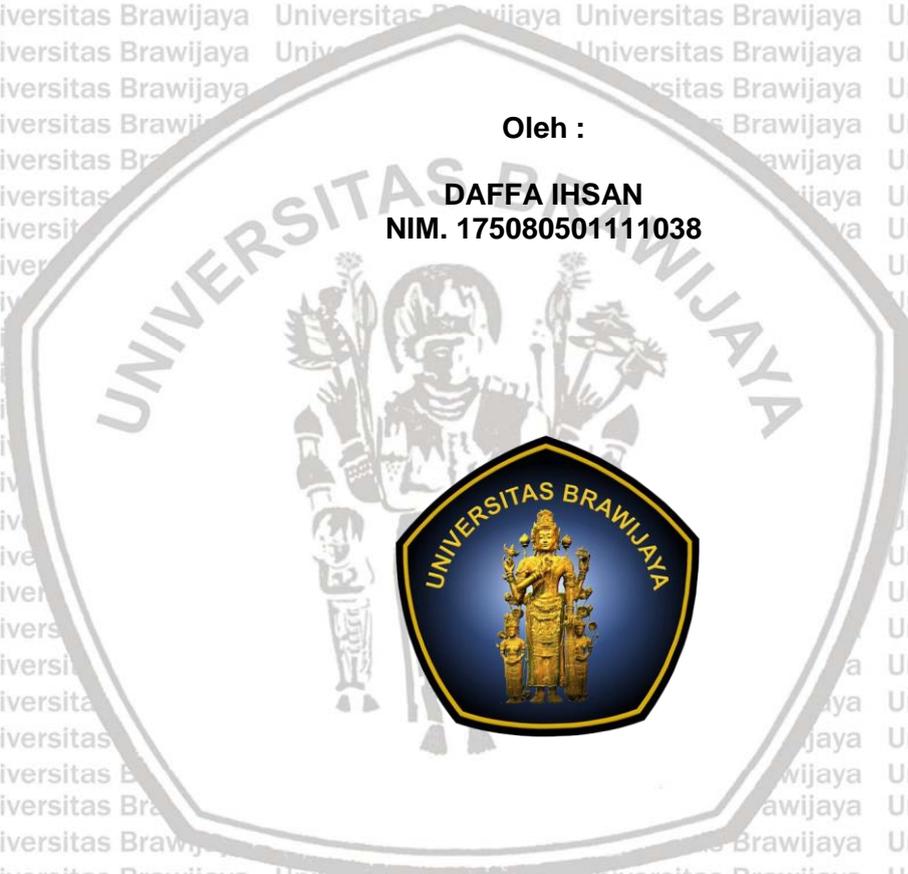


**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN NANGKA
(*Artocarpus heterophyllus*) TERHADAP BAKTERI *Edwardsiella Tarda*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :

**DAFFA IHSAN
NIM. 175080501111038**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2021**



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN NANGKA
(*Artocarpus heterophyllus*) TERHADAP BAKTERI *Edwardsiella Tarda*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

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

Oleh :

**DAFFA IHSAN
NIM. 175080501111038**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2021**



SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN NANGKA (*Artocarpus heterophyllus*) TERHADAP BAKTERI *Edwardsiella Tarda* SECARA *IN VITRO*

Oleh :

DAFFA IHSAN
NIM. 175080501111038

Telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 21 Juni 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Pembimbing 1



Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS.
NIP. 19550213 198403 1 001
Tanggal: 8 Juli 2021

Menyetujui,
Dosen Pembimbing 2



Ir. Ellana Sanoesi, MP.
NIK. 19630924 199802 2 001
Tanggal: 7 Juli 2021

Mengetahui:
Ketua Jurusan
Manajemen Sumberdaya Perairan



Dr. Ir. M. Firdaus, MP.
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal: 7/8/2021



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Daffa Ihsan

NIM : 175080501111038

Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) Terhadap Bakteri *Edwardsiella tarda* Secara *In Vitro*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa penulisan skripsi ini berdasarkan hasil penelitian, pemikiran dan pemaparan asli dari saya sendiri, baik untuk naskah, tabel, gambar maupun ilustrasi lainnya yang tercantum sebagai bagian dari Skripsi.

Jika terdapat karya / pendapat / penelitian dari orang lain, maka saya telah mencantumkan sumber yang jelas dalam daftar pustaka.

Demikian pernyataan ini saya buat, apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas

Brawijaya, Malang.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar tanpa adanya paksaan dari pihak manapun.

Malang, 21 Juni 2021


Daffa Ihsan

NIM.175080501111038

IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Nangka (*Artocarpus Heterophyllus*) Terhadap Bakteri *Edwardsiella Tarda* Secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Daffa Ihsan

NIM : 175080501111038

Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING

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

Pembimbing 2 : Ir. Ellana Sanoesi, M.P

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Dosen Penguji 1 : Ir. Heny Suprastyani, MS.

Dosen Penguji 2 : Budianto, S.Pi., M.P., M.Sc

Tanggal Ujian : 21 Juni 2021

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



UCAPAN TERIMAKASIH

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

1. Allah SWT atas segala nikmat dan karunia-Nya selama kegiatan penelitian sehingga dapat berjalan dengan lancar.
2. Dosen Pembimbing I Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS dan Dosen Pembimbing II Ir. Ellana Sanoesi, MP. yang senantiasa memberikan bimbingan, kritik serta saran selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini selesai.
3. Dosen penguji I Ir. Heny Suprastyani, MS. dan dosen penguji II Budianto, S.Pi., M.P., M. Sc. yang telah memberikan kritik dan saran sehingga penyusunan laporan skripsi ini dapat lebih baik.
4. Orang tua yang telah memberikan do'a motivasi, serta segala dukungan baik materil dan non materil hingga penyusunan skripsi selesai.
5. Teman – teman program studi budidaya perairan angkatan 2017 yang selalu memberikan dukungan dan bantuan dalam penulisan laporan

RINGKASAN

Daffa Ihsan. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) Terhadap Bakteri *Edwardsiella tarda* Secara In Vitro. Dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS** dan **Ir. Ellana Sanoesi, MP.**

Penyakit ikan adalah sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun tidak langsung. timbulnya penyakit ikan di kolam terjadi karena interaksi yang tidak serasi antara ikan, kondisi lingkungan, dan patogen. penyakit yang sering dijumpai pada budidaya baik pembenihan maupun pembesaran adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Salah satu contohnya yaitu bakteri *Edwardsiella tarda*. Permasalahan penyakit infeksi bakterial dapat teratasi dengan manajemen kesehatan ikan melalui usaha pengendalian penyebaran infeksi. Pengendalian yang biasa dilakukan yaitu dengan pemberian obat atau antibakteri seperti bahan-bahan antibiotik melalui kegiatan pencegahan dan pengobatan. daun nangka mengandung anti mikroba antara lain flavonoid, tannin, saponin yang bisa larut dalam air dan dapat bekerja merusak membran sitoplasma dan mendenaturasi protein sel.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2021 - juni 2021. Tujuan penelitian ini adalah untuk menjelaskan manfaat ekstrak daun nangka sebagai atibakteri alami terhadap bakteri *E. tarda*.

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimen. Metode eksperimen adalah metode yang dilakukan melalui percobaan dengan berbagai perlakuan untuk mendapatkan hasilnya. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Dosis perlakuan ekstrak daun nangka yaitu: A (75 ppm), B (150 ppm), C (225 ppm), D (300 ppm) dan E (375 ppm). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun nangka memberikan pengaruh sangat nyata terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *E. tarda* dalam uji cakram. Dosis dengan daya hambat paling rendah ada pada perlakuan E (375 ppm) dengan rerata zona hambat $7,34 \pm 0,25$ mm, sedangkan zona hambat yang paling efektif terdapat pada perlakuan C (225 ppm) dengan rerata $9,70 \pm 0,41$ mm. Hubungan antara dosis ekstrak daun nangka dengan diameter zona hambat yang terbentuk adalah kuadratik dimana persamaan $y = 0,000928x^2 - 0,41984x + 57,441$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,81.

Kesimpulan hasil penelitian adalah ekstrak daun nangka dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan dosis yang efektif adalah sebesar 225 ppm. Diameter zona hambat ekstrak kasar tanaman apu-apu berkisar antara $7,34 \pm 0,25$ mm - $9,70 \pm 0,41$ mm yang berarti ekstrak daun nangka memiliki aktivitas antibakteri sedang.

SUMMARY

Daffa Ihsan. The Effect of Giving Jackfruit Leaf Rough Extract (*Artocarpus heterophyllus*) Against *Edwardsiella tarda* Bacteria by In Vitro. Under the guidance of **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS** and **Ir. Ellana Sanoesi, MP.**

Fish disease is something that can cause disturbance to fish, either directly or indirectly. The emergence of fish diseases in ponds occurs due to mismatched interactions between fish, environmental conditions, and pathogens. Diseases that are often found in both hatchery and enlargement culture are diseases caused by bacteria. One example is the *Edwardsiella tarda* bacteria. Bacterial infectious disease problems can be overcome by fish health management through efforts to control the spread of infection. Control that is usually done is by administering drugs or antibacterials such as antibiotic ingredients through prevention and treatment activities. Jackfruit leaves contain anti-microbes including flavonoids, tannins, saponins that can dissolve in water and can work to damage the cytoplasmic membrane and denature cell proteins.

The research was conducted at the Fish Cultivation Laboratory, Fish Disease and Health Division, Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Brawijaya University, Malang. The research was conducted in March 2021 - June 2021. The purpose of this study was to explain the benefits of jackfruit leaf extract as a natural antibacterial agent against *E. tarda* bacteria.

The research method used is the experimental method. The experimental method is a method that is carried out through experiments with various treatments to get the results. The experimental design used was a completely randomized design (CRD) using 5 treatments and 3 replications. The doses of jackfruit leaf extract treatment are: A (75 ppm), B (150 ppm), C (225 ppm), D (300 ppm) and E (375 ppm). The results showed that the jackfruit leaf extract had a very significant effect on the inhibition of the growth of *E. tarda* bacteria in the disc test. The dose with the lowest inhibition power was in treatment E (375 ppm) with an average inhibition zone of 7.34 ± 0.25 mm, while the most effective zone of inhibition was in treatment C (225 ppm) with a mean of 9.70 ± 0.41 mm. The relationship between the dose of jackfruit leaf extract and the diameter of the inhibition zone formed is quadratic where the equation $y = 0.000928x^2 - 0.41984x + 57.441$ with a coefficient of determination (R^2) of 0.81.

The conclusion of the research results is that jackfruit leaf extract can inhibit bacterial growth with an effective dose of 225 ppm. The diameter of the apu-apu plant crude extract inhibition zone ranged from 7.34 ± 0.25 mm - 9.70 ± 0.41 mm which means that the jackfruit leaf extract has moderate antibacterial activity.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah Yang Maha Esa atas berkah, karunia serta ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) Terhadap Bakteri *Edwardsiella tarda* Secara *In Vitro*". Saya mengucapkan terimakasih yang sebesar besarnya kepada Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS. selaku dosen pembimbing 1 dan Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku dosen pembimbing 2 Serta semua pihak yang telah membantu penulis untuk menyusun skripsi ini.

Saya menyadari bahwa masih banyak kekurangan yang mendasar pada skripsi ini. Penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca yang dapat membangun. Kritik dan saran dari pembaca sangat saya harapkan untuk penyempurnaan skripsi selanjutnya sehingga dapat bermanfaat. Demikian yang dapat penulis sampaikan, terimakasih.

Malang, 21 juni 2021



Daffa Ihsan
NIM. 175080501111038

DAFTAR ISI

RINGKASAN	vii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Hipotesis.....	3
1.5 Manfaat.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i>).....	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Nangka.....	5
2.1.2 Morfologi Tanaman Nangka.....	5
2.1.3 Habitat dan Penyebaran.....	6
2.1.4 Kandungan Bahan Aktif.....	7
2.2 Ekstraksi.....	8
2.3 Bakteri <i>Edwardsiella Tarda</i>	9
2.3.1 Klasifikasi Bakteri <i>Edwardsiella Tarda</i>	9
2.3.2 Morfologi Bakteri <i>Edwardsiella Tarda</i>	9
2.3.3 Habitat dan Penyebaran.....	10
2.3.4 Infeksi dan Tanda Peyerangan Bakteri <i>Edwardsiella Tarda</i>	11
2.4 Pertumbuhan Bakteri.....	12
2.5 Uji Daya Hambat Secara <i>In Vitro</i>	14
2.6 Mekanisme Kerja Antibakteri.....	16
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	20
3.1 Tempat, Waktu/Jadwal Pelaksanaan.....	20

3.2 Materi Penelitian	20
3.2.1 Alat dan Fungsi.....	20
3.2.2 Bahan dan Fungsi.....	21
3.3 Metode Penelitian.....	22
3.4 Rancangan Penelitian.....	23
3.5 Prosedur Penelitian.....	26
3.5.1 Persiapan Penelitian.....	26
3.5.2 Pelaksanaan Penelitian.....	31
3.6 Parameter Uji.....	33
3.7 Analisis Data.....	33
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1 Identifikasi Bakteri <i>Edwardsiella tarda</i>	34
4.2 Uji Daya Hambat.....	35
4.3 Parameter Penunjang.....	42
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	43
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....	44
LAMPIRAN.....	49



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Morfologi pohon nangka.....	6
Gambar 2. Morfologi bakteri <i>E. tarda</i>	11
Gambar 3. Gejala Klinis Ikan Lele yang Terserang Bkateri <i>E. tarda</i>	13
Gambar 4. Gambar Grafik Pertumbuhan Bakteri.....	15
Gambar 5. Denah Penelitian.....	24
Gambar 6. Morfologi Bakteri <i>E. Tarda</i>	33
Gambar 7. Diameter Zona Hambat 24 Jam.....	35
Gambar 8. Grafik Regresi Polynomial Orthogonal Zona Hambat.....	36



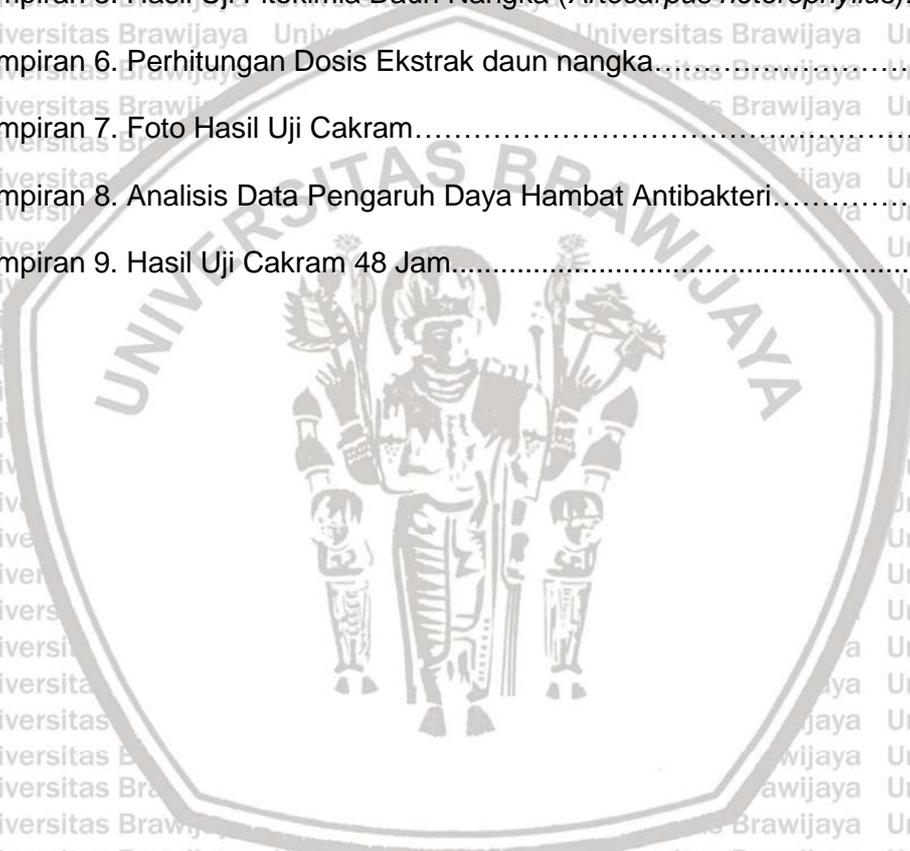
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri.....	17
Tabel 2. Alat Penelitian.....	19
Tabel 3. Bahan Penelitian.....	20
Tabel 4. Perlakuan Penelitian.....	24
Tabel 5. Data Hasil Pengukuran Rerata Zona Hambat (mm).....	35
Tabel 6. Hasil Sidik Ragam Zona Hambat.....	35
Tabel 7. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).....	36



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Foto Alat-Alat Penelitian.....	49
Lampiran 2. Foto Bahan-Bahan Penelitian.....	52
Lampiran 3. Foto Kegiatan Penelitian.....	54
Lampiran 4. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>Edwardsiella tarda</i>	59
Lampiran 5. Hasil Uji Fitokimia Daun Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i>).....	61
Lampiran 6. Perhitungan Dosis Ekstrak daun nangka.....	62
Lampiran 7. Foto Hasil Uji Cakram.....	64
Lampiran 8. Analisis Data Pengaruh Daya Hambat Antibakteri.....	66
Lampiran 9. Hasil Uji Cakram 48 Jam.....	75



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ruang lingkup budidaya ikan (akuakultur) adalah pengendalian pertumbuhan serta perkembangbiakan yang bertujuan untuk meningkatkan produktifitas perikanan melalui pemeliharaan dan penambahan sumber-sumber perikanan untuk mengembangkan produksi perikanan laut, perikanan darat serta memperbaiki manajemen perikanan. Kegiatan budidaya merupakan usaha manusia untuk mengelola faktor budidaya, hama, dan penyakit organisme budidaya (Reksono *et al.*, 2012).

Suwarsito dan Mustafidah (2011) menyatakan penyakit ikan adalah sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun tidak langsung. Menurut Putri, Haditomo, dan Desrina (2016), penyakit terbagi menjadi 2 macam yaitu penyakit infeksi maupun non infeksi. serangan patogen baik itu virus, bakteri, jamur protozoa maupun parasit adalah golongan penyakit infeksi. Suwarsito dan Mustafidah (2011) juga menyatakan bahwa gangguan terhadap ikan dapat disebabkan oleh organisme lain, pakan, maupun kondisi lingkungan yang kurang baik. Sehingga, timbulnya penyakit ikan di kolam terjadi karena interaksi yang tidak seimbang antara ikan, kondisi lingkungan, dan patogen. Interaksi yang tidak seimbang tersebut menyebabkan stres pada ikan.

Muslikha *et al.* (2016) menyatakan penyakit yang sering dijumpai pada budidaya baik pembenihan maupun pembesaran adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Sebagian besar bakteri patogen, seperti *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas sp*, *Edwardsiella ictaluri sp*, *Vibrio sp*, *Flavobacterium sp*, *Streptococcus sp*, dan *Cytophaga sp* adalah bakteri Gram negatif. Bakteri gram negatif ini menyebabkan penyakit bakterial, seperti *ulcers*, busuk sirip, dan *acute septicaemia*.

Salah satu bakteri air tawar yang sering menyerang ikan yaitu *E. tarda*.

Bakteri *E. tarda* merupakan jenis bakteri yang termasuk salah satu Hama Penyakit Ikan Karantina (HPIK) golongan II yang diartikan sebagai jenis penyakit yang sudah ada di wilayah Indonesia akan tetapi belum ada teknologi untuk penanggulangannya. Edwardsiellosis atau Emphisemathous Putrevactive Disease of Catfish (EPDC) yang disebabkan oleh *E. tarda* merupakan penyakit yang sudah dikenal sebagai penyakit utama pada budidaya catfish di Amerika.

Perkembangan *E. tarda* umumnya sangat lambat. Salah satu faktor penyebab terjadinya infeksi bakteri *E. tarda* adalah karena ikan stres. Terutama akibat tingginya padat tebar menjelang panen, kualitas air yang jelek, dan tingginya kandungan bahan organik. *E. tarda* merupakan bakteri penyebab penyakit edwardsiellosis yang dapat menyebabkan kematian pada ikan air tawar maupun air laut (Narwiyani & Kurniasih, 2011).

Permasalahan penyakit infeksi bakterial dapat teratasi dengan manajemen kesehatan ikan melalui usaha pengendalian penyebaran infeksi. Pengendalian yang biasa dilakukan yaitu dengan pemberian obat seperti bahan-bahan alami melalui kegiatan pencegahan dan pengobatan, sedangkan upaya pengendalian belum banyak digunakan untuk mengatasi permasalahan penyakit pada kegiatan budidaya. Penggunaan fitofarmaka di Indonesia telah lama digunakan karena banyaknya potensi antimikroba dari bahan alam yang lebih aman, memiliki fungsi dan aktivitas yang tidak kalah dari antibiotik. Obat-obatan dari bahan tanaman sudah mulai banyak digunakan, contohnya seperti temulawak, daun jambu biji, sambiloto, mengkudu, daun nangka, bawang putih, dan tanaman lainnya (Wahjuningrum *et al.*, 2014).

Banyak jenis tumbuhan yang telah diteliti memiliki kandungan bahan kimianya, salah satunya adalah daun nangka. Pada umumnya, daun nangka

dikenal sebagai pakan ternak. Namun dibalik fungsinya sebagai pakan ternak, daun nangka mempunyai manfaat bagi kesehatan karena daun nangka mengandung antimikroba seperti flavonoid, tanin, dan saponin yang bisa larut dalam air dan bekerja merusak membran sitoplasma dan mendenaturasi protein sel. Senyawa flavonoid terbukti sebagai antikanker, antivirus, antiinflamasi, diuretik dan antihipertensi. Saponin merupakan salah satu senyawa yang dihasilkan tumbuhan yang berfungsi sebagai antivirus, antibakteri, dan meningkatkan kekebalan tubuh (Yusriana *et al.*, 2014).

Berdasarkan uraian yang telah dijelaskan di atas dapat diperoleh informasi bahwa daun nangka memiliki kandungan senyawa yang dapat dijadikan antibakteri, maka dari itu diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan daun nangka terhadap pertumbuhan bakteri *E. tarda* yang dilakukan secara *In Vitro*.

1.2 Perumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak daun nangka terhadap bakteri *E. Tarda* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun nangka terhadap bakteri *E. tarda* secara *in vitro*.

1.4 Hipotesis

H₀ : Ekstrak daun nangka tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *E. tarda* secara *in vitro*

H₁ : Ekstrak daun nangka berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *E. tarda* secara *in vitro*

1.5 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat berupa informasi ilmiah kepada masyarakat perikanan tentang daun nangka yang dapat dimanfaatkan untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri *E. tarda* dengan dosis yang efektif yang dapat digunakan. Tujuan akhir yaitu agar dapat diaplikasikan oleh masyarakat terutama pembudidaya ikan air tawar untuk pencegahan ataupun pengobatan penyakit.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Nangka (*Artocarpus heterophyllus*)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Nangka

Klasifikasi tanaman nangka menurut Rukmana (1997), adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub-divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Morales

Famili : Moraceae

Genus : *Artocarpus*

Spesies : *Artocarpus heterophyllus*.

2.1.2 Morfologi Tanaman Nangka

Pohon nangka (Gambar 1), memiliki tinggi 10 sampai 15 meter. Batangnya tegak, berkayu, bulat, dan berwarna hijau gelap. Bunga nangka merupakan bunga majemuk yang berbentuk bulir, berada di ketiak daun dan berwarna kuning. Bunga jantan dan betinanya terpisah dengan tangkai yang memiliki cincin. Bunga jantan ada di batang baru di antara daun atau di atas bunga betina. Buah berwarna kuning ketika masak, oval, dan berbiji coklat muda (Heyne, 1987).

Daun berbentuk lonjong dan panjang, tepinya rata, tumbuh secara berselang-seling dan bertangkai pendek, permukaan atas daun berwarna hijau tua mengkilap, dan permukaan bawah daun berwarna hijau muda. Bunga tanaman nangka berukuran kecil, tumbuh berkelompok secara tersusun dalam tandan,

bunga muncul dari ketiak cabang atau pada cabang-cabang besar (Rukmana, 1997). Morfologi pohon nangka disajikan dalam gambar 1.



Sumber: Rahardja dan Ramadhan., 2019.

Gambar 1. Morfologi Pohon Nangka

2.1.3 Habitat dan Penyebaran

Tanaman adalah tanaman liar di daerah Ghats bagian barat India.

Sekarang telah tersebar hampir ke seluruh dunia, terutama ke daerah-daerah yang beriklim tropis pada ketinggian 0-1.600 mdpl. Daerah penyebaran nangka umumnya berada di daerah beriklim kering dengan bulan kering 6-7 bulan/th. Di habitat alaminya nangka tumbuh pada ketinggian 400-1.200 m dpl. Untuk pertumbuhan yang baik temperatur minimum untuk pertanaman nangka adalah 16°C - 21 °C dan maksimum 3°C - 32 °C, kelembaban udara 50% - 80% . Kondisi yang baik untuk tanaman nangka adalah lahan dengan curah hujan lebih dari 1500 mm/th, tanah aluvial, tanah liat berpasir atau liat berlempung, PH 6,0-7,5, cukup air dan mempunyai drainase yang baik (Pramono dan Kurniaty, 2014).

Tanaman nangka merupakan jenis tanaman tropis yang banyak tumbuh di dataran Indonesia. Tanaman nangka dapat tumbuh dengan baik bila mendapat cahaya matahari serta air yang cukup dan tidak terjadi kemarau panjang. Nangka dapat tumbuh dengan baik di wilayah yang beriklim tropis dengan curah hujan sekitar 1500 mm per tahun dimana tingkat kekeringan tidak terlalu tinggi. Tanaman

angka dapat tumbuh dan berbuah dengan baik pada lintang 25° utara maupun selatan serta masih dapat berbuah sampai lintang 20°. Tanaman angka kurang toleran terhadap kekeringan, air tergenang atau pun cuaca panas (Rukmana, 1997).

2.1.4 Kandungan Bahan Aktif

Hasil skrining fitokimia pada daun angka yang telah dilakukan menunjukkan hasil positif terhadap senyawa flavonoid, saponin, dan tanin.

Flavonoid dikenal memiliki fungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antifungi, antiviral, antikanker dan antibakteri. Flavonoid sebagai antibakteri bekerja dalam mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Dyta, 2011).

Senyawa flavonoid terbukti sebagai antikanker, antivirus, antiinflamasi, diuretik dan antihipertensi. Saponin merupakan salah satu senyawa yang dihasilkan tumbuhan yang berfungsi sebagai antivirus, antibakteri, meningkatkan kekebalan tubuh. Tanin adalah senyawa fenol yang larut dalam air. Tanin pada tanaman merupakan senyawa fenolik yang memiliki daya antiseptik. Efek antibakteri tanin melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan inaktivasi fungsi materi genetik (Ersam, 2001).

Penelitian Majid, Yamlean dan Cintraningtyas (2019) didapatkan hasil daun angka memiliki kandungan flavonoid, saponin dan tanin. Flavonoid dan saponin merupakan suatu senyawa yang mempunyai zat antibakteri yang cara kerjanya merusak membran sitoplasma dan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Tanin merupakan senyawa fenol yang larut dalam air dan tanin pada tanaman merupakan senyawa fenolik

yang memiliki daya antiseptik. Efek antibakteri tanin melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan inaktivasi fungsi materi genetik.

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi umumnya digunakan untuk mengambil senyawa tertentu. Menurut Prasetyo *et al.* (2015) ekstraksi merupakan proses pemisahan berdasarkan perbedaan kelarutan bahan. Metode ekstraksi yang umum digunakan adalah metode maserasi. Metode tersebut sering digunakan karena prosedur dan peralatannya sederhana. Proses ekstraksi dipengaruhi oleh suhu, ukuran partikel, jenis pelarut, waktu ekstraksi, dan metode ekstraksi.

Banyak jenis pelarut yang dapat digunakan dalam proses ekstraksi. Pelarut pengestraksi yang terbaik untuk hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah seperti saponin dan flavonoid. Jenis pelarut pengestraksi juga mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak, sesuai konsep like dissolve like, dimana senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Arifianti *et al.*, 2014).

Ekstrak etanol daun nangka dibuat dengan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 300 gram serbuk simplisia daun nangka direndam dalam 2250 mL etanol 70% selama tiga hari terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk (3 kali dalam sehari) untuk meningkatkan efektifitas penyarian bahan aktif. Selanjutnya, rendaman simplisia daun nangka dan daun angkana disaring dengan bantuan pompavaccum dan ampasnya diperashingga diperoleh maserat (1). Ampas yang masih menempel pada kertas saring dicuci menggunakan etanol 70% dan kemudian direndam kembali menggunakan 750 mL etanol 70% selama dua hari hingga diperoleh maserat (2). Maserat (2) lalu dicampurkan dengan maserat

(1) (Anas *et al.*, 2016). Sedangkan menurut Kusumawati *et al.* (2017) menyatakan bahwa Ekstraksi menggunakan cara maserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1 liter. Sampel ditimbang 100 gram, kemudian dimasukkan ke dalam wadah kaca dan direndam dengan etanol 70% selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam, lalu ditutup. Maserat dipisahkan dengan cara penyaringan. Proses penyarian diulangi sekurang-kurangnya dua kali dengan menggunakan pelarut dengan jenis dan jumlah yang sama.

2.3 Bakteri *Edwardsiella Tarda*

2.3.1 Klasifikasi Bakteri *Edwardsiella Tarda*

Klasifikasi *E. tarda* menurut Holt *et al.* (1994) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Eubacteria
 Subkingdom : Prokaryota
 Phylum : proteobacteria
 Divisi : Protophyta
 Kelas : Schizomycetes
 Ordo : Pseudomonadales
 Subordo : Thiorhodaceae
 Famili : Enterobacteriaceae
 Genus : *Edwardsiella*
 Spesies : *Edwardsiella tarda*

2.3.2 Morfologi Bakteri *Edwardsiella Tarda*

Bakteri *E. tarda* merupakan golongan bakteri Gram negatif yang memiliki morfologi bentuk batang pendek, dapat menghasilkan indol dan H₂S. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hefdiyah dan Sovitri (2014) yang menyatakan bahwa

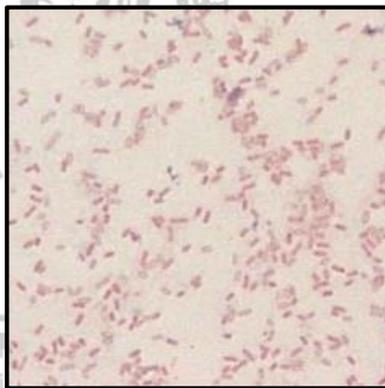
E. tarda merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki bentuk batang, dapat menghasilkan indol, H₂S, dan dapat menghasilkan enzim urease.

Bakteri *E. tarda* termasuk kedalam family Enterobacteriaceae merupakan bakteri golongan Gram negatif dan bersifat motil karena memiliki peritrichous flagella. Morfologi bakteri tersebut berukuran 1 µm x 2-3 µm, berbentuk batang pendek, non acid fast, tidak berspora dan tidak berkapsul. Bakteri ini bersifat fakultatif anaerob, fermentasi glukosa, tetapi negatif pada fermentasi laktosa, oksidase-negatif dan katalase-positif (Murwantoko *et al.* 2019).

Arsal, Hasanuddin, dan Rizal (2016) menyatakan bahwa bakteri *E. tarda* berbentuk batang pendek. Bakteri *E. tarda* ini berwarna merah atau gram negatif.

Bakteri *E. tarda* menunjukkan bentuk koloni bundar dengan diameter 0,5-1 mm.

Bakteri ini mempunyai bentuk cembung, transparan dan berwarna krem. Koloni bakteri tumbuh sangat baik dan dominan dengan bentuk bulat, transparan dan tidak berwarna. Morfologi bakteri *E. tarda* disajikan pada Gambar 2.



Sumber: Murwantoko *et al.* 2019
Gambar 2. Morfologi Bakteri *E. tarda*

2.3.3 Habitat dan Penyebaran

Bakteri *E. tarda* yang merupakan bakteri yang ditemukan di Amerika utara, Amerika tengah, Karibia, Eropa, Asia, Australia, Afrika dan Timur Tengah. Di Amerika Serikat. *E. tarda* telah berhasil diisolasi dari 80% ikan catfish yang berasal

dari perikanan dalam negeri. Bakteri ini dapat ditemukan di lumpur kolam dan sebagai mikroflora normal dalam usus pada burung pemakan ikan, reptil, katak maupun mamalia laut (Murwantoko *et al.* 2019).

Bakteri *E. tarda* dapat bertahan di dalam air dan lumpur, sehingga air dan lumpur yang sudah bebas dari ikan yang sakit pun dapat menjadi pembawa dan menyebabkan timbulnya kembali penyakit. *E. tarda* hidup pada perairan tawar maupun di laut dan dapat dibawa oleh berbagai jenis hewan seperti reptil (kura-kura), katak, lobster air tawar, babi serta manusia (Narwiyani, 2011).

2.3.4 Infeksi dan Tanda Peyerangan Bakteri *Edwardsiella Tarda*

Maftuch, Suprastyani, dan Setyawan, (2018) menyatakan bahwa ikan yang terjangkit edwardsiellosis akan memperlihatkan gejala seperti terjadi luka pada kulit yang kemudian akan meluas ke bagian daging, sehingga dengan segera akan mengakibatkan perdarahan. Luka semacam ini sering dijumpai pada hati ikan. Jika tidak segera diobati, luka-luka ini akan berkembang menjadi bisul dan mengeluarkan nanah (abses). Pada jaringan daging, hati dan ginjal sering terjadi nekrosis.

Bakteri *E. tarda* menyebabkan penyakit yang dikenal dengan nama Edwardsiellosis atau Emphysematous Putrefactive Disease (EPD). Ikan yang terserang tidak menunjukkan gejala klinik yang tersifat, hanya anoreksia yang bersifat umum. Gejala lain yaitu pendarahan pada kulit, warna tubuh pucat dan terjadi luka yang merata pada seluruh permukaan tubuh. Sekurang-kurangnya 250 kasus penyakit yang disebabkan oleh *E. tarda* telah dilaporkan menimbulkan gastroenteritis, septicemia dan infeksi pada jaringan lunak (Ratnawati *et al.* 2013).

Tungkup, Syawal, dan Riauaty (2021) menyatakan bahwa mikroorganisme penyebab timbulnya penyakit ikan pada usaha budidaya adalah

bakteri *E. tarda* yang dilaporkan dapat menyerang ikan air tawar dan laut, jenis ikan budidaya seperti catfish. Bakteri *E. tarda* menyebabkan penyakit yang dikenal dengan nama *Edwardsiellosis* atau *Emphisematous Putrefactive Disease* (EPD). Ikan yang terkena penyakit *Edwardsiellosis* akan memperlihatkan gejala warna kulit memucat, terdapat lendir yang berlebihan, luka, apabila tergores akan mengeluarkan bau busuk, serta peradangan dari anus sampai pangkal ekor. Ikan jambal siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) yang terinfeksi *E. tarda* menunjukkan gejala klinis, yakni, terdapat luka dibagian infeksi dan terlihat semakin membesar sehingga menyebabkan lesi, perut membengkak, produksi lendir yang berlebihan dan terjadi peradangan pada tubuh dari anus sampai pangkal ekor berwarna merah dan pergerakan lambat.



Sumber: Wahjuningrum, Ikhsan, Sukenda dan Evan., 2014.

Gambar 3. Gejala Klinis Ikan Lele yang Terserang Bakteri *E. tarda*

2.4 Pertumbuhan Bakteri

Bakteri memiliki permukaan yang luas sesuai dengan perbandingan volume tubuhnya. Maka dari itu, bakteri akan cepat memperoleh makanan dari lingkungannya, baik secara difusi maupun melalui mekanisme transpor aktif. Itulah sebabnya pada kondisi yang cocok bakteri akan tumbuh dengan cepat. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri, antara lain, suhu, ketersediaan makanan, pH, konsentrasi ionic, serta oksigen. Pertumbuhan bakteri

berlangsung sangat cepat. Dalam kondisi normal, bakteri membelah diri menjadi dua setiap 20 menit. Catatan waktu demikian dikenal sebagai waktu generasi. Jadi dalam waktu 40 menit bakteri membelah diri menjadi empat sel. Dalam waktu satu jam menjadi delapan sel, dan dalam waktu tujuh jam menghasilkan 2.097.152 sel (Sudjadi dan Laila., 2006).

Perkembangbiakan bakteri juga dipengaruhi oleh beberapa faktor. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Setiowati dan Furqonita (2007) bahwa bakteri mampu berkembangbiak secara cepat. Pertumbuhan bakteri juga dipengaruhi oleh faktor suhu, kelembapan, sinar matahari, dan zat kimia. Bakteri dapat tumbuh pada lingkungan lembab. Sinar matahari mampu merusak struktur materi genetik bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Beberapa zat 15 kimia, misalnya antibiotik, dapat merusak bahkan mematikan bakteri.

Kochan, Lai, Richardson, Nethercott, Peleg, Heraud, dan Wood (2020) menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri dalam kultur terjadi dalam empat fase yang terlihat jelas melalui kurva pertumbuhan antara lain: fase lag, fase eksponensial (log), fase stasioner dan fase kematian. Setiap fase dikaitkan dengan karakteristik spesifik sehubungan dengan tingkat pertumbuhan.

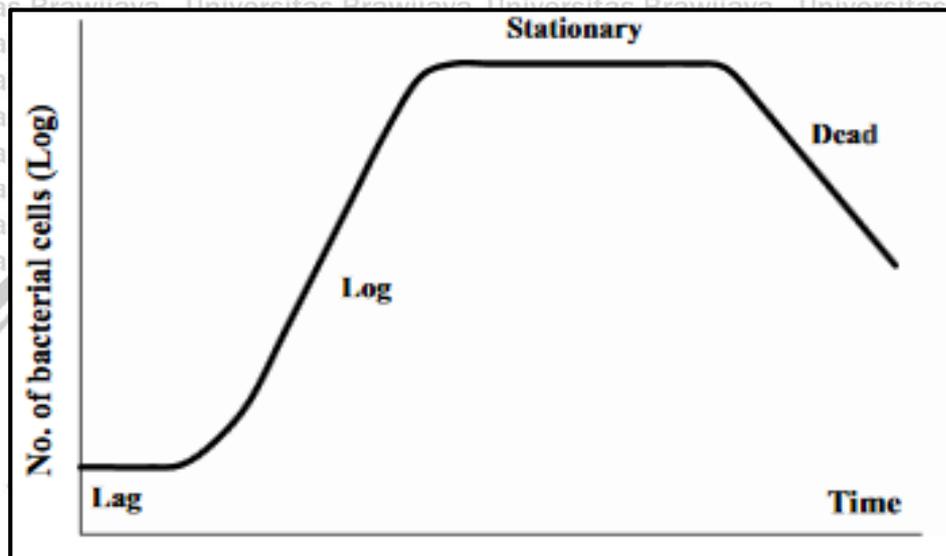
a. Fase lag yaitu fase awal yang ditandai dengan aktivitas seluler yang belum diikuti oleh pembelahan bakteri. Dalam fase lag, sel bakteri mengalami adaptasi dengan kondisi lingkungan baru dan bersiap untuk pertumbuhan selanjutnya. Ini terkait dengan sintesis berbagai senyawa dan tercermin dalam pertumbuhan ukuran sel yang ada.

b. Fase log yaitu pertumbuhan eksponensial terjadi pada laju yang konstan, dengan sel-sel mengalikan melalui pembelahan biner.

c. Fase stasioner yaitu kondisinya menjadi tidak menguntungkan (misalnya, karena penipisan nutrisi dan akumulasi limbah yang progresif), yang

mengakibatkan penurunan pertumbuhan populasi. Pertumbuhan sel mencapai titik tertinggi ketika jumlah sel yang membelah sama dengan jumlah sel yang mati.

d. Fase kematian yaitu jumlah sel hidup berkurang dan pertumbuhan populasi menurun dengan cepat. Representasi grafis dari kurva pertumbuhan bakteri disajikan pada Gambar 4.



Sumber: Wang, Fan, Chen, dan Terentjev., 2015

Gambar 4. Gambar Grafik Pertumbuhan Bakteri

2.5 Uji Daya Hambat Secara *In Vitro*

Uji *in vitro* merupakan suatu metode uji pada media buatan yang sesuai dengan lingkungan optimal yang diperlukan oleh mikroba untuk tumbuh dan berkembangbiak. Uji tersebut dilakukan untuk melihat daya kerja antimikrobal ekstrak daun. Metode yang digunakan pada pengujian *in vitro* adalah metode difusi atau metode cakram kertas dan menggunakan metode dilusi. Pada metode difusi parameter yang diamati adalah zona hambat yang terbentuk, yaitu dengan mengukur diameter zona jernih di sekitar sumur dengan penggaris. Tahap pengujian *in vitro* lainnya adalah dengan menggunakan metode dilusi, yakni dengan mencampurkan bakteri, media dan ekstrak etanol daun sehingga dapat

diamati ada atau tidaknya bakteri yang tumbuh (Ikrom, Asih, Wira, Perkasa, Tiara, dan Wasito., 2014). Uji *in vitro* dilakukan di laboratorium yang dilakukan dengan menggunakan metode cakram. Uji *in vitro* berfungsi sebagai acuan untuk mengetahui dosis ekstrak daun yang paling optimum sebagai alternative pengobatan penyakit bakterial. Selanjutnya dosis yang didapat dari uji *in vitro* digunakan dalam uji *in vivo* (Indriani, Prayitno, dan Sarjito., 2014).

Soleha (2015), menyatakan bahwa kemampuan antimikroba dalam melawan bakteri dapat diukur menggunakan metode yang biasa dilakukan, yaitu:

- a. Metode dilusi, metode ini terdiri dari dua teknik pengerjaan, yaitu teknik dilusi perbenihan cair dan teknik dilusi agar. Metode ini dapat dilakukan untuk menentukan nilai MIC dan MBC. Pada teknik dilusi cair ekstrak yang digunakan disediakan pada berbagai macam pengenceran biasanya dalam satuan $\mu\text{g/ml}$, konsentrasi bervariasi tergantung jenis. Hasil MIC ditunjukkan pada konsentrasi ekstrak terendah yang menunjukkan hambatan pertumbuhan dengan jelas, baik dilihat secara visual atau alat semiotomatis dan otomatis. Pada teknik dilusi agar, ekstrak sesuai dengan pengenceran akan ditambahkan ke dalam agar. Sedangkan MBC dilakukan dengan menanam bakteri yang digunakan untuk MIC ke dalam agar kemudian diinkubasi semalam pada 37°C . Nilai MBC adalah ketika tidak terjadi pertumbuhan lagi pada agar.
- b. Metode difusi, dilakukan dengan merendam kertas cakram pada ekstrak, yang kemudian ditempatkan pada media yang telah ditanami bakteri yang akan diuji secara merata. Tingginya konsentrasi dari ekstrak ditentukan oleh difusi dari cakram dan pertumbuhan organisme uji yang dihambat penyebarannya (terbentuk zona jernih disekitar cakram). Sehingga bakteri tersebut merupakan bakteri yang sensitif terhadap antimikroba.

Zona hambat merupakan daerah tempat terdapatnya zona bening di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan adanya daya hambat ekstrak. Luas zona hambat yang terbentuk berbeda-beda. Beberapa faktor yang mempengaruhi adanya zona hambat bergantung kepada kemampuan difusi bahan antimikroba ke dalam media dan interaksinya dengan mikroorganisme yang diuji, jumlah mikroorganisme yang digunakan, kecepatan tumbuh mikroorganisme yang diuji, konsentrasi antimikroba dan sensitivitas mikroorganisme terhadap bahan antimikroba yang diuji. Bahan pelarut yang digunakan juga memiliki pengaruh terhadap terbentuknya zona hambat di sekitar cakram. Selain itu zat ekstraktif yang terkandung pada tumbuhan itu sendiri juga memiliki pengaruh pada daya hambat ekstrak daun terhadap pertumbuhan bakteri (Alfath, Yulina, dan Sunnati, 2013). Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri disajikan pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri (Rastina, Sudarwanto, Wientarsih., 2015).

No	Diameter Zona Bening	Respon Hambatan Pertumbuhan
1.	> 20 mm	Sangat kuat
2.	10-20 mm	Kuat
3.	5-10 mm	Sedang
4.	< 5 mm	Lemah

2.6 Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri merupakan substansi yang dihasilkan oleh suatu organisme, yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan ataupun membunuh mikroorganisme lain. Sebagian besar antibakteri asal tumbuhan diketahui merupakan metabolit sekunder yang teridentifikasi sebagai golongan fenolik dan terpenoid. Mekanisme antibakteri senyawa fenolik dan terpenoid adalah merusak struktur dinding sel, mengganggu kerja transport aktif dan kekuatan proton di dalam membran sitoplasma bakteri. Senyawa tersebut akan

mendenaturasi dan menginaktifkan protein seperti enzim. Oleh karena itu, dinding sel bakteri akan mengalami kerusakan karena terjadinya penurunan permeabilitas yang memungkinkan terganggunya transport ion-ion organik penting yang akan masuk ke sel bakteri, sehingga dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel bakteri (Bota, Martosupono, dan Rondonuwu., 2015).

Mekanisme senyawa antibakteri secara umum dengan cara merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran, mengganggu sintesis protein, dan menghambat kerja enzim. Senyawa yang berperan dalam merusak dinding sel antara lain fenol, flavonoid, dan alkaloid. Dinding sel sebagai komponen pertahanan sel bakteri mengalami kerusakan sehingga mengakibatkan senyawa metabolit sekunder dapat masuk lebih dalam dan mengganggu organel lain. Membran sel yang terletak tepat di bagian dalam dinding sel dapat dirusak oleh senyawa fenol, flavonoid, dan saponin. Senyawa tanin memiliki mekanisme mengkoagulasi dan mendenaturasi protein, serta dapat menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Dewi, Ratnasari, dan Trimulyono., 2014).

Senyawa aktif yang terkandung didalam daun nangka berperan penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Uji fitokimia yang telah dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica dengan hasil bahwa daun nangka dengan pelarut ethanol didapatkan hasil yaitu flavonoid (positif), alkaloid (positif), tanin (positif), dan saponin (positif). Senyawa tersebut memiliki peran penting yang bersifat antibakteri. Menurut Dyta (2011), hasil uji fitokimia pada daun nangka yang telah dilakukan menunjukkan hasil positif terhadap senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. Flavonoid memiliki fungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antifungi, antiviral, antikanker dan antibakteri. Flavonoid bekerja dalam mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi.

Flavonoid selain memiliki aktivitas antioksidan juga bersifat sebagai antibakteri dengan cara merusak permeabilitas dinding sel sehingga menyebabkan kerusakan dinding sel dan mengganggu proses metabolisme sel. Kerusakan yang terjadi pada sel bakteri dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan atau kematian. Pernyataan tersebut didukung oleh penelitian Pelczar and Chan (1998), yang menyatakan bahwa flavonoid sebagai antibakteri bekerja dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi.

Kusumawati, Apriliana dan Yulia (2017), menyatakan bahwa Senyawa tanin bekerja dengan cara mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas ini, sel tidak dapat melakukan aktivitas sehingga pertumbuhannya terhambat atau mati. Tanin mempunyai target pada polipeptida dinding sel, sehingga pembentukan dinding sel menjadi tidak sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel sehingga mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengurangi kestabilan itu. Hal ini menyebabkan sitoplasma keluar dari sel yang berakibat kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisidal (Ngajow, Abidjulu, dan Kamu, 2013).

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidolikan pada sel bakteri, sehingga menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk sempurna dan menyebabkan

kematian pada sel. Mekanisme lain antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Rijayanti, Luliana, dan Trianto, 2014).



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Tempat, Waktu/Jadwal Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Maret-Juli 2021.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Alat dan Fungsi

Alat – alat yang akan digunakan pada penelitian tentang penggunaan ekstrak daun sirih merah sebagai antibakteri *E. tarda* disajikan pada Tabel 2. Dokumentasi alat penelitian disajikan pada Lampiran 1.

Tabel 2. Alat Penelitian

No	Alat	Kegunaan
1.	Autoclave	Untuk mensterilisasi alat dan Bahan
2.	Beaker glass 1.000 ml	Untuk wadah saat sterilisasi
3.	Blender	Untuk menghancurkan dan menghaluskan ekstrak daun nangka
4.	Blue tip	Untuk alat bantu mikropipet 100-1.000 µl
5.	Bola hisap	Untuk alat bantu pipet volume mengambil dan mengeluarkan larutan
6.	Botol film	Untuk wadah larutan ekstrak
7.	Bunsen	Untuk pengkondisian aseptis pada saat berada di dalam <i>Laminary Air Flow</i> (LAF)
8.	Cawan Petri	Untuk wadah media penanaman bakteri dan uji cakram
9.	Corong	Untuk membantu dalam penuangan larutan agar tidak tumpah
10.	Erlenmeyer 500 ml	Untuk wadah pembuatan media
11.	Gelas ukur 100 ml	Untuk mengukur larutan
12.	Gunting	Untuk memotong bahan yang akan digunakan
13.	Hotplate	Untuk memanaskan media
14.	Inkubator	Untuk menyimpan bakteri yang digunakan
15.	Jangka sorong digital	Untuk mengukur panjang zona hambat
16.	Jarum ose	Untuk mengambil bakteri pada Media
17.	Korek api	Untuk menyalakan api pada bunsen
18.	Laminar Air Flow (LAF)	Untuk tempat preparasi bahan dan penanaman bakteri agar tidak mengalami kontaminasi dengan udara Luar

Tabel 2. Alat Penelitian (Lanjutan)

No	Alat	Kegunaan
19.	Lemari Pendingin	Untuk menyimpan bakteri dan bahan pada suhu dingin
20.	Mikropipet	Untuk mengambil larutan dengan skala yang kecil
21.	Mikroskop	Untuk pengamatan bakteri saat pewarnaan gram
22.	Nampan	Untuk wadah alat dan bahan
23.	<i>Object glass</i>	Untuk tempat bakteri saat pewarnaan
24.	Pinset	Untuk mengambil kertas cakram
25.	Pipet	Untuk mengambil larutan safranin, kristal violet, dan iodine
26.	Pipet volume	Untuk mengambil larutan dengan skala besar
27.	Rak tabung reaksi	Untuk wadah tabung reaksi
28.	<i>Rotary evaporator</i>	Untuk memisahkan ekstrak daun nangka dengan etanol
29.	Sendok bahan	Untuk mengambil bahan
30.	Spatula	Untuk mengaduk larutan agar homogen
31.	Sprayer	Untuk wadah alkohol
32.	Tabung reaksi	Untuk wadah peremajaan bakteri
33.	Timbangan analitik	Untuk menimbang bahan dengan ketelitian 10^{-3}
34.	Timbangan digital	Untuk menimbang bahan dengan ketelitian 10^{-2}
35.	Toples kaca	Untuk wadah maserasi daun nangka
36.	<i>Triangle</i>	Untuk meratakan bakteri saat penanaman bakteri
37.	<i>Vortex mixer</i>	Untuk menghomogenkan larutan
38.	<i>Washing bottle</i>	Untuk tempat akuades
39.	<i>Yellow tip</i>	Untuk alat bantu mikropipet 10-100 μ l

3.2.2 Bahan dan Fungsi

Bahan – bahan yang akan digunakan pada penelitian tentang penggunaan ekstrak daun sirih merah sebagai antibakteri *E. tarda* disajikan pada Tabel 3.

Dokumentasi bahan penelitian disajikan pada Lampiran 2.

Tabel 3. Bahan Penelitian

No	Bahan	Kegunaan
1.	Akuades	Sebagai bahan pelarut
2.	Alkohol 70%	Sebagai bahan untuk keadaan steril
3.	Aluminium foil	Sebagai penutup dan pelapis permukaan alat
4.	Bakteri <i>E. tarda</i>	Sebagai bakteri yang akan digunakan dalam perlakuan
5.	Daun nangka	Sebagai tanaman yang akan diuji
6.	DMSO	Sebagai pelarut ekstrak
7.	Ethanol 70%	Sebagai larutan saat maserasi daun nangka

Tabel 3. Bahan Penelitian (Lanjutan)

No	Bahan	Kegunaan
8.	Iodine	Sebagai bahan pewarna oranye saat pewarnaan bakteri
9.	Kapas	Sebagai penutup erlenmeyer dan tabung reaksi saat dilakukan sterilisasi
10.	Kertas cakram	Sebagai bahan untuk mengetahui zona hambat
11.	Kertas label	Pemberi tanda pada alat, bahan, dan setiap perlakuan
12.	Kertas saring	Sebagai penyaring larutan maserasi daun angka
13.	Kristal violet	Sebagai bahan pewarna biru/ungu saat pewarnaan bakteri
14.	Latex	Sebagai sarung tangan agar tidak kontaminasi
15.	Masker	Sebagai pencegah kontaminasi
16.	Plastik <i>warp</i>	Sebagai bahan pembungkus dan merekatkan penutup cawan atau tabung reaksi
17.	Safranin	Sebagai bahan pewarna merah saat pewarnaan bakteri
18.	Spiritus	Sebagai bahan bakar Bunsen
19.	Tisu	Sebagai pembersih alat yang digunakan
20.	TSA (<i>Tryptic Soy Agar</i>)	Sebagai media peremajaan bakteri
21.	TSB (<i>Tryptic Soy Broth</i>)	Sebagai media pembiakan bakteri

Penelitian Majid, Yamlean dan Cintraningtyas (2019) didapatkan hasil daun angka terdapat kandungan flavonoid, saponin dan tanin. Flavonoid dan saponin merupakan suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri yang cara kerjanya merusak membran sitoplasma dan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Tanin merupakan senyawa fenol yang larut dalam air dan tanin pada tanaman merupakan senyawa fenolik yang memiliki daya antiseptik. Efek antibakteri tanin melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan inaktivasi fungsi materi genetik.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode eksperimen.

Metode eksperimen ini menguji secara langsung penggunaan ekstrak daun

angka sebagai antibakteri *E. tarda*. Menurut Payadnya dan Jayantika (2018), metode eksperimen adalah metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendali.

Metode penelitian eksperimen merupakan salah satu metode dalam penelitian kuantitatif. Metode ini ditujukan untuk meneliti hubungan sebab akibat dengan memanipulasikan satu atau lebih variabel pada suatu eksperimental, dan membandingkan hasilnya dengan kontrol yang tidak mengalami manipulasi.

Setelah dimanipulasikan, variabel bebas itu biasanya disebut *treatment*. Pada prinsipnya penelitian eksperimen dapat didefinisikan sebagai metode sistematis guna membangun hubungan yang mengandung fenomena sebab akibat.

Metode penelitian eksperimen merupakan satu-satunya tipe penelitian yang akurat atau teliti dibandingkan dengan tipe penelitian yang lain. Hal ini dimungkinkan karena dalam penelitian eksperimen peneliti dapat melakukan pengawasan terhadap variabel bebas baik sebelum penelitian maupun selama penelitian. Metode penelitian eksperimental merupakan suatu bentuk penelitian dimana variabel dimanipulasi sehingga dapat dipastikan pengaruh dan efek variabel tersebut terhadap variabel lain yang diselidiki. Adapun beberapa keuntungan metode penelitian eksperimen yaitu (1) dapat ditentukan pengaruh atau akibat variabel bebas terhadap variabel terikat, (2) pembuktan hipotesis menjadi lebih baik dan penelitian lebih akurat/teliti, (3) eksperimen memberikan kesempatan kepada peneliti untuk mempelajari perubahan sepanjang waktu penelitian (Yusuf., 2014).

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Tribudi dan Prihandini (2020) menyatakan bahwa rancangan acak lengkap (RAL) merupakan dasar dari semua

jenis rancangan percobaan dan meruakan salah satu rancangan yang paling sederhana dibanding dengan rancangan lainna dari segi penerapa dan analisis.

Rancangan ini digunakan ketika keadaan lingkungan atau media percobaan saat penelitian dilakukan dalam keadaan homogen atau dapat dikontrol peneliti.

Penggunaan rancangan ini dilakukan apabila akan menguji beberapa perlakuan yang diujicobakan pada suatu penelitian, apakah terdapat perbedaan pengaruh

atau tidak terhadap variabel yang diukur. Kelebihan dalam penggunaan RAL yaitu penerapan denah rancangan mudah dilakukan, analisis statistika yang sederhana,

penggunaan jumlah perlakuan maupun jumlah ulangan sangat fleksibel, dan informasi yang hilang relative lebih sedikit dalam hal kehilangan data dibanding

rancangan lain. Adapun model matematika untuk RAL adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

- Y_{ij} = pengamatan pada perlakuan ke-i ulangan ke-j
 μ = nilai tengah umum
 T_i = pengaruh perlakuan ke-i
 ϵ_{ij} = galat percobaan pada perlakuan ke-i ulangan ke-j
 i = 1,2 ...t
 j = 1,2 ...r

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu berupa ekstrak daun nangka dengan perlakuan dosis yang berbeda dan bakteri *E. tarda* sebagai variabel terikat. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui penggunaan ekstrak daun

nangka sebagai antibakteri *E. tarda* secara *in vitro*. Penentuan dosis pada penelitian ini didapatkan dari hasil uji pendahuluan atau penelitian pendahuluan.

Dalam penelitian pendahuluan dosis yang digunakan adalah 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, 140 ppm, dan 160 ppm. Hasil yang didapatkan dari penelitian pendahuluan pada dosis 60 ppm eksrak daun nangka telah mampu membentuk zona bening disekitar cakram namun masih samar - samar dan kemudian zona bening tersebut menunjukkan nilai optimal pada dosis 160 ppm.

Dari hasil uji pendahuluan tersebutlah dapat diputuskan dosis dan rentan dosis yang akan digunakan pada penelitian. Dosis pada penelitian ini dimulai dari 75 ppm hingga 375 ppm dengan rentan dosis pada setiap perlakuan adalah sebesar 75 ppm. Penelitian ini dilakukan dengan mengukur daya hambat atau zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram dengan bantuan jangka sorong. Perhitungan dosis penelitian disajikan pada lampiran 3. Adapun tingkat dosis yang digunakan pada penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan 2 variabel kontrol terdiri dari kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif dengan menggunakan antibiotic oxytetracycline sedangkan untuk kontrol negatif tanpa perlakuan. Perlakuan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 4. Denah penelitian disajikan pada Gambar 5.

Tabel 4. Perlakuan Penelitian

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A	A1	A2	A3
B	B1	B2	B3
C	C1	C2	C3
D	D1	D2	D3
E	E1	E2	E3
Kontrol (-)	K(-) 1	K(-) 2	K(-) 3
Kontrol (+)	K(+) 1	K(+) 2	K(+) 3

Keterangan:

A : Perlakuan ekstrak daun nangka dengan dosis 75 ppm

B : Perlakuan ekstrak daun nangka dengan dosis 150 ppm

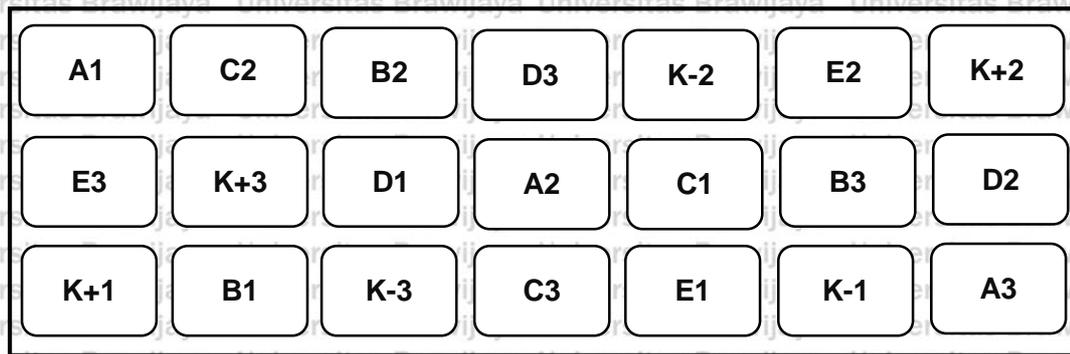
C : Perlakuan ekstrak daun nangka dengan dosis 225 ppm

D : Perlakuan ekstrak daun nangka dengan dosis 300 ppm

E : Perlakuan ekstrak daun nangka dengan dosis 375 ppm

K- : Kontrol negatif perlakuan tanpa pemberian apapun, hanya kertas cakram

K+ : Kontrol positif perlakuan antibiotic oxytetracycline dengan dosis 45 ppm



Gambar 5. Denah Penelitian

Keterangan:

A – E : Perlakuan

K- : Kontrol negatif

K+ : Kontrol positif

1 – 3 : Ulangan

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

a). Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan saat penelitian disterilisasi di laboratorium dengan menggunakan autoklaf. Chidambaranathan dan Balasubramanium (2017) menyatakan bahwa sterilisasi dapat diartikan pemusnahan mikroorganisme dan spora secara menyeluruh dan memerlukan waktu tertentu. Autoklaf adalah alat yang digunakan untuk mensterilkan peralatan dengan memberikan tekanan uap jenuh tinggi. Suhu yang digunakan yaitu pada 121.° C atau lebih selama 15 hingga 20 menit. Autoklaf juga bekerja pada 115°C / 10 p.s.i, 121°C / 15 p.s.i., dan 134°C / 30 p.s.i. Autoklaf dapat membunuh sebagian besar bakteri, spora, virus, dan jamur. Menurut Syah (2016) proses sterilisasi termal menggunakan uap jenuh di bawah tekanan berlangsung di suatu bejana yang disebut autoklaf. Autoklaf adalah alat untuk mensterilkan berbagai macam alat dan bahan yang digunakan dalam mikrobiologi. Tekanan yang digunakan

pada umumnya 15 Psi atau sekitar 2 atm dan dengan suhu 121°C (250°F). Jadi tekanan yang bekerja ke seluruh permukaan benda adalah 15 pon tiap inchi² (15 Psi = 15 pounds per square inch). Lama sterilisasi yang dilakukan biasanya 15 menit untuk suhu 121°C.

b). **Persiapan Sampel**

1). **Daun Nangka**

Daun Nangka diperoleh dari pekarangan warga di Jalan Kenanga Indah 1, Kecamatan Lowokwaru, Kelurahan Jatimulyo, Kota Malang, Jawa Timur. Daun nangka basah yang didapatkan sebanyak 3.000 gram. Daun nangka dijemur selama 7 hari dibawah sinar matahari dan dihaluskan hingga mendapat serbuk kering sebanyak 400 gram. Daun nangka ini telah dilakukan uji fitokimia yang digunakan dalam penelitian ini. Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terkandung dalam daun nangka. Hasil uji fitokimia daun nangka disajikan pada Lampiran 4.

2). **Bakteri *Edwarsiella tarda***

Bakteri *E. tarda* didapatkan dari Balai Uji Standar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BUSKIPM) Jakarta. Isolat bakteri yang didapatkan ditanam pada media agar miring TSA dalam tabung reaksi. Hasil uji biokimia bakteri *E. tarda* di sajikan pada Lampiran 5.

c). **Ekstraksi Daun Nangka**

Ekstrak etanol daun nangka dibuat dengan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 300 gram serbuk simplisia daun nangka direndam dalam 2250 mL etanol 70% selama tiga hari terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk (3 kali dalam sehari) untuk meningkatkan efektifitas penyarian bahan aktif.

Selanjutnya, rendaman simplisia daun nangka disaring dengan bantuan pompavaccum dan ampasnya diperashingga diperoleh maserat (1). Ampas yang

masih menempel pada kertas saring dicuci menggunakan etanol 70% dan kemudian direndam kembali menggunakan 750 mL etanol 70% selama dua hari hingga diperoleh maserat (2). Maserat (2) lalu dicampurkan dengan maserat (1). Maserat yang didapatkan disimpan didalam wadah tertutup rapat selama semalam dan dienaptuangkan. Ekstrak etanol daun nangka dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental (Anas, Hidayati, Kurniasih dan Lalu, 2016). Dalam penelitian Kusumawati, Apriliana dan Yulia (2017) juga menjelaskan proses ekstraksi dengan metode maserasi yaitu sebagai berikut, ekstraksi menggunakan cara maserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1 liter. Sampel ditimbang 100 gram, kemudian dimasukkan ke dalam wadah kaca dan direndam dengan etanol 70% selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam, lalu ditutup. Maserat dipisahkan dengan cara penyaringan. Proses penyarian diulangi sekurang-kurangnya dua kali dengan menggunakan pelarut dengan jenis dan jumlah yang sama. Selanjutnya semua maserat dikumpulkan dan kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Prosedur ekstraksi daun nangka disajikan pada lampiran 6a. Perhitungan rendemen dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar kering} = \frac{300}{3000} \times 100\% = 10\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{57,62}{300} \times 100\% = 19\%$$

d). Pembuatan Media

1) Media Cair TSB (*Tryptone Soy Broth*)

- Media TSB untuk Kultur Bakteri

Pembuatan stock bakteri dilakukan pada media TSB (*Tryptic Soy Broth*)

yang diberi bakteri *E. Tarda*. Media TSB adalah media cair yang umum digunakan

untuk isolasi pertumbuhan mikroorganisme yang telah diperkaya berbagi nutrisi.

Menurut Maftuch, Suprastyani, dan Setyawan (2018), langkah pertama yang

dilakukan untuk membuat media yaitu media TSB ditimbang sebanyak 1,5 gram

dengan menggunakan timbangan digital dan dimasukkan kedalam erlenmeyer.

Media dilarutkan dengan aquades 50 ml dan dihomogenkan. Setelah homogen,

larutan dituang kedalam 10 tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 ml. Masing-

masing tabung reaksi kemudian ditutup kapas dan ditutup dengan aluminium foil

kemudian diikat dengan tali, kemudian media disterilisasi dengan autoklaf pada

suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

2) Media Padat TSA (*Tryptic Soy Agar*)

- Media TSA untuk Peremajaan

Bakteri *E. tarda* dapat diisolasi pada media non selektif seperti nutrisi agar

atau TSA. Bakteri *E. tarda* yang tumbuh pada media non selektif seperti TSA,

dengan ciri berwarna krem, berbentuk bulat dengan tipe rata cembung (Setiaji,

Johan, dan Pramujiono., 2013). Peremajaan bakteri dilakukan pada agar miring

dengan menggunakan media TSA (*Tryptic Soy Agar*) menurut Maftuch,

Suprastyani, dan Setyawan (2018), langkah pertama yang dilakukan yaitu dengan

menimbang TSA sebanyak 0.37 gram dengan menggunakan timbangan digital.

Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan aquades

sebanyak 10 ml dan dihomogenkan. Media yang sudah homogen dimasukkan ke

dalam 2 tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 ml. Tabung reaksi ditutup kapas

dan dibungkus aluminium foil serta diikat dengan tali. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Tabung reaksi yang berisi media steril dimiringkan dengan kemiringan 30° dan ditunggu hingga padat.

- Media TSA untuk Uji Cakram

Pembuatan media *Media Tryptic Soy Agar* (TSA) yang digunakan untuk uji cakram menggunakan metode dari Tomaso, Balansa, Azhari, dan Montoali (2018) dengan sedikit modifikasi sebagai berikut. Sebanyak 16 gr TSA diencerkan dalam 400 ml akuades. Selanjutnya, larutan TSA tersebut dihomogenkan dan dipanaskan pada suhu 100-180°C hingga mendidih. Pemanasan dilakukan dengan menggunakan alat *hot plate stirrer*. Kemudian Media *Tryptic Soy Agar* (TSA) tersebut disterilkan dengan menggunakan autoklaf. Sterilisasi dilakukan pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

e). Na-Fisiologis

NaFis adalah larutan isotonik yang dapat mempertahankan bakteri tetap hidup jika dilakukan pengenceran. Komposisi dari NaFis yaitu terdiri dari NaCl dan akuades (Hadi,2020). Cara pembuatan nafis 0,9% yaitu ditimbang NaCl sebanyak 0,189 gr. Dilarutkan dengan akuades 21 ml. Selanjutnya diambil masing-masing 7 ml menggunakan pipet volume, kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi. Tutup menggunakan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi dengan autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

f). Peremajaan Bakteri *Edwardsiella tarda*

Peremajaan bakteri bertujuan agar bakteri memulai metabolisme kembali. Peremajaan bakteri *E. tarda* dilakukan pada media padat TSA. Peremajaan pada bakteri dilakukan dengan cara menuangkan media TSA pada tabung reaksi. Tabung reaksi diletakan dengan kemiringan 30°. Kemudian biarkan media tersebut

mengeras. Selanjutnya ambil 1 ose bakteri dari biakan murni dan goreskan pada agar miring. Lalu, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Metode peremajaan bakteri dilakukan dengan menggunakan metode dari Herlina, Widiastuti, dan Triadi (2020). Prosedur peremajaan bakteri *E. tarda* disajikan pada lampiran 6b.

g). Kultur Bakteri *Edwardsiella tarda*

Langkah-langkah yang dilakukan untuk kultur bakteri *E. tarda* sebagai berikut. Pertama, mengambil 1-3 koloni bakteri *E. tarda* dari koloni yang sudah ada sebelumnya. Pengambilan koloni bakteri dilakukan dengan menggunakan jarum ose. Kemudian, bakteri *E. tarda* di tanam kembali pada media padat buatan yaitu Trypticase Soya Broth (TSB). Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 26-30°C selama 24 dan 48 jam untuk mengetahui perbandingan nya. Semua proses kultur bakteri *E. tarda* tersebut harus dilakukan secara aseptis (Budiyanto, Madyowati, dan Lailiyah., 2020).

3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

a). Identifikasi Bakteri *E. tarda*

Identifikasi bakteri dilakukan dengan cara pewarnaan gram. Menurut Budiyanto, Madyowati, dan Lailiyah (2020) pewarnaan gram bertujuan untuk menentukan apakah bakteri tersebut termasuk di dalam kelompok bakteri gram positif atau kelompok bakteri gram negatif. Cara kerja dari pewarnaan gram yaitu kaca objek dibersihkan dengan alkohol dan dilewatkan beberapa kali pada nyala api bunsen, kemudian diambil isolat bakteri dengan ose secara aseptik dan dioleskan pada kaca objek. Isolat bakteri kemudian ditetesi karbol gentian violet atau kristal vioet dan dibiarkan selama 1 menit, selanjutnya dicuci dengan akuades mengalir dan dianginkan hingga kering. Isolat bakteri kemudian ditetesi lagi dengan larutan lugol iodine dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan akuades mengalir dan dianginkan hingga kering. Selanjutnya isolat bakteri

dilunturkan alcohol 95% / alkohol aseton, kemudian dialiri air dan dianginkan hingga kering. Isolat bakteri kemudian ditetesi safranin selama 30 detik dan dicuci dengan akuades mengalir, kemudian dikeringkan dengan kertas penghisap dan dikering anginkan, kemudian dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop 1.000 kali. Bakteri gram positif ditandai dengan warna ungu yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu mengikat warna karbol Kristal violet, sedangkan bakteri gram negatif ditandai dengan warna merah muda yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak mampu mengikat warna Kristal violet dan hanya terwarnai oleh safranin. Prosedur identifikasi bakteri *E. tarda* disajikan pada lampiran 6c.

b). Uji Daya Hambat

Uji zona hambat dilakukan dengan menggunakan metode difusi. Pelaksanaan uji daya hambat ini menurut Apriyanto, Harpeni, Setyawan, dan Tarsim (2014), terdiri dari beberapa prosedur yang pertama adalah isolat bakteri *E. tarda* dengan kepadatan 10^7 cfu/ml sebanyak 100 μ l ditetaskan pada media TSA. Lalu, bakteri diratakan pada media dengan menggunakan triangle. Kertas cakram dengan diameter 6 mm direndam pada ekstrak dengan dosis yang telah ditentukan. Perendaman kertas cakram dilakukan selama 15 menit. Kemudian, kertas cakram ditempelkan pada media TSA. Kontrol positif dilakukan dengan memberikan kertas cakram yang direndam antibiotik oxytetracycline. Sedangkan kontrol negatif berupa kertas cakram netral (hanya diberi akuades). Setelah diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram diukur dengan jangka sorong. Prosedur uji daya hambat bakteri *E. tarda* disajikan pada lampiran 6d.

3.6 Parameter Uji

Parameter uji dalam penelitian ini yaitu parameter utama dan parameter penunjang. Adapun parameter utama yaitu hasil pengukuran zona bening dengan menggunakan jangka sorong yang terlihat disekitar kertas cakram pada media yang telah ditumbuhi oleh bakteri *E. tarda*. Sedangkan untuk parameter penunjang yaitu suhu inkubasi yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri *E. tarda*.

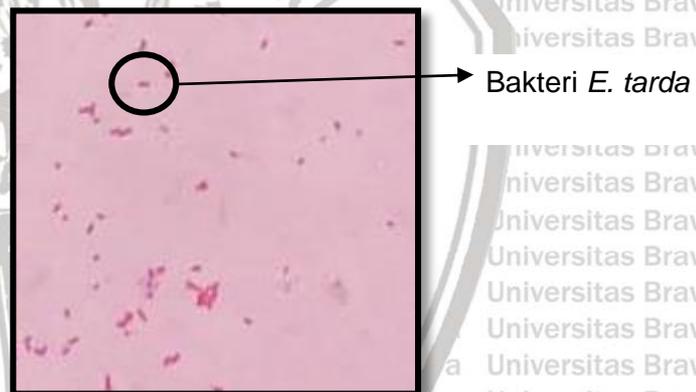
3.7 Analisis Data

Data hasil penelitian yang didapatkan dari zona hambat atau zona bening penggunaan ekstrak daun sirih merah terhadap bakteri *E. tarda*, dilakukan analisa data secara statistik menggunakan analisa keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dan 99% ($\alpha = 0,01$). Hal ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui hubungan pengaruh perlakuan terhadap respon zona hambat atau zona bening yang diukur dihitung dengan uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yaitu untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Kemudian, dilakukan uji *polynomial orthogonal* untuk mengetahui hubungan atau regresi antara perlakuan pada penelitian.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi Bakteri *Edwardsiella tarda*

Identifikasi bakteri bertujuan untuk menentukan karakteristik khusus yang dimiliki oleh biakan murni *E. tarda*. Identifikasi bakteri pada penelitian ini menggunakan metode pewarnaan gram. Pewarnaan gram adalah metode yang paling sederhana yang sering digunakan untuk mengetahui morfologi sel bakteri, salah satunya dapat digunakan pada bakteri *E. tarda*. Hasil pewarnaan gram akan menjelaskan sifat dari bakteri tersebut. Oleh karena itu sangat perlu dilakukan pengamatan karakteristik morfologi koloni bakteri, untuk mempermudah proses identifikasi jenis bakteri. Morfologi *E. tarda* disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Morfologi Bakteri *E. Tarda* dengan Pewarnaan Gram perbesaran 1000x

Pewarnaan bakteri dilakukan dengan tahapan pertama yaitu pembuatan preparat apus, preparat apus pada object glass diusahakan setipis mungkin agar saat pengamatan tidak terjadi penumpukan koloni bakteri, sehingga morfologi dapat diamati dengan jelas. Preparat apus kemudian difiksasi di atas bunsen.

Pemberian larutan pertama yaitu crystal violet dan diangin-anginkan selama 1 menit lalu dibilasi dengan akuades, ditetesi lugol didiamkan selama 1 menit lalu dibilasi akuades, selanjutnya larutan ketiga yaitu alcohol 70% ditetaskan dan

didiamkan selama 30 detik kemudian dibilas akuades, preparat ditetesi dengan safranin selama 30 detik yang terakhir dibilas dengan akuades dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x.

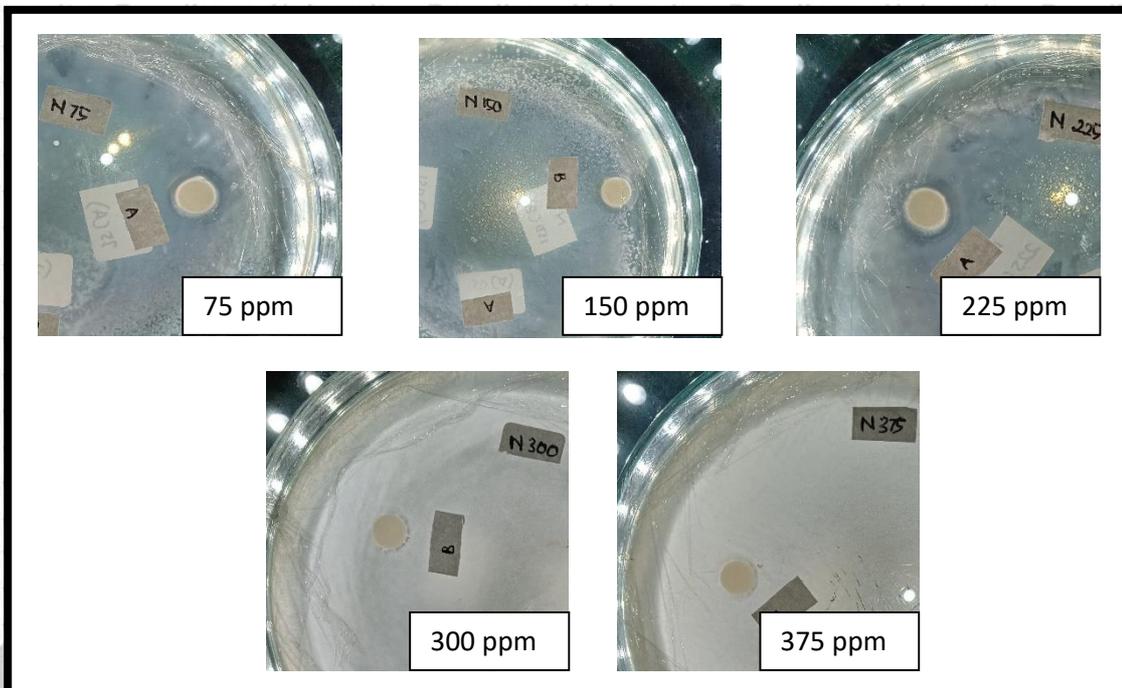
Berdasarkan pada Gambar 6 pengamatan morfologi bakteri *E. tarda* dengan pewarnaan gram terlihat bahwa bakteri *E. tarda* merupakan bakteri yang memiliki sifat gram negatif karena memunculkan warna merah pada hasil pengamatan mikroskop sedangkan untuk ciri bakteri yang bersifat gram positif pada saat dilakukan pewarnaan bakteri tersebut akan memunculkan warna ungu.

Perbedaan warna yang dimunculkan oleh bakteri gram positif dan negatif disebabkan oleh susunan dari dinding sel. Pada bakteri gram positif dinding sel memiliki peptidoglikan sedangkan pada gram negatif dinding sel tidak memiliki peptidoglikan. Bakteri *E. tarda* memiliki bentuk batang pendek.

4.2 Uji Daya Hambat

Pemanfaatan ekstrak daun nangka terhadap pertumbuhan *E. tarda* memperlihatkan zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekeliling kertas cakram seperti pada Gambar 7. Kemudian hasil zona hambat pada setiap perlakuan dan ulangan diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan mm, hasil rerata pengukuran disajikan pada Tabel 5. Dari perhitungan rerata zona hambat kemudian akan dilanjutkan dengan analisis sidik ragam yang disajikan pada Tabel 6. Jika hasil pada analisis sidik ragam mengatakan bahwa penelitian tersebut berpengaruh maka perhitungan akan dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang disajikan pada Tabel 7. Pada Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) akan menjelaskan lebih spesifik tentang pengaruh dari satu perlakuan ke perlakuan lain, yang nantinya akan menunjukkan mana perlakuan yang paling berpengaruh dengan pemberian notasi. Langkah terakhir dalam pengolahan data

uji daya hambat adalah dengan mencari persamaan grafik regresi *Polynomial Orthogonal* yang disajikan dalam Gambar 8.



Gambar 7. Diameter Zona Hambat 24 Jam

Hasil zona hambat yang timbul setelah inkubasi dengan dosis 75 ppm, 150 ppm, 225 ppm, 300 ppm, dan 375 ppm disajikan pada gambar 7. Zona hambat ditandai dengan timbulnya zona bening disekitar cakram selama penelitian. Apabila kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak daun nangka diletakkan ke dalam cawan petri yang telah ditanami bakteri *E. tarda* memiliki zona bening maka dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak kasar daun nangka memiliki sifat antibakterial terhadap bakteri *E. tarda*. Hal tersebut dikarenakan zona bening yang timbul di sekitar cakram yang telah direndam ekstrak kasar daun nangka menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Dokumentasi hasil zona hambat 24 jam disajikan pada Lampiran 7. Selanjutnya dilakukan pengukuran zona bening yang terbentuk pada cawan petri. Hasil pengukuran rerata zona hambat disajikan pada tabel 5.

Tabel 5. Data Hasil Pengukuran Rerata Zona Hambat (mm)

Perlakuan	Ulangan			Total (mm)	Rerata ± STDEV (mm)
	1	2	3		
A (75 ppm)	8.03	7.71	8.64	24.38	8,13 ± 0,47
B (150 ppm)	9.32	8.45	8.81	26.58	8,86 ± 0,44
C (225 ppm)	9.67	10.13	9.31	29.11	9,70 ± 0,41
D (300 ppm)	8.13	8.07	8.74	24.94	8,31 ± 0,37
E (375 ppm)	7.61	7.27	7.13	22.01	7,34 ± 0,25
Total				127.02	

Berdasarkan tabel 5 yang disajikan diatas didapatkan hasil pengukuran rata-rata zona bening. Hasil perhitungan rerata zona bening yang didapatkan pada penelitian mulai dari perlakuan A (75 ppm) sebesar $8,13 \pm 0,47$ mm, B (150 ppm) sebesar $8,86 \pm 0,44$ mm, C (225 ppm) sebesar $9,70 \pm 0,41$ mm, D (300 ppm) sebesar $8,31 \pm 0,37$ mm, E (375 ppm) sebesar $7,34 \pm 0,25$ mm. Pada perlakuan A (75 ppm), B (150 ppm), C (225 ppm), D (300 ppm) dan E (375 ppm) tergolong Sedang karena zona bening yang dihasilkan 5-10 mm. Perhitungan pada Tabel 5 menunjukkan rerata zona hambat ekstrak kasar daun nangka terhadap pertumbuhan bakteri *E. tarda* tertinggi ada pada perlakuan C dosis 225 ppm dengan rerata zona hambat sebesar $9,70 \pm 0,41$ mm, sedangkan hasil terendah terdapat pada perlakuan E dosis 375 ppm dengan rerata zona hambat $7,34 \pm 0,25$ mm. Rerata zona hambat pada perlakuan A, B, C, D, dan E tergolong sedang. Banyak faktor yang mempengaruhi terbentuknya zona bening sekitar kertas cakram, dan adapula faktor-faktor yang mempengaruhi antibakteri tersebut tergolong lemah, sedang, kuat, ataupun sangat kuat. Setelah itu dilanjutkan dengan uji sidik ragam yang tersaji pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Sidik Ragam Zona Hambat

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F tabel 5%	F tabel 1%
Perlakuan	4	9.30	2.33	14.87**	3.48	5.99
Acak	10	1.56	0.16			
Total	14					

Keterangan:

***) Berbeda sangat nyata

Hasil perhitungan sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian dosis ekstrak daun nangka dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. tarda* memberikan pengaruh berbeda sangat nyata. Hal tersebut dikarenakan nilai F hitung (14,87) lebih besar dibandingkan nilai F tabel 5% (3,48) dan nilai F tabel 1% (5,99). Maka kesimpulannya adalah terhadap H₀ ditolak sedangkan H₁ diterima yang berarti perlakuan memberikan pengaruh sangat nyata. Maka perlu dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang tersaji pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	E	A	D	B	C	Notasi
		7.34	8.13	8.31	8.86	9.7	
E	7.34	-					a
A	8.13	0.79*	-				b
D	8.31	0.97*	0.18 ^{ns}	-			b
B	8.86	1.52**	0.73*	0.55 ^{ns}	-		bc
C	9.7	2.36**	1.57**	1.39**	0.84*	-	d

Keterangan:

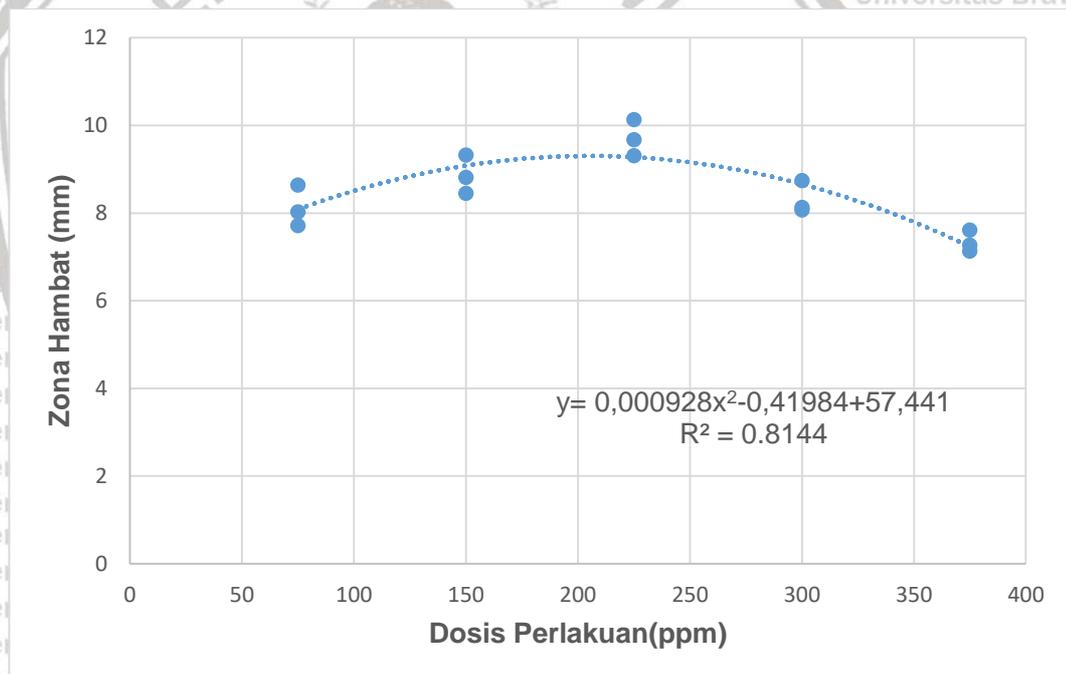
***) Berbeda sangat nyata

*) Berbeda nyata

^{ns}) Tidak berbeda nyata

Perbedaan pada setiap perlakuan terhadap zona hambat bakteri didukung dengan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf $p > 5\%$ (kepercayaan 95%). Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) dilakukan untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan. Hasil yang didapatkan dari Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada Tabel 7 adalah perlakuan C (225 ppm) memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap perlakuan A (75 ppm), B (150 ppm), D (300 ppm), dan E (375 ppm). Hasil tersebut didapatkan berdasarkan pada perlakuan E (375 ppm) yang tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap

semua perlakuan sehingga diberi notasi a. Perlakuan A (75 ppm) memberikan pengaruh signifikan terhadap perlakuan E (375 ppm) sehingga diberikan notasi b. Perlakuan D (300 ppm) tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap perlakuan A (75 ppm). Perlakuan B (150 ppm) memberikan pengaruh signifikan namun masih ada pengaruh dari perlakuan A (75 ppm) dan D (300 ppm), sehingga diberi notasi bc. Perlakuan C (225 ppm) mendapatkan hasil berbeda nyata terhadap perlakuan A, B, D, E sehingga diberi notasi d. Perlakuan dari hasil data di atas dapat disimpulkan bahwa perlakuan C (225 ppm) merupakan dosis efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. tarda*. Kemudian berdasarkan hasil penelitian didapatkan grafik regresi *polynomial orthogonal* zona bening yang disajikan pada gambar 8.



Gambar 8. Grafik Regresi *Polynomial Orthogonal* Zona Hambat

Berdasarkan grafik pada Gambar 8 terlihat bahwa penambahan dosis ekstrak daun nangka terhadap zona bening menunjukkan pola kuadratik dengan persamaan $y = 0,000928x^2 - 0,41984x + 57,441$ dan koefisien $R^2 = 0,81$ pada dosis 75 ppm sampai 375 ppm dengan titik puncak pada dosis 225 ppm. Koefisien $R^2 =$

0,81 menunjukkan bahwa pengaruh yang diberikan oleh variabel bebas (dosis ekstrak) terhadap variabel terikat (zona bening) dalam penelitian ini adalah sebesar 81%, sedangkan sisanya sebanyak 19% merupakan pengaruh dari variabel luar atau dapat disebut dengan error. Perhitungan analisis data disajikan pada lampiran 8.

Peningkatan zona bening umumnya bertambah setiap bertambahnya dosis perlakuan, atau bisa dikatakan zona bening tinggi pada dosis yang lebih tinggi. Hal tersebut dipengaruhi oleh makin tingginya senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak sehingga dapat mempengaruhi zona bening yang dihasilkan. Namun hasil grafik penelitian pada dosis 300 ppm dan 375 ppm mengalami penurunan karena zona bening yang menurun. Dari hasil penelitian menunjukkan pola kuadrat dimana ekstrak daun nangka mengalami kenaikan pada dosis 75 ppm, 150 ppm dan kekuatan daya hambatnya optimal pada perlakuan dengan dosis 225 ppm kemudian semakin menurun pada dosis 300 ppm dan 375 ppm. Grafik tersebut menunjukkan pola kuadrat. Hal ini diakibatkan dari senyawa yang terkandung dalam antibakteri, ada senyawa yang memiliki sifat melemahkan dan adapula yang bersifat meningkatkan aktivitas daya hambat. Senyawa antibakteri ketika telah mencapai titik optimal dalam menghambat, maka dosis yang lebih tinggi akan memiliki pengaruh yang lebih kecil dari pada konsentrasi optimal yang telah ditemukan. Hal tersebut mematahkan pernyataan bahwa zona hambat akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Hal ini sesuai dengan pernyataan Aziz (2016) yang menyatakan bahwa efektivitas daya hambat ekstrak bawang tiwai (*Eleutherine americana*) terhadap pertumbuhan bakteri

Aeromonas hydrophila, bahwa ekstrak bawang tiwai konsentrasi 30% menunjukkan efektivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *A. hydrophila*, sedangkan pada konsentrasi 40% dan 50% terlihat bahwa efektivitas antibakteri

dari ekstrak bawang tiwai semakin menurun. Septiani, Dewi dan Wijayanti (2017), menyatakan bahwa grafik diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri. Kemungkinan hal ini terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar serta jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda memberikan diameter zona hambat yang berbeda pada lama waktu tertentu. Menurut Darwis, Hafiedzani, dan Astuti (2012), Perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing perlakuan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti senyawa metabolit lainnya yang terdapat di dalam ekstrak yang digunakan. Senyawa tersebut dapat mempengaruhi efektivitas dari masing-masing konsentrasi yang digunakan. Karena beberapa senyawa ada yang bersifat antagonis (melemahkan) dan ada juga yang bisa bersifat sinergis (menguatkan) ketika digunakan secara bersamaan pada konsentrasi tertentu.

Pengamatan zona hambat pada dosis 75 ppm, 150 ppm, 225 ppm, 300 ppm, dan 375 ppm mengalami penurunan zona bening dari 24 jam inkubasi ke pengamatan 48 jam inkubasi. Hal tersebut menunjukkan kemampuan ekstrak daun nangka pada setiap dosis bersifat menghambat atau bakteristatik terhadap bakteri *E. tarda* dan tidak bersifat membunuh atau bakterisidal. Dokumentasi pengamatan bakteri dan pengukuran zona bening 48 jam disajikan dalam Lampiran 9. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun nangka dengan dosis 225 ppm merupakan dosis yang memiliki nilai rerata zona bening paling tinggi, sedangkan dari hasil persamaan grafik uji polynomial orthogonal dosis optimal ekstrak daun nangka yaitu 226,2 ppm. Menurut Lake, Hamid, Saputro, Plumeriastuti, Yustinasari, dan Yunita (2019), zona bening disekitar kertas cakram merupakan kekuatan hambatan zat antimikroba terhadap penghambatan pertumbuhan mikroorganisme, ditunjukkan dengan adanya diameter zona hambat

atau daerah transparan disekitar kertas cakram. Zona hambat yang dihasilkan hanya bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan tidak bersifat membunuh bakteri (bakterisidal). Hal ini dilihat dari mengecilnya diameter zona hambat setelah fase logaritmik dari bakteri.

4.3 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang digunakan pada penelitian ini adalah suhu inkubator selama inkubasi dilakukan, suhu inkubasi yang digunakan sebesar 32 °C. Penggunaan suhu inkubasi 32 °C pada penelitian menghasilkan biakan bakteri *E. tarda* bisa tumbuh dengan baik selama 24 jam. Tumbuhnya bakteri *E. tarda* ditandai dengan munculnya lapisan keruh di atas media agar. Seperti yang dikatakan Wahjuningrum, Ikhsan, Sukenda dan Evan (2014) bahwa bakteri *E. tarda* tumbuh baik pada suhu 25-35°C. Suhu pemeliharaan bakteri *E. tarda* selama penelitian yaitu 32°C, sehingga masih dalam rentang suhu optimal. pada suhu kurang dari 10°C serta pada suhu lebih dari 45°C bakteri ini tidak dapat tumbuh. Menurut Hefdiyah dan Sovitri (2014) *E. tarda* merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki bentuk batang, dapat menghasilkan indol, H₂S, dan dapat menghasilkan enzim urease. *E. tarda* hidup pada perairan tawar, payau dan laut dengan kisaran suhu 10-39 °C.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun nangka terhadap bakteri *E. tarda* dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun nangka mampu menghambat bakteri *E. tarda*, sehingga ekstrak daun nangka ini berpengaruh terhadap bakteri *E. tarda*. Hasil penggunaan ekstrak daun nangka terhadap bakteri *E. tarda* pada setiap perlakuan menunjukkan hasil zona bening tertinggi yaitu pada dosis 225 ppm dengan rerata $9,70 \pm 0,41$ mm dan zona bening terendah pada dosis 375 dengan rerata $7,34 \pm 0,25$ mm. hasil uji *polynomial* orthogonal menghasilkan persamaan regresi $y = 0,000928x^2 - 0,41984x + 57,441$.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh penggunaan ekstrak daun nangka terhadap bakteri *E. tarda* dapat disarankan sebagai bahan alternatif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. tarda*. Dari dosis optimal yang didapat, disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* untuk mengetahui keefektifan daun nangka terhadap bakteri *E. tarda* secara langsung, sehingga dapat digunakan dalam penanggulangan penyakit ikan yang disebabkan bakteri *E. tarda*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfath, C. R., V. Yulina, dan Sunnati. (2013). Antibacterial effect of *Granati fructus* cortex extract on *Streptococcus mutans in vitro*. *Journal of Dentistry Indonesia*, **20** (1), 5-8.
- Anas, Y., Hidayati, D. N., Kurniasih, A., & DS, L. K. (2016). Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) dan Daun Angsana (*Pterocarpus indicus* Wild.) pada Mencit Jantan Galur Balb/C. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, **13** (1), 33-41.
- Apriyanto, H., E. Harpeni, A. Setyawan, dan Tarsim. (2014). Pemanfaatan ekstrak buah *Rhizophora* sp. sebagai anti bakteri terhadap bakteri patogen ikan air tawar. *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, **3** (1), 289-296.
- Arifianti, L., R.D. Oktarina, dan I. Kusumawati. (2014). Pengaruh jenis pelarut pengekstraksi terhadap kadar sinensetin dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus* Benth. *E-Journal Planta Husada*. **12** (1): 1-4.
- Azis. (2019). Analisis In Vitro aktivitas antibakteri daun sisik naga (*Drymoglossum pilosellaoides*) terhadap bakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. **8** (2) : 86-91.
- Bota, W., M. Martosupono, dan F. S. Rondonuwu. (2015). Potensi senyawa minyak serih wangi (citronella oil) dari tumbuhan *Cymbopogon nardus* L. sebagai agen antibakteri. *Jurnal FTUMJ Semnastek*, **1**, 1-8.
- Budiyanto, D., S. O. Madyowati, dan M. Rianingsih. (2020). Efek ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) pada pertumbuhan bakteri (*Edwardsiella tarda*) yang menginfeksi ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*) secara *in vitro*. *Jurnal Hasil Penelitian*, **5** (1): 1-10.
- Budiyanto, D., S. O. Madyowati, dan N. Lailiyah. (2020). Daya hambat air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S.) pada pertumbuhan bakteri *Edwardsiella tarda* dari benih lele dumbo (*Clarias gariepinus*) secara *in vitro*. *Jurnal Hasil Penelitian*. **5**(1), 11-16.
- Chidambaranathan, A. S. dan M. Balasubramanium. (2017). Comprehensive review and comparison of the disinfection techniques currently available in the literature. *Journal of Prosthodontics*, **28**, 849-856.
- Darwis, W., M. Hafiedzani, dan R.R.S. Astuti. (2012). Efektivitas ekstrak akar dan daun pecut kuda *Stachytarpheta jamaicensis* (L) vahl dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* penyebab kandidiasis vaginalis. *Jurnal Ilmiah Konservasi Hayati*. **8** (2): 1-6.
- Dewi, M. K., E. Ratnasari, dan G. Trimulyono. (2014). Aktivitas antibakteri ekstrak daun majapahit (*Crescentaria japonica*) terhadap pertumbuhan bakteri *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu. *Lentera Bio*, **3** (1), 51-57.

Dyta, P.S. (2011). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, Skripsi, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Ersam, T. (2001). Senyawa Kimia Makromolekul beberapa Tumbuhan *Artocarpus* Hutan Tropika Sumatera Barat, Disertasi ITB, Bandung

Hadi, A. P. (2020). Kajian Mutu Ikan Pindang Tongkol (*Euthynnus affinis*) dengan Teknik Pengemasan Vakum pada Penyimpanan Suhu dan Lama Waktu yang Berbeda. *JURNAL LEMURU*, **2**(2), 37-53.

Hefdiyah, H. dan Shovitri, M. (2014). Potensi isolat bakteri *Edwardsiella* dan *Corynebacterium* dari Pulau Poteran Sumenep sebagai pelarut fosfat. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, **3**(2), pp. 75-79.

Herliana, E., D. Widiastuti, dan A. Triadi. (2020). Potensi minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) sebagai antibakteria dalam sediaan hand sanitizer gel. *Ekologia: Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*, **20** (20), 88-94.

Heyne, K. (1987). Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid II, Badan Litbang Kehutanan. Jakarta.

Holt, J.G., N.R Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Baltimore: William's and Wilkins.

Kusumawati, E., Apriliana, A., & Yulia, R. (2017). Kemampuan Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, **1**(7), 327-332.

Ikrom., D. T. R Asih, R. A. Wira, B. B. Perkasa, R. N. Tiara, dan Wasito. (2014). Studi *in vitro* ekstrak etanol daun kamboja (*Plumeria alba*) sebagai anti *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Sains Veteriner*, **32**(1), 105-116.

Indriani, A. D., S. B. Prayitno, dan Sarjito. (2014). The utilization of red ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) extract as alternative treatment for tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected by *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, **3**(3), 58-65.

Kochan, K., E. Lai, Z. Richardson, C. Nethercott, A. Y. Peleg, P. Heraud, dan B. R. Wood. (2020). Vibrational spectroscopy as a sensitive probe for the chemistry of intra-phase bacterial growth. *Sensors*, **20**, 3-13.

Kusumawati, E., Apriliana, A., & Yulia, R. (2017). Kemampuan Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. **1**(7), 327-332.

Lake W. K., I. S. Hamid, A. L. Saputro, H. Plumeriastuti, L. R. Yunitasari dan M. N. Yunita. (2019). Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak n-heksana dan kloroform daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*. *Jurnal Medik Veteriner*. **2** (1) : 60- 65.

Maftuch., H. Suprastyani, dan F. H. Setyawan. (2018). Uji daya hambat ekstrak *Chaetoceros calcitrans* terhadap bakteri *Aeromonas salmonicida*. *Journal of Fisheries and Marine Research*, **2** (1), 39-46.

Majid, N. S., Yamlean, P. V., & Citraningtyas, G. (2019). FORMULASI DAN UJI EFEKTIVITAS KRIM ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN NANGKA (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*. *PHARMACON*, **8** (1), 225-233.

Murwantoko, M., Diniarti, E., & Triyanto, T. (2019). Isolation, Characterization and Pathogenicity of *Edwardsiella tarda* a Causative Disease on Freshwater Fish in Yogyakarta. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, **21** (1), 41-45.

Nadirah, M., Najiah, M. dan Teng, S.Y. (2012). Characterization of *Edwardsiella tarda* isolated from Asian seabass, *Lates calcarifer*. *International Food Research Journal*, **19** (3), pp. 1247-1252.

Narwiyani, S. (2011). Lethal Concentration 50%(LC-50) Empat Isolat *Edwardsiella tarda* pada Ikan Air Tawar Di Indonesia. *Jurnal Sain Veteriner*. **29** (1).

Narwiyani, S., & Kurniasih, K. (2011). Perbandingan patogenesis, *Edwardsiella tarda* pada ikan mas koki (*Charassius auratus*) dan ikan celebes rainbow (*Telmatherina celebensis*). *Jurnal Riset Akuakultur*, **6**(2), 291-301.

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 ONLINE*. **2** (2): 128- 132

Nurbudiyani, I. (2013). Pelaksanaan pengukuran ranah kognitif, afektif, dan psikomotor pada mata pelajaran ips kelas iii SD Muhammadiyah Palangkaraya. *Anterior Jurnal*, **13** (1), 88-93.

Payadnya, I. P. A. A. dan I. G. A. N. T. Jayantika. (2018). Panduan Penelitian Eksperimen Beserta Analisis Statistik dengan SPSS. Sleman: Deepublish Publisher. 175 hlm.

Pelczar, M.J. dan Chan, E. C. S. (1988). Dasar- dasar Mikrobiologi, Jilid 1.: UI Press, Jakarta

Pramono, A. A., & Kurniaty, R. (2014). Nangka (lam.) *Artocarpus heterophyllus*. *Atlasbenih tanamanhutan*, 54.

Prasetyo, A.W., Wignyanto, dan A.F. Mulyadi. (2015). Ekstraksi oleoresin jahe (*Zingiber officinale*, rosc.) dengan metode ekstraksi sokletasi (kajian rasio bahan dengan pelarut dan jumlah sirkulasi ekstraksi yang paling efisien). *Jurnal Industria*. 1-10.

Rahardja, I. B., & Ramadhan, A. I. (2019). Pemanfaatan Daun Nangka Kering Sebagai Tempat Alat Tulis Kantor (ATK). *Jurnal Pengabdian Masyarakat Teknik*, **2**(1), 1-6.

Rastina, R., Sudarwanto, M., & Wientarsih, I. (2015). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kari (*murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp.* *Jurnal Kedokteran Hewan- Indonesian Journal of Veterinary Sciences*. **9** (2).

Ratnawati, A., & Purwaningsih. (2013). Histopatologis Dugaan Edwardsiella tarda sebagai Penyebab Kematian Ikan Maskoki (*Crassius auratus*): Postulat Koch. *Jurnal Sain Veteriner*, **31** (1).

Rijayanti, R.P., S.Luliana dan H.F.Trianto. (2014). Uji aktiitas antibakteri ekstrak etanol daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Stapylococcus aureus* secara in vitro. Naskah Publikasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.

Romadanu, S.H. Rachmawati, dan S.D. Lestari. (2014). Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak bunga lotus (*Nelumbo Nucifera*). *Fishtech*. **3**(1): 1-7.

Rukmana, R. (1997). Budi Daya Nangka. Yogyakarta: Kanisius.

Septiani., E. N. Dewi dan I. Wijayanti. (2017). Aktivitas antibakteri ekstrak lamun (*Cymodocea rotundata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*. **13** (1) : 1-6.

Setiaji, J., T. I. Johan, dan A. Pramujiono. (2013). Uji larutan meniran (*Phyllanthus niruri* L) untuk pengobatan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang terinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*. *Jurnal Dinamika Pertanian*, **28** (2), 161-166.

Setiowati dan Furqonita. (2007). Biologi Interaktif. Azka Press. Jakarta.

Setyowati, E. S. B. Prayitno, dan Sarjito. (2014). Pengaruh perendaman ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*. l) terhadap kelulushidupan dan histologi hati ikan patin (*Pangasius hypophtalamus*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, **3** (4), 174-182.

Soleha, F. (2018). Pengaruh metode ekstraksi meserasi terhadap aktivitas antibakteri daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode sumur difusi. *Jurnal Analis Farmasi*, **3** (1), 62-70.

Sudjaji, B dan S. Laila. (2006). Biologi Sains dalam Kehidupan. KDT. Jakarta.

Susmita, N. (2015). Alih kode dan campur kode dalam pembelajaran bahasa Indonesia di SMP Negeri 12 Kkerinci. *Jurnal Penelitian Universitas Jambi Seri Humaniora*, **17** (2), 87-98.

Suwendra, I. W. (2018). Metodologi Penelitian Kualitatif dalam Ilmu Sosial, Pendidikan, Kebudayaan dan Keagamaan. Bali: NilaCakra. 149 him.

Syah, I. S. K. (2016). Penentuan tingkatan jaminan sterilitas pada autoklaf dengan indikator biologi spore strip. *Farmaka*, **14**(1), 59-69.

Tomasoa, A. M., W. Balansa, D. Azhari, dan J. O. Montoali. (2018). Uji daya hambat ekstrak spons *agelas clathrodes* terhadap pertumbuhan bakteri *Edwardsiella tarda*. *Jurnal Ilmiah Tindalung*, **4**(1), 19-22.

Tribudi, Y. A. dan P. W. Prihandini. (2020). *Prosedur Rancangan Percobaan untuk Bidang Peternakan*. Jakarta: UI Publishing. 165 hlm.

Tungkup, M. L., H. Syawal, dan M. Riauaty. (2021). Gambaran eritrosit ikan jambal siam (*Pangasionodon hypophthalmus*) terinfeksi *Edwardsiella tarda* yang diobati dengan larutan daun mangga apel (*Mangifera indica*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, **26**(1), 62-69.

Wahjuningrum, D., Ikhsan, M. N., & Sukenda, Y. E. (2014). Penggunaan ekstrak kunyit sebagai pengendali infeksi bakteri *Edwardsiella tarda* pada ikan lele The use of *Curcuma longa* extract to control *Edwardsiella tarda* infection on *Clarias sp.* *Jurnal Akuakultur Indonesia*, **13**(1), 1-10.

Wang, L., D. Fan, W. Chen, dan E. M. Terentjev. (2015). Bacterial growth, detachment and cell size control on polyethylene terephthalate surfaces. *Scientific Report*, **5**(15159), 1-11.

Wibowo, M., Eni C., dan Tepy U. (2009). *Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba Herba Meniran (Phyllanthus niruri L.)*. Depok: Departemen Biologi, Fakultas MIPA Universitas Indonesia

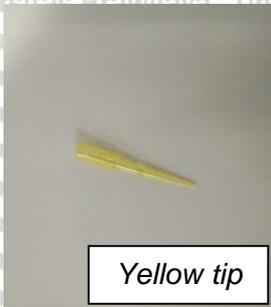
Yusriana, C. S., Budi, C. S., & Dewi, T. (2017). Uji daya hambat infusa daun nangka (*Artocarpus heterophyllus*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Permata Indonesia*. **5**(2), 1-7.

Yusuf, A. M. (2014). *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan Penelitian Gabungan*. Jakarta: Kencana. 480 hlm.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto Alat-Alat Penelitian



Yellow tip



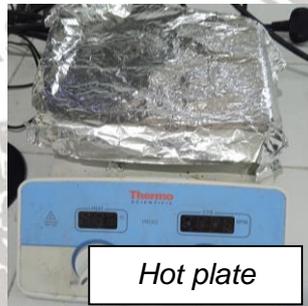
Vortex mixer



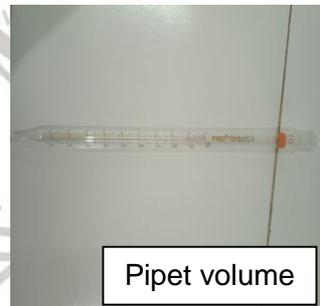
Colony counter



Nampan



Hot plate



Pipet volume



Tabung reaksi



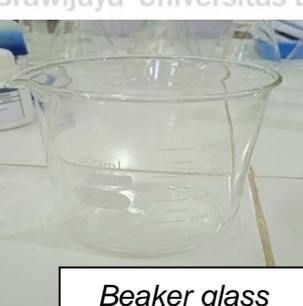
Pinset



Gunting



Washing bottle

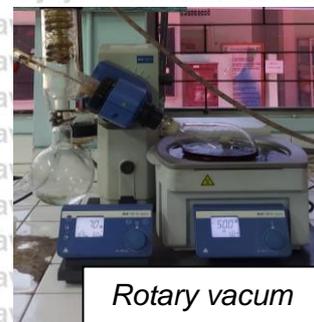
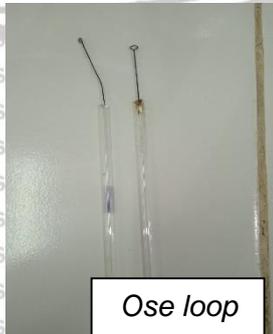
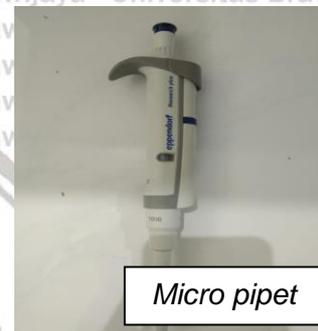
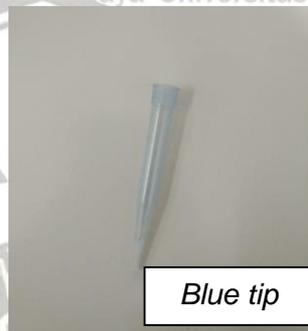
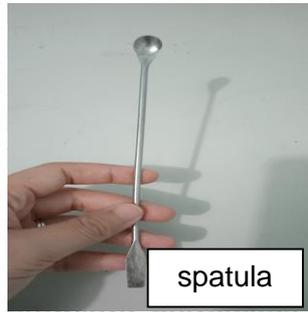


Beaker glass



Cawan petri

Lampiran 1. Foto Alat-Alat Penelitian (Lanjutan)



Lampiran 2. Foto Bahan-Bahan Penelitian



antibiotik



Plastik klip



Kertas cakram



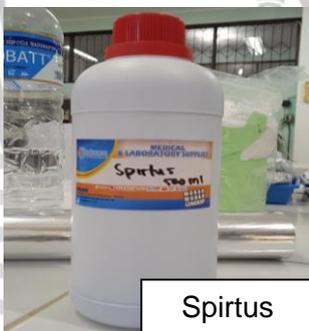
Kapas steril



Akuades



Media TSB



Spiritus



Alkohol 70%



Tisu



Ekstrak daun nangka



Lateks

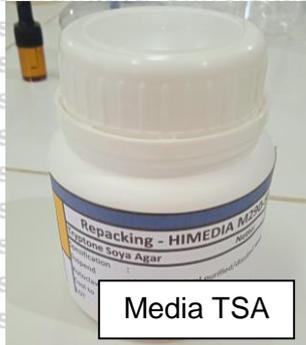


Kertas label

Lampiran 2. Foto Bahan-Bahan Penelitian (Lanjutan)



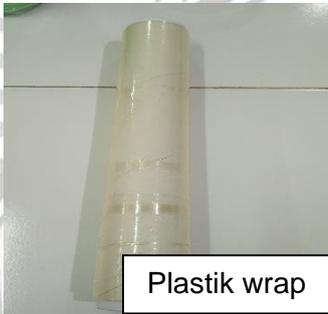
DMSO



Media TSA



Alumunium foil



Plastik wrap



Botol film



Kertas saring



Bakteri *E. tarda*



Daun nangka

Lampiran 3. Perhitungan Dosis Ekstrak daun nangka

Pelarut yang digunakan pada pembuatan dosis ekstrak dalam penelitian adalah DMSO 10%, perhitungan dosis yang digunakan sebagai berikut:

a. Dosis 1000 ppm

Pembuatan dosis 1000 ppm merupakan dosis stok atau dosis starter ekstrak daun nangka yang nantinya digunakan dalam pembuatan dosis penelitian 75-375 ppm.

- Pembuatan stok ekstrak sebesar 1000 ppm dengan rumus sebagai berikut:

$$1000 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ mg ekstrak}}{10 \text{ ml (1 ml dmsO 100\% + 9 ml akuades steril)}}$$

b. Dosis 0 ppm

Pembuatan dosis 0 ppm adalah perlakuan dengan tanpa menggunakan ekstrak daun nangka.

c. Dosis 75 ppm

$$\begin{aligned} V1 \times N1 &= V2 \times N2 \\ 2 \text{ ml} \times 75 &= V2 \times 1000 \\ V2 &= 0,15 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\text{Akuades} = 2 \text{ ml} - 0,15 \text{ ml} = 1,85 \text{ ml}$$

d. Dosis 150 ppm

$$\begin{aligned} V1 \times N1 &= V2 \times N2 \\ 2 \text{ ml} \times 150 &= V2 \times 1000 \\ V2 &= 0,3 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\text{Akuades} = 2 \text{ ml} - 0,3 \text{ ml} = 1,7 \text{ ml}$$

Lampiran 3. Perhitungan Dosis Ekstrak daun nangka (lanjutan)

e. Dosis 225 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\2 \text{ ml} \times 225 &= V_2 \times 1000 \\V_2 &= 0,45 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\text{Akuades} = 2 \text{ ml} - 0,15 \text{ ml} = 1,55 \text{ ml}$$

f. Dosis 300 ppm

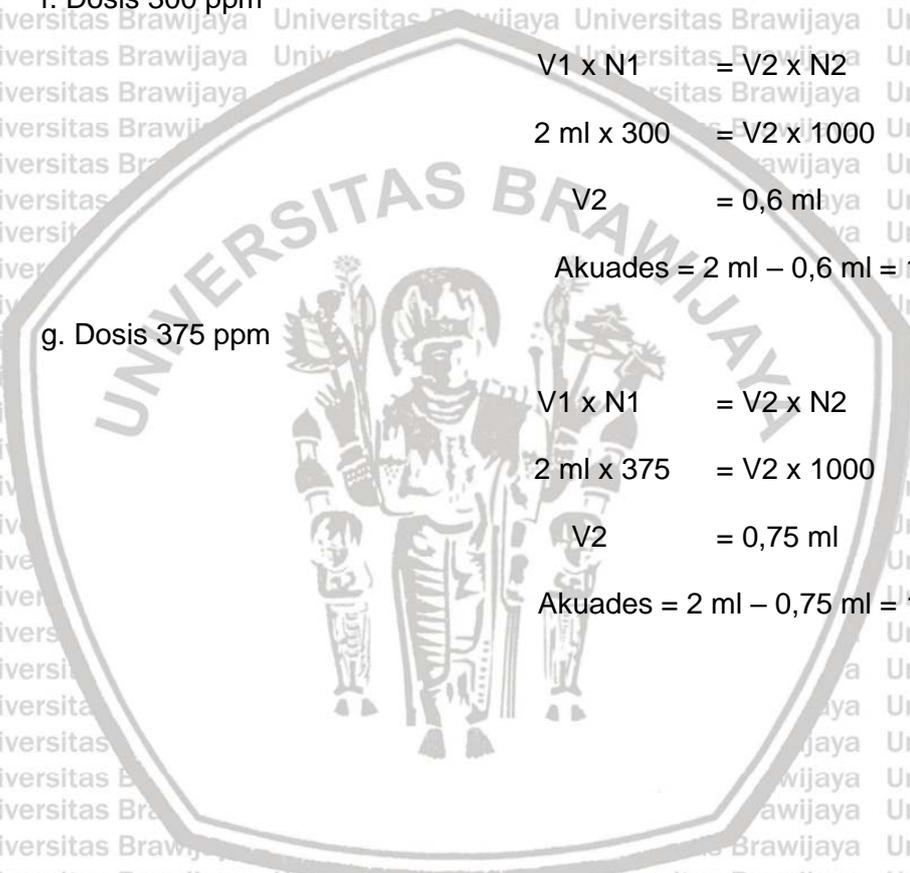
$$\begin{aligned}V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\2 \text{ ml} \times 300 &= V_2 \times 1000 \\V_2 &= 0,6 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\text{Akuades} = 2 \text{ ml} - 0,6 \text{ ml} = 1,4 \text{ ml}$$

g. Dosis 375 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\2 \text{ ml} \times 375 &= V_2 \times 1000 \\V_2 &= 0,75 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\text{Akuades} = 2 \text{ ml} - 0,75 \text{ ml} = 1,25 \text{ ml}$$



Lampiran 4. Hasil Uji Fitokimia Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*)



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

6531

Nomor : 074 / 034 / 102.7-D / 2021
 Sifat : Biasa
 Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon
 Nama : Amalia Firdausyah
 NIM : 175080507111017
 Instansi : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
 Alamat : Malang
2. Identitas Sampel
 Nama sampel : Nangka
 Nama latin : *Artocarpus heterophyllus*
 Bagian sampel : Daun
 Bentuk sampel : Ekstrak
 Tanggal penerimaan : 19 Januari 2021
 Tanggal pemeriksaan : 27 Januari 2021

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Alkaloid		
	Meyer	Endapan Putih	(+) Positif
	Dragendrof	Endapan Jingga	(+) Positif
	Bouchardat	Endapan Cokelat	(+) Positif
2.	Flavonoid	Jingga, Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	(+) Positif
3.	Tanin / Fenol	Cokelat Kehitaman, Biru Kehitaman	(+) Positif
4.	Saponin	Busa Permanen	(+) Positif

4. Lampiran

Nama Sampel	Alkaloid		
	Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Ekstrak Daun Nangka			

Nama Sampel	Flavonoid	Tanin	Saponin
Ekstrak Daun Nangka			

Lampiran 5. Hasil Uji Biokimia Bakteri *E. tarda*

 KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN
BADAN KARANTINA IKAN, PENGENDALIAN MUTU DAN KEAMANAN HASIL PERIKANAN
**BALAI UJI STANDAR KARANTINA IKAN, PENGENDALIAN MUTU,
DAN KEAMANAN HASIL PERIKANAN**
JALAN RAYA SETU NO. 1, SETU CIPAYUNG, JAKARTA TIMUR 13880
TELP.: (021) 8451378, 84599367, 8448506 FAKSIMILE (021) 8448523, 8448679
LAMAN buski@bkp.kkp.go.id POS ELEKTRONIK buski_jkt@yahoo.com, buskipm@gmail.com

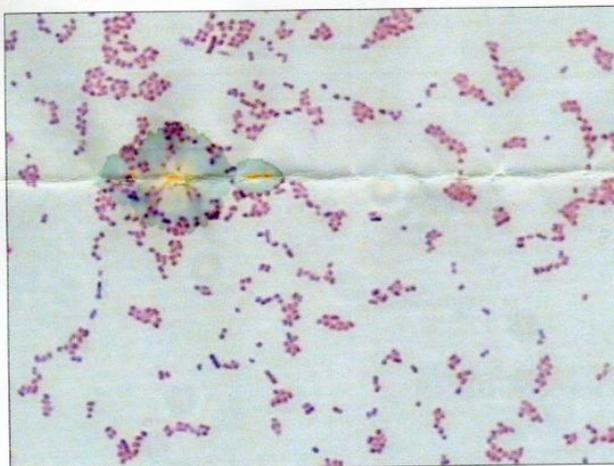
SERTIFIKAT ANALISIS

Strain Bakteri : *Edwardsiella tarda*

Pasase 2 dari biakan stok Kultur

Kode sampel : 179A/BUSKIPM/2019
Asal Isolat : NCIMB 2056
Kondisi Tumbuh : Media Tumbuh TSA 0%; Temperatur : 27°C
Pengawetan : Kering Beku
Kemurnian : Berdasarkan hasil inokulasi pada media selektif dan non selektif menunjukkan morfologi sesuai dengan *Edwardsiella tarda*
Pengujian : Dilakukan dengan pewarnaan gram, uji biokimia
Cara Pemeliharaan : Biakan dari kering beku dibuat stock dalam medium cair kemudian di simpaan dalam freezer/suhu beku
Karakteristik Bakteri : Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt, et al.1996)

Gambar Pengamatan Gram :



Lampiran 5. Hasil Uji Biokimia Bakteri *E. tarda* (Lanjutan)

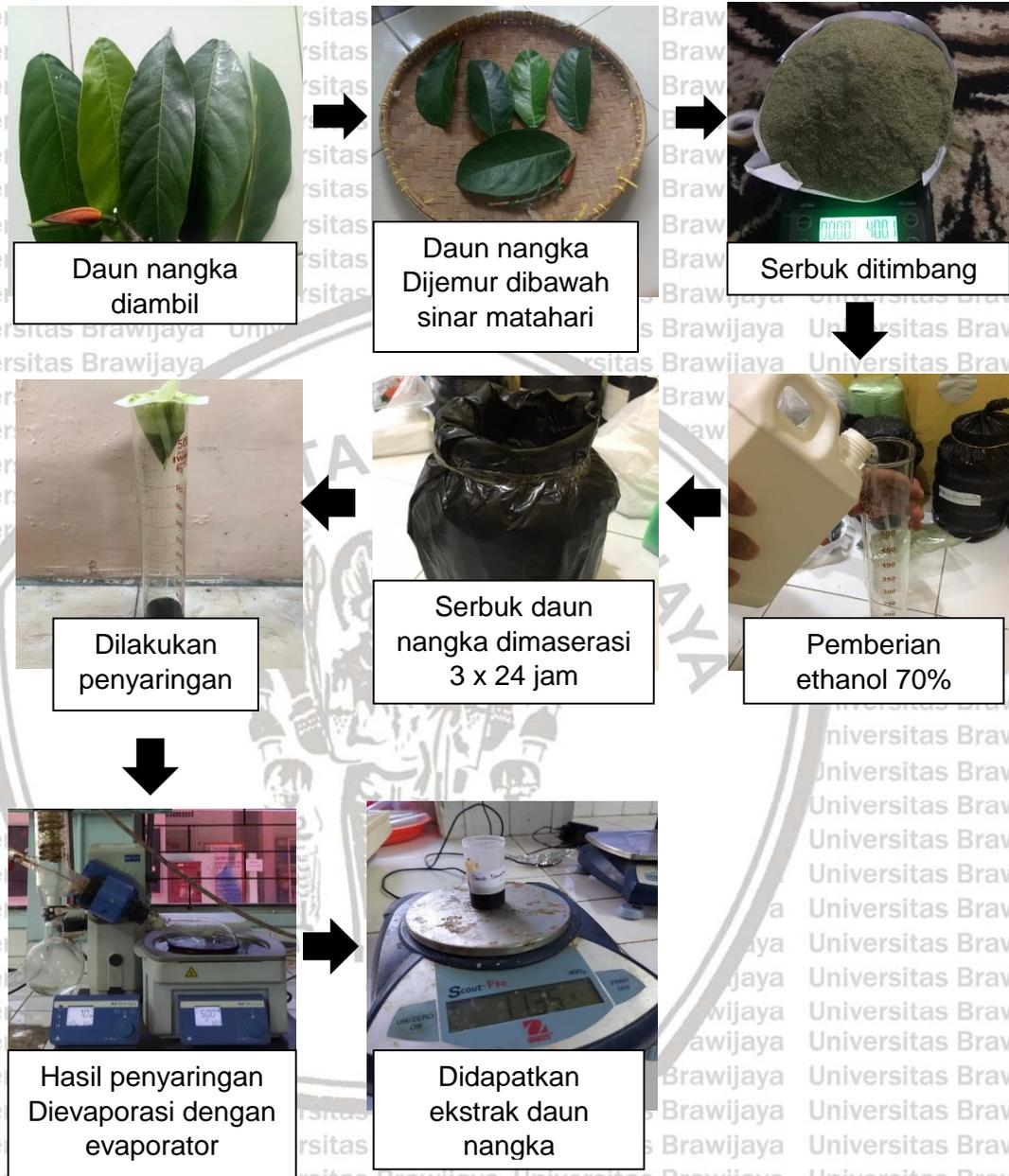
Karakterisasi Bakteri	
1. Gram	-
2. Bentuk	Batang
3. Motility	+
4. Catalase	+
5. Oxidase	-
6. Glucose	+ / G
7. O/F	F
8. H ₂ S from TSIA	+
9. Ornithin	+
10. Indole	+
11. Urease	-
12. Lysine decarboxilase	+
13. Gelatin	-
14. Arginin	-
15. Citrate	-
16. MR	+
17. VP	-
18. Nitrate	+
19. Laktose	-
20. Arabinose	+
21. Trehalose	-
22. Maltose	+
23. Xylose	-
24. Inositol	-
25. Mannitol	+
26. Sorbitol	-
27. Salicin	-
28. Gliserol	-
29. Melibiose	-
30. Esculin	-

Ka. Sie. Pengujian HPIK
Mutu dan Keamanan
Hasil Perikanan,

Slamet Andriyanto, S.Si.
NIP. 19821012 200604 1 001

Lampiran 6. Foto Kegiatan Penelitian

a). Pembuatan Ekstrak Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*)



Lampiran 6. Foto Kegiatan Penelitian (Lanjutan)
 b). Peremajaan Bakteri *E. tarda*



Ditimbang media TSA yang digunakan



TSA dimasukan ke erlenmeyer



Ditambahkan akuades dan dihomogenkan



Disterilisasi selama 15 menit



Dituang ke tabung reaksi



Dihotplate agar media homogen



Dimiringkan dan ditunggu hingga kering

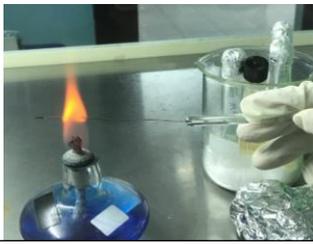


Dimasukan koloni bakteri *E. tarda*

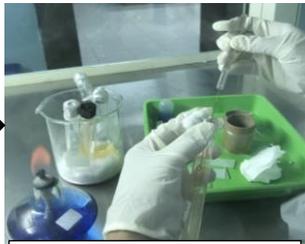


Diinkubasi selama 24 jam

Lampiran 6. Foto Kegiatan Penelitian (Lanjutan)
 c). Identifikasi Bakteri *Edwardsiella tarda*



Jarum ose dipanaska di atas api bunsen



Pengambilan bakteri *E. tarda* menggunakan jarum ose.



Pembuatan preparat apus pada objek glass



Kemudian diangin-anginkan selama 2 menit.



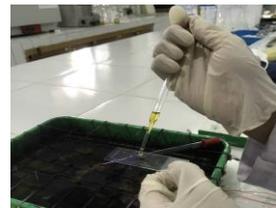
Pemberian larutan pertama yaitu kristal violet.



Preparat apus kemudian difiksasi di atas bunsen.



Setelah itu dicuci dengan akuades.

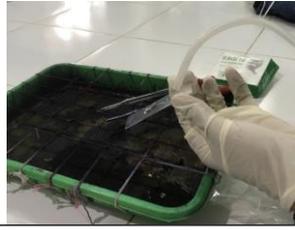


Selanjutnya ditetesi lugol.



Kemudian didiamkan selama 1 menit.

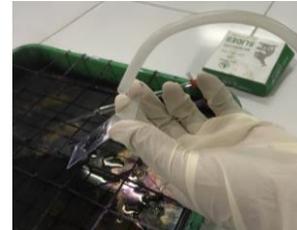
Lampiran 6. Foto Kegiatan Penelitian (Lanjutan)



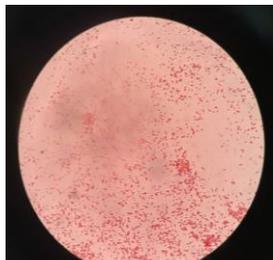
Setelah itu dicuci dengan akuades.



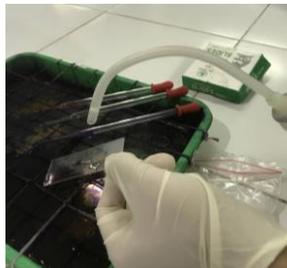
Selanjutnya pemberian alkohol 95% dan didiamkan selama 10 detik.



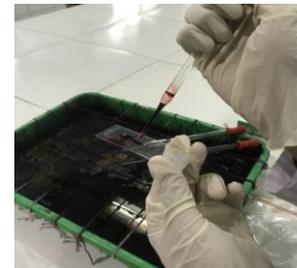
Setelah itu dicuci dengan akuades.



Kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x.



Setelah itu dicuci dengan akuades



Preparat ditetesi dengan safranin selama 30 detik.

Lampiran 6. Foto Kegiatan Penelitian (Lanjutan)

d). Pelaksanaan Uji Cakram

- Pembuatan Dosis Starter



Ditimbang ekstrak daun



Ditambahkan DMSO 1 ml



Divortex



Ditambahkan akuades steril

- Pembuatan DMSO 10% dan Dosis Penelitian



Pengenceran ekstrak dengan DMSO



Pembuatan dosis ekstrak



Divortex



Perendaman cakram pada ekstrak daun angka

Lampiran 6. Foto Kegiatan Penelitian (Lanjutan)

- Penanaman Bakteri dan Uji Cakram



Pegenceran Bakteri dari 10^8 ke 10^7



Penanaman Bakteri ke cawan petri



Diratakan dengan triangle



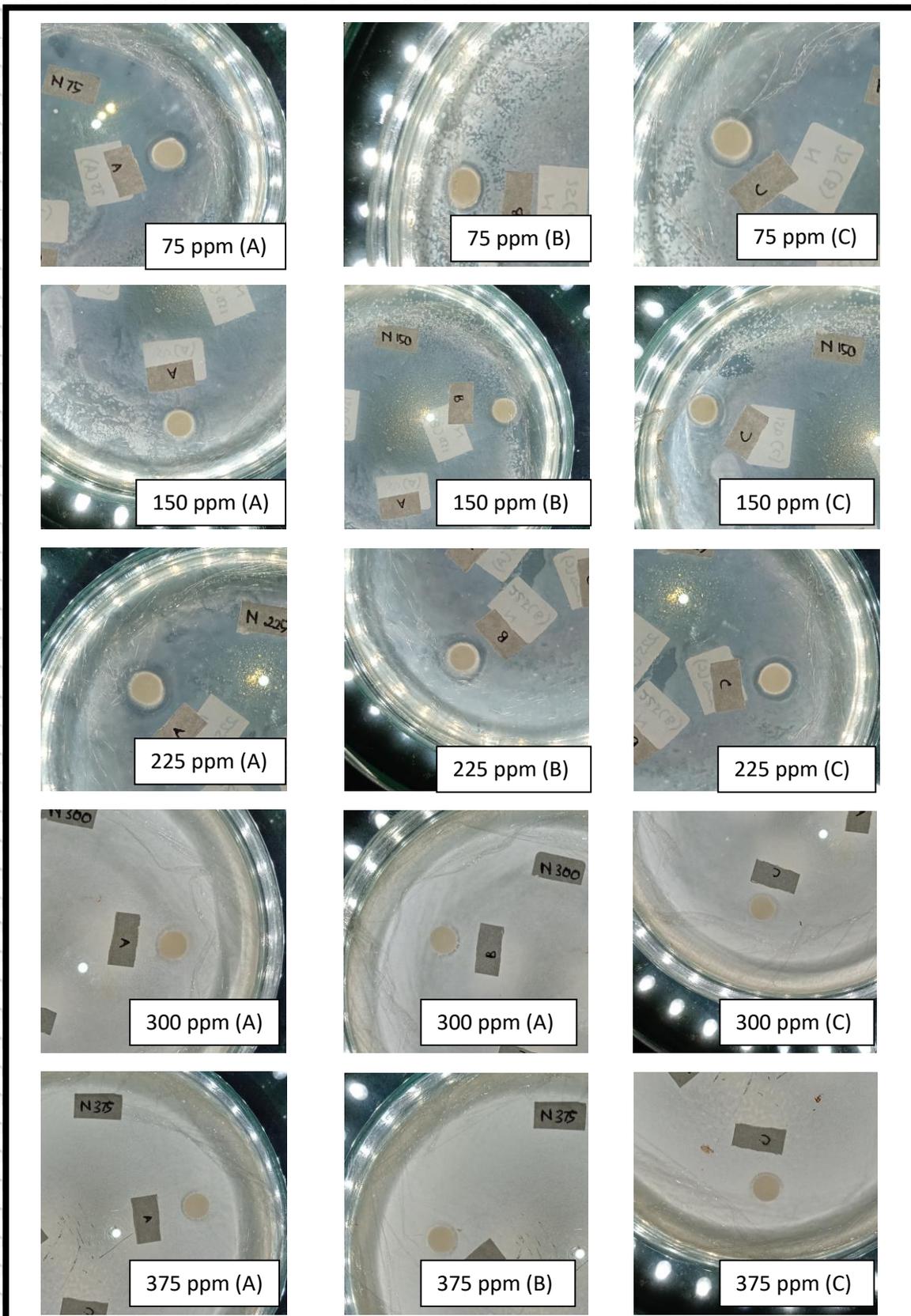
Cawan petri diinkubasi dengan suhu 32°C



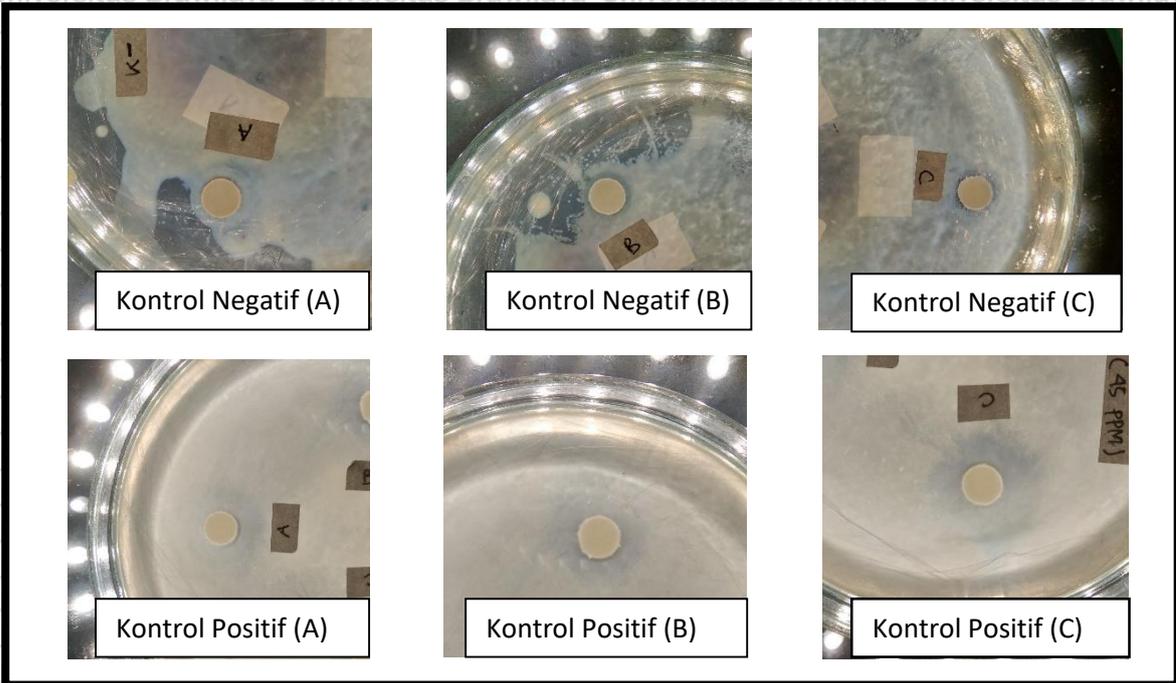
Peletakan Kertas Cakram

Lampiran 7. Foto Hasil Uji Cakram

1. Pengamatan 24 Jam



Lampiran 7. Foto Hasil Uji Cakram (Lanjutan)



Lampiran 8. Analisis Data Pengaruh Daya Hambat Antibakteri

1. Rerata Zona Hambat 24 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total (mm)	Rerata ± STDEV (mm)
	1	2	3		
A (75 ppm)	8.03	7.71	8.64	24.38	8,13 ± 0,47
B (150 ppm)	9.32	8.45	8.81	26.58	8,86 ± 0,44
C (225 ppm)	9.67	10.13	9.31	29.11	9,70 ± 0,41
D (300 ppm)	8.13	8.07	8.74	24.94	8,31 ± 0,37
E (375 ppm)	7.61	7.27	7.13	22.01	7,34 ± 0,25
Total				127.02	

Faktor Koreksi (FK)	1075,61
JK Total	10,86
JK Perlakuan	9,30
JK Acak	1,56

a.) Faktor Koreksi

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{G^2}{N}$$

$$= \frac{127,02^2}{15}$$

$$= 1075,61$$

b.) JK total

$$\text{JK total} = \sum x_{ij}^2 - \text{FK}$$

$$= (A^2 + A^2 + A^2 + \dots + E^2) - \text{FK}$$

$$= (8,03^2 + 7,71^2 + 8,64^2 + \dots + 7,13^2) - 1075,61$$

$$= 10,86$$

Lampiran 8. Analisis Data Pengaruh Daya Hambat Antibakteri (Lanjutan)

c.) JK Perlakuan

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

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

$$= \frac{24,38^2 + 26,58^2 + 29,11^2 + 24,94^2 + 22,01^2}{3} - 1075,61$$

$$= 9,30$$

d.) JK Acak

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

$$= 10,86 - 9,30$$

$$= 1,56$$

3. Data Perhitungan Analisis Sidik Ragam

a.) Db total

$$Db \text{ total} = (n \times r) - 1$$

$$= (5 \times 3) - 1$$

$$= 14$$

b.) Db perlakuan

$$Db \text{ perlakuan} = n - 1$$

$$= 5 - 1$$

$$= 4$$

Lampiran 8 Analisis Data Pengaruh Daya Hambat Antibakteri (Lanjutan)

c.) Db acak

$$\begin{aligned} \text{Db acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\ &= 14 - 4 \\ &= 10 \end{aligned}$$

- Tabel Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F tabel 5%	F tabel 1%
Perlakuan	4	9.30	2.33	14.87**	3.48	5.99
Acak	10	1.56	0.16			
Total	14					

Keterangan:

** = Berbeda sangat nyata

Hasil analisa sidik ragam menunjukkan nilai F hitung (14,87) lebih besar dari F tabel 5% yaitu 3,48 maupun F tabel 1% sebesar 5,99 maka H_0 ditolak, hal ini berarti bahwa perbedaan perlakuan berpengaruh sangat nyata. Setelah H_0 ditolak, selanjutnya dilakukan uji nilai tengah (rata-rata) antar perlakuan atau disebut dengan uji Beda Nyata

Terkecil (BNT).

4. Data Uji Beda Nyata Terkecil

a. SED

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

$$= 0,32$$

b. BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED

$$= 2,23 \times 0,32$$

$$= 0,71$$

c. BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED

$$= 3,18 \times 0,32$$

$$= 1,02$$

Lampiran 8 Analisis Data Pengaruh Daya Hambat Antibakteri (Lanjutan)

- Tabel Uji Anova Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	E	A	D	B	C	Notasi
		7.34	8.13	8.31	8.86	9.7	
E	7.34	-					a
A	8.13	0.79*	-				b
D	8.31	0.97*	0.18ns	-			b
B	8.86	1.52**	0.73*	0.55ns	-		bc
C	9.7	2.36**	1.57**	1.39**	0.84*	-	d

Keterangan:

(**) Berbeda sangat nyata

(*) Berbeda nyata

(ns) Tidak berbeda nyata

- Uji Tabel Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A	24.38	-2	2	-1	1
B	26.58	-1	-1	2	-4
C	29.11	0	-2	0	6
D	24.94	1	-1	-2	-4
E	22.01	2	2	1	1
Q= $\sum ci \cdot Ti$		-6.38	-16.96	0.91	14.97
Hasil Kuadrat		10	14	10	70
Kr= $(\sum ci^2) \cdot r$		30	42	30	210
JK= Q^2 / Kr		1.356813333	6.848609524	0.027603333	1.067147
Total JK Regresi	9.300173				

Lampiran 8 Analisis Data Pengaruh Daya Hambat Antibakteri (Lanjutan)

- Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	9.30			3.48	5.99
Linier	1	1.356	1.356	8.69	ns	
Kuadratik	1	6.848	6.848	44	**	
Kubik	1	0.027	0.027	0.17	ns	
Kuartik	1	1.067	1.067	6.84	ns	
Acak	10	1.56	0.156			
Total	14					

Keterangan:

**) Berbeda sangat nyata

ns) Tidak berbeda nyata

R linier = $JK \text{ regresi Linier} / (JK \text{ linier} + JK \text{ acak}) = 0.46$

R kuadrat = $JK \text{ regresi kuadratik} / (JK \text{ kuadratik} + JK \text{ acak}) = 0.81$

R kubik = $JK \text{ regresi kubik} / (JK \text{ kubik} + JK \text{ acak}) = 0.01$

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa regresi kuadratik dan linier berbeda sangat nyata, berarti regresi yang sesuai untuk kurva respon ini adalah regresi kuadratik, karena regresi kuadratik memiliki nilai F hitung lebih besar jika dibandingkan dengan F hitung pada regresi linier. Berdasarkan hal tersebut maka arah laju kurva yang digunakan adalah kurva kuadratik. Langkah selanjutnya yaitu mencari persamaan regresi kuadratik.

X	Uj
75	-2
150	-1
225	0
300	1
375	2

Lampiran 8 Analisis Data Pengaruh Daya Hambat Antibakteri (Lanjutan)

$$U_j = \frac{X - \text{Rerata } X}{d}$$

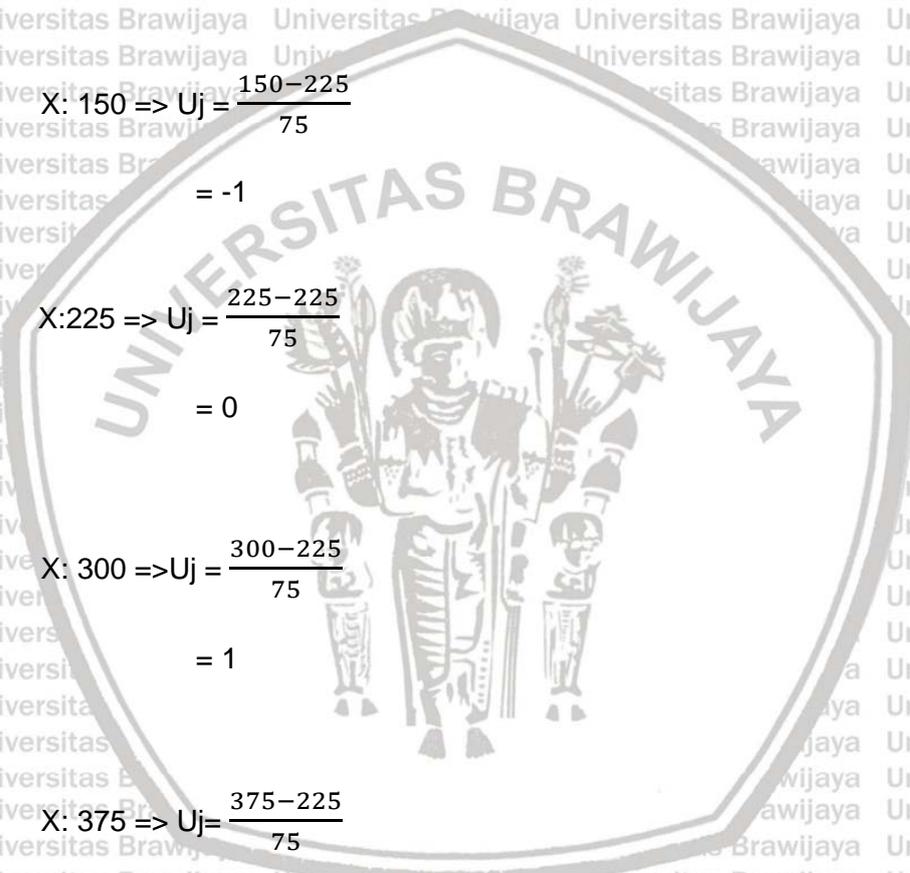
$$X: 75 \Rightarrow U_j = \frac{75 - 225}{75} \\ = -2$$

$$X: 150 \Rightarrow U_j = \frac{150 - 225}{75} \\ = -1$$

$$X: 225 \Rightarrow U_j = \frac{225 - 225}{75} \\ = 0$$

$$X: 300 \Rightarrow U_j = \frac{300 - 225}{75} \\ = 1$$

$$X: 375 \Rightarrow U_j = \frac{375 - 225}{75} \\ = 2$$



Lampiran 8 Analisis Data Pengaruh Daya Hambat Antibakteri (Lanjutan)

- Data Regresi Kuadratik

	X	UJ	UJ ²	UJ ⁴	YIJ	UJYIJ	UJ ² YIJ
	75	-2	4	16	24.38	-48.76	97.52
	150	-1	1	1	26.58	-26.58	26.58
	225	0	0	0	29.11	0	0
	300	1	1	1	24.94	24.94	24.94
	375	2	4	16	22.01	44.02	88.04
TOTAL	1125	0	10	34	127.02	-6.38	237.08

Setelah mendapatkan data regresi seperti tabel diatas, maka disubsitusikan ke rumus berikut:

Persamaan 1 (mencari b1) = $\sum U_j \cdot Y_{ij} = b_1 \cdot r \cdot \sum U_j^2$

$$-6,36 = b_1 \cdot 3 \cdot 10$$

$$b_1 = -0,213$$

Persamaan 2 = $\sum Y_{ij} = b_0 \cdot n + b_2 \cdot r \cdot \sum U_j^2$

$$127,02 = b_0 \cdot 3 + b_2 \cdot 3 \cdot 10$$

$$127,02 = 3 b_0 + 30 b_2 \text{ (Persamaan 2)}$$

Persamaan 3 = $\sum U_j^2 \cdot Y_{ij} = b_0 \cdot r \cdot \sum U_j^2 + b_2 \cdot r \cdot \sum U_j^4$

$$237,08 = b_0 \cdot 3 \cdot 10 + b_2 \cdot 3 \cdot 34$$

$$237,08 = 30 b_0 + 102 b_2 \text{ (Persamaan 3)}$$

Substitusi persamaan 2 dan 3

$$127,08 = 3 b_0 + 30 b_2$$

$$237,07 = 30 b_0 + 102 b_2$$

Lampiran 8. Analisis Data Pengaruh Daya Hambat Antibakteri (Lanjutan)

$$1270,2 = 30 b_0 + 300 b_2$$

$$\underline{237,08 = 480 b_0 + 102 b_2}$$

$$1033,12 = 198 b_2$$

$$b_2 = 5,218$$

Nilai b_2 substitusikan ke persamaan 2

$$127,02 = 3 b_0 + 30 b_2$$

$$127,02 = 3 b_0 + 30 (5,218)$$

$$127,02 = 3 b_0 + 156,54$$

$$3 b_0 = 156,54 - 127,02$$

$$3 b_0 = 29,52$$

$$b_0 = 9,84$$

Berdasarkan hasil persamaan di atas, maka diperoleh hasil sebagai berikut.

$$y = b_0 + b_1.U_j + b_2.U_j^2$$

$$y = 9,95 + (-0,213) U_j + 5,218 U_j^2$$

Kebalikan transformasi $U_j = \frac{X_j - 225}{75}$, pada persamaan tersebut yaitu:

$$y = 9,95 + (-0,213) \left(\frac{X_j - 225}{75}\right) + 5,218 \left(\frac{X_j - 225}{75}\right)^2$$

$$y = 10,19 - \frac{0,213 X_j}{75} + \frac{47,925}{75} + \frac{5,218 X_j^2}{5625} + \frac{2348,1 X_j}{5625} + \frac{264161,25}{5625}$$

$$y = 10,19 - 0,00284 X_j + 0,639 + 0,000928 X_j^2 - 0,417 X_j + 46,962$$

$$y = 0,000928 X_j^2 - 0,41984 X_j + 57,441$$

Mencari titik puncak kurva kuadratik ialah turunan pertama persamaan tersebut 0

$$\text{atau } y' = 0$$

$$y = 0,000928 X_j^2 - 0,41984 X_j + 57,441$$

$$y' = 2 (0,000928) X_j - 0,41984$$

$$0 = 0,001856 X_j - 0,41984$$

$$x = 226,2$$

Lampiran 8 Analisis Data Pengaruh Daya Hambat Antibakteri (Lanjutan)

Nilai x_j = kemudian didistribusikan ke dalam persamaan $0,000928x_j^2 - 0,41984x_j + 57,441$ sehingga diperoleh hasil sebagai berikut :

$$y = 0,000928x_j^2 - 0,41984x_j + 57,441$$

$$y = 0,000928 (226,2)^2 - 0,41984 (226,2) + 57,441$$

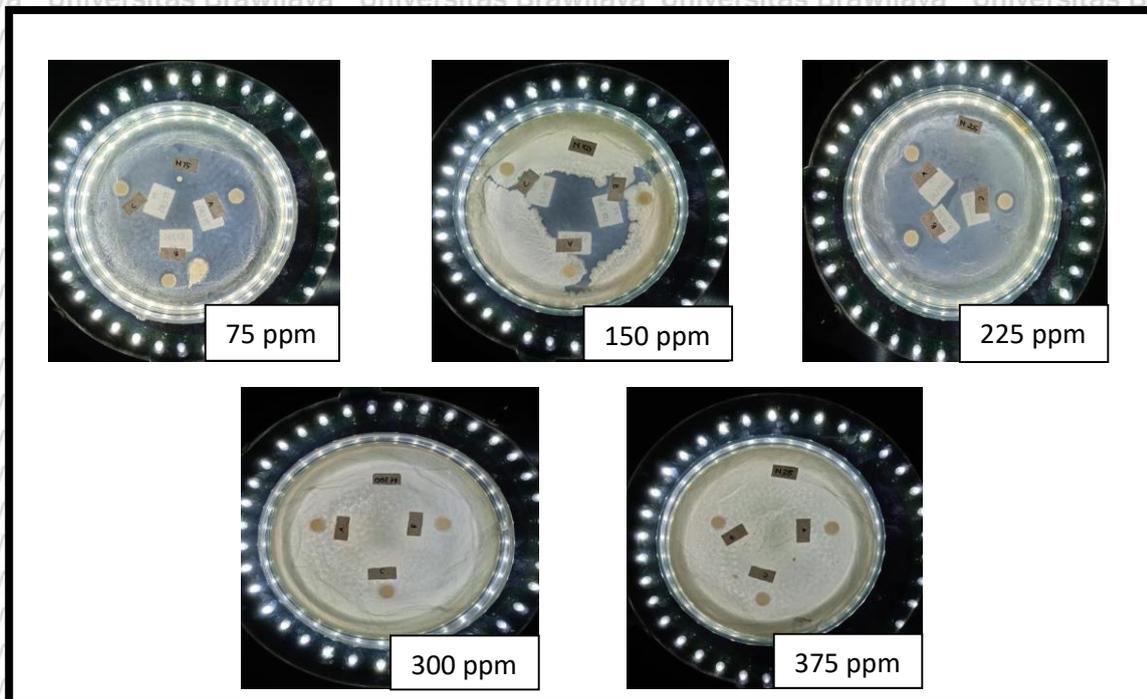
$$y = 47,482 - 94,96 + 57,441$$

$$y = 9,96$$



Lampiran 9. Hasil Pengamatan uji cakram 48 jam

1. Pengamatan 48 Jam



2. Rerata Hasil 48 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total (mm)	Rerata ± STDEV (mm)
	1	2	3		
A (75 ppm)	6.14	6.53	6.33	19	6.33 ± 0.20
B (150 ppm)	6.21	6.12	6.41	18.74	6.25 ± 0,15
C (225 ppm)	7.45	7.38	7.71	22.54	7.51 ± 0,17
D (300 ppm)	6.78	6.41	6.55	19.74	7.58 ± 0,19
E (375 ppm)	6.13	6.45	6.31	18.89	6,30 ± 0,16
Total				98.91	

