dalam sel bakteri dan mengkoagulasi protoplasma sel bakteri (Karlina, Ibrahim dan Trimulyono, 2013).

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu, alkaloid juga menghambat pembentukan sintesis protein sehingga dapat mengganggu metabolisme bakteri. Sedangkan senyawa fenol mempunyai kemampuan membentuk kompleks dengan protein dan polisakarida sehingga mampu menghambat kerja berbagai enzim yang berperan dalam reaksi enzimatik dalam sel bakteri (Heni, Arreneuz, dan Zahara, 2015).

2.4 Uji Bakteri Secara *In Vitro*

Metode yang dapat digunakan untuk uji aktivitas senyawa antibakteri adalah metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi agar adalah dengan menggunakan kertas cakram, dimana dalam teknik ini media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri kemudian dimasukan kertas cakram dalam media dan diisi dengan senyawa uji (Kartin, Indiwati dan Sitorus 2015). Aktivitas daya

hambat bakteri dinyatakan berdasarkan zona bening yang dihasilkan di sekitar kertas cakram. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dalam satuan mm (Ismail, Yulfizar dan Putriani, 2017). Penentuan kriteria zona hambat yaitu apabila kekuatan daya antibakteri yaitu 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang dan 5 mm atau kurang berarti lemah (Novita, 2016).

Metode dilusi adalah salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui potensi suatu senyawa terhadap aktifitas mikroba dengan menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) (Fatisa, 2013). Metode dilusi terdiri dari dua teknik pengerjaan, yaitu teknik dilusi perbenihan cair dan teknik dilusi agar yang bertujuan untuk penentuan aktivitas antimikroba secara kuantitatif, antimikroba dilarutkan kedalam media agar atau kaldu yang kemudian ditanami bakteri yang akan di tes. Setelah diinkubasi semalam, konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut dengan MIC (*minimal inhibitory concentration*) (Soleha, 2015).

3 METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens* yaitu cawan petri, pipet volume, jarum ose, erlenmeyer 500 ml, gelas ukur 50 ml, bunsen, tabung reaksi, hotplate, timbangan analitik, timbangan digital, timbangan digital, triangle, nampan, micropipet, cover glass, spatula, pinset, jerigen 5 liter, botol film 10 ml, blender, *vortex mixer*, toples, kulkas, beaker glass, mikroskop, LAF (*Laminar Air Flow*), jangka sorong, autoclave, inkubator, destruktur, evaporator, pipet tetes. Alat beserta fungsinya disajikan pada Lampiran 3 dan gambar alat disajikan pada Lampiran 4.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens* yaitu daun sambung nyawa (*G. procumbens*), bakteri *P. fluorescens*, aluminium foil, kertas cakram, kertas saring, NaCl, TSB (*Tryptone Soy Broth*), PSA (*Pseudomonas Selective Agar*), etanol 96%, alcohol 70%, dms0 100%, akuades, larutan iodin, larutan safranin, larutan kristal violet. Bahan beserta fungsinya disajikan pada Lampiran 3 dan gambar bahan disajikan pada Lampiran 4.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimen. Metode eksperimental merupakan salah satu metode dalam disai kuantitatif yang sering digunakan, terlebih dalam bidang eksakta. Pada metode eksperimen, peneliti secara sengaja memanipulasi suatu variable (memunculkan atau tidak

memunculkan suatu variable) kemudian memeriksa efek atau akibat yang ditimbulkan. Artinya, melalui eksperimen ingin diketahui apakah yang akan terjadi jika suatu variable dikontrol atau dimanipulasi secara terkendali (Kadji, 2016). Sedangkan untuk teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara obsevasi langsung.

Purnomo (2011), meyakini bahwa peneliti bisa secara langsung melakukan observasi untuk mendapatkan berbagai data yang dibutuhkan. Kegiatan yang dilakukan seperti mengamati, merekam, dan mendokumentasikan setiap indikator, apakah hal itu berkaitan dengan aspek proses maupun hasil. Kegiatan observasi merupakan bagian dari *informal assessment (authentic assessment)* yang bersifat langsung (*direct assessment*). Dilihat dari sudut pelaksanaannya, kegiatan observasi bisa bersifat langsung (*participatif observation*) maupun tidak langsung (*non-participatif observation*).

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sastrosuspati (2002), menyatakan bahwa Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogeny, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan laboratorium, rumah kaca dan peternakan. Karena media homogeny maka media atau tempat percobaan tidak memberikan pengaruh pada respon yang diamati dan model untuk RAL adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

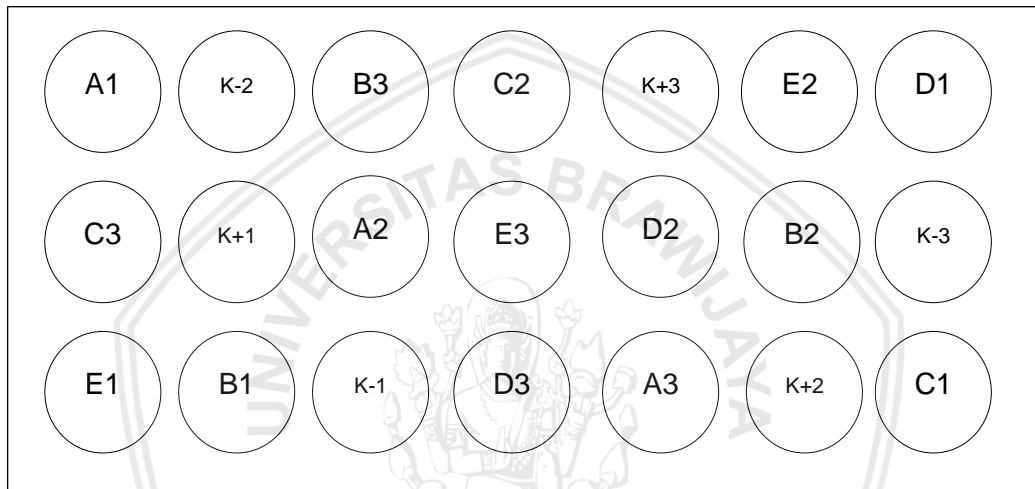
Y_{ij} : Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ : Nilai tengah umum

T_i : Pengaruh perlakuan ke-i

ϵ_{ij} : Pengaruh gallet percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Penelitian ini menggunakan variable bebas berupa pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) dengan dosis yang diberikan. Dasar penelitian ini adalah penelitian pendahuluan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) dengan dosis yang diberikan. Perlakuan dalam penelitian ini adalah sebanyak 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan 2 kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Denah Rancangan Penelitian disajikan pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Denah Rancangan Penelitian

- Keterangan :
- Perlakuan A : Bakteri *P. fluorescens* dengan pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) dengan dosis 200 ppm.
 - Perlakuan B : Bakteri *P. fluorescens* dengan pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) dengan dosis 400 ppm.
 - Perlakuan C : Bakteri *P. fluorescens* dengan pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) dengan dosis 600 ppm.
 - Perlakuan D : Bakteri *P. fluorescens* dengan pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) dengan dosis 800 ppm.
 - Perlakuan E : Bakteri *P. fluorescens* dengan pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) dengan dosis 1000 ppm.
 - Kontrol Positif : Bakteri *P. fluorescens* dengan pemberian ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) dengan dosis 5000 ppm.
 - Kontrol Negatif : Bakteri *P. fluorescens* tanpa pemberian ekstrak sambung nyawa (*G. procumbens*).

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Langkah awal dalam melakukan metode sterilisasi ini yaitu dengan mencuci alat-alat yang akan digunakan dengan sabun, dikeringkan kemudian ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil. Akuades ditambahkan ke dalam autoclave. Alat 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 sampai 15 menit dengan cara menutup kran uap yang berada dibagian atas tutup autoclave, ditunggu beberapa saat sampai suhu menunjukkan angka 0 (nol), buka kran uap lalu buka penutup autoclave dengan cara simetris. Alat dan bahan yang sudah di sterilkan diambil dari autoclave. Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

3.4.2 Pembuatan Ekstrak Daun Sambung Nyawa

Daun sambung nyawa didapatkan dari lingkungan disekitar rumah yang sudah dikeringkan dibawah sinar matahari selama 7 hari. Daun sambung nyawa yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender sampai menjadi serbuk. Serbuk daun sambung nyawa dicampur dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:3. Serbuk daun sambung nyawa ditimbang sebanyak 500 gram dan dimasukkan ke dalam toples. Dicampur dengan etanol 96% sebanyak 1,5 liter dan dihomogenkan menggunakan spatula. Toples ditutup dan dilapisi aluminium foil agar tidak menguap. Proses maserasi ini ditunggu sampai 3 hari. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan larutan dengan endapannya. Hasil larutan di uapkan untuk mendapatkan ekstrak murni daun sambung nyawa. Proses penguapan dilakukan menggunakan alat *rotary*

evaporator. Hasil ekstrak murni daun sambung nyawa berbentuk pasta. Pasta diencerkan menggunakan DMSO 10% untuk perlakuan dosis yang diinginkan.

Etanol merupakan pelarut ekstraksi yang sangat sering digunakan. Keuntungan dari pelarut ini antara lain mudah didapat, harganya relatif murah, dan sifatnya yang dapat campur dengan air pada berbagai konsentrasi atau rasio memudahkan dalam mengatur kepolaran pelarut untuk mengoptimalkan ekstraksi metabolit sekunder (Sari dan Triyasmono, 2017). Etanol juga mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman, tidak beracun dan tidak berbahaya. Pelarut etanol memiliki dua sisi yang terdiri dari gugus -OH yang bersifat polar dan gugus CH_2CH_3 yang bersifat non polar, sifat non polar inilah yang membuat etanol mampu mengekstrak kandungan minyak atsiri, dan alkaloid (Aziz, Febrizky dan Mario, 2014). Etanol merupakan pelarut paling baik dibandingkan dengan metanol, n-heksana dan aseton (Marnoto, Haryono, Gustinah dan Putra, 2012).

3.4.3 Pembuatan Media Agar Miring

Pembuatan media agar miring yaitu menggunakan PSA yang akan digunakan untuk peremajaan bakteri *P. fluorescens*. Media PSA ditimbang sebanyak 0,44 gram menggunakan timbangan digital. Media dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan akuades 9 ml. Media PSA dipanaskan diatas hotplate. Media di homogenkan dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Tabung reaksi ditutup menggunakan kapas dan aulumunium foil. Media disterilkan pada autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Media diambil dari autoclave dan dimiringkan sampai menjadi agar.

3.4.4 Pembuatan TSB (*Tryptone Soy Broth*)

Pembuatan media cair untuk kultur bakteri yaitu menggunakan TSB. TSB di timbang sebanyak 0,3 gram menggunakan timbangan digital. Media dimasukkan kedalam erlenmeyer dan di larutkan menggunakan akuades

sebanyak 10 ml. Media yang sudah dihomogenkan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Tabung reaksi ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil. Media di sterilisasi menggunakan autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

3.4.5 Pembuatan PSA (*Pseudomonas Selective Agar*)

Pembuatan PSA digunakan untuk uji cakram. PSA ditimbang sebanyak 6,78 gram menggunakan timbangan digital. Media dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan menggunakan akuades sebanyak 70 ml. Media dipanaskan diatas hotplate sampai mendidih. Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Media dibiarkan sampai suhu ruang lalu dituang ke cawan petri.

3.4.6 Pembuatan Natrium Fisiologis

Pembuatan Na-Fis digunakan untuk pengenceran bakteri. NaCl ditimbang 0,27 gram menggunakan timbangan digital. NaCl dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan menggunakan akuades sebanyak 30 ml. Dari erlenmeyer diambil 10 ml menggunakan pipet volume dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Dilakukan sebanyak tiga kali. Tabung reaksi ditutup kapas dan aluminium foil. Disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

3.4.7 Peremajaan Bakteri *P. fluorescens*

Pada penelitian ini isolat murni didapatkan dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Media agar miring yang sudah dibuat disiapkan terlebih dahulu. Bakteri diambil dari isolate murni menggunakan jarum ose yang sudah dipijarkan. Bakteri yang terdapat pada jarum ose digoreskan ke media agar dengan metode gores. Peremajaan dilakukan didalam LAF. Media agar miring diinkubasi pada inkubator dengan suhu 32°C selama 24-48 jam.

3.4.8 Kultur Bakteri *P. fluorescens*

Kultur bakteri *P. fluorescens* dilakukan dengan mengambil satu gores bakteri yang sudah diremajakan pada agar miring dengan menggunakan jarum ose. Bakteri yang sudah didapat pada jarum ose di celupkan ke media TSB. Media TSB di *vortex* agar homogen dengan bakteri. Media TSB ditutup kapas dan aluminium foil. Media di inkubasi pada inkubator selama 24-48 jam. Semua kegiatan kultur bakteri dilakukan di dalam LAF.

3.4.9 Pengenceran Bakteri *P. fluorescens*

Pengenceran bakteri *P. fluorescens* dilakukan dari bakteri yang dikultur pada TSB sebagai kepadatan 10^{10} CFU/ml dan dilakukan pengenceran bertingkat menggunakan Na-Fis dengan kepadatan mulai 10^9 CFU/ml, 10^8 CFU/ml dan 10^7 CFU/ml. Diambil 1 ml bakteri dari kepadatan 10^{10} CFU/ml dan dimasukkan ke 10^9 CFU/ml. Bakteri dengan kepadatan 10^9 CFU/ml di *vortex* agar homogen. Diambil 1 ml bakteri dari kepadatan 10^9 CFU/ml dan dimasukkan ke dalam 10^8 CFU/ml. Bakteri dengan kepadatan 10^8 CFU/ml di *vortex* agar homogen. Diambil 1 ml bakteri dari kepadatan 10^8 CFU/ml dan dimasukkan ke 10^7 CFU/ml. Bakteri dari kepadatan 10^7 CFU/ml di *vortex* agar homogen. Semua kegiatan pengenceran dilakukan didalam LAF.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Pewarnaan Gram

Prosedur pewarnaan gram yang pertama yaitu menyiapkan objek glass. Objek glass ditetesi akuades sebanyak satu tetes. Diambil bakteri dari media agar miring menggunakan jarum ose. Bakteri di jarum ose di goreskan pada objek glass dan diratakan. Objek glass difiksasi diatas bunsen. Ditetesi kristal violet menggunakan pipet tetes sebanyak satu tetes dan diratakan, didiamkan selama satu menit. Dibilas dengan akuades dan ditunggu sampai kering. Ditetesi

iodine sebanyak satu tetes dan diratakan, ditunggu selama satu menit. Dibilas menggunakan akuades sampai kering. Ditetesi alkohol sebanyak satu tetes. Ditetesi safranin sebanyak satu tetes dan diratakan, ditunggu selama 30 detik. Dibilas akuades dan ditunggu sampai kering. Diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x.

3.5.2 Uji Biokimia bakteri *P. fluorescens*

Menurut Rahayu dan Gumilar (2017), uji biokimia bakteri merupakan suatu cara atau perlakuan yang dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologinya. Menurut Samosir, Suryanto dan Desrita (2016), Prosedur identifikasi berdasarkan uji biokimia yaitu:

- Uji Motilitas

Sebanyak satu ose isolat bakteri ditusukkan ke medium uji SIM dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Uji positif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar, maka bakteri tersebut bergerak (motil) dan bila pertumbuhan bakteri tidak menyebar, maka bakteri tersebut tidak bergerak (non motil).

- Uji Katalase

Sebanyak 2 tetes H₂O₂ 3% diletakkan pada *object glass* steril. Isolat bakteri diambil menggunakan jarum ose steril, kemudian dipindahkan ke atas kaca objek dan dicampurkan. Uji positif ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung oksigen dan uji negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan atau gelembung-gelembung oksigen pada isolat bakteri (Hadioetomo, 1993).

- Uji Oksidase

Sebanyak satu ose isolat bakteri digoreskan pada kertas *Oxidase Test Strip*. Di tunggu selama 1 menit dan di amati hasilnya. Uji positif ditandai dengan perubahan warna menjadi biru violet dan uji negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada kertas *oxidase test strip*.

- Uji TSIA

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasi ke dalam media TSIA dengan cara menusuk tegak lurus pada bagian *butt* (tusuk) dan cara zig zag pada bagian *slant* (miring) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Perubahan warna kemudian diamati, apabila bagian *slant* berwarna merah dan *butt* berwarna kuning maka bakteri mampu memfermentasi glukosa, sedangkan apabila bagian *slant* dan *butt* keduanya berwarna kuning maka bakteri mampu memfermentasi sukrosa dan laktosa.

- Uji Gelatin

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasikan pada media cair Gelatin dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Uji positif ditandai dengan media cair tetap mencair apabila telah diletakkan di dalam lemari es selama beberapa menit dan uji negatif ditandai dengan membekunya media gelatin jika diletakkan di dalam lemari es.

- Uji Urea

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasi secara zig-zag pada permukaan agar miring media urea dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Uji positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi biru dan uji negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna pada media.

- Uji Citrat

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasi secara zig-zag pada permukaan agar miring media *Simmons Citrate* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Uji positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi biru dan uji negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna pada media.

- Uji MR

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasi ke dalam media MR-VP dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Setelah inkubasi selama 24 jam, media ditambahkan 3-4 tetes indikator *metil red*. Uji positif ditandai dengan perubahan warna medium menjadi merah, artinya terbentuk asam dan uji negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada media.

- Uji LIA

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasi secara tusuk lalu zig-zag pada permukaan agar miring media LIA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Uji positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi ungu dan uji negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna pada media..

- Uji Gula-Gulaan

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasikan ke dalam tabung-tabung reaksi yang berisi medium fermentasi glukosa, arabinosa, sorbitol, manitol, inositol dan sukrosa, dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Uji positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi kuning dan apabila dalam tabung terdapat gelembung, berarti fermentasi tersebut menghasilkan gas (CO₂).

- Analisis Data

Data yang telah diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan mendeskripsikan secara sistematis dan akurat secara ilmiah. Hasil uji terhadap isolat-isolat yang diperoleh, dilakukan upaya identifikasi bakteri berdasarkan

karakter biokimia sesuai dengan tabel biokimia dengan berpedoman pada buku "*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th Edition*".

3.5.3 Uji Fitokimia

Menurut Lau, Wahyudin dan Lallo (2018), ekstrak etanol daun sambung nyawa di uji fiokimia untuk mengetahui golongan senyawa kimianya meliputi uji alkaloid, uji flavonoid, uji saponin, uji tannin dan uji terpenoid/triterpenoid

- Alkaloid

Ekstrak etanol daun sambung nyawa terenkapsulasi dicampur dengan 5 ml kloroform dan 5 ml amoniak lalu dipanaskan, dikocok dan disaring. Sebanyak 5 tetes asam sulfat 2 N ditambahkan pada masing-masing filtrat, lalu dikocok dan didiamkan. Bagian atas dari masing-masing filtrat diambil dan diuji dengan pereaksi Dragendorf (endapan jingga), Mayer (endapan putih), dan Wagner (endapan coklat).

- Flavonoid

Ekstrak etanol daun sambung nyawa terenkapsulasi sebanyak ± 1 ml dicampurkan dengan 3 ml metanol, lalu dikocok, dipanaskan, dikocok lagi kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan serbuk Mg 0,1 g dan HCl pekat 2 tetes. Hasil ditunjukkan dengan terbentuknya endapan merah (flavon), endapan merah tua (flavonol/flavonon), dan endapan hijau (senyawa glikosida/aglikon).

- Saponin

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun sambung nyawa terenkapsulasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan kemudian dikocok selama 10 detik. Hasil jika terbentuk busa setinggi 1 sampai 10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N.

- Tanin

Sebanyak 0,5 g Ekstrak etanol daun sambung nyawa terenkapsulasi disari dengan 10 ml aquades kemudian disaring, filtratnya diencerkan dengan air sampai tidak berwarna. Larutan diambil sebanyak 2 ml dan ditambahkan 2 tetes FeCl₃ 1%. Jika terjadi warna hijau, biru atau kehitaman menunjukkan adanya tanin (12).

- Terpenoid

Ekstrak etanol daun sambung nyawa terenkapsulasi direaksikan dengan 0,5 ml etanol, 0,5 ml asam asetat anhidrat, dan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Hasil ditunjukkan dengan terbentuk warna hijau dan biru (triterpenoid), merah atau ungu (steroid) dan kecoklatan (terpenoid).

3.5.4 Pembuatan Dosis

Prosedur pembuatan dosis ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) yaitu dengan menimbang ekstrak sebanyak 25 mg menggunakan timbangan analitik dan dimasukkan ke dalam botol film. Ditambahkan DMSO 10% sebanyak 5 ml dan di *vortex* agar agar homogen. Didapatkan larutan stok ekstrak dengan dosis 5000 ppm sebanyak 5 ml.

Prosedur pembuatan DMSO 10% yaitu dengan melarutkan DMSO 100% sebanyak 1 ml dengan akuades steril sebanyak 9 ml kedalam botol film dan di *vortex* agar homogen. Didapatkan stok DMSO 10% sebanyak 10 ml.

Penelitian ini menggunakan lima perlakuan dengan dosis yang berbeda yaitu 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm dan 1000 ppm. Pada dosis 200 ppm diambil 0,06 ml larutan ekstrak dan ditambahkan 1,44 ml DMSO 10% serta di *vortex* agar homogen. Dosis 400 ppm diambil 0,12 ml larutan ekstrak dan ditambahkan 1.38 ml DMSO 10% serta di *vortex* agar homogen. Dosis 600 ppm diambil 0,18 ml larutan ekstrak dan ditambahkan 1.32 ml DMSO 10% serta di

vortex agar homogen. Dosis 800 ppm diambil 0,24 ml larutan ekstrak dan ditambahkan 1.26 ml DMSO 10% serta di *vortex* agar homogen. Dosis 1000 ppm diambil 0,30 ml larutan ekstrak dan ditambahkan 1.20 ml DMSO 10% serta di *vortex* agar homogen.

3.5.5 Uji Cakram

Prosedur penggunaan uji cakram yang pertama yaitu menyiapkan cawan petri yang sudah berisi media PSA. Kertas cakram steril diberi beberapa perlakuan yaitu direndam kedalam ekstrak daun sambung nyawa dengan dosis 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, 1000 ppm. Perlakuan kontrol positif yaitu dengan merendam kertas cakram pada dosis 5000 ppm dan perlakuan kontrol negatif direndam DMSO 10%. Semua perlakuan ditunggu sampai 15 menit. Bakteri *P. fluorescens* diambil 100 µl dan dimasukkan kedalam cawan petri berisi media PSA dan diratakan menggunakan triangle. Kertas cakram yang sudah direndam selama 15 menit dimasukkan kedalam media PSA yang sudah terdapat bakteri. Media yang sudah ditanam bakteri dan diberi kertas cakram diinkubasi pada inkubator dengan suhu 32°C selama 24-48 jam. Setelah di inkubasi, diamati zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram dan diukur menggunakan jangka sorong.

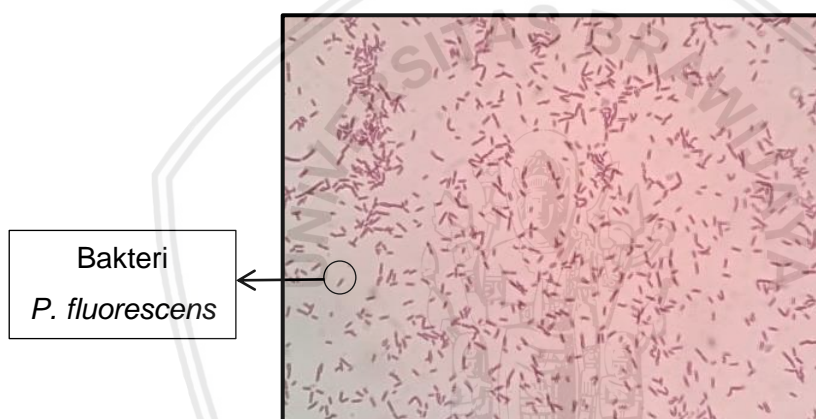
3.6 Parameter Uji

Parameter uji dalam penelitian ini ada 2 yaitu parameter utama dan parameter penunjang. Parameter utama dalam penelitian ini adalah hasil pengamatan yaitu zona bening yang terlihat disekitar kertas cakram. Parameter penunjang yaitu suhu inkubasi yang digunakan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* selama penelitian.

4 PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi Bakteri *P. fluorescens*

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi bakteri dengan menggunakan pewarnaan gram. Tujuan identifikasi bakteri untuk mengetahui bahwa bakteri yang akan digunakan adalah *P. fluorescens*. Pewarnaan gram digunakan untuk mengetahui morfologi sel bakteri serta untuk membedakan bakteri gram positif dan gram negatif. Hasil pewarnaan gram menunjukkan bahwa bakteri *P. fluorescens* adalah bakteri gram negatif yang disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Pewarnaan Gram Bakteri *P. fluorescens* dengan perbesaran 1000x (Dokumentasi Pribadi, 2019)

Berdasarkan perwarnaan Gram, koloni bakteri *P. fluorescens* terlihat berwarna merah muda, berbentuk batang. Hal ini dikarenakan bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis, lipid yang tebal dan permeabilitas yang cukup tinggi sehingga mudah melepas zat warna kristal violet dan bakteri hanya menyerap zat warna safranin. Gram negatif akan berwarna merah karena lipid yang terdapat didalam dinding selnya akan larut pada waktu proses pencucian dengan alkohol sehingga pori-pori dan dinding selnya akan membesar dan menyebabkan terlepasnya zat warna kristal violet yang diserap sebelumnya dan bakteri akan berwarna cerah setelah diberikan zat warna safranin (Rapi, Erina dan Darniati, 2017).

Pada proses penelitian ini dilakukan uji biokimia terhadap bakteri *P. fluorescens* di Laboratorium Uji Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara. Hasil uji biokimia yang dilakukan di Laboratorium Uji Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara dapat disajikan pada Lampiran 1. Hasil uji biokimia dari bakteri *P. fluorescens* yaitu gram negatif, berbentuk batang, katalase positif, oksidase positif, H₂S negatif, indol negatif, citrate negatif, VP negatif, MR negative, urea negative, glukosa positif, sukrosa negative dan dapat hidup pada suhu 37°C. Menurut Nursyirwani dan Amolle (2007) bahwa bakteri *P. fluorescens* dapat tumbuh optimal pada kisaran suhu 30-35°C. Maka jika suhunya 37°C bakteri dapat hidup namun bukan merupakan suhu optimum untuk pertumbuhannya. Menurut Wahyuni, Lianto dan Khaeruni (2014), Uji biokimia merupakan salah satu uji untuk identifikasi bakteri, uji-uji tersebut digunakan untuk mengetahui aktivitas metabolisme mikroorganisme. Sifat metabolisme bakteri dalam uji biokimia diamati dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen-reagen kimia dan kemampuannya menggunakan senyawa tertentu sebagai sumber karbon dan sumber energi.

4.2 Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia ekstrak daun sambung nyawa bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yaitu flavonoid, alkaloid, tannin, saponin dan terpenoid. Berdasarkan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan terhadap ekstrak daun sambung nyawa menunjukkan hasil positif mengandung senyawa aktif alkaloid, tannin, saponin, dan triterpenoid, sedangkan flavonoid menunjukkan hasil negatif. Hasil Uji fitokimia disajikan pada Lampiran 2.

Hal ini tidak sesuai dengan pernyataan Lau, Wahyudin dan Lallo (2018)), hasil uji fitokimia daun sambung nyawa menunjukkan hasil positif alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Menurut Neldawati, Ratnawati dan Gusnedi (2013), senyawa aktif yang ada didalam tanaman berbeda-beda di

antara setiap bagian, jaringan, dan umur tanaman, serta dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan. Faktor-faktor ini adalah temperatur, sinar ultraviolet dan tampak, nutrisi, ketersediaan air, dan kadar CO₂ pada atmosfer. Menurut Arifah, Saleh dan Erwin (2016), semakin lama sampel yang di uji fitokimia akan menurunkan kestabilan zat warna alami yaitu ditandai dengan penurunan serapan. Hal ini disebabkan beberapa faktor yaitu pH, temperatur, cahaya dan oksigen.

Menurut Heni, Arreneuz, dan Zahara (2015), senyawa aktif alkaloid, terpenoid dan saponin memiliki mekanisme kerja untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu, alkaloid juga menghambat pembentukan sintesis protein sehingga dapat mengganggu metabolisme bakteri.

senyawa terpenoid mempunyai kemampuan dalam menghambat bakteri. Mekanisme penghambatan senyawa terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin pada membran luar dinding sel bakteri dan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin mengakibatkan masuknya senyawa yang akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel bakteri akan kekurangan nutrisi dan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati.

Senyawa saponin akan berinteraksi dengan dinding sel bakteri dan menyebabkan dinding sel tersebut pecah atau lisis. Saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel, maka saat tegangan permukaan terganggu zat antibakteri akan dapat dengan mudah masuk ke dalam sel dan akan mengganggu metabolisme sehingga bakteri mati. Demikian pula dengan senyawa

tanin yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengkoagulasi protoplasma bakteri.

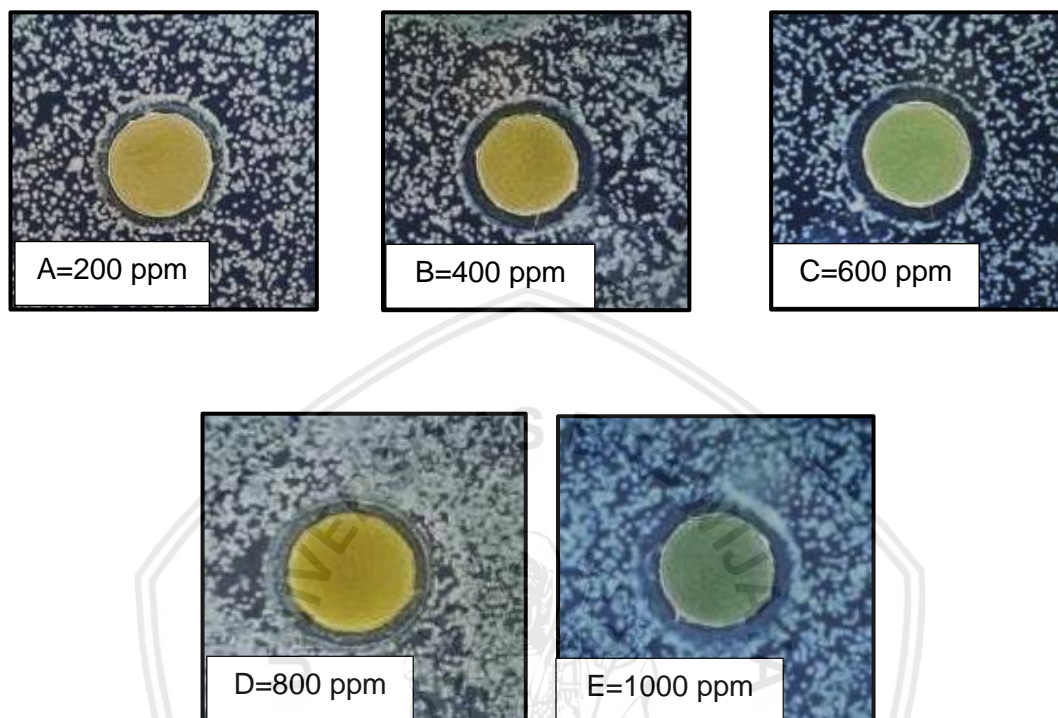
Menurut Rahman, Haniastuti dan Utami (2017), mekanisme kerja tanin sebagai bahan antibakteri antara lain melalui perusakan membran sel bakteri karena toksisitas tanin dan pembentukan ikatan kompleks ion logam dari tanin yang berperan dalam toksisitas tanin. Bakteri yang tumbuh dalam kondisi aerob memerlukan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Adanya ikatan antara tanin dan besi akan menyebabkan terganggunya berbagai fungsi bakteri.

4.3 Uji Cakram

Hasil dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens*. Bakteri *P. fluorescens* yang diperoleh dari isolate murni BBPBAP Jepara. Kertas cakram direndam ekstrak 15 menit kemudian dilakukan penanaman kertas cakram ke dalam cawan petri yang berisi bakteri *P. fluorescens* dan diinkubasi selama 24-48 jam.

Uji cakram dilakukan dengan menggunakan 5 dosis ekstrak daun sambung nyawa yaitu dosis 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, 1000 ppm, kontrol positif dan kontrol negatif. Digunakan dosis yang dimulai dari 200 ppm merupakan hasil dari penelitian pendahuluan yang mana kertas cakram yang direndam dalam ekstrak dosis 200 ppm memiliki daya hambat. Kontrol positif menggunakan ekstrak dosis 5000 ppm yang digunakan sebagai perbandingan. Selama penelitian didapati hasil pengamatan bahwa setiap dosis perlakuan memiliki zona bening. Diameter zona bening yang didapat juga dipengaruhi dosis yang digunakan dalam penelitian. Berdasarkan hasil penelitian tentang aktifitas antibakteri ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P.*

fluorescens secara *in vitro* didapatkan hasil zona hambat yang disajikan pada Gambar 6 dan gambar kontrol positif dan kontrol negatif disajikan pada Lampiran 11.



Gambar 6. Hasil Uji Cakram

Berdasarkan hasil uji cakram didapatkan hasil zona bening pada setiap perlakuan. Zona bening yang terbentuk dari dosis terendah 200 ppm sampai tertinggi 1000 ppm mengalami peningkatan. Zona bening dipengaruhi oleh konsentrasi yang diberikan pada setiap perlakuan. Menurut Kurniawan dan Aryana (2015), faktor-faktor teknis yang mempengaruhi ukuran daya hambat pada metode difusi cakram yaitu kepekatan inokulum, waktu pemasangan cakram, suhu inkubasi, waktu inkubasi, ukuran lempeng, ketebalan media agar, dan pengaturan jarak cakram antimikroba, potensi cakram antimikroba, komposisi media. Menurut Adila, Nurmiati dan Agustien (2013), semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka senyawa aktif antimikroba yang terkandung makin banyak sehingga kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba semakin tinggi pula.

Menurut Septiana dan Simanjuntak (2016), kemampuan daya antibakteri berdasarkan diameter daya hambatnya dapat digolongkan menjadi 4 tingkatan yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 1. Kategori Hambatan Diameter Zona Bening

Diameter Zona Bening	Kategori Hambatan
<5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
>20 mm	Sangat Kuat

Berdasarkan tabel kategori hambatan, maka dapat ditentukan bahwa daya hambat ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens* masuk kedalam kategori sedang. Hal ini dikarenakan pada perlakuan A dosis terkecil 200 ppm sampai perlakuan E dosis tertinggi 1000 ppm memiliki diameter rata-rata yang masuk kedalam range 5-10 mm, maka memiliki kategori sedang.

Hasil uji cakram dari ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) dengan lima perlakuan dan tiga kali ulangan didapatkan rata-rata zona hambat setelah dilakukan pengamatan selama 24 jam disajikan pada Tabel 4.

Tabel 2. Data hasil pengukuran Zona bening ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens* setelah 24 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata+STDEV
	1	2	3		
A	7.41	7.21	7.33	21.95	7.32+0,10
B	7.74	8.22	7.47	23.43	7.81+0,38
C	8.39	7.5	7.7	23.59	7.86+0,46
D	8.18	8.09	7.8	24.07	8.02+0,19
E	8.24	8.35	8.37	24.96	8.32+0,070
K (-)	6.36	6.14	6.72	19.22	6.41+0,14
K (+)	9.76	9.07	9.84	28.67	9.56+0,42
Total				165.89	

Pada Tabel 4 didapat bahwa perlakuan E dengan dosis 1000 ppm memiliki rerata zona bening tertinggi yaitu sebesar 8,32 mm dan rerata zona bening terendah yaitu pada perlakuan A dengan dosis 200 ppm yaitu sebesar

7,32 mm. Selanjutnya dilakukan uji analisa sidik ragam untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan. Berikut adalah tabel analisa sidik ragam yang disajikan pada Tabel 5.

Tabel 3. Uji Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	6	15.510	2.585	29.714	2.85	4.46
Acak	14	1.218	0.087			
Total	20	16.728				

Keterangan :

** : Berbeda nyata

Pada Tabel 5 perhitungan analisis sidik ragam didapatkan hasil bahwa ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens* berbeda nyata. Nilai F. Hitung yang di dapat yaitu 29,714 dengan nilai F5% yaitu 2,85 dan F1% yaitu 4,46. Maka nilai Ho ditolak yang berarti perlakuan yang diberikan terhadap bakteri memiliki hasil berbeda nyata. Perbedaan masing-masing perlakuan terhadap zona bening daya hambat bakteri didukung dengan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf $p > 5\%$ (kepercayaan 95%) maupun taraf nyata 1% (kepercayaan 99%). Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) didapatkan untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan disajikan pada Tabel 6.

Tabel 4. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

Per lakuan	Rerata	K-	A	B	C	D	E	K+	Notasi
		6.53	7.32	7.81	7.86	8.02	8.32	9.56	
K-	6.53	—							a
A	7.32	0.79**	—						b
B	7.81	1.28**	0.49 ^{ns}	—					b
C	7.86	1.34**	0.55*	0.05 ^{ns}	—				c
D	8.02	1.50**	0.71*	0.21 ^{ns}	0.16 ^{ns}	—			c
E	8.32	1.79**	1.00**	0.51*	0.46 ^{ns}	0.30 ^{ns}	—		c
K+	9.56	3.03**	2.24**	1.75**	1.69**	1.53**	1.24**	—	d

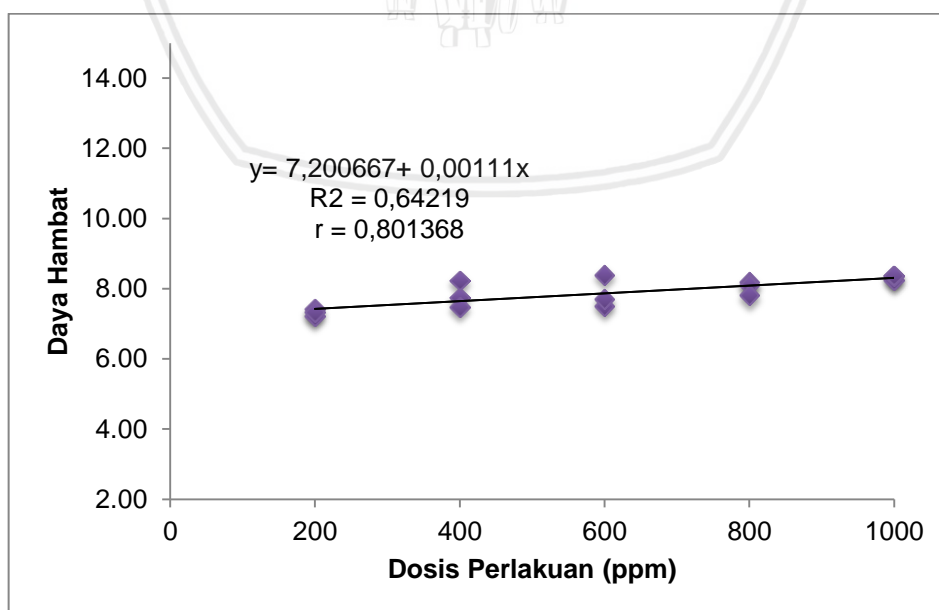
Keterangan :

ns : Non signifikan

* : Berbeda nyata

** : Berbeda sangat nyata

Pada hasil tabel uji BNT didapatkan nilai hasil dari perlakuan E (1000 ppm) memberikan pengaruh berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (200 ppm), B (400 ppm), C (600 ppm) dan D (800 ppm). Hasil tersebut berdasarkan pada perlakuan A yang tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap semua perlakuan sehingga diberi notasi a. Perlakuan B tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap perlakuan A sehingga diberi notasi a. Perlakuan C terhadap perlakuan A dan B berbeda nyata sehingga diberi notasi b. Perlakuan D berbeda nyata terhadap perlakuan A dan B namun tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap perlakuan C sehingga diberi notasi b. Perlakuan E berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A dan B namun berbeda nyata terhadap perlakuan C dan D sehingga diberi notasi c. Dari data diatas didapatkan bahwa perlakuan E (1000 ppm) merupakan dosis efektif dan terbaik untuk menghambat pertumbuhan dari bakteri *P. fluorescens*. Untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antar perlakuan dengan zona bening maka perlu dilakukan uji polinomial ortogonal. Hasil perhitungan uji polinomial orthogonal yang berupa grafik disajikan pada Gambar 7 berikut.



Gambar 7. Grafik Uji Polinomial Ortogonal

Berdasarkan Gambar 7 bahwa penambahan dosis pada perlakuan ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap zona bening menunjukkan perpotongan garis pola linier dengan persamaan $y = 7,200667 + 0,00111x$ dan koefisien $R^2 = 0,64219$. Pada dosis 200 ppm hingga 1000 ppm grafik mengalami peningkatan zona bening. Dari grafik tersebut maka dapat disimpulkan bahwa semakin besar dosis ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) yang digunakan maka semakin besar pula zona hambat yang terbentuk. Hal ini menunjukkan ekstrak daun sambung nyawa mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*. Menurut Arofah, Sulistyani dan Ardhi (2017), bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar daya hambat pada bakteri, karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak berarti semakin banyak kandungan zat atau bahan senyawa aktif yang terkandung didalamnya.

Berdasarkan penelitian mengenai aktifitas antibakteri ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens* bahwa dosis yang baik digunakan sebagai antibakteri berdasarkan kekuatan daya hambatnya yaitu pada perlakuan E dengan dosis 1000 ppm yang bersifat bakteriostatik dengan respon yang sedang. Dikatakan bakteriostatik karena setelah pengamatan 48 jam zona bening semakin mengecil. Sehingga dapat disimpulkan bakteri ini hanya terhambat pertumbuhannya dan tidak mengalami kematian. Menurut Nendissa (2012), antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri, dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik. Menurut Roihanah, Sukoso dan Andayani (2013), golongan bakteriostatik bekerja dengan jalan menghambat sintesis protein pada ribosom bakteri melalui proses difusi pasif melalui kanal hidrofilik dan sistem transportasi aktif. Setelah antibakteri masuk ke dalam ribosom, maka akan berikatan dengan ribosom dan menghalangi masuknya kompleks tRNA-asam amino pada lokasi asam amino, sehingga bakteri tidak dapat berkembang biak.

4.4 Parameter Penunjang

Parameter penunjang pada penelitian ini adalah suhu selama inkubasi. Suhu pada inkubator menjadi faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Suhu inkubasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 32°C yang sesuai dengan suhu pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*. Menurut Nursyirwani dan Amolle (2007) bahwa bakteri *P. fluorescens* dapat tumbuh optimal pada kisaran suhu 30-35°C dan pertumbuhannya terhambat apabila suhu di atas 41°C.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang aktivitas antibakteri ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro* dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) dapat menghambat aktivitas *P. fluorescens* dan bersifat bakteriostatik. Dari hasil uji cakram didapatkan kesimpulan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin besar zona bening yang terbentuk. Zona bening terendah didapatkan pada perlakuan A (200 ppm) sebesar 7,23 mm dan zona bening terbesar ada pada perlakuan E (1000 ppm) sebesar 8,32 mm.

5.2 Saran

Disarankan dari hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun sambung nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro* dapat menghambat aktivitas bakteri *P. fluorescens* dengan dosis 1000 ppm namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan dosis yang berbeda untuk mengetahui dosis optimum aktivitas antibakteri ekstrak daun sambung nyawa. Selain itu perlu dilakukan penelitian secara *in vivo* untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun sambung nyawa terhadap hewan uji yang terinfeksi *P. fluorescens*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiathy, I. A. G. D., N. W. Suniti, dan I. Suada. Ketut. 2017. Pengaruh inokulasi *Pseudomonas* spp. indigenus terhadap penyakit akar gada dan pertumbuhan tanaman kubis (*Brassica oleracea* L.). *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. **6** (3): 329-339.
- Adila, R., Nurmiati dan A. Agustien. 2013. Uji antimikroba *Curcuma* spp. terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. **2** (1): 1-7.
- Amaliyah, N dan A. T. Gunawan. 2017. *Penyehatan Makanan dan Minuman-A*. Deepublish:Yogyakarta. 191 hlm.
- Anonymous. 2017. KKP. [http://kkp.go.id/an-component/media/upload-gambar-pendukung/kkp/LAPORAN/Laporan%20Kinerja%20KKP%202017%20\(R EV 4-%20\(28Maret\).pdf](http://kkp.go.id/an-component/media/upload-gambar-pendukung/kkp/LAPORAN/Laporan%20Kinerja%20KKP%202017%20(R EV 4-%20(28Maret).pdf). Diakses tanggal 2 Februari 2019.
- Arifah, C. N., C. Saleh dan Erwin. 2016. Uji fitokimia dan uji stabilitas zat warna dari ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* mill) dengan metode spektroskopi uv-vis. *Jurnal Atomik*. **1** (1): 18-22.
- Arofah, R. Y., A. Sulistyarsi dan M. W. Ardhi. 2017. Uji antibakteri minyak ikan tuna (*thunnus* sp) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus Aureus*. Prosiding Seminar Nasional SIMBIOSIS II.
- Arwiyanto, T., Y. M. S. Maryudani dan N. N Azizah. 2007. Sifat-sifat fenotipik *Pseudomonas fluoresen*, agensia pengendalian hayati penyakit lincat pada tembakau temanggung. *Biodiversitas*. **8** (2): 147-151.
- Ashari, C., R. A. Tumbol dan M. E. F. Kolopita. 2014. Diagnosa penyakit bakterial pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang di budi daya pada jaring tancap di Danau Tondano. *Budidaya Perairan*. **2** (3): 24-30.
- Azis, T., S. Febrizky dan A. D. Mario. 2014. Pengaruh jenis pelarut terhadap persen *yield alkaloid* dari daun salam india (*Murraya koenigii*). *Teknik Kimia*. **20** (2): 1-6.
- Bakhtra, D. D. A., J. Jubaha dan E. Yusdi. 2018. Uji aktivitas fraksi dari ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Farmasi Higea*. **10** (1): 10-18.
- Budianto dan H. Suprastyani. 2017. Aktivitas antagonis *Bacillus subtilis* terhadap *Streptococcus iniae* dan *Pseudomonas fluorescens*. *Jurnal Veteriner*. **18** (3): 409-415
- Candrasari, A., M, Romas. Amin., M. Hasbi dan O. R. Astuti. 2012. Uji daya antimikroba ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Eschericia coli* ATCC 11229 dan *Candida albicans* ATCC 10231 secara *In Vitro*. *Biomedika*. **4** (1): 9-16.

- Chaw-Sen Hew, Boon-Yin Khoo and Lay-Harn Gam. 2013. The Anti-Cancer Property of Proteins Extracted from *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. *Plos One*. **8** (7): 1-10.
- Christiningrum, O. D., A. Budiharjo dan E. Kusdiyantini. 2016. Karakterisasi molekuler tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens* [Lour.] Merr) berdasarkan 18S rRNA. *Jurnal Biologi*. **5** (3): 60-70.
- El-Kader, M. F. A and T. M. S. Balabel. 2017. Isolation and molecular characterization of some bacteria implicated in the seasonal summer mortalities of farm-raised *Oreochromis niloticus* at Kafr El-Sheikh and Dakahlia. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. **53** (2): 107-113.
- Fadli, M. Y. 2015. Benefits of sambung nyawa (*Gynura procumbens*) substance as anticancer. *Journal Majority*. **4** (5): 50-53.
- Fatisa, Y. 2013. Daya antibakteri ekstrak kulit dan biji buah pulasan (*Nephelium mutabile*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in vitro*. *Jurnal Peternakan*. **10** (1): 31 – 38.
- Hardi, E. H dan C. B. Pebrianto. 2012. Isolasi dan uji postulat koch *Aeromonas* sp. dan *pseudomonas* sp. pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di sentra budidaya loa kulu kabupaten kutai kartanegara. *Jurnal Ilmu Perikanan Tropis*. **16** (2): 35-39.
- Harti, A.S. 2015. Mikrobiologi Kesehatan. Yogyakarta. 274 hlm.
- Heni, S. Arreneuz dan T. A. Zaharah. 2015. Efektivitas antibakteri ekstrak kulit batang belimbing hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. **4** (1): 84-90.
- Hernawati, R. D. Inventarisasi Patogen pada Ikan Botia (*Chromobotia macracanthus* Bleeker) di Stasiun Karantina Ikan Kelas I Supadio, Pontianak. *Jurnal Sain Veteriner*. **33** (1): 103-109.
- Hui-Li Tan, Kok-Gan Chan, P. Pusparajah, Learn-Han Lee and Bey-Hing Goh. 2016. *Gynura procumbens*: an over view of the biological activities. *Frontiers in Pharmacology*. **7**: 1-14.
- Ismail, Y. S., C. Yulvizar dan Putriani. 2017. Isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi biji kakao (*Theobroma cacao* L.) *Jurnal Bioleuser*. **1** (2): 45-53.
- Kadji. Y. 2016. Metode Penelitian Ilmu Administrasi. Deepublish:Yogyakarta. 176 hlm.
- Karlina, C. Y., M, Ibrahim dan Trimulyono, G.. 2013. Aktivitas antibakteri ekstrak herba krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Lentera Bio*. **2** (1): 87–93.

- Katrin, D., Idiawati, N dan Sitorus, B. 2015. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun malek (*Litsea graciae Vidal*) terhadap bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. **4** (1): 7-12.
- 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 ektoparasit *Argulus* sp. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **1** (2): 129-134.
- Kurniawan, B dan W. F. Aryana. 2015. Binahong (*Cassia alata l*) as inhibitor of *Escherichiacoli* growth. *Journal Majority*. **4** (4): 100-104.
- Lau, S. H. A., E, Wahyudin dan S. Lallo. 2018. Potensi antioksidan ekstrak etanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) terenkapsulasi maltodextrin dan pengaruhnya terhadap kadar MDA darah tikus wistar (*Rattus novergicus*) jantan yang diinduksi CCL₄. *Farmasi dan Farmakologi*. **22** (3): 93-98.
- Lukistyowati, I. dan Kurniasih. 2011. Kelangsungan hidup ikan mas (*Cyprinus carpio l*) yang diberi pakan ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) dan di infeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **16** (1): 144-160.
- Luturmas, A. 2013. Isolasi dan identifikasi bakteri penghambat bakteri *Vibrio* sp. *Jurnal Triton*. **9** (1): 63-74.
- Manurung, U. N dan D. Susantie. 2017. Identifikasi bakteri patogen pada ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di lokasi budidaya ikan air tawar Kabupaten Kepulauan Sangihe. *Budidaya Perairan* **5** (3): 11-17.
- Marnoto, T., G. Haryono, D. Gustinah dan F. A. Putra. 2012. Ekstraksi tannin sebagai bahan pewarna alami dari tanaman putrimalu (*Mimosa pudica*) menggunakan pelarut organik. *Reaksi*. **14** (1): 39-45.
- Mastan, S.A. 2013. Pseudomonas septicemia in *Labeo rohita* (ham.) and *Cyprinus carpio* (linn.) in andhra pradesh–natural occurrence and artificial challenge. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. **5** (2): 564-568.
- Murwantoko, Rozi, I. Istiqomah dan K. H. Nitimulyo. 2013. Isolasi, karakterisasi, dan patogenitas bakteri Penyebab penyakit pada gurami (*Osphronemus goramy*) Di kabupaten bantul. *Jurnal Perikanan*. **18** (2): 83-90.
- Musanti, D., E. Fachriyah, dan D. Kusrini. 2016. Isolasi, identifikasi, dan uji aktivitas antibakteri senyawa flavonoid daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.). 315-351.
- Neldawati, Ratnawulan dan Gusnedi. 2013. Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *Pillar Of Physics*. **2** (2): 76-83.
- Nendissa, D. M. 2012. Analisa kemampuan alga hijau silpa (*Dictyosphaeria versluysii*) sebagai antibakteri. *Jurnal Ekologi dan Sains*. **1** (1): 47-52.

- Ngajow, M., J. Abidjulu dan V. S. Kamu. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal Mipa Unsrat*. **2** (2): 128-132.
- Novita, W. 2016. Uji aktivitas antibakteri fraksi daun sirih (*Piper betlel*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. *Jambi Medical Journal*. **4** (2): 140-155.
- Nuria, M. C., A. Faizatun dan Sumantri. 2009. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, Dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurna Ilmu Pertanian*. **5** (2): 26-37.
- Nurjanah, S., S. B Prayitno, dan Sarjito. 2014. Sensitivitas bakteri *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp. yang diisolasi pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) sakit terhadap berbagai macam obat beredar. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3** (4): 308-316.
- Nurlaila, I. Dewiyanti dan S. Wijaya. 2016. Identifikasi dan prevalensi ektoparasit pada Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) di Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. **1** (3): 388-396.
- Nursyirwani dan K. C. Amolle. 2007. Isolasi dan karakterisasi bakteri hidrokarbonoklastik dari perairan dumai dengan sekuen 16S rDNA. *Ilmu Kelautan*. **12** (1): 12-17.
- Purnomo, B. H. 2011. Metode Dan Teknik Pengumpulan Data Dalam Penelitian Tindakan Kelas (Classroom Action Research). *Pengembangan Pendidikan*. **8** (1): 251-256.
- Rahayu, S. A dan M. H. Gumilar. 2017. Uji cemaran air minum masyarakat sekitar margahayu raya bandung dengan identifikasi bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi Indonesia*. **4** (2): 50-56.
- Rahayuniati, R. F dan E. Mugiastuti. 2012. Keefektifan *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas fluorescens* mengendalikan *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici dan *Meloidogyne* sp. Penyebab penyakit layu pada tomat secara *in vitro*. *Jurnal Pembangunan Pedesaan*. **12** (1): 65-70.
- Rahmadian, C. A., Ismail, M. Abrar, Erina, Rastina dan Y. Fahrimal. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri *Pseudomonas* sp pada ikan asin di tempat pelelangan ikan labuhanhaji aceh selatan. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*. **2** (4): 493-502
- Rahman, F. A., T. Haniastuti dan T. W. Utami. 2017. Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Kedokteran Gigi Indonesia*. **3** (1): 1-7.
- Rapi, D. H., Erina dan Darniati. 2017. Isolasi dan identifikasi *Pseudomonas* sp Pada telur burung puyuh (*Coturnix-coturnix japonica*) yang gagal menetas

di desa garot kecamatan darul imarah Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner.* **1** (1): 019-023.

- Riany, H., I. O. Susilawati, dan U. Mardhiah. 2015. Aktivitas antimikroba beberapa jenis cairan pembersih antibakteri terhadap bakteri tanah di kawasan kampus universitas jambi mendalo. Universitas Tanjungpura Pontianak. 251-258.
- Rismayani dan Rohimatun. 2017. Siklus hidup larva *Nyctemera coleta* dan *Paliga auratalis* sebagai hama pada tanaman daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) *The Life Cycle of Nyctemera coleta and Paliga auratalis in Gynura procumbens. Leaf. Buletin Penelitian Taman Rempah dan Obat.* **28** (1): 89-96.
- Ristiani, D. I., I. Rustikawati dan W. Lili. 2015. Efektivitas ekstrak Biji Pepaya Mentah (*Carica papaya* L.) dalam pengobatan benih ikan nila yang terinfeksi bakteri *streptococcus agalactiae*. *Jurnal Perikanan Kelautan.* **6** (2): 23-31.
- Rofiani, E. M., B. D. Madusari dan H. Soeprapto. 2017. Identifikasi keberadaan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan di kolam balai benih ikan Karanganyar Kabupaten Kekalongan. *Pena Akuatika.* **15** (1): 61-71.
- Rohin, M. A. K., M. N. Jumli, N. Ridzwan, A. A. Baig, A. Z. A. Latif dan N. A. Hadi. 2018. Effect of *Gynura procumbens* extracts on anti-proliferative activity and its associated morphological changes of human *Glioblastoma multiforme* cell line (U-87). *Pharmacogn Journal.* **10** (3): 492-496.
- Roihanah S., Sukoso, S. Andayani. 2013. Aktivitas antibakteri ekstrak teripang *Holothuria* sp. terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *In vitro*. *Journal of Experimental Life Science.* **3** (1): 40-44.
- Rosyidah, K., S.A. Nurmuhamina, N. Komari dan M. D. Astuti. 2010. Aktivitas antibakteri saponin dari kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera casturi*). *Alchemy.* **1** (2): 53-103.
- Samosir, M. F., D. Suryanto dan Desrita. 2016. Isolasi dan identifikasibakteri potensial probiotik pada saluran pencernaan ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Teknik Kimia USU.* **6** (1): 42-54
- Sanz, D. G., E. Arrebola, F. M. Granero, S. G. Méndez, C. Muriel, E. B. Romero, M. Martín, R. Rivilla and M. R. Nieto. 2017. Classification of isolates from the *Pseudomonas fluorescens* complex into phylogenomic groups based in group-specific markers. *Frontiers in Microbiology.* **8**: 1-10.
- Sari, D. I dan L. Triyasmono. 2017. Rendemen dan flavonoid total ekstrak etanol kulit batang bangkal (*Nauclea subdita*) dengan metode maserasi ultrasonikasi. *Jurnal Pharmascience.* **4** (1): 48-53.
- Sarjito, S. B. Prayitno dan A. H. C. Haditomo. 2013. Buku Pengantar Parasit dan Penyakit Ikan. UPT UNDIP. Semarang. 92 hlm.

- Sastrosupadi, A. 2002. Rancangan Percobaan Bidang Praktis Bidang Pertanian. Kanisius:Yogyakarta. 244 hlm.
- Scales, B. S., R. P. Dickson, J. J. Lipuma and G. B. Huffnagle. 2014. Microbiology, genomics, and clinical significance of the *Pseudomonas fluorescens* species complex, an unappreciated colonizer of humans. *Journals American Society for Microbiology*. **27** (4): 927-948.
- Sembiring, T. dan L. Sriwuryandari. 2000. Bioeograoasi senyawa aromatic oleh *Pseudomonas* sp isolat I₄ dari tablet bakteri. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. **10** (2): 30-36.
- Septiana E. dan P. Simanjuntak. 2016. Aktivitas penghambatan bakteri pembentuk histamin dan antioksidan kapang endofit kunyit sebagai pengawet alami. *Biopropal Industri*. **7** (1): 1-8.
- Sinaga, M. S., P. D Siagian dan R. Ariska. 2017. Pemanfaatan ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* [lour].merr) sebagai antioksidan pada minyak kelapa menggunakan pelarut methanol. *Jurnal Teknik Kimia USU*. **6** (2): 41-47.
- Siregar, A. F., A. Sabdono dan D. Pringgenies. 2012. Potensi antibakteri ekstrak rumput laut terhadap bakteri penyakit kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal Of Marine Research*. **1** (2): 152-160.
- Soleha, T. U. 2015. Uji kepekaan terhadap Antibiotik. *Jurnal kedokteran Universitas Lampung*. **5** (9): 119-123.
- Sumino, A. Supriyadi dan Wardiyanto. 2013. Efektivitas ekstrak daun ketapang (*Terminalia cattapa* L.) untuk pengobatan infeksi *Aeromonas salmonicida* pada ikan patin (*Pangasionodon hypophthalmus*. *Jurnal Sain Veteriner*. **31** (1): 79-88.
- Suyono, Y dan F. Salahudin. 2011. Identifikasi dan karakterisasi bakteri *Pseudomonas* pada tanah yang terindikasi terkontaminasi logam. *Jurnal Biopropal Industri*. **2** (1): 8-13.
- Wahyuni, S., Lianto dan A. Khaeruni. 2014. Isolasi dan karakterisasi bakteri manolitikasal bonggol pohon sagu. *Jurnal Agroteknos*. **4** (3): 174-179.
- Wuen Yen Teoh, N. A. Wahab, J. S. M. Richardson and Kae Shin Sim. 2016. Evaluation of antioxidant properties, cytotoxicity and acute oral toxicity of *Gynura procumbens* (Compositae). *Sains Malaysiana*. **45** (2): 229-235.
- Yuan-Yuan Chun, Heng Chi and Li Sun. 2015. *Pseudomonas fluorescens*: Iron-responsive proteins and their involvement in host infection. *Veterinary Microbiology*. **176**: 309-320.
- Yulvizar, C., I. Dewiyanti dan C. N. Defira. 2014. Seleksi bakteri berpotensi probiotik dari ikan mas (*Cyprinus carpio*) indogenous jantho berdasarkan aktivitas antibakteri secara *in vitro*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. **6** (2): 44-49.

Zhigang Wang, Chunlong Wang, Yimin You, Weihui Xu, Zhihang Lv, Zeping Liu, Wenjing Chen, Yiran Shi and Junhe Wang. 2019. Response of *Pseudomonas fluorescens* to dimethyl phthalate. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 167: 36–43.

Zulkarnain, M., P. Purwanti dan E. Indrayani. 2013. Analisis pengaruh nilai produksi perikanan budidaya terhadap produk domestik bruto sektor perikanan di Indonesia. *Journal Economic and Social of Fisheries and Marine*. 1 (1): 52-72.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Biokimia Bakteri *P. fluorescens*



KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN
DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA
BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA AIR PAYAU
LABORATORIUM UJI BBPBAP JEPARA
 Alamat surat: PO Box 1 Jepara , Kantor: Jl. Cik Lanang – Bulu Jepara 59418
 Telp. : (0291) 591125, Faximili : (0291) 591724
www.bbpbapjepara.djpb.kkp.go.id ; Email: bbpbapjpr@gmail.com

HASIL UJI BIOKIMIA

Hal : Uji biokimia Identifikasi Bakteri
 Asal : Lab. Mikrobiologi
 Alamat : BBAPAP Jepara
 Metode : Cowan and stell's, Manual for Identification of medical bacteria
 Hasil :

Uji Bio Kimia	Isolat
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Gram	—
Bentuk	Batang
Katalase	+
Oksidase	+
H ₂ S	—
Indol	—
Citrate	+
OF medium	Oksidatif
VP	—
MR	—
TSIA	A/A
Urea	—
Glukosa	+
Sukrosa	—
37° C	+
Pigment flourecent	+

Lab Mikrobiologi BBPBAP Jepara
 Penyelia



Sri Marti Astuti, SP.

Lampiran 2. Hasil Uji Fitokimia Daun Sambung Nyawa (*G. procumbens*)



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 37D / 102.7 / 2019
Sifat : Biasa
Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

- Identitas Pemohon
Nama : Gadis Ayu Novita Sari
NIM : 155080501111047
Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
Alamat Instansi : Malang
- Identitas Sampel
Nama daerah sampel : Sambung Nyawa
Nama latin : *Gynura procumbens*
Bagian Sampel : Daun
Bentuk sampel : Ekstrak
Pelarut : Etanol 96%
Tanggal penerimaan : 09 April 2019
Tanggal pemeriksaan : 11 April 2019

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Negatif
2.	Alkaloid		
	Meyer	Endapan Putih	Negatif
	Dragendrof	Endapan Jingga	Negatif
	Bouchardat	Endapan Cokelat	Positif
3.	Tanin	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Coklat Kehitaman	Positif
4.	Terpenoid		
	Steroid	Hijau Kebiruan	Negatif
	Triterpenoid	Orange, Jingga Kecokelatan	Positif
5.	Saponin	Busa Permanen	Positif

4. Lampiran

Nama Sampel	Flavonoid	Alkaloid		
		Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Daun Sambung Nyawa (<i>Gynura procumbens</i>)				

Nama Sampel	Tanin	Terpenoid	Saponin
Daun Sambung Nyawa (<i>Gynura procumbens</i>)			

Lampiran 3. Fungsi Alat dan Bahan Penelitian

a. Fungsi Alat-alat Penelitian

No.	Alat	Kegunaan
1.	Cawan petri	Untuk tempat uji cakram
2.	Pipet volume	Untuk mengambil larutan
3.	Jarum ose	Untuk mengambil bakteri
4.	Erlenmeyer 500 ml	Untuk tempat pembuatan media
5.	Gelas ukur 50 ml	Untuk mengukur larutan
6.	Bunsen	Untuk mencegah kontaminasi saat perlakuan
7.	Tabung reaksi	Untuk tempat peremajaan dan kultur bakteri
8.	Hotplate	Untuk memanaskan media
9.	Timbangan analitik	Untuk menimbang bahan dengan ketelitian 10^{-3}
10.	Timbangan digital	Untuk menimbang bahan dengan ketelitian 10^{-2}
11.	Triangle	Untuk meratakan bakteri
12.	Nampan	Untuk tempat alat dan bahan
13.	Micropipet	Untuk mengambil larutan
14.	Cover glass	Untuk pembuatan preparat pewarnaan gram
15.	Spatula	Untuk mengaduk bahan
16.	Pinset	Untuk mengambil kertas cakram
17.	Jerigen 5 liter	Untuk tempat akuades
18.	Botol film 10 ml	Untuk tempat menyimpan ekstrak
19.	Blender	Untuk menghaluskan daun
20.	<i>Vortex mixer</i>	Untuk menghomogenkan
21.	Toples	Untuk tempat maserasi
22.	Kulkas	Untuk menyimpan bahan pada suhu dingin
23.	Beaker glass	Untuk tempat menyimpan biakan bakteri yang ada di tabung reaksi
24.	Mikroskop	Untuk pengamatan bakteri
25.	Jangka sorong	Untuk mengukur zona bening
26.	LAF (<i>Laminar Air Flow</i>)	Untuk tempat dilakukannya perlakuan
27.	Autoclave	Untuk sterilisasi alat dan bahan
28.	Inkubator	Untuk menginkubasi bakteri
29.	Destruktor	Untuk destruksi
30.	Evaporator	Untuk menghasilkan ekstrak berupa pasta
31.	Pipet tetes	Untuk mengambil larutan pewarnaan

Lampiran 3. (Lanjutan)

b. Fungsi Bahan-bahan Penelitian

No.	Bahan	Kegunaan
1.	Daun Sambung Nyawa (<i>G. procumbens</i>)	Sebagai bahan yang digunakan untuk ekstraksi
2.	Bakteri <i>P. fluorescens</i>	Sebagai bakteri yang digunakan untuk perlakuan
3.	Aluminium foil	Sebagai penutup toples saat maserasi dan penutup alat yang disterilisasi
5.	Kertas cakram	Sebagai bahan untuk mengetahui zona hambat
6.	Kertas saring	Sebagai menyaring hasil maserasi
7.	NaCl	Sebagai pembuatan NaFis
8.	TSB (<i>Tryptone Soy Broth</i>)	Sebagai media cair bakteri
9.	PSA (<i>Pseudomonas Selective Agar</i>)	Sebagai media peremajaan bakteri dan media uji cakram
10.	Etanol 96%	Sebagai pelarut saat maserasi
11.	Alcohol 70%	Sebagai bahan aseptis
12.	DMSO 100%	Sebagai pelarut ekstrak
13.	Akuades	Sebagai bahan pengencer
14.	Larutan iodin	Sebagai pemerkuat warna primer
15.	Larutan safranin	Sebagai indikator warna sekunder
16.	Larutan kristal violet	Sebagai indikator warna primer

Lampiran 4. Alat dan Bahan



(Inkubator)



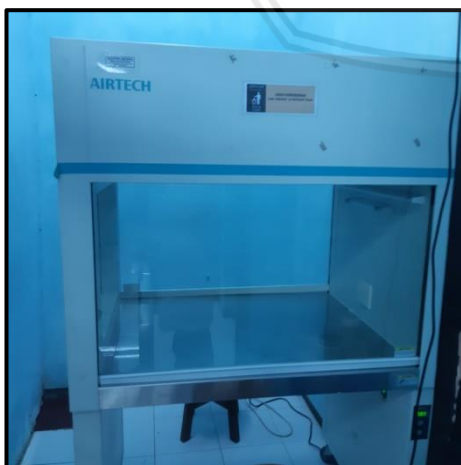
(Autoklaf)



(Destruktor)



(Kulkas)



(LAF)



(Rotary Evaporator)

Lampiran 4. (Lanjutan)



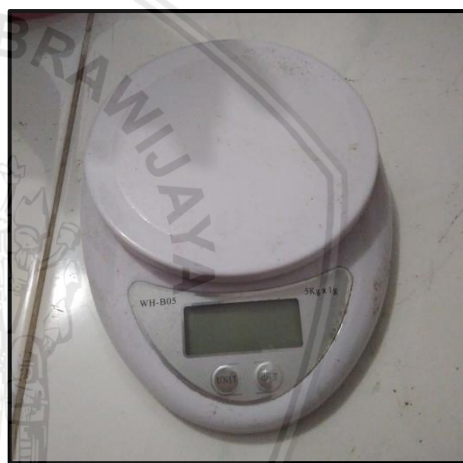
(Colony Counter)



(Timbangan Analitik)



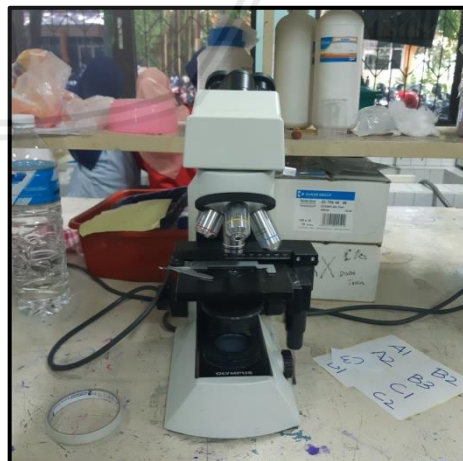
(Hot Plate)



(Timbangan Digital)



(Vortex Mixer)



(Mikroskop)

Lampiran 4. (Lanjutan)



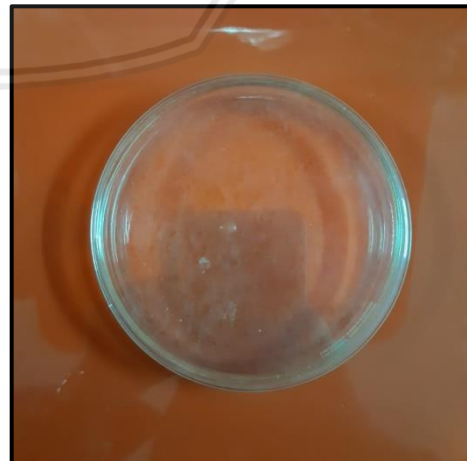
(Blender)



(Jangka Sorong)

(Micropipet 100-1000 μ l)(Micropipet 100 μ l)

(Toples)



(Cawan Petri)

Lampiran 4. (Lanjutan)



(Tabung Reaksi)



(Bunsen)



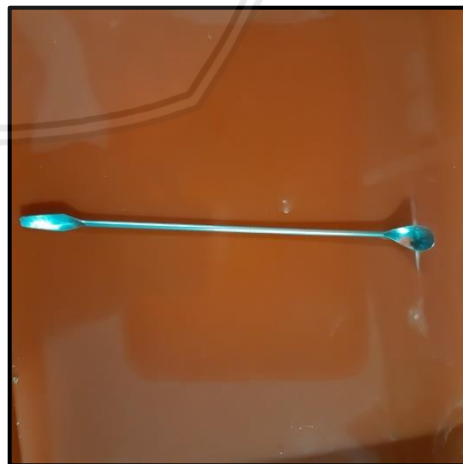
(Gelas Ukur)



(Beaker Glass)



(Erlenmeyer)



(Spatula)

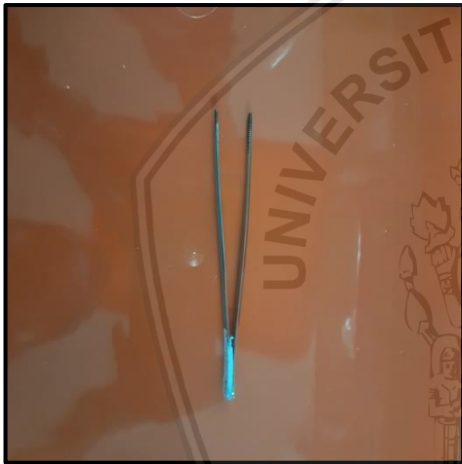
Lampiran 4. (Lanjutan)



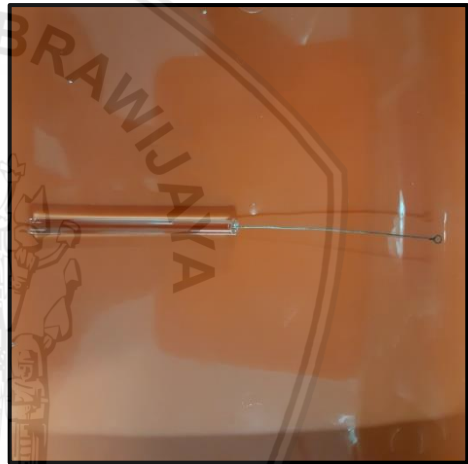
(Botol Film)



(pipet tetes)



(Pinset)



(Jarum Ose)

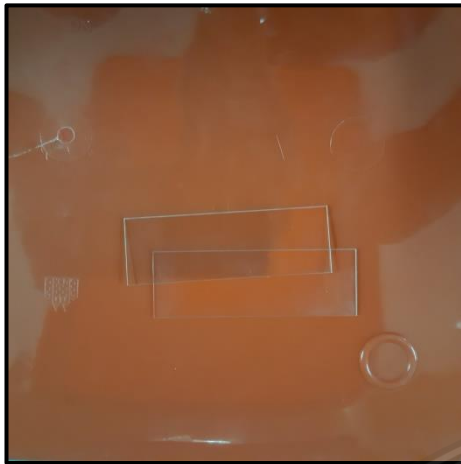


(Pipet Volume)

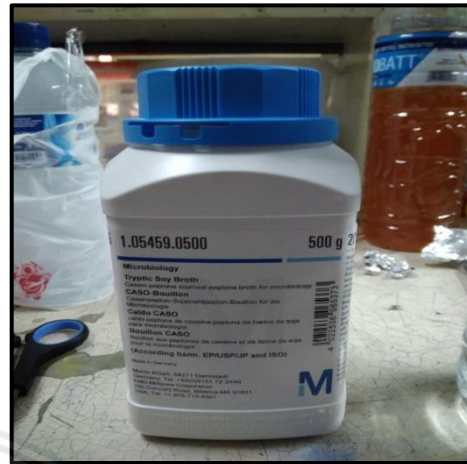


(triangel)

Lampiran 4. (Lanjutan)



(Objek Glass)



(TSB)



(Alumunium Foil)



(Plastik Wrap)



(Kertas Saring)



(Kertas Cakram)

Lampiran 4. (Lanjutan)



(Etanol 96%)



(Alkohol 70%)



(DMSO 100%)



(NaCl)



(Akuades)



(Spirtus)

Lampiran 4. (Lanjutan)



(Safranin)



(Iodine)



(Kristal Violet)



(PSA)

Lampiran 5. Pembuatan Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*G. procumbens*)

(Daun Sambung Nyawa)



(Dikeringkan 7 hari)



(Ditimbang 500 gram)



(Diblender)



Lampiran 5. (lanjutan)



(Dimaserasi selama 3 hari menggunakan etanol 96%)



(Hasil maserasi disaring)



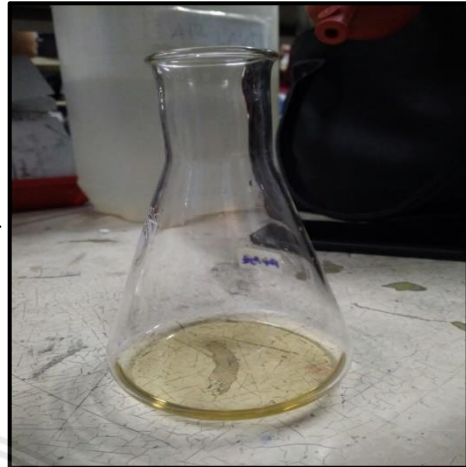
(Didapatkan ekstrak daun Sambung Nyawa)



(Dilakukan evaporasi)

Lampiran 6. Peremajaan Bakteri *P. fluorescens*

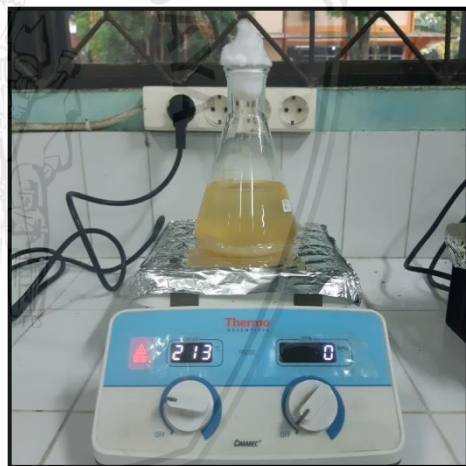
(Media PSA ditimbang)



(Dimasukkan erlenmeyer dan dilarutkan dengan akuades)



(Dimasukkan kedalam tabung reaksi)



(PSA dipanaskan)



Lampiran 6. (lanjutan)



(Disterilisasi)



(PSA dimiringkan 30°C sampai memadat)



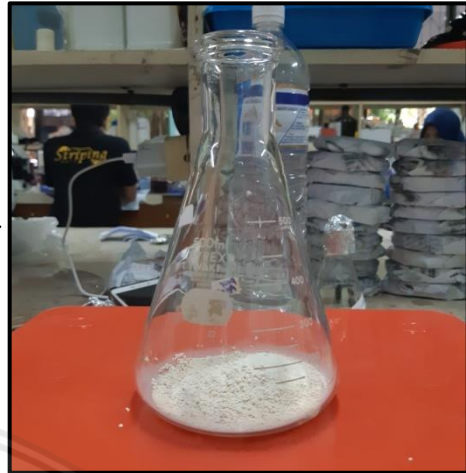
(Di selama inkubasi 24 – 48 jam)



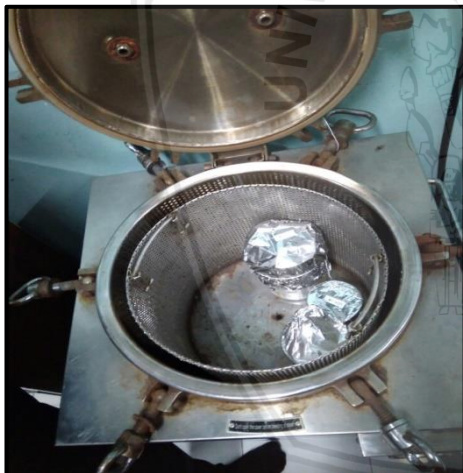
(Dilakukan peremajaan bakteri dari isolat murni ke media PSA yang baru)

Lampiran 7. Kultur Bakteri *P. fluorescens*

(Media TSB ditimbang)



(Dimasukkan erlenmeyer dan dilarutkan dengan akuades)



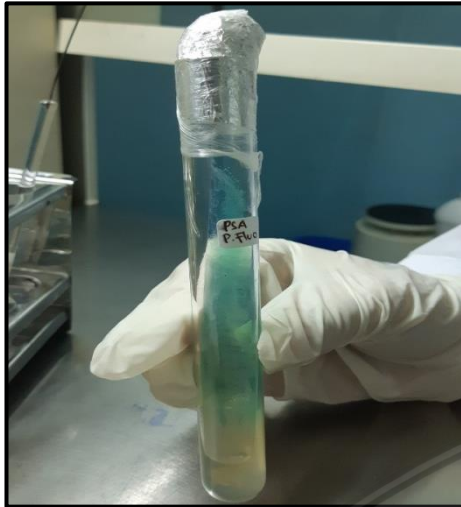
(Disterilisasi)



(Dimasukkan kedalam) tabung reaksi)



Lampiran 7. (lanjutan)



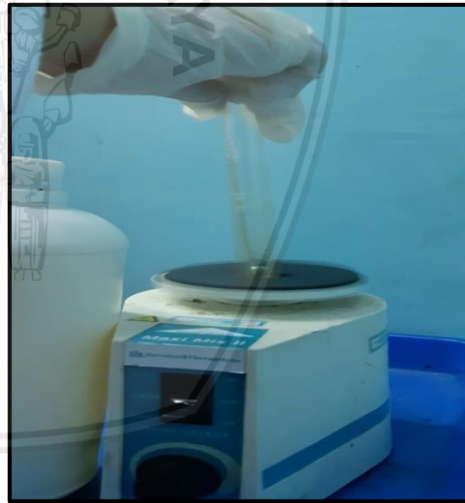
(Disiapkan bakteri dari agar miring)



(Dikultur pada TSB)



(Di inkubasi selama 24 – 48 jam)



(Di Vortex)

Lampiran 8. Pengenceran Bakteri *P. fluorescens*

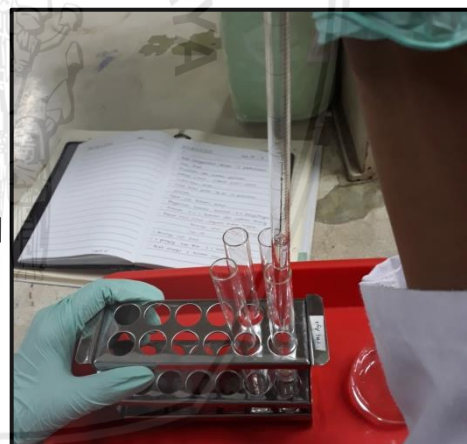
(NaCl ditimbang)



(Dimasukkan erlenmeyer dan dilarutkan dengan akuades)

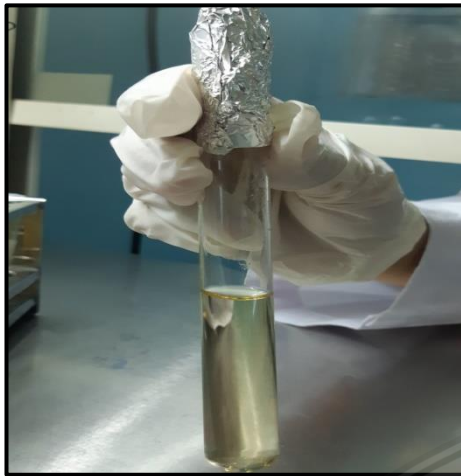


(Disterilisasi)



(Dimasukkan kedalam tabung reaksi)



Lampiran 8. (lanjutan)

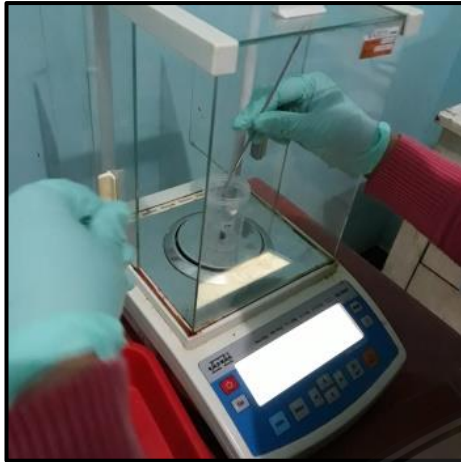
(Disiapkan bakteri yang sudah dikultur pada TSB)



(Di vortex)



(Dilakukan pengenceran bertingkat dari TSB yaitu sebagai 10^{10} CFU/ml ke Na-Fis sebagai 10^9 CFU/ml sampai ke 10^7 CFU/ml)

Lampiran 9. Pembuatan Dosis

(Ditimbang ekstrak 25 mg)



(Dilartukan dengan DMSO 10%
sebanyak 5 ml)



(Larutan ekstrak diambil sesuai
dosis)



(Di Vortex)



Lampiran 9. (lanjutan)



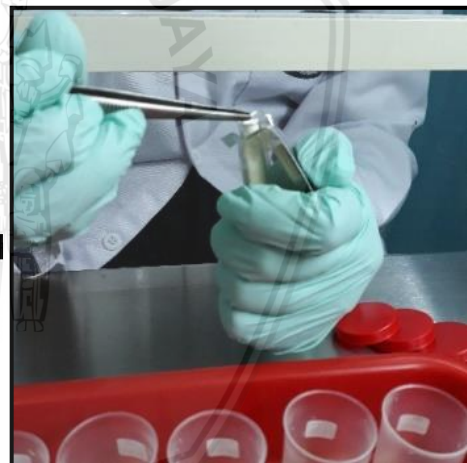
(Ditambahkan DMSO 10%
sesuai dosis)



(Di Vortex)



(Kertas cakram direndam)
selama 15 menit



(Di masukkan kertas cakram
pada masing-masing dosis)

Lampiran 10. Proses Uji Cakram

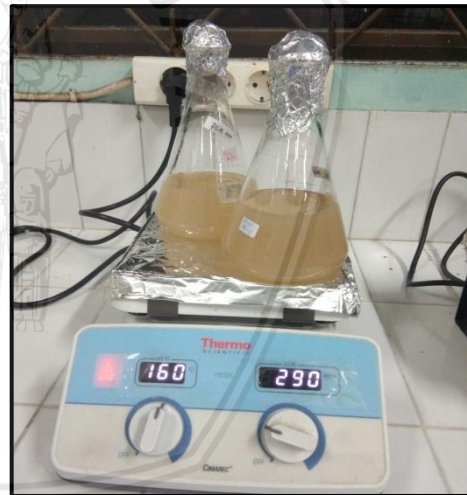
(Media PSA ditimbang)



(Ditambahkan akuades)



(Disterilisasi)



(Dipanaskan)



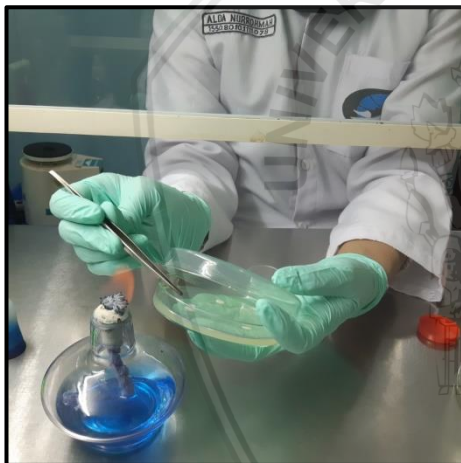
Lampiran 10. (lanjutan)



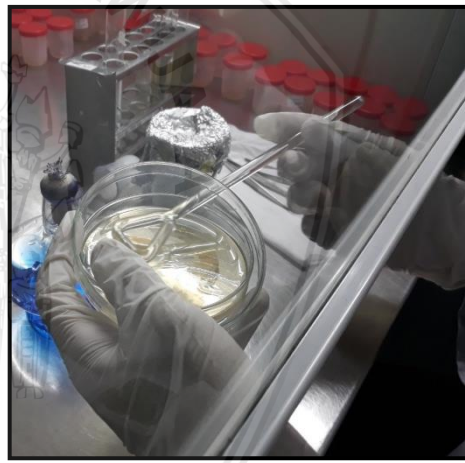
(Dituang pada cawan ditunggu sampai memadat)



(Disiapkan dosis)



(Kertas cakram dimasukkan)



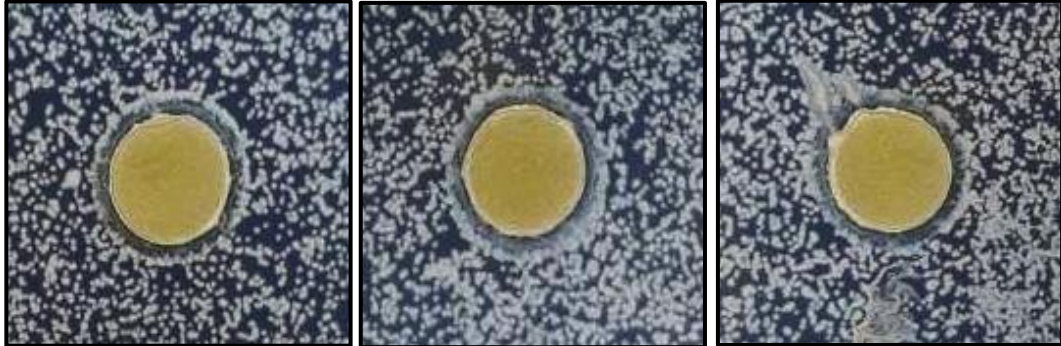
(Dimasukkan bakteri dan diratakan)



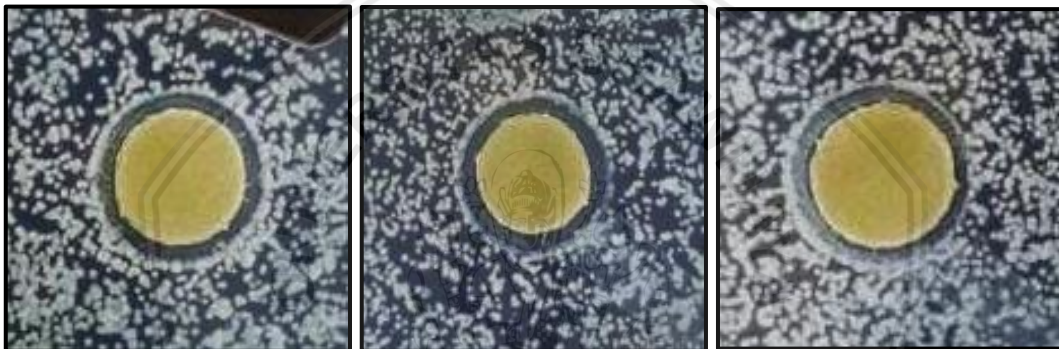
(Diinkubasi selama 24-48 jam)

Lampiran 11. Hasil Uji Cakram Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens*

1. Perlakuan A dosis 200 ppm



2. Perlakuan B dosis 400 ppm



3. Perlakuan C dosis 800 ppm



Lampiran 11. (Lanjutan)

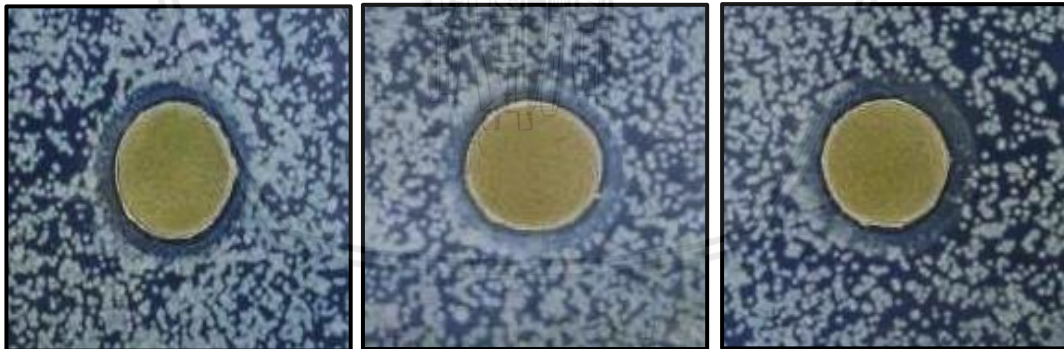
4. Perlakuan D dosis 800 ppm



5. Perlakuan E dosis 1000 ppm

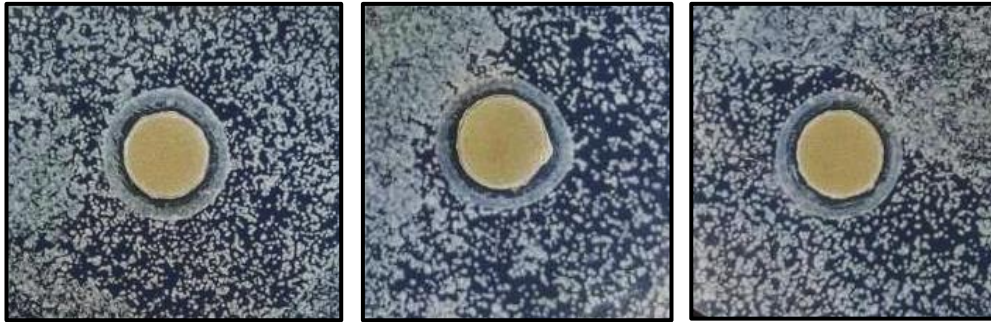


6. Kontrol positif (+) dosis 5000 ppm



Lampiran 11. (Lanjutan)

7. kontrol negatif (-) dengan DMSO 10%



Lampiran 12. Perhitungan Ekstrak Dosis Uji

Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak dosis uji yaitu DMSO 10%, adapun perhitungan dosis yang digunakan sebagai berikut:

a. Dosis 5000 ppm

Pembuatan dosis 5000 ppm merupakan dosis stok ekstrak kasar daun sendok tertinggi yang digunakan dalam pembuatan dosis 200 – 1000 ppm.

Pembuatan stok ekstrak sebesar 5000 ppm dengan rumus berikut:

$$5000 \text{ ppm} = \frac{25 \text{ mg ekstrak kasar}}{5 \text{ ml (0,5 DMSO 100\% + 4,5 aquadest steril)}}$$

b. Dosis 200 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 1,5 \text{ ml} \times 200 &= V_2 \times 5000 \\ V_2 &= 0,06 \text{ ml} \\ \text{DMSO 10\%} &= 1,5 \text{ ml} - 0,06 \text{ ml} = 1,44 \text{ ml} \end{aligned}$$

c. Dosis 400 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 1,5 \text{ ml} \times 400 &= V_2 \times 5000 \\ V_2 &= 0,12 \text{ ml} \\ \text{DMSO 10\%} &= 1,5 \text{ ml} - 0,12 \text{ ml} = 1,38 \text{ ml} \end{aligned}$$

d. Dosis 600 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 1,5 \text{ ml} \times 600 &= V_2 \times 5000 \\ V_2 &= 0,18 \text{ ml} \\ \text{DMSO 10\%} &= 1,5 \text{ ml} - 0,18 \text{ ml} = 1,32 \text{ ml} \end{aligned}$$

e. Dosis 800 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 1,5 \text{ ml} \times 800 &= V_2 \times 5000 \\ V_2 &= 0,24 \text{ ml} \\ \text{DMSO 10\%} &= 1,5 \text{ ml} - 0,24 \text{ ml} = 1,26 \text{ ml} \end{aligned}$$

Lampiran 12. Perhitungan Ekstrak Dosis Uji (Lanjutan)

f. Dosis 1000 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\1,5 \text{ ml} \times 1000 &= V_2 \times 5000 \\V_2 &= 0,30 \text{ ml} \\DMSO 10 \% &= 1,5 \text{ ml} - 0,30 \text{ ml} = 1,20 \text{ ml}\end{aligned}$$



Lampiran 13. Analisis Data Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*G. procumbens*) terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*

- Data Rata-Rata Diameter Hambatan (mm) Bakteri

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata+STDEV
	1	2	3		
A	7.41	7.21	7.33	21.95	7.32+0,10
B	7.74	8.22	7.47	23.43	7.81+0,38
C	8.39	7.5	7.7	23.59	7.86+0,46
D	8.18	8.09	7.8	24.07	8.02+0,19
E	8.24	8.35	8.37	24.96	8.32+0,070
K (-)	6.36	6.14	6.72	19.22	6.41+0,14
K (+)	9.76	9.07	9.84	28.67	9.56+0,42
Total				165.89	

Perhitungan :

- Faktor Korelasi (FK) = $\frac{G^2}{N}$

$$= \frac{165,89^2}{21}$$

$$= 1316,15$$
- JK Total = $\sum ij^2 - FK$

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

$$= (7,41^2+7,21^2+9,7,33^2+,,,,,+8,37^2) - 1316,15$$

$$= 16,728$$
- JK Perlakuan = $\frac{(\sum A)^2+(\sum B)^2+(\sum C)^2+(\sum D)^2+(\sum E)^2}{r} - FK$

$$= \frac{(21,94)^2+(23,43)^2+(23,59)^2+(24,07)^2+(24,96)^2}{3} - 1316,15$$

$$= 15,510$$
- JK Acak = JK Total – JK Perlakuan

$$= 16,728 - 15,510$$

$$= 1,218$$
- db Total = $(n \times r) - 1$

$$= (7 \times 3) - 1$$

$$= 20$$
- db Perlakuan = $n - 1$

$$= 7 - 1$$

$$= 6$$

Lampiran 13. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 7. \text{ db Galat} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\
 &= 20 - 6 \\
 &= 14
 \end{aligned}$$

- Tabel Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	6	15.510	2.585	29.714	2.85	4.46
Acak	14	1.218	0.087			
Total	20	16.728				

8. Keterangan : ** Berbeda Sangat Nyata

Karena F hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1% maka dinyatakan hasil tersebut Berbeda nyata. Sehingga dilanjutkan dengan uji BNT.

Uji BNT (Uji Nyata Terkecil)

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\pi (\text{Ulangan})}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 0,087}{3}} \\
 &= 0,241
 \end{aligned}$$

$$\text{BNT 5\%} = T \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 0,517$$

$$\text{BNT 1\%} = T \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 0,717$$

- Tabel Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

Per lakuan	Rerata	K-	A	B	C	D	E	K+	Notasi
		6.53	7.32	7.81	7.86	8.02	8.32	9.56	
K-	6.53	—							a
A	7.32	0.79**	—						b
B	7.81	1.28**	0.49 ^{ns}	—					b
C	7.86	1.34**	0.55*	0.05 ^{ns}	—				c
D	8.02	1.50**	0.71*	0.21 ^{ns}	0.16 ^{ns}	—			c
E	8.32	1.79**	1.00**	0.51*	0.46 ^{ns}	0.30 ^{ns}	—		c
K+	9.56	3.03**	2.24**	1.75**	1.69**	1.53**	1.24**	—	d

Keterangan :

ns : tidak berbeda nyata

* : berbeda nyata

** : berbeda sangat nyata

Lampiran 13. (Lanjutan)

Perlakuan terbaik dari uji BNT ini adalah E-D-C-B/A, selanjutnya dilakukan uji polynomial orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A	21,95	-2	2	-1	1
B	23,43	-1	-1	2	-4
C	23,59	0	-2	0	6
D	24,07	1	-1	-2	-4
E	24,96	2	2	1	1
$Q = \sum c_i \cdot T_i$		6,66	-0,86	1,73	-1,55
Hasil Kuadrat		10	14	10	70
$Kr = (\sum c_i^2) \cdot r$		30	42	30	210
$JK = Q^2 / Kr$		1,479	0,01761	0,100	0,011
JK REGRESI		1,496			

- Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	1,496			3,48	5,99
Linier	1	1,47852	1,47852	17,73656**		
Kuadratik	1	0,0	0,017610	0,211247 _{ns}		
Kubik	1	0,100	0,099763	1,196777 _{ns}		
Kuartik	1	0,011	0,01144	0,137242 _{ns}		
Acak	10	0,8336	0,08336	1 _{ns}		
Total	14					

Keterangan :

ns : tidak berbeda nyata

** : berbeda sangat nyata

$$\begin{aligned}
 1. \text{ KT Linier} &= \frac{JK \text{ Linier}}{db \text{ linier}} \\
 &= \frac{1,47825}{1} \\
 &= 1,4725
 \end{aligned}$$

Lampiran 13. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 2. \text{ KT Kuadrat} &= \frac{\text{JK Kuadrat}}{\text{db Kuadrat}} \\
 &= \frac{0,01710}{1} \\
 &= 0,01710
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ KT Kubik} &= \frac{\text{JK Kubik}}{\text{db Kubik}} \\
 &= \frac{0,100}{1} \\
 &= 0,099765
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ F Hitung Linier} &= \frac{\text{KT Linier}}{\text{KT Acak}} \\
 &= \frac{1,47856}{0,8336} \\
 &= 17,73656
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ F Hitung Kuadrat} &= \frac{\text{KT Kuadrat}}{\text{KT Acak}} \\
 &= \frac{0,017610}{0,8336} \\
 &= 0,211247
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 6. \text{ F Hitung Kubik} &= \frac{\text{KT Kubik}}{\text{KT Acak}} \\
 &= \frac{0,099763}{1,08336} \\
 &= 1,196777
 \end{aligned}$$

Hasil sidik ragam polinomial orthogonal diatas menunjukkan bahwa nilai F hitung linier berbeda sangat nyata terhadap nilai F hitung 5% dan 1% yaitu 17,73656.

Lampiran 13. (Lanjutan)

- Mencari persamaan linier $y=b_0+b_1x$

X	Y	XY	X ²
200	7,41	1482	40000
200	7,21	1442	40000
200	7,33	1466	40000
400	7,74	3096	160000
400	8,22	3288	160000
400	7,47	2988	160000
600	8,39	5034	360000
600	7,50	4500	360000
600	7,70	4620	360000
800	8,18	6544	640000
800	8,09	6472	640000
800	7,80	6240	640000
1000	8,24	8240	1000000
1000	8,35	8350	1000000
1000	8,37	8370	1000000
$\sum x = 9000$	118	72132	6600000
Rerata = 600	7,866667		

$$\begin{aligned}
 b_1 &= \frac{(\sum xy) - \frac{(\sum x \cdot \sum y)}{n}}{(\sum x^2) - \frac{(\sum x)^2}{n}} \\
 &= \frac{(72132) - \frac{(9000 \times 118)}{15}}{(6600000) - \frac{(9000)^2}{15}} \\
 &= \frac{72132 - 70800}{6600000 - 5400000} \\
 &= \frac{1332}{1200000} \\
 &= 0,00111
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 b_0 &= \frac{(\sum y)}{n} - (b_1 \cdot \frac{(\sum x)}{n}) \\
 &= 7,866667 - (0,00111 \times 600) \\
 &= 7,866667 - 0,666 \\
 &= 7,200667
 \end{aligned}$$

Lampiran 13. (Lanjutan)

$$\text{Pers. Linier} : y = b_0 + b_1 x$$

$$= 7,200667 + 0,00111x$$

$$X(200) = 7,200667 + 0,00111 (200)$$

$$= 7,200667 + 0,222$$

$$= 7,422667$$

$$X(400) = 7,200667 + 0,00111 (400)$$

$$= 7,200667 + 0,444$$

$$= 7,644667$$

$$X(600) = 7,200667 + 0,00111 (600)$$

$$= 7,200667 + 0,666$$

$$= 7,866667$$

$$X(800) = 7,200667 + 0,00111 (800)$$

$$= 7,200667 + 0,888$$

$$= 8,088667$$

$$X(1000) = 7,200667 + 0,00111 (1000)$$

$$= 7,200667 + 1,1$$

$$= 8,310667$$

$$R^2 = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}}$$

$$= 0,64219$$

Berdasarkan perhitungan b_0 dan b_1 , maka didapatkan persamaan linier sebagai

berikut : $y = 7,2000667 + 0,00111x$

Lampiran 13. (Lanjutan)

- Grafik Hubungan Zona Hambat Antar Perlakuan Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*G. procumbens*) Terhadap Bakteri *P. fluorescens*

