

UJI SENSITIVITAS EKSTRAK KASAR TANAMAN APU – APU (*Pistia stratiotes*) TERHADAP BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA IN VITRO

SKRIPSI

Oleh:
RAY VIERRA SIFA DEWI
NIM. 165080500111027



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

MALANG
2020

UJI SENSITIVITAS EKSTRAK KASAR TANAMAN APU – APU (*Pistia stratiotes*) TERHADAP BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA IN VITRO

SKRIPSI

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

Oleh:

RAY VIERRA SIFA DEWI
NIM. 165080500111027



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

MALANG
2020

SKRIPSI

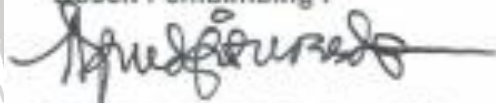
UJI SENSITIVITAS EKSTRAK KASAR TANAMAN APU – APU (*Pistia stratiotes*) TERHADAP BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA *IN VITRO*

Oleh :

RAY VIERRA SIFA DEWI
NIM. 165080500111027

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 30 Juni 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Pembimbing I

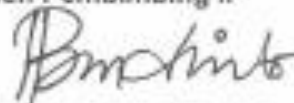


Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS.
NIP. 19550213 198403 1 001

Tanggal: 7/20/2020

Menyetujui,

Dosen Pembimbing II

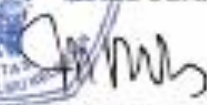


Budianto, S.Pi., MP., M.Sc
NIK. 201301 860423 1 001

Tanggal: 7/20/2020



Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP



Dr. Ir. M. Firdaus, MP.
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal: 7/20/2020

IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : Uji Sensitivitas Ekstrak Kasar Tanaman Apu – Apu (*Pistia stratiotes*) Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Ray Vierra Sifa Dewi

NIM : 165080500111027

Program Studi : Budidaya Perairan

Penguji Pembimbing:

Pembimbing 1 : Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, M.S.

Pembimbing 2 : Budianto, S.Pi., MP., M.Sc.

Penguji Bukan Pembimbing:

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

Dosen Penguji 2 : Ir. Heny Suprastyani M.S.

Tanggal Ujian : 30 Juni 2020

UCAPAN TERIMA KASIH

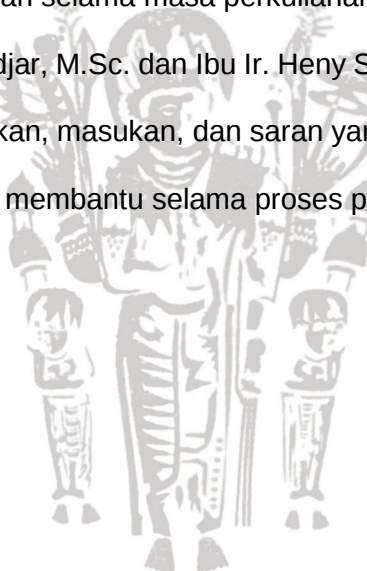
Penulis menyadari bahwa penulisan laporan ini banyak dukungan dari berbagai pihak. Melalui kesempatan ini, dengan kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas segala rahmat, karunia dan ridho-Nya selama menyelesaikan skripsi.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, M.S. dan Bapak Budianto, S.Pi., MP., M.Sc. selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, arahan, dan nasehat selama proses persiapan, pelaksanaan penelitian hingga selesainya skripsi dan selama masa perkuliahan.
3. Bapak Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc. dan Ibu Ir. Heny Suprastyani M.S. selaku dosen penguji atas perbaikan, masukan, dan saran yang telah diberikan.
4. Seluruh pihak yang membantu selama proses penelitian skripsi ini.

Malang, Juli 2020

Mahasiswa,

Ray Vierra Sifa Dewi



RINGKASAN

Ray Vierra Sifa Dewi Uji Sensitivitas Ekstrak Kasar Tanaman Apu – Apu (*Pistia stratiotes*) Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*. Dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, M.S.** dan **Budianto, S.Pi., MP., M.Sc.**

Penyakit akibat terinfeksi bakteri merupakan salah satu masalah serius yang selalu dihadapi oleh para pembudidaya ikan. Bakteri yang bersifat patogen oportunistik dapat mengakibatkan kematian massal pada ikan. Faktor pertumbuhan bakteri terjadi akibat adanya perubahan kondisi lingkungan, ikan stres, perubahan temperatur air yang terkontaminasi, dan ketika inang telah terinfeksi oleh bakteri. Salah satu mikroorganisme yang digolongkan dalam bakteri oportunistik adalah bakteri *A. hydrophila* karena mampu menyebabkan penyakit pada kondisi tertentu. Penanganan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* dilakukan dengan pemberian antibiotik. Penggunaan antibiotik dapat menyebabkan resistensi bakteri terhadap obat tersebut bila diberikan secara berkelanjutan dan tidak terkontrol, selain itu juga menyebabkan residu antibiotik pada produk perikanan yang berdampak negatif bagi konsumen. Oleh karena itu, perlu diketahui alternatif obat antibakteri yang berasal dari tumbuh – tumbuhan. Kandungan dalam apu – apu yakni fenol, alkaloid, flavonoid dan senyawa metabolit sekunder lainnya. Tanaman apu-apu memiliki aktivitas farmakologis sebagai analgesik, antiinflamasi, antipiretik, dan antioksidan. Maka perlu diketahui apakah apu – apu dapat digunakan sebagai alternatif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kegunaan ekstrak kasar tanaman apu – apu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2019 – Februari 2020 di Laboratorium Budidaya Perikanan, Divisi Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental untuk mengetahui hubungan sebab – akibat melalui manipulasi variabel dan menguji perubahan yang diakibatkan oleh perlakuan. Pengambilan data yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan observasi, yaitu pengamatan objek secara langsung, dan melakukan pencatatan dari hasil pengamatan dengan rancangan percobaan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri dari 5 perlakuan dan 3 kali ulangan. Adapun perlakuan A (10 ppm), perlakuan B (60 ppm), perlakuan C (110 ppm), perlakuan D (160 ppm), dan perlakuan E (210 ppm).

Hasil penelitian menunjukkan rata – rata diameter zona bening tertinggi pada perlakuan E sebesar $10,51 \pm 0,13$ mm dan zona bening terendah pada perlakuan A sebesar $9,11 \pm 0,30$ mm. Pada masa inkubasi 48 jam zona bening mengecil yang menandakan sifat antibakteri sebagai bakteriostatik. Penelitian ini menunjukkan pola linier dengan persamaan $y = 9,071 + 0,006x$ dan koefisien nilai determinasi (R^2) sebesar 0,83. Artinya 83% pemberian ekstrak kasar tanaman apu – apu berpengaruh terhadap zona bening yang terbentuk. Hubungan antara pemberian ekstrak kasar tanaman apu – apu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dengan nilai zona bening menunjukkan respon yang meningkat seiring bertambahnya dosis ekstrak. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan kesimpulan yaitu ekstrak kasar tanaman apu – apu memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*.

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas berkah, karunia serta ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi dengan judul “Uji Sensitivitas Ekstrak Kasar Tanaman Apu – Apu (*Pistia stratiotes*) Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*”. Saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, M.S. dan Bapak Budianto, S.Pi., MP., M.Sc. selaku dosen pembimbing dan semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan laporan ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan yang mendasar pada laporan ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun. Kritik konstruktif dari pembaca sangat saya harapkan untuk penyempurnaan laporan selanjutnya, agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua, demikian penulis sampaikan terimakasih.

Malang, Juli 2020

Ray Vierra Sifa Dewi

DAFTAR ISI

Halaman

SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
IDENTITAS TIM PENGUJI	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Kegunaan	5
1.6 Waktu dan Tempat Pelaksanaan	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Biologi Tanaman Apu – Apu (<i>P. stratiotes</i>)	6
2.1.1 Klasifikasi	6
2.1.2 Morfologi	6
2.1.3 Habitat dan Penyebaran	7
2.1.4 Kandungan Senyawa Aktif	8
2.2 Ekstrak	9
2.3 Biologi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	10
2.3.1 Klasifikasi	10
2.3.2 Morfologi Bakteri	10
2.3.3 Habitat dan Penyebaran	11
2.3.4 Infeksi	12
2.4 Pertumbuhan Bakteri <i>A. Hydrophila</i>	13
2.5 Uji Secara <i>In Vitro</i>	14
3. METODE PENELITIAN	16
3.1 Materi Penelitian	16

ix	
3.1.1 Alat Penelitian.....	16
3.1.2 Bahan Penelitian.....	17
3.2 Kerangka Konsep Penelitian.....	18
3.3 Metode Penelitian.....	19
3.4 Pengambilan Data.....	20
3.5 Rancangan Penelitian.....	21
3.6 Prosedur Penelitian.....	23
3.6.1 Persiapan Penelitian.....	23
3.6.2 Pelaksanaan Penelitian.....	26
3.7 Parameter Uji.....	27
3.8 Analisis Data.....	27
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Identifikasi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	29
4.2 Uji Daya Hambat.....	31
4.3 Mekanisme Antibakteri.....	37
4.4 Parameter Penunjang.....	39
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
5.1 Kesimpulan.....	41
5.2 Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	49



DAFTAR TABEL

Tabel

Halaman

1. Alat - Alat Penelitian.....	16
2. Bahan – Bahan Penelitian	17
3. Perlakuan dalam Penelitian	22
4. Data Hasil Pengukuran Rerata Zona Hambat (mm).....	31
5. Hasil Sidik Ragam Zona Hambat	31
6. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)	32

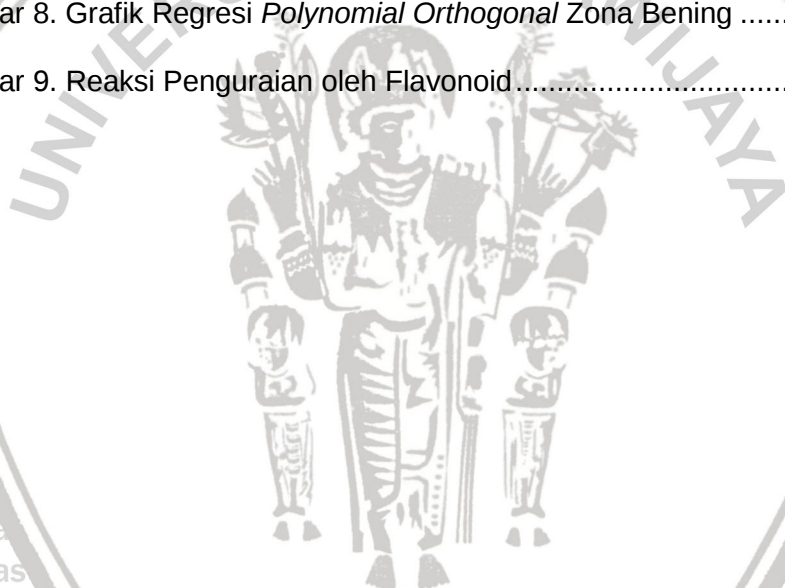


DAFTAR GAMBAR

Gambar

Halaman

Gambar 1. Tanaman Apu – Apu	7
Gambar 2. Bakteri <i>A. hydrophila</i>	11
Gambar 3. Kurva Pertumbuhan Bakteri	14
Gambar 4. Kerangka Konsep Penelitian	18
Gambar 5. Denah Rancangan Percobaan	23
Gambar 6. Pewarnaan Gram Bakteri <i>A. hydrophila</i>	30
Gambar 7. Diameter Daya Hambat (Zona Bening)	31
Gambar 8. Grafik Regresi <i>Polynomial Orthogonal</i> Zona Bening	32
Gambar 9. Reaksi Penguraian oleh Flavonoid	39

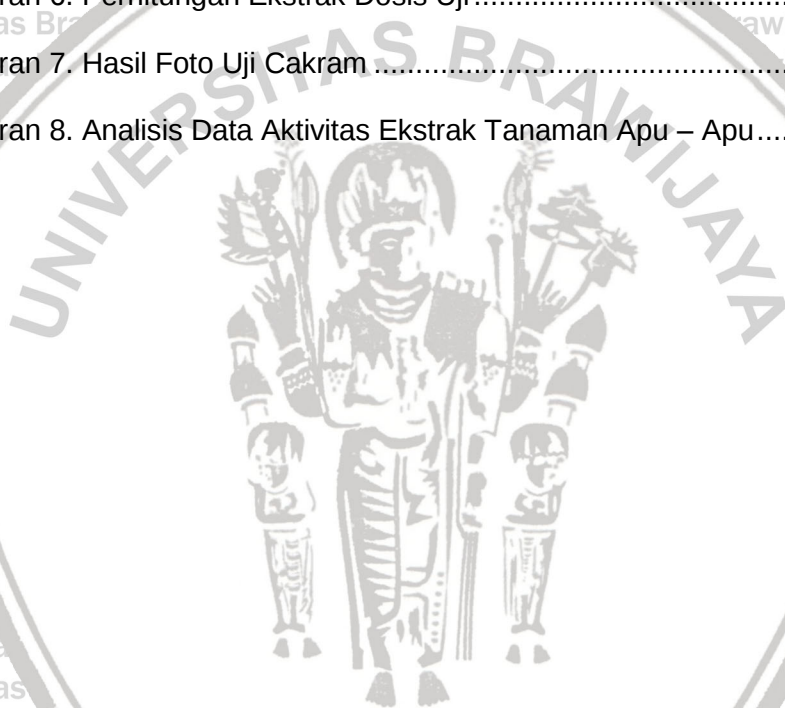


DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

Halaman

Lampiran 1. Dokumentasi Alat Penelitian	49
Lampiran 2. Dokumentasi Bahan Penelitian	54
Lampiran 3. Kegiatan Penelitian	57
Lampiran 4. Hasil Uji Bikomia Bakteri <i>A. hydrophila</i>	60
Lampiran 5. Hasil Uji Fitokimia Tanaman Apu – Apu	61
Lampiran 6. Perhitungan Ekstrak Dosis Uji	62
Lampiran 7. Hasil Foto Uji Cakram	64
Lampiran 8. Analisis Data Aktivitas Ekstrak Tanaman Apu – Apu	66



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sektor perikanan dan kelautan adalah salah satu sektor andalan yang dijadikan pemerintah sebagai salah satu potensi untuk meningkatkan pertumbuhan ekonomi baik dalam skala lokal, regional maupun negara (Nadeak, 2009). Salah satu primadona bisnis perikanan yang berpotensi besar untuk meningkatkan pertumbuhan ekonomi Indonesia adalah usaha budidaya ikan, karena tingkat konsumsi ikan saat ini sangat tinggi di seluruh kalangan masyarakat, yaitu hingga tahun 2017 telah mencapai 43 kg/kapita/tahun. Sebuah penelitian menyebutkan bahwa ikan adalah lauk yang tertinggi tingkat konsumsinya dibandingkan lauk lain, hal ini menjadi sebuah prospek yang menjanjikan bagi pengusaha yang berbisnis dalam bidang budidaya ikan, khususnya ikan konsumsi (Elfani dan Pujiyanta, 2013).

Salah satu hambatan utama dalam keberlanjutan produksi budidaya adalah kematian yang diakibatkan oleh infeksi mikroorganisme patogen. Kondisi ini berkorelasi positif dengan semakin intensifnya sistem budidaya yang dikembangkan (Cao, Wang, Yang, Yang, Yuan, Xiong, dan Diana, 2007). Sakit pada ikan yaitu suatu keadaan abnormal yang ditandai dengan penurunan kemampuan ikan secara gradual dalam mempertahankan fungsi – fungsi fisiologi normal. Pada keadaan tersebut ikan dalam keadaan tidak seimbang dari sisi fisiologis dan tidak mampu beradaptasi dengan lingkungan. Sakit pada ikan umumnya timbul akibat interaksi dari 3 faktor, yakni inang, patogen, dan lingkungan (Novriadi, Agustatik, Hendrianto, Pramuanggit, dan Wibowo, 2014).

Penyakit akibat terinfeksi bakteri merupakan salah satu masalah serius yang selalu dihadapi oleh para pembudidaya ikan. Bakteri yang bersifat patogen oportunistik dapat mengakibatkan kematian massal pada ikan. Faktor

pertumbuhan bakteri terjadi akibat adanya perubahan kondisi lingkungan, ikan stres, perubahan temperatur air yang terkontaminasi, dan ketika host (inang) telah terinfeksi oleh bakteri (Haryani, Grandiosa, Buwono, dan Santika, 2012).

Salah satu mikroorganisme yang digolongkan dalam bakteri oportunistik adalah bakteri *A. hydrophila* karena mampu menyebabkan penyakit pada kondisi tertentu diantaranya perubahan kondisi lingkungan, stres, dan kondisi inang yang telah terinfeksi oleh parasit. Bakteri *A. hydrophila* dapat menginfeksi melalui permukaan tubuh yang luka atau insang kemudian masuk ke dalam pembuluh darah dan organ dalam lainnya (Ulfiana, Mahasri, dan Suprpto, 2012).

Penyebaran penyakit bakterial pada ikan umumnya sangat cepat serta dapat menimbulkan kematian yang sangat tinggi pada ikan – ikan yang diserangnya (Rahmaningsih, 2012).

Penanggulangan dengan modifikasi lingkungan untuk penyakit infeksi kurang cepat dalam proses penyembuhannya, mengingat perkembangan penyakit yang disebabkan *A. hydrophila* sangat cepat menyebar. Maka dari itu digunakan antibiotik untuk mengendalikan *A. hydrophila* (Sukarni, Maftuch, dan Nursyam, 2012). Penanganan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* dilakukan dengan pemberian antibiotik seperti *chlorampenicol*, *florfenicol*, *tetracycline*, *sulphonamide*, *nitrofurantoin*, *pyridonecarboxylic acid*, oksitetrasiklin, *oxolinic acid*, eritromisin dan streptomisin. Penggunaan antibiotik dapat menyebabkan resistensi bakteri terhadap obat – obat tersebut bila diberikan secara berkelanjutan dan tidak terkontrol, selain itu juga menyebabkan residu antibiotik pada produk perikanan yang berdampak negatif bagi konsumen. Oleh karena itu, perlu diketahui alternatif obat antibakteri yang berasal dari tumbuh – tumbuhan (Sumayani, Kusdarwati, dan Cahyoko, 2008).

Pemanfaatan tanaman sebagai salah satu unsur dalam proses pengobatan secara tradisional telah lama dikenal dan diwarisi dari satu generasi ke generasi

berikutnya. Bagian – bagian tanaman yang dimanfaatkan untuk pengobatan dapat berupa organ daun, batang, akar, buah, bunga dan biji tanaman (Nursanty, 2017). Khasiat suatu tanaman obat sangat erat kaitannya dengan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman tersebut. Aktivitas biologis metabolit sekunder sangat bervariasi baik sebagai antimalaria, antidiabetes, antiulcer, antiinflamasi dan antimikroba. Kandungan metabolit sekunder meliputi golongan steroid, terpenoid, turunan fenol, flavonoid, dan alkaloid (Muharni, Fitrya, dan Farida, 2017).

Ekstrak metanol dari eceng gondok (*Eichornia crassipes*) terbukti menghambat *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*. Ekstrak etanol rumput bebek (*Spirodela polyrhiza*) menunjukkan spektrum luas aktivitas antimikroba terhadap strain gram negatif *A. hydrophila*, *Pseudomonas putida*, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, dan *E. coli* (Hossain, Khan, dan Uddin, 2018).

Tanaman apu – apu (*P. stratiotes*) adalah tanaman yang hidup sebagai tanaman makropita air tawar dan mengapung di permukaan menyebar daerah tropis ke subtropis. Tanaman ini berkhasiat sebagai obat influenza, demam, batuk, gatal – gatal alergi, disentri, dan campak. Adanya senyawa bioaktif berperan dalam kemanjuran penggunaan tanaman apu – apu (Sudirman, Herpandi, Nopianti, Lestari, Wasahla, dan Mareta, 2017). Kandungan dalam apu – apu yakni fenol, alkaloid, flavonoid, glikosida, vitamin, stigmasterol dan asam palmitat, *vicenin*, *vitexin*, *orientin*. Tanaman apu-apu memiliki aktivitas farmakologis sebagai analgesik, antiinflamasi, antipiretik, antioksidan, bronkodilator, diuretik, dan antigout (Dianasari dan Firdiyansari, 2019).

Ekstrak apu – apu ditemukan aktif terhadap *S. aureus*, *Salmonella typhi*, dan *E. coli* (Mukhtar dan Tukur, 2001). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian

untuk mengetahui sensitivitas ekstrak kasar tanaman apu – apu pada bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*.

1.2 Perumusan Masalah

Penyakit akibat infeksi bakteri merupakan salah satu masalah serius yang selalu dihadapi oleh para pembudidaya ikan. Salah satu mikroorganisme yang digolongkan dalam bakteri oportunistik adalah bakteri *A. hydrophila* karena mampu mengakibatkan penyakit pada kondisi tertentu seperti perubahan kondisi lingkungan dan stres. Karena penyebaran penyakit ini sangat cepat maka digunakan antibiotik untuk mengendalikannya. Namun penggunaan antibiotik dapat menyebabkan resistensi bila diberikan secara berkelanjutan dan tidak terkontrol serta menyebabkan residu yang berdampak negatif bagi konsumen. Oleh karena itu perlu diketahui obat yang berasal dari tumbuh – tumbuhan. Salah satu alternatif penggunaan obat antibakteri dari bahan alami yaitu penggunaan ekstrak tanaman apu - apu. Berdasarkan uraian diatas dapat diperoleh rumusan masalah yakni bagaimanakah pengaruh ekstrak kasar tanaman apu – apu terhadap sensitivitas bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ekstrak kasar tanaman apu – apu terhadap sensitivitas bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*.

1.4 Hipotesis

H₀ : Diduga uji sensitivitas ekstrak kasar tanaman apu – apu tidak memberikan pengaruh terhadap bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*.

H₁ : Diduga uji sensitivitas penggunaan ekstrak kasar tanaman apu – apu memberikan pengaruh terhadap bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*.

1.5. Kegunaan

Penelitian ini berguna untuk mengetahui manfaat ekstrak kasar tanaman apu – apu terhadap sensitivitas bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*.

1.6. Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2019 – Februari 2020, di Laboratorium Budidaya Ikan, Divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Tanaman Apu – Apu (*P. stratiotes*)

2.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi tanaman apu – apu menurut Tripathi, Kumar, Sharma, Mishra, dan Gupta (2010):

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Ordo : Alismatiales

Famili : Araceae

Genus : Pistia

Spesies : *P. stratiotes*

2.1.2 Morfologi

Tanaman apu – apu susunan daunnya membentuk roset, warnanya hijau cerah dengan tekstur tebal berdagging serta berambut halus menyerupai beludru.

Setiap roset daun tersebut dihubungkan oleh batang kecil menjalar atau stolon yang mudah dipotong. Akarnya menyerupai rambut tumbuh tepat di bawahnya.

Tinggi 5 – 10 cm dengan akar menggantung dalam air. Batang pendek, tebal lurus dengan tunas menjalar. Daun berjejal rapat menjadi roset, berdiri serong, berbentuk baji sampai tiga segi terbalik dengan ujung membulat lebar dan sedikit terbalik melekok ke dalam dengan pangkal daun yang berupa spon dan berambut, tulang daun berpangkal semua pada basis daun (Dieta dan Hendrasarie, 2019).

Tanaman apu – apu tidak memiliki batang yang jelas. Daun – daunnya tersusun secara roset didekat akar. Daunnya merupakan daun tunggal. Ujung daun membulat namun pangkal daun runcing. Tepi daun berlekuk dan ditutupi dengan rambut tebal dan lembut. Panjang daun sekitar 2 hingga 10 cm sedangkan

lebar daun sekitar 2 hingga 6 cm. Daun – daun tebal dan lembut membentuk suatu pahatan seperti mahkota bunga mawar dan sedikit kenyal. Pertulangan daun sejajar, dimana tulang daun tipis dan terselubung. Daun berwarna hijau kadang kebiruan bila sudah tua agak berwarna kuning. Tangkai daun sangat pendek hampir tidak ada. Akar jumbai panjang berwarna putih, yang menggantung di bawah roset yang mengambang bebas di sepanjang saluran air. Rambut-rambut akarnya membentuk suatu struktur berbentuk seperti keranjang dan dikelilingi gelembung udara, sehingga meningkatkan daya apung tumbuhan itu. Akar dapat tumbuh panjang hingga mencapai 80 cm (Rijal, 2014). Morfologi tanaman apu – apu disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Tanaman Apu – Apu (Mardikaningtyas, Ibrohim, dan Suarsini, 2016).

2.1.3 Habitat dan Penyebaran

Tanaman apu – apu adalah makropita air yang terapung dan berkembang biak di ekosistem perairan tropis. Spesies tanaman ini ditemukan di utara, barat tengah, selatan, dan tenggara wilayah Brazil serta berkembang di semua jenis air tawar: murni, tercemar, berlumpur atau stagnan (Vieira, Araujob, Ferreirab, Silvac, Canevesic, dan Marumo, 2019). Suhu pertumbuhan untuk tanaman apu – apu adalah 22 hingga 30 °C sementara pertumbuhan berhenti pada kisaran suhu 8 – 15 °C (Haidara, Magami, dan Sanda, 2018).

Tumbuhan ini dikenal dengan *water lettuce* dalam bahasa Inggris, merupakan tumbuhan yang berasal dari Afrika atau Amerika Selatan, yang

tumbuh secara alami atau bisa juga dibawa oleh manusia. Penyebaran hydrophyta secara luas pada iklim tropis. Di Amerika selatan, terdapat pada semenanjung Florida dan menuju ke barat hingga Texas. Di Florida, didokumentasikan di sepanjang danau, aliran sungai, pantai, rawa dan sekarang telah menyebar hingga wilayah beriklim tropis dan subtropis, termasuk wilayah Asia (Rijal, 2014).

2.1.4 Kandungan Senyawa Aktif

Tumbuhan apu – apu memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu flavonoid, fenol, saponin, tanin, steroid, dan alkaloid. Kandungan senyawa – senyawa ini mempunyai aktifitas sebagai antioksidan dan antibakteri. Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bahkan membunuh bakteri yang bersifat merugikan. Sedangkan antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat atau mencegah terjadinya oksidasi. Selain itu, antioksidan juga berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan. Berbagai kerusakan seperti ketengikan, perubahan nilai gizi, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lain pada produk pangan karena oksidasi dapat dihindari oleh antioksidan (Zega, Baehaki, dan Herpandi, 2017).

Pistia adalah genus tanaman air dalam famili Araceae, yang terdiri dari satu spesies. Tanaman apu – apu juga disebut kubis air atau selada air. Daun apu – apu digunakan dalam pengobatan tradisional untuk pengobatan infeksi kurap pada kulit kepala, infeksi kulit, bisul, luka. Selain itu ekstrak minyaknya digunakan dalam pengobatan Tuberculosis (TBC), asma, dan disentri. Daun ini juga digunakan untuk mengobati peradangan, ambeien serta luka bakar. Tanaman ini mengandung senyawa glikosida antrakuinon, kardiak glikosida, glikosida sianogenetik, flavonoid, steroid, tanin, karbohidrat (Ali, Paul, Torequi, Nath, dan Kumar, 2011).

2.2 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Illing, Safitri, dan Erfiana, 2017). Ekstraksi merupakan teknik pemisahan kimia untuk memisahkan atau menarik satu atau lebih komponen atau dengan sampel (analit) dari suatu senyawa – senyawa menggunakan pelarut tertentu yang sesuai (Leba, 2017).

Jenis-jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan antara lain maserasi, merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction*, merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan ultrasound (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Perkolasi dimana serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Soxhlet dimana metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Reflux dan Destilasi Uap dimana sampel dimasukkan pada metode reflux bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor (Mukhriani, 2014).

Ekstraksi apu-apu dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Senyawa kimia yang didapat antara lain flavonoid, saponin, polifenol, terpenoid, dan steroid (Dianasari dan Iftitah, 2019). Serbuk kering apu – apu disokletasi dengan pelarut (PE) dan metanol. Hasil ekstraksi dievaporasi. Ekstrak pekat dipartisi berturut – turut dengan n-heksan (1:1) dan etil asetat (1:1). skrining fitokimia menunjukkan adanya senyawa flavonoid, saponin, dan steroid (Raharjo dan Ningsih, 2015).

2.3 Biologi Bakteri *A. hydrophila*

2.3.1 Klasifikasi

Klasifikasi *A. hydrophila* menurut Murwani, Qosimah, dan Amri (2017) adalah sebagai berikut :

Domain : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Order : Aeromonadales

Family : Aeromonadaceae

Genus : Aeromonas

Species : *A. hydrophila*

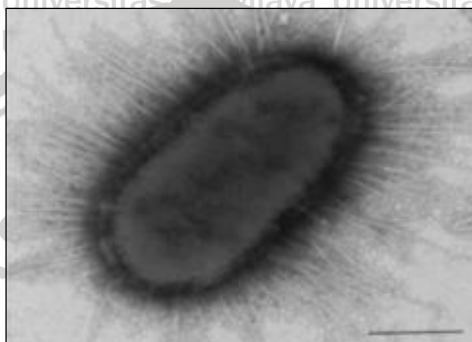
2.3.2 Morfologi Bakteri

Bakteri *A. hydrophila* termasuk gram negatif, berbentuk batang pendek, bersifat aerob dan fakultatif anaerob, tidak berspora, motil mempunyai satu flagel, hidup pada kisaran suhu 25 – 30 °C (lukistiyowati dan kurniasih, 2012). Morfologi koloni dari *A. hydrophila* yaitu berwarna krem, elevasi cembung, dan tepiannya halus, sedangkan morfologi selnya berbentuk batang dan bersifat Gram negatif (Wahjuningrum, Astrini, dan Setiawati, 2013).

Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri yang bersifat gram (-), mempunyai morfologi batang pendek dengan ukuran bervariasi (lebar: 0,8 – 1,0 mikron; panjang: 1,0 – 3,5 mikron), tidak memiliki spora; bakteri bersifat motil, karena mempunyai satu flagel (monotrichous flagela), yang keluar dari salah satu kutubnya. Morfologi koloni permukaannya agak menonjol, berbentuk bulat, mengkilat, krim dengan tepi koloni entire, dan diameter 2 – 3 mm (Arwin, Ijong, dan Tumbol, 2016).

Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri gram negatif, bakteri gram negatif adalah bakteri yang tidak mempertahankan zat warna metil ungu pada metode

pewarnaan Gram. *A. hydrophila* berbentuk batang pendek ($1,3 - 2,0 \times 0,8 - 1,3$ μm), motil atau bergerak, tidak membentuk spora, fakultatif anaerob, resisten terhadap 0/129, pertumbuhan optimum pada suhu 22°C , memproduksi brown pigmen yang diffusible (untuk strain typical). Koloni bakteri ini berwarna putih, kecil, bulat, dan cembung (Kusuma, Longdong, dan Tumbol, 2014). Morfologi dari bakteri *A. hydrophila* disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Bakteri *A. hydrophila* (Chen, Jiang, Gao, Li, Zhang, Liu, Yang, Bing, dan Zhang, 2018)

2.2.3 Habitat dan Penyebaran

Bakteri *A. hydrophila* umumnya hidup di air tawar. Bakteri ini bisa muncul setiap saat terutama kondisi lingkungan jelek. Penularan bakteri *A. hydrophila* dapat berlangsung melalui air, kontak badan, kontak dengan peralatan yang tercemar (Manurung dan Susantie, 2017). Bakteri *A. hydrophila* banyak menginfeksi ikan budidaya pada lingkungan perairan yang buruk dengan bahan organik tinggi, dan dapat dengan mudah menginfeksi ikan lainnya dalam sumber air yang sama (Mangunwardoyo, Ismayasari, dan Riani, 2009).

Bakteri *A. hydrophila* tumbuh secara optimal pada suhu 28°C , memiliki kemampuan untuk tumbuh pada suhu dingin, dilaporkan serendah $0,1^\circ\text{C}$. Reservoir utamanya adalah lingkungan perairan seperti danau air tawar, sungai, dan sistem air limbah. Penyakit akibat bakteri *A. hydrophila* sangat mudah menular pada ikan lain yang berada di sekitar ikan yang terkena penyakit. Penularan penyakit dapat dibagi menjadi 2, yaitu penularan secara vertikal dan horizontal.

Penularan vertikal adalah penularan penyakit dari induk ke progeninya, sedang penularan horizontal adalah penularan penyakit ke ikan lain dapat melalui kontak langsung, vektor, peralatan yang terkontaminasi, atau lingkungan (Hidayat, Patana, dan Lesmana, 2014).

2.3.4 Infeksi

Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri normal yang berada di perairan air tawar. Namun akibat perubahan kondisi lingkungan seperti perubahan temperatur menyebabkan bakteri menjadi patogen. Bakteri ini bersifat patogen, menyebar secara cepat pada padat penebaran yang tinggi dan dapat mengakibatkan kematian benih hingga 90%. Penyebaran penyakit dapat terjadi karena kontak langsung dengan ikan yang terinfeksi. Selain itu, berasal dari air tempat pemeliharaan ikan yang terinfeksi. Infeksi bakteri *A. hydrophila* dapat menimbulkan penyakit dengan gejala diantaranya: kulit mudah terkelupas, bercak merah pada seluruh tubuh, insang berwarna kebiruan atau pucat, exophthalmia (bola mata menonjol keluar), sirip punggung, sirip dada, sirip perut, dan sirip ekor terlepas, terjadinya pendarahan pada anus, dan hilang nafsu makan (Sari, Gunaedi, dan Indrayani, 2017).

Ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* memiliki banyak gejala yang berbeda. Ini berkisar dari kematian mendadak pada ikan sehat, kurangnya nafsu makan, kelainan berenang, insang pucat, kembung, dan kulit ulserasi. Borok kulit bisa terjadi di bagian manapun pada ikan dan sering dikelilingi oleh jaringan merah. Organ lain yang sering terkena penyakit ini yaitu insang, ginjal, hati, limpa, pankreas, dan skeletal otot. Beberapa bakteri golongan gram negatif tidak mengeluarkan cairan racun, tetapi membuat endotoksin yang dilepaskan apabila sel mati atau pecah. Endotoksin merupakan lipopolisakarida pada dinding sel bakteri. Bakteri juga menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menyerang ikan sehat (Muslikha, Pujiyanto, Jannah, dan Novita, 2016).

2.4 Pertumbuhan Bakteri *A. Hydrophila*

Pertumbuhan bakteri secara umum merupakan hasil penggandaan sel, sehingga pertumbuhan bakteri lebih sering dinyatakan sebagai reproduksi sel.

Bakteri melakukan penggandaan pembelahan diri secara teratur melalui pertumbuhan eksponensial, yaitu laju pembelahan sel meningkat dengan bertambahnya waktu pertumbuhan (Hasyimuddin, Djide, dan Samawi, 2016).

Pertumbuhan mikroba dalam suatu medium mengalami fase yang berbeda

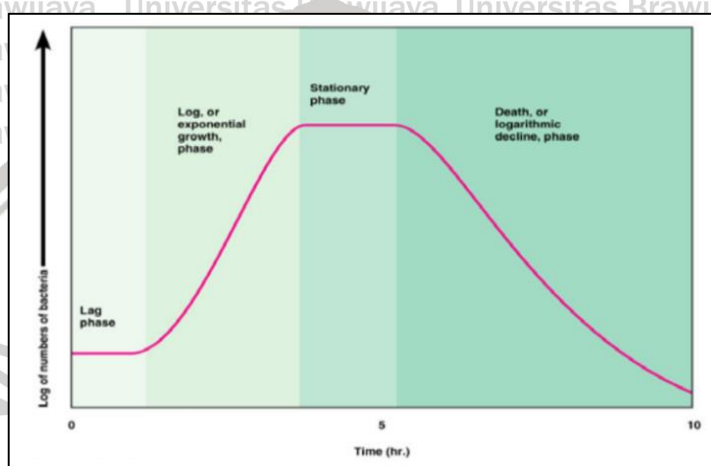
— beda yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian. Pada fase kematian eksponensial tidak diamati pertumbuhan kultur bakteri, kecuali bila kematian dipercepat dengan penambahan zat kimia toksik, panas atau radiasi.

Dalam pertumbuhannya setiap makhluk hidup membutuhkan nutrisi serta kondisi lingkungan yang mendukung demi proses pertumbuhan tersebut. Pertumbuhan bakteri umumnya dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Pengaruh faktor ini akan memberikan gambaran yang memperlihatkan jumlah sel yang berbeda dan pada akhirnya memberikan gambaran pula terhadap kurva pertumbuhannya.

Kebutuhan untuk pertumbuhan dapat dibedakan menjadi 2 kategori yaitu fisik dan kimiawi. Fisik dapat mencakup suhu, pH, dan tekanan osmotik. Kimiawi meliputi air, sumber karbon, nitrogen oksigen, mineral – mineral, dan faktor pembunuh (Fifendy dan Biomed, 2017). Kurva pertumbuhan bakteri disajikan pada gambar 3.

Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri yang secara normal ditemukan dalam air tawar. Bakteri ini dapat bertahan dalam lingkungan aerob maupun anaerob. *A. hydrophila* resisten terhadap *chlorine* serta suhu yang dingin $\pm 4^{\circ}\text{C}$ dalam waktu 1 bulan. *A. hydrophila* mampu tumbuh dan berkembang biak pada suhu 37°C dan tetap motil pada suhu tersebut. Bakteri *A. hydrophila* mampu tumbuh pada kisaran pH 4,7 – 11 (Haryani, Grandiosa, Buwono, dan Santika, 2012).

Bakteri *A. hydrophila* termasuk kelompok bakteri gram negatif yang tumbuh maksimal pada kisaran suhu 38 – 41 °C dan pertumbuhan minimal pada suhu 0 – 5 °C dengan kisaran pH 5,5 – 9. Perkembangbiakan bakteri *A. hydrophila* secara asexual dengan pemanjangan sel yang diikuti pembelahan inti yang disebut pembelahan biner. Waktu yang diperlukan untuk pembelahan satu sel menjadi dua sel lebih kurang 10 menit (Samsundari, 2006).



Gambar 3. Kurva Pertumbuhan Bakteri (Fifendy dan Biomed, 2017).

2.5 Uji Secara *In Vitro*

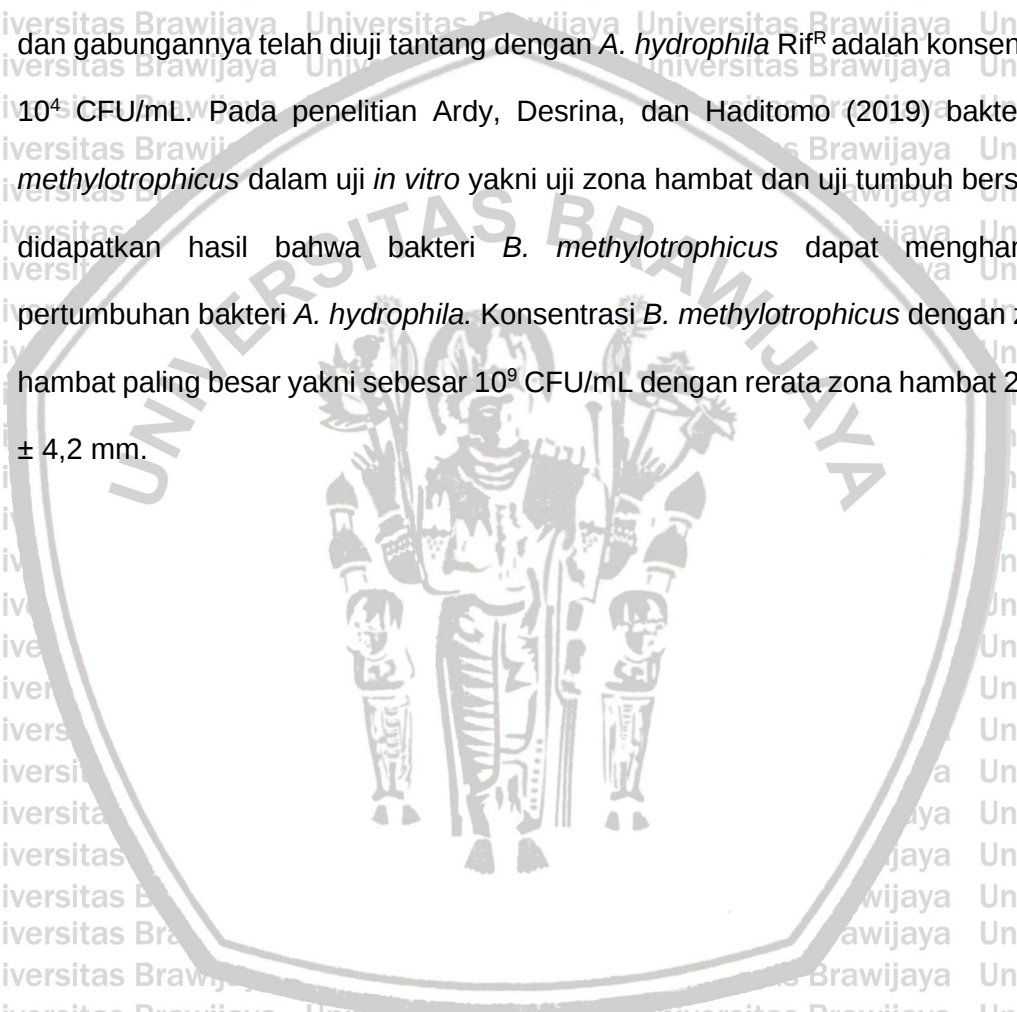
In vitro merupakan suatu metode uji pada media buatan yang sesuai dengan lingkungan optimal yang diperlukan oleh mikroba untuk tumbuh dan berkembangbiak. Uji tersebut dilakukan untuk melihat daya kerja antimikrobia.

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 (Ikrom, Denok, Reni, Bintang, Rafika, dan Wasito, 2014).

Hasil penelitian Dianasari dan Ifitah (2019) menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak etanol apu-apu terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *S. aureus* dari yang tinggi ke rendah secara berurutan adalah konsentrasi 40%, konsentrasi

30%, konsentrasi 20%, konsentrasi 10%. Penelitian oleh Mukhtar dan Tukur (2001) menunjukkan bahwa ekstrak apu – apu ditemukan aktif terhadap bakteri *S. aureus*, *S. typhi*, dan *E. coli*.

Uji patogenitas secara *in vitro* yang dilakukan oleh Ulkhaq, Widanarni, dan Lusiastuti (2014) menunjukkan bahwa hasil uji penghambatan bakteri probiotik *Bacillus Rif^R* terhadap *A. hydrophila* konsentrasi terbaik dari probiotik *Bacillus Rif^R* dan gabungannya telah diuji tantang dengan *A. hydrophila Rif^R* adalah konsentrasi 10^4 CFU/mL. Pada penelitian Ardy, Desrina, dan Haditomo (2019) bakteri *B. methylotrophicus* dalam uji *in vitro* yakni uji zona hambat dan uji tumbuh bersama didapatkan hasil bahwa bakteri *B. methylotrophicus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Konsentrasi *B. methylotrophicus* dengan zona hambat paling besar yakni sebesar 10^9 CFU/mL dengan rerata zona hambat 24,49 $\pm$ 4,2 mm.



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian uji sensitivitas ekstrak kasar tanaman apu – apu terhadap bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro* disajikan pada Tabel 1 dan Lampiran 1.

Tabel 1. Alat – Alat Penelitian

No.	Alat	Kegunaan
1.	Autoklaf	Sebagai alat untuk mensterilkan peralatan yang akan digunakan.
2.	Blender	Sebagai alat untuk menghaluskan tanaman apu - apu.
3.	Blue tip	Sebagai wadah untuk mengambil larutan skala 100 – 1000 µl.
4.	Yellow tip	Sebagai wadah untuk mengambil larutan skala 10 – 100 µl.
5.	White tip	Sebagai wadah untuk mengambil larutan skala 1 – 10 µl.
6.	Bunsen	Untuk mencegah terjadinya kontaminasi pada saat perlakuan.
7.	Cawan petri	Sebagai tempat uji cakram.
8.	Erlenmeyer 100 ml dan 250 ml	Sebagai wadah pembuatan media.
9.	Gelas Ukur 100 ml	Sebagai alat untuk mengukur larutan.
10.	Hot plate	Sebagai alat pemanas media.
11.	Inkubator	Sebagai alat inkubasi sampel.
12.	Jarum ose	Sebagai alat untuk peremajaan bakteri.
13.	Jerigen 5 liter	Sebagai tempat penyimpanan aquades.
14.	Kulkas	Sebagai tempat penyimpanan bahan pada suhu dingin.
15.	Laminar Air Flow (LAF)	Sebagai tempat dilakukannya perlakuan.
16.	Mikropipet 100-1000 µl	Sebagai alat untuk mengambil bahan yang berbentuk cairan.
17.	Mikropipet 10 – 100 µl	Sebagai alat untuk mengambil bahan yang berbentuk cairan.
18.	Mikropipet 1 – 10 µl	Sebagai alat untuk mengambil bahan yang berbentuk cairan.
19.	Nampan	Sebagai tempat meletakkan alat sebelum digunakan.
20.	Objek glass	Sebagai alat untuk meletakkan isolat bakteri.
21.	Mikroskop	Sebagai alat untuk identifikasi bakteri.
22.	Pipet volume	Sebagai alat mengambil larutan.
23.	Spatula	Sebagai alat untuk mengambil bahan.

No.	Alat	Kegunaan
24.	Rotary Evaporator	Sebagai alat untuk memisahkan ekstrak dengan metanol.
25.	Sprayer	Sebagai tempat menyimpan alkohol.
26.	Tabung reaksi	Sebagai tempat untuk peremajaan bakteri.
27.	Rak tabung reaksi	Sebagai tempat tabung reaksi.
28.	Timbangan analitik	Sebagai alat untuk menimbang bahan dengan ketelitian 10^{-3} .
29.	Oven	Sebagai alat mengeringkan cawan petri.
30.	Toples	Sebagai tempat yang digunakan untuk maserasi.
31.	Triangle	Sebagai alat untuk meratakan bakteri saat penanaman pada cawan.
32.	Vortex mixer	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan.
33.	Jangka sorong	Sebagai alat untuk mengukur zona bening.
34.	Pinset	Sebagai alat untuk membantu mengambil kertas cakram pada perlakuan.
35.	Botol film	Sebagai tempat menyimpan sampel ekstrak.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian uji sensitivitas ekstrak kasar tanaman apu – apu terhadap bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro* disajikan pada

Tabel 2 dan Lampiran 2.

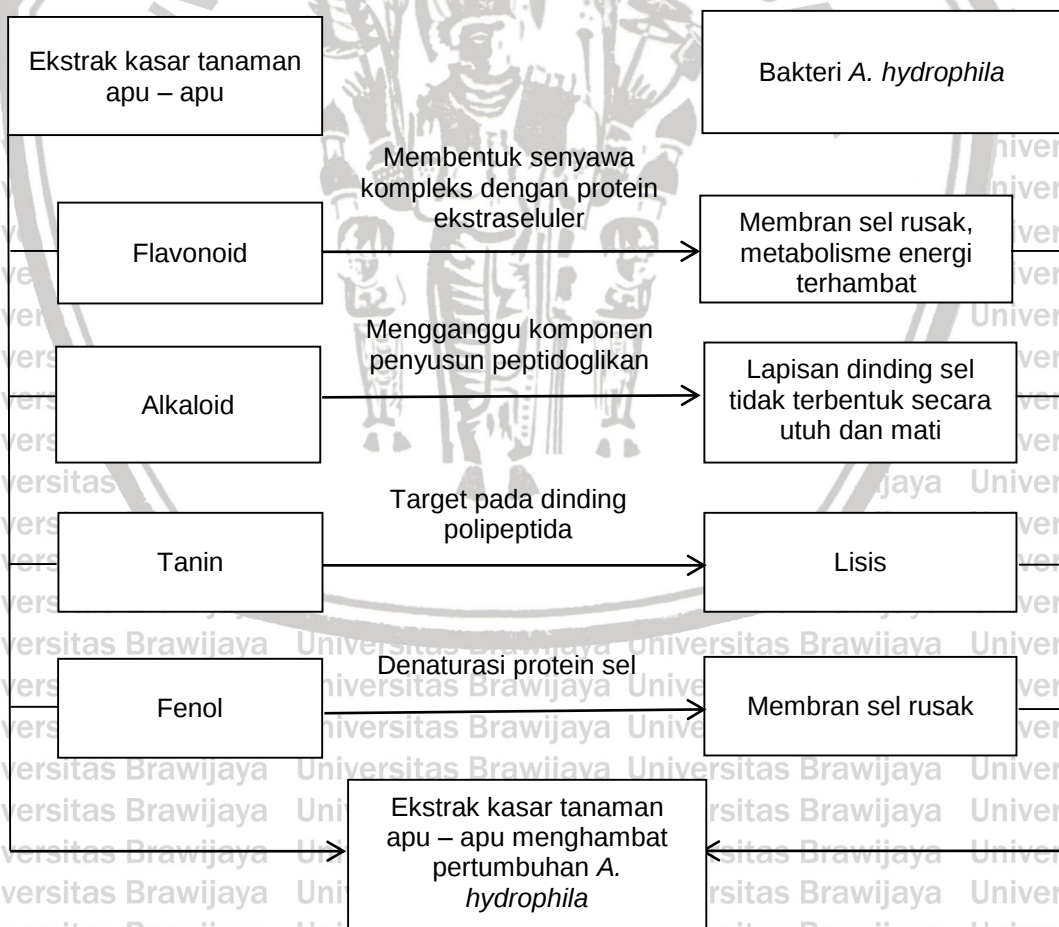
Tabel 2. Bahan – Bahan Penelitian

No.	Bahan	Kegunaan
1.	Alkohol 70%	Sebagai bahan sterilisasi.
2.	Alumunium foil	Sebagai penutup seluruh bagian toples pada saat proses maserasi.
3.	Akuades	Sebagai bahan pelarut.
4.	Bakteri <i>A. Hydrophila</i>	Sebagai bakteri yang akan digunakan pada perlakuan.
5.	Tanaman Apu – Apu	Sebagai bahan yang digunakan untuk ekstraksi.
6.	DMSO 10%	Sebagai pelarut ekstrak.
7.	Metanol	Sebagai bahan pelarut.
8.	Kapas	Sebagai penutup alat yang akan disterilisasi.
9.	Kertas cakram	Sebagai bahan untuk mengetahui zona bening dari ekstrak yang digunakan.
10.	Kertas berkas/Koran	Sebagai bahan pembungkus peralatan yang akan disterilisasi.
11.	Sarung tangan	Sebagai pelindung tangan.

No.	Bahan	Kegunaan
12.	Kertas saring Whatman N41	Sebagai penyaring bahan setelah maserasi.
13.	NaCl	Sebagai bahan untuk NaFis.
14.	Masker	Sebagai penutup bagian mulut dan hidung agar tidak terjadi kontaminasi pada saat perlakuan.
15.	Plastik Wrap	Sebagai pembungkus botol sampel dan cawan petri.
16.	Spirtus	Sebagai bahan bakar bunsen.
17.	<i>Tryptone Soya Agar (TSA)</i>	Sebagai media agar bakteri.
18.	<i>Tryptone Soya Broth (TSB)</i>	Sebagai media pembiakan <i>A. hydrophila</i> .

3.2 Kerangka Konsep Penelitian

Tanaman apu – apu memiliki senyawa aktif Meliputi flavonoid, alkaloid, tanin, dan fenol. Kerangka konsep untuk mengetahui mekanisme kerja kandungan tersebut disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kerangka Konsep Penelitian

Mekanisme kerja flavonoid yaitu dengan menghambat fungsi membran sel dan metabolisme energi bakteri. Saat menghambat fungsi membran sel, flavonoid membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang dapat merusak membran sel, lalu diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler bakteri yang diserang. Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri (Sapara, Waworuntu, dan Juliatri, 2016).

Arifin, Marthapratama, Sanoesi, dan Prajitno (2017) menyatakan Senyawa fenol bekerja terutama dengan cara mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel. Mekanisme kerja tanin menurut Sari dan Sari (2012) yaitu tanin mempunyai target pada polipeptida dinding sel yang akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel. Tanin mampu menginaktivasi adhesin sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel.

Alkaloid bekerja dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan terjadinya kematian sel (Amalia, Sari, dan Nursanty, 2017).

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan metode eksperimen. Menurut Setyanto (2015) eksperimen adalah sebagai suatu penelitian ilmiah dimana peneliti memanipulasi dan mengontrol satu atau lebih variabel bebas dan melakukan pengamatan terhadap variabel – variabel terikat untuk menemukan variasi yang muncul bersamaan dengan manipulasi terhadap variabel bebas tersebut. Suatu penelitian yang berusaha melihat hubungan sebab akibat dari satu atau lebih variabel independen dengan satu atau lebih variabel kontrol.

Metode eksperimen merupakan metode untuk menguji hipotesis, yakni menguji keterkaitan variabel bebas (*independent variable*) dan variabel terikat (*dependent variable*). Variabel bebas adalah variabel rekayasa sementara variabel terikat adalah konstan. Hasil rekayasa variabel bebas terhadap variabel terikat dapat diukur/diuji. Manipulasi kondisi merupakan karakteristik yang membedakan penelitian eksperimen dengan metode lainnya. Variabel bebas dapat diartikan sebagai variabel eksperimen yang karakteristiknya diyakini dapat menghasilkan perbedaan. Sementara variabel terikat sebagai variabel standar yang merupakan hasil dari penelitian (Prijana dan Rohman, 2016).

3.4 Pengambilan Data

Penelitian ini mengambil data yang digunakan dengan metode observasi atau dengan mengamati objek secara langsung kemudian mencatat hasil pengamatan. Dewi, Emidar, dan Rasyid (2018) menyatakan observasi adalah pengamatan terhadap keadaan, objek, atau peristiwa yang akan diteliti. salah satu tujuan dilakukannya observasi adalah untuk menentukan apakah suatu kegiatan itu layak dilakukan atau tidak. Hasil pengamatan ditulis dengan lengkap mengenai detail-detail objek pengamatan itu. Observasi memiliki ciri – ciri sebagai berikut.

Pertama, menyajikan fakta – fakta tentang keadaan peristiwa, tempat, benda, dan orang. Kedua, menambah pengetahuan dan wawasan. Berdasarkan hal tersebut observasi adalah sejumlah fakta baik mengenai keadaan, benda, tempat, dan orang.

Tujuan dari observasi berupa deskripsi, melahirkan teori dan hipotesis (pada penelitian kualitatif), atau menguji teori dan hipotesis (pada penelitian kuantitatif). Fungsi observasi secara lebih rinci terdiri dari deskripsi, mengisi, dan memberikan data yang dapat digeneralisasikan. Deskripsi, berarti observasi digunakan untuk menjelaskan, memberikan, dan merinci gejala yang terjadi,

Mengisi data, memiliki maksud bahwa observasi yang dilakukan berfungsi melengkapi informasi ilmiah atas gejala sosial yang diteliti melalui teknik – teknik penelitian. Memberikan data yang dapat digeneralisasikan, maksudnya adalah setiap kegiatan penelitian, sehingga mengakibatkan respon atau reaksi dari subjek amatan. Dari gejala – gejala yang ada, peneliti dapat mengambil kesimpulan umum dari gejala – gejala tersebut (Hasanah, 2016).

3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap. Rancangan Acak Lengkap (RAL) merupakan rancangan yang paling sederhana diantara rancangan-rancangan percobaan yang lain. Dalam rancangan ini perlakuan dikenakan sepenuhnya secara acak terhadap satuan – satuan percobaan atau sebaliknya. Pola ini dikenal sebagai pengacakan lengkap atau pengacakan tanpa pembatasan. Penerapan percobaan satu faktor dalam RAL biasanya digunakan jika kondisi satuan – satuan percobaan relatif homogen. Dengan keterbatasan satuan – satuan percobaan yang bersifat homogen ini, rancangan percobaan ini digunakan untuk jumlah perlakuan dan jumlah satuan percobaan yang relatif tidak banyak. Bahan/media/objek penelitian serta lingkungan lainnya yang terlibat di dalam penelitian dalam keadaan homogen (Muhammad, Rusgiyono, dan Mukid, 2014).

Persuleddy, Lembang, dan Djidin (2016) menyatakan bahwa RAL adalah jenis rancangan percobaan yang paling sederhana dan paling mudah jika dibandingkan dengan jenis rancangan percobaan yang lain. RAL hanya bisa digunakan pada percobaan dengan jumlah perlakuan yang terbatas dan satuan percobaan harus homogen atau faktor luar yang dapat mempengaruhi percobaan harus dapat di kontrol. RAL atau *Completely Randomized Design* merupakan salah satu model rancangan dalam rancangan percobaan. RAL digunakan bila unit

percobaan homogen. Rancangan ini disebut rancangan acak lengkap, karena pengacakan perlakuan dilakukan pada seluruh unit percobaan. RAL digunakan bila faktor yang akan diteliti satu faktor atau lebih dari satu faktor. Pada percobaan dengan menggunakan rancangan faktorial (lebih dari satu faktor) rancangan acak lengkap menjadi rancangan lingkungan. Model linier yang tepat untuk RAL adalah:

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

dengan:

$i = 1, 2, \dots, t$ dan $j = 1, 2, \dots, r$

Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke- i dan ulangan ke- j

μ = rata – rata umum

τ_i = pengaruh perlakuan ke- i

ϵ_{ij} = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke- i dan ulangan ke- j

Penelitian ini menggunakan variabel bebas berupa pemberian ekstrak tanaman apu – apu dengan perbedaan dosis yang diberikan. Dasar penelitian ini adalah penelitian pendahuluan untuk mengetahui pengaruh dosis yang diberikan terhadap daya hambat yang tepat dalam penggunaan tanaman apu – apu.

Perlakuan dalam penelitian ini adalah sebanyak 5 perlakuan dan 2 kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif dengan 3 kali ulangan. Sehingga tiap perlakuan dapat dilihat pada tabel perlakuan beserta ulangan yang disajikan dalam Tabel 3.

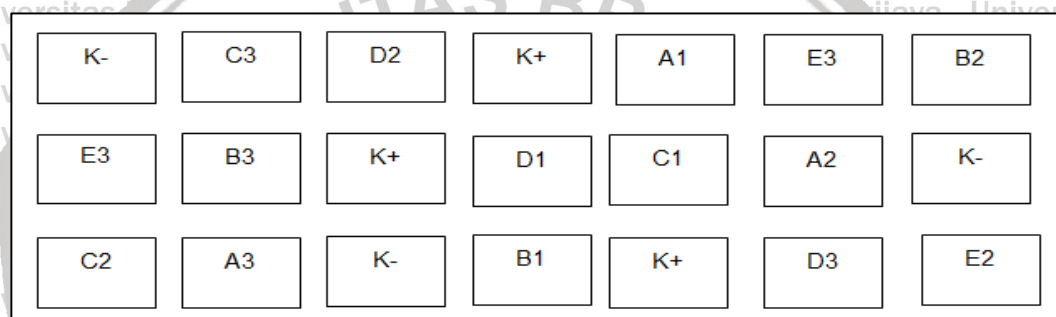
Tabel 3. Perlakuan dalam Penelitian

Keterangan:

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
K(-)	K-	K-	K-
K(+)	K+	K+	K+

- A : Perlakuan dosis ekstrak kasar tanaman apu – apu 10 ppm
 B : Perlakuan dosis ekstrak kasar tanaman apu – apu 60 ppm
 C : Perlakuan dosis ekstrak kasar tanaman apu – apu 110 ppm
 D : Perlakuan dosis ekstrak kasar tanaman apu – apu 160 ppm
 E : Perlakuan dosis ekstrak kasar tanaman apu – apu 210 ppm
 K (-) : Kontrol negatif perlakuan tanpa ekstrak kasar tanaman apu –
 apu/antibiotik
 K (+) : Kontrol positif perlakuan dengan antibiotik enrofloksasin 5 ppm.

Denah penelitian disajikan pada Gambar 5 berikut ini



Gambar 5. Denah Rancangan Percobaan

Keterangan:

K : Kontrol positif (+) dan kontrol negatif (-)

A-E : Perlakuan

1-3 : Ulangan

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi adalah kegiatan memusnahkan mikroorganisme untuk menjamin bahwa alat dan bahan yang digunakan terbebas dari kontaminasi mikroba. Proses sterilisasi alat dan bahan sesuai dengan Setyowati, Hanifah, dan Nugrahen (2013) yaitu menggunakan otoklaf yang mencerminkan metode panas basah dimana uap air akan menembus alat dan media yang disterilkan. Suhu otoklaf adalah 121 °C

dengan waktu 15 menit. Uap air ini akan mengkoagulasi protein penyusun dinding sel mikroba seperti bakteri sehingga bakteri dalam alat dan media yang disterilkan tersebut akan mati.

b. Persiapan Sampel

1. Tanaman Apu – apu

Tanaman apu – apu didapatkan dari persawahan warga Jalan Harmonika, Desa Tunggulwulung, Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang, Jawa Timur.

Tanaman apu-apu didapatkan sebanyak 6 kg. Tanaman apu – apu yang didapatkan dikeringkan selama 7 hari dibawah sinar matahari. Tanaman yang sudah dikeringkan kemudian dihaluskan hingga menjadi bubuk sebanyak 450 gram.

2. Bakteri *A. hydrophila*

Isolat bakteri *A. hydrophila* didapatkan dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Jawa Tengah. Isolat bakteri yang didapatkan ditanam pada media agar miring TSA dalam tabung reaksi.

c. Ekstraksi Tanaman Apu – Apu

Ekstraksi tanaman apu – apu dilakukan sesuai dengan Zega, Baehaki, dan Herpandi (2017) yang sedikit dimodifikasi. Tanaman apu – apu yang telah dilakukan preparasi dilanjutkan dengan proses ekstraksi menggunakan jenis pelarut polar (metanol). Adapun cara ekstraksi yaitu serbuk apu – apu ditimbang sebanyak 450 gram dimasukkan ke dalam toples kemudian direndam dengan metanol 2.700 ml dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:6 (w/v) selama 48 jam, kemudian disaring dengan kertas Whatman N41 menghasilkan filtrat dan ampas. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan *vaccum rotary evaporator*. Pembuatan ekstrak kasar tanaman apu – apu disajikan pada Lampiran

3. Hasil ekstrak dari tanaman apu – apu yang didapatkan berupa pasta berstruktur pekat dan berwarna hijau kehitaman sebanyak 6,8 gram.

$$\text{Berat Kering} = \frac{450 \text{ gram}}{6000 \text{ gram}} \times 100\% = 7,5 \%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{6,8 \text{ gram}}{450 \text{ gram}} \times 100\% = 1,5 \%$$

d. Pembuatan Media

1. Media Cair

Proses pembuatan media cair menurut Purwanti dan Susanti (2016) dengan sedikit modifikasi yaitu bubuk TSB dimasukkan ke dalam erlenmeyer 0,3 gram lalu dilarutkan dengan menambahkan 10 ml akuades. Setelah itu medium disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

2. Media Padat TSA

• Pembuatan Agar Miring

Proses pembuatan media agar miring dilakukan menurut Purwanti dan Susanti (2016) dengan sedikit modifikasi. Bubuk TSA dimasukkan ke dalam erlenmeyer sebanyak 0,4 gram lalu dilarutkan dengan menambahkan 10 ml akuades. Kemudian dipanaskan hingga mendidih di atas *hot plate*. Setelah itu medium disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit

• Media TSA Uji Cakram

Pembuatan media TSA untuk uji cakram dilakukan menurut Kusuma, Longdong dan Tumbol (2014) dengan sedikit modifikasi. Media TSA sebanyak 16,8 gram dicampurkan dengan akuades 420 ml, dilakukan pemanasan dengan *hot plate* yang bertujuan untuk mencampur zat sampai menjadi homogen, kemudian masukan dalam autoklaf selama 15 – 20 menit, hal ini dimaksudkan untuk mencegah terjadinya kontaminasi yang masuk. Setelah diperoleh media yang telah dipanaskan tersebut dibagi kedalam beberapa cawan petri yang telah tersedia.

e. Peremajaan Bakteri *A. hydrophila*

Isolat bakteri *A. hydrophila* didapatkan dari Balai Besar Budidaya Air Payau (BBBAP) Jepara. Peremajaan bakteri *A. hydrophila* dilakukan seperti Anwari dan Sodik (2019) yaitu bakteri diremajakan pada media TSA dengan cara menggosokkan jarum ose yang mengandung bakteri. Penggosokan dilakukan secara aseptik yaitu membakar jarum ose dengan api bunsen sampai berpijar sebelum dan sesudah penggosokan. Setelah itu media yang berisi bakteri tersebut diinkubasi selama 24 – 48 jam. Peremajaan bakteri *A. hydrophila* disajikan pada Lampiran 3.

f. Kultur Bakteri *A. hydrophila*

Kultur bakteri *A. hydrophila* dilakukan dengan cara Maftuch, Suprastyani, dan Setyawan (2018) prosedur dalam kultur bakteri yaitu biakan bakteri yang sudah diremajakan pada media agar miring diambil dengan menggunakan jarum ose sebanyak 1 gores dalam keadaan steril. Kemudian ose yang berisi bakteri dicelupkan pada media yang sudah di persiapkan. Media disimpan pada inkubator dengan suhu 32 °C selama 24 jam.

3.6.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Identifikasi Bakteri *A. hydrophila*

Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan uji biokimia dan pewarnaan gram. Uji biokimia didapatkan dari Balai Besar Budidaya Air Payau (BBBAP) Jepara. Pewarnaan gram dilakukan sesuai Fitri dan Yasmin (2011) yaitu diambil akuades ditetaskan pada kaca objek ditambahkan 1 ose biakan sampel, lalu difiksasi di atas api. Tetesi pewarnaan kristal violet dan biarkan selama 1 menit, cuci dengan air mengalir, kemudian tetesi lugol biarkan selama satu menit dan kembali dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya tetesi alkohol 96% biarkan selama 10-20 detik, cuci dengan air mengalir dan tambahkan safranin biarkan selama 20-30 detik kemudian cuci lagi dengan air mengalir. Tahap selanjutnya

keringkan dengan menggunakan kertas serap dan tambahkan minyak emersi dan amati di bawah mikroskop. Bila hasil pewarnaan diperoleh bakteri berwarna merah maka bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif, sedangkan bila diperoleh bakteri berwarna ungu maka bakteri tersebut adalah gram positif.

b. Uji Cakram

Uji cakram yang dilakukan pada penelitian ini berdasarkan Wiyanto (2010) dengan sedikit modifikasi, yang pertama dilakukan adalah menyiapkan konsentrasi dosis ekstrak untuk uji cakram dilanjutkan dengan perendaman kertas cakram. Kemudian diberi 0,1 ml tetes bakteri dari media cair secara merata pada seluruh permukaan media agar dalam cawan petri dengan menggunakan *triangle*. Setelah 15 – 30 menit kertas cakram yang telah mengandung ekstrak apu – apu dengan dosis 10 ppm, 60 ppm, 110 ppm, 160 ppm, dan 210 ppm diletakkan pada media dan ditekan sehingga ekstrak meresap pada media agar dengan baik. Pembacaan hasil dilakukan setelah inkubasi dengan cara mengukur diameter daerah hambatan disekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong. Inkubasi dilakukan 24 – 48 jam untuk mengetahui sifat dari ekstrak, jika daerah hambatan tetap bening selama 48 jam maka zat tersebut bersifat bakteriosidal dan jika ditumbuhi bakteri maka bersifat bakteriostatik.

3.7. Parameter Uji

Parameter uji terdiri dari parameter utama dan penunjang. Parameter utama yaitu diameter daerah hambatan yang diukur dengan menggunakan jangka sorong dengan satuan mm. Parameter penunjangnya adalah suhu inkubasi yaitu pada 32 °C.

3.8. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini dilakukan analisis secara statistik dengan menggunakan analisis uji keragaman atau uji f (ANOVA) dengan metode yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada tingkat

kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dan 99% ($\alpha = 0,01$). Hal ini digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter ukur (uji f atau sidik ragam). Jika data sidik ragam memperlihatkan pengaruh berbeda nyata maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Selanjutnya untuk mengetahui hubungan atau regresi antara perlakuan dilakukan uji *polynomial orthogonal*.



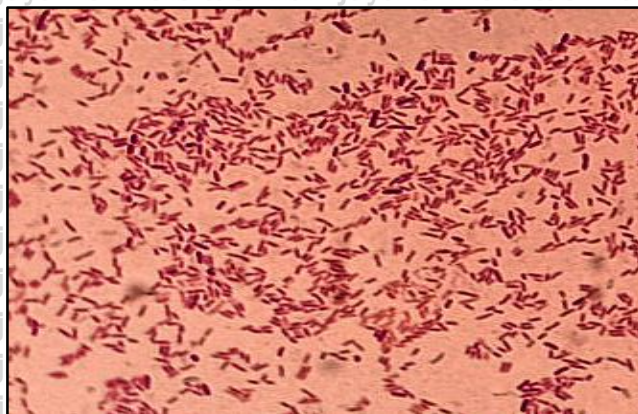
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi Bakteri *A. hydrophila*

Identifikasi bakteri dilakukan untuk mengetahui bahwa bakteri yang digunakan adalah *A. hydrophila*. Metode yang digunakan untuk identifikasi bakteri pada penelitian ini dengan melakukan uji biokimia dan pewarnaan gram dengan perbesaran mikroskop 1000x.

Didapatkan hasil uji biokimia bakteri *A. hydrophila* yang diuji di Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara yang disajikan pada Lampiran 4. Menurut Mulia (2010) berdasarkan morfologi dan sifat biokimia bakteri *A. hydrophila* memiliki karakterisasi gram negatif, uji motilitas, oksidase, katalase, fermentatif, produksi indol, methyil red dan hidrolisis gelatin, reaksi terhadap manosa, mannitol, glukosa, dan dextrosa positif. Uji ornithine decarboxylase dan reaksi terhadap laktosa dan inositol negatif, sensitif terhadap novobiocin, resisten terhadap 2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine (O/129), mempunyai kemampuan memproduksi gas dan H₂S (pada medium TSIA).

Putri, Budiharjo, dan Kusdiyantini (2014) menyatakan bahwa langkah yang dilakukan setelah tahapan isolasi adalah pengamatan sifat morfologi bakteri untuk mengetahui karakteristik morfologi koloni dan selnya. Ciri morfologi koloni bakteri yang diamati pada isolat bakteri meliputi warna, bentuk, tepi, dan elevasi. Sifat morfologi sel bakteri dapat dilakukan dengan pengecatan gram. Tujuan pengecatan gram adalah untuk mengetahui sifat bakteri berdasarkan caranya mengikat zat warna. Warna bakteri terlihat merah, artinya bakteri bersifat gram negatif karena sel bakteri tidak menyerap cat utama (gram's iodine) dengan kuat sehingga terbilas dengan alkohol dan terwarnai dengan cat pelawan, dan jika warna bakteri ungu atau biru artinya bakteri bersifat gram positif. Morfologi *A. hydrophila* disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Pewarnaan Gram Bakteri *A. hydrophila* dengan Perbesaran 1000x (Dokumentasi Pribadi, 2020).

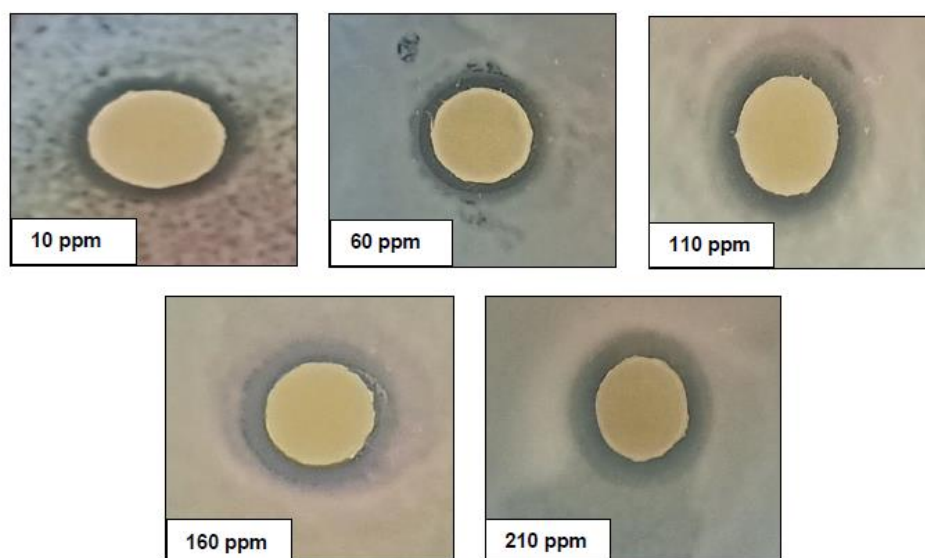
Berdasarkan gambar 6 dapat diketahui bahwa bakteri *A. hydrophila* termasuk gram negatif, berkoloni, berbentuk batang pendek, cembung, dan tepiannya halus.

Bakteri *A. hydrophila* bersifat motil karena mempunyai satu flagel yang keluar dari salah satu kutubnya. Menurut Rejeki, Triyanto, dan Murwanto (2016) terdapat perbedaan karakter antara spesies *A. hydrophila* dan *A. salmonicida* yaitu pada uji *motility*, Voges proskaeur, produksi indol, produksi H_2S , uji gula – gula *sucrose* dan *glycerol*. Bakteri *A. hydrophila* memiliki sifat motil, voges proskaeur positif, produksi indol positif, memproduksi H_2S , *sucrose* positif dan *glycerol* positif, sedangkan *A. salmonicida* memiliki sifat non motil, vogesproskaeur negatif, produksi indol negatif, produksi H_2S negatif, *sucrose* dan *glycerol* negatif.

Hasil pewarnaan akan menunjukkan perbedaan dasar dan kompleks pada sel bakteri (struktur dinding sel), sehingga dapat membagi bakteri 2 kelompok yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Pada pewarnaan gram, golongan bakteri gram positif akan memberikan warna ungu karena memiliki lapisan peptidoglikan setebal 20 – 80 nm sedangkan bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis yaitu 5 – 10 nm dengan komposisi utama: lipoprotein, membran luar dan polisakarida (Holderman, Queljoe, dan Rondonuwu, 2017).

4.2 Uji Daya Hambat

Pemanfaatan ekstrak kasar tanaman apu – apu dengan dosis yang sudah ditentukan, perhitungan dosis disajikan pada Lampiran 6. Pemberian ekstrak tanaman apu – apu terhadap sensitivitas bakteri *A. hydrophila* memperlihatkan zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekeliling kertas cakram seperti pada Gambar 7 dan Lampiran 7. Zona bening diukur menggunakan jangka sorong yang kemudian data diolah sehingga didapatkan hasil mengenai data hasil uji daya hambat, perhitungan sidik ragam serta uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Perhitungan tersebut disajikan pada Lampiran 8.



Gambar 7. Diameter Daya Hambat (Zona Bening)(Dokumentasi Pribadi, 2020).

Tabel 4. Data Hasil Pengukuran Rerata Zona Hambat (mm)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata $\pm$ STDEV
	1	2	3		
A	9,39	9,13	8,8	27,32	9,11 $\pm$ 0,30 mm
B	9,49	9,33	9,89	28,71	9,57 $\pm$ 0,29 mm
C	9,7	9,57	9,96	29,23	9,74 $\pm$ 0,20 mm
D	10,35	9,91	9,8	30,06	10,02 $\pm$ 0,29 mm
E	10,54	10,63	10,38	31,54	10,51 $\pm$ 0,13 mm
Total				146,86	

Tabel 5. Hasil Sidik Ragam Zona Hambat

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	3,30	0,82	13,254**	3,48	5,99
Acak	10	0,62	0,06			
Total	14					

Keterangan :

(**) Berbeda sangat nyata

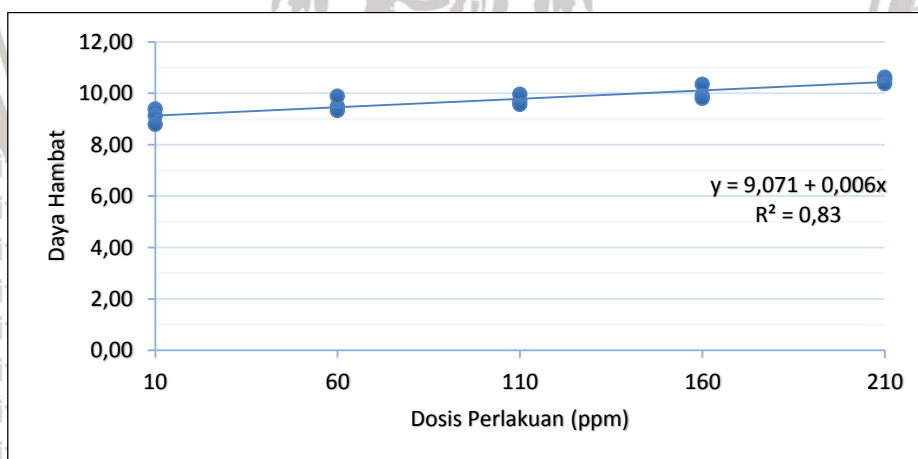
Tabel 6. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerat	A	B	C	D	E	Notasi
n	a	9,11	9,57	9,74	10,02	10,52	
A	9,11	—					a
B	9,57	0,46*	—				ab
C	9,74	0,64*	0,17 ^{ns}	—			ab
D	10,02	0,91*	0,45*	0,28 ^{ns}	—		bc
E	10,52	1,41*	0,95*	0,77*	0,50*	—	c

Keterangan:

(*) Berbeda Nyata

(^{ns}) Tidak Berbeda Nyata



Gambar 8. Grafik Regresi *Polynomial Orthogonal* Zona Bening

Data diatas merupakan hasil zona hambat yang timbul setelah inkubasi dengan dosis 10 ppm, 60 ppm, 110 ppm, 160 ppm, dan 210 ppm. Zona hambat ditandai dengan timbulnya zona bening disekitar cakram selama penelitian.

Apabila kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak kasar tanaman apu –

apu diletakkan kedalam cawan petri yang telah ditanami bakteri *A. hydrophila* memiliki zona bening maka dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak kasar tanaman apu – apu memiliki sifat antibakterial terhadap bakteri *A. hydrophila*.

Hasil yang didapatkan pada penelitian zona bening perlakuan A (10 ppm) sebesar $9,11 \pm 0,30$ mm, B (60 ppm) sebesar $9,57 \pm 0,29$, C (110 ppm) sebesar $9,74 \pm 0,20$ mm, D (160 ppm) sebesar $10,02 \pm 0,29$ mm, E (210 ppm) sebesar $10,51 \pm 0,13$ mm. Pada perlakuan A (10 ppm), B(60 ppm), C(110 ppm) tergolong “Sedang” karena zona bening yang dihasilkan 5 – 10 mm sedangkan pada perlakuan D(160 ppm) dan E(210 ppm) tergolong “kuat” yaitu 10 – 20 mm.

Perhitungan pada Tabel 4 menunjukan rerata zona hambat ekstrak kasar tanaman apu-apu terhadap sensitivitas bakteri *A. hydrophila* tertinggi ada pada perlakuan E dosis 210 ppm dengan rerata zona hambat sebesar $10,51 \pm 0,13$ mm, sedangkan hasil terendah terdapat pada perlakuan A dosis 10 ppm dengan rerata zona hambat $9,11 \pm 0,30$ mm. Banyak faktor yang mempengaruhi terbentuknya zona bening sekitar cakram begitupula faktor – faktor yang mempengaruhi antibakteri tersebut tergolong lemah, sedang ataupun kuat. Hasil uji sensitivitas larutan biji mangga harumanis (*Mangifera indica*) oleh Telaumbanua, Lukistyowati, dan Syawal (2019) terhadap *A. hydrophila* menghasilkan diameter zona hambat yang berbeda – beda. Larutan biji mangga harumanis pada dosis 100% menghasilkan zona hambat sebesar 17,00 mm sedangkan rata-rata diameter zona hambat yang terkecil pada dosis 0,09 % sebesar 7,31 mm. Diameter zona hambat larutan biji mangga harumanis yang terbentuk menunjukkan bahwa zat antimikroba yang terkandung dalam larutan biji mangga harumanis tergolong kuat.

Hasil perhitungan sidik ragam menunjukan bahwa pemberian dosis ekstrak kasar tanaman apu – apu terhadap sensitivitas bakteri *A. hydrophila* memberikan pengaruh berbeda sangat nyata. Hal tersebut dikarenakan nilai F hitung (13,254) lebih besar dibandingkan nilai F Tabel 5% (3,48) dan nilai F Tabel 1% (5,99).

Kesimpulannya yaitu H0 ditolak sedangkan H1 diterima yang berarti perlakuan memberikan pengaruh sangat 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. Dapat dianalisa bahwa perlakuan E (210 ppm) merupakan dosis efektif dan terbaik untuk menghambat bakteri *A. hydrophila*.

Berdasarkan grafik terlihat bahwa penambahan dosis ekstrak tanaman apu – apu terhadap zona bening menunjukkan pola linear. Berdasarkan grafik terlihat bahwa penambahan dosis ekstrak kasar tanaman apu – apu terhadap zona bening menunjukkan pola linear dengan persamaan $y = 9,071 + 0,006x$ dan koefisien $R^2 = 0,83$. Artinya 83% pemberian ekstrak kasar tanaman apu – apu berpengaruh terhadap zona bening yang terbentuk. Pada dosis 10 ppm sampai 210 ppm grafik mengalami peningkatan besarnya zona bening. Peningkatan zona bening umumnya bertambah setiap bertambahnya dosis perlakuan yang diberikan 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. Berdasarkan penelitian Ikrom, Denok, Reni Bintang, Rafika, dan Wasito (2014) penggunaan ekstrak daun kamboja sebagai anti *A. hydrophila* mulai dari konsentrasi 40% menghasilkan rata – rata diameter zona hambat sebesar 0,915 cm, konsentrasi 80% dengan rata- rata 1,237 cm dan konsentrasi 100% dengan diameter rata – rata 1,307 cm. Dengan demikian, dapat disimpulkan, semakin besar konsentrasi ekstrak semakin besar zona hambat yang terbentuk.

Berdasarkan Hasil yang didapatkan pada penelitian zona bening perlakuan A (10 ppm), B(60 ppm), C(110 ppm) tergolong “sedang” karena zona bening yang dihasilkan 5 – 10 mm sedangkan pada perlakuan D(160 ppm) dan E(210 ppm)

tergolong “kuat” yaitu 10 – 20 mm. Rahmawati, Sudjarwo, dan Widodo (2014)

menyatakan diameter zona bening 10 – 20 mm memiliki daya hambat kuat, diameter zona bening 5 – 10 mm mempunyai daya hambat sedang dan diameter zona bening <5 mm memiliki daya hambat lemah.

Dari hasil penelitian pada tabel data menunjukkan bahwa pada perlakuan A sampai dengan perlakuan E yang optimal digunakan berdasarkan kekuatan daya hambatnya adalah pada perlakuan E dengan dosis 210 ppm. Pengamatan zona hambat pada dosis 10 ppm, 60 ppm, 110 ppm, 160 ppm, dan 210 ppm mengalami penurunan zona bening dari 24 jam inkubasi ke pengamatan 48 jam inkubasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa kemampuan ekstrak kasar tanaman apu – apu pada setiap dosis bersifat menghambat atau bakteriostatik terhadap bakteri *A. hydrophila*.

Ariyani, Nazemi, Hamidah, dan Kurniati (2018) menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula zat aktif yang terdapat di dalamnya, sehingga menyebabkan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri juga semakin besar. Saraswati (2011) menjelaskan faktor yang mempengaruhi zona hambatan adalah kepadatan inokulum, waktu dari penggunaan cakram, suhu inkubasi, waktu inkubasi, Ukuran Petri, dan kedalaman medium agar.

Hasil yang didapatkan pada penelitian zona bening terendah pada perlakuan A (10 ppm) sebesar $9,11 \pm 0,30$ mm dan tertinggi pada perlakuan E (210 ppm) sebesar $10,51 \pm 0,13$ mm. Candrasari, Romas, Hasbi, dan Astuti (2012) menyatakan bahwa rerata zona hambat yang terbentuk meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin luas zona hambat berarti menunjukkan semakin tinggi efektivitas untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan.

Pada perlakuan A (10 ppm), B(60 ppm), C(110 ppm) tergolong “sedang” karena zona bening yang dihasilkan 5 – 10 mm sedangkan pada perlakuan D(160

ppm) dan E(210 ppm) tergolong “kuat” yaitu 10 – 20 mm. Salni, Aminasih, dan Sriviona (2013) menyatakan bahwa besar kecilnya zona hambat yang terbentuk tergantung pada tinggi atau rendahnya zat aktif yang terkandung di dalam fraksi. Zona hambat yang besar mungkin disebabkan oleh tingginya zat aktif yang ada dalam fraksi. Terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram menunjukkan bahwa di dalam ekstrak/fraksi dari tumbuhan terdapat senyawa yang bersifat antimikroba. Aktivitas fraksi menurun seiring dengan penurunan konsentrasi, sehingga diameter zona hambat yang terbentuk semakin kecil.

Pengamatan zona hambat pada dosis 10 ppm, 60 ppm, 110 ppm, 160p pm, dan 210 ppm mengalami penurunan zona bening dari 24 jam inkubasi ke pengamatan 48 jam inkubasi. Hal tersebut berarti kemampuan ekstrak kasar tanaman apu – apu pada setiap dosis bersifat menghambat. Roihanah, Sukoso, dan Andayani (2013) menyatakan bahwa golongan bakteriostatik bekerja dengan jalan menghambat sintesis protein pada ribosom bakteri melalui proses difusi pasif melalui kanal hidrofilik dan sistem transportasi aktif. Setelah antibakteri masuk ke dalam ribosom, maka akan berikatan dengan ribosom dan menghalangi masuknya kompleks tRNA-asam amino pada lokasi asam amino, sehingga bakteri tidak dapat berkembang biak. Mustadifah, Saleh, dan Alimuddin (2015) menjelaskan penurunan zona bening diduga karena bakteri mengalami mekanisme resistensi non genetik yaitu bakteri dalam keadaan istirahat (inaktivasi metabolik) biasanya keadaan ini tidak dipengaruhi oleh antibakteri. Apabila bakteri berubah menjadi aktif kembali, maka bakteri kembali bersifat sensitif terhadap antibakteri seperti semula.

Antibakteri merupakan zat yang berfungsi membunuh atau menekan pertumbuhan dan reproduksi bakterinya. Berdasarkan cara kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi bakterisidal dan bakteriostatik. Antibakteri bakteriostatik adalah zat yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan antibakteri

bakterisidal adalah zat yang bekerja mematikan bakteri, aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa antibakteri, daya difusi ekstrak, kandungan senyawa antibakteri, daya difusi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat (Sinurat, Renta, Herliany, Negara, dan Purnama, 2019).

Penelitian tyagi dan parashar (2017) menggunakan ekstrak apu – apu dosis 160 ppm menunjukkan diameter zona bening pada bakteri *E. coli* 9.00 ± 0.817 mm, *S. aureus* 9.67 ± 0.47 mm, *P. aeruginosa* 8.67 ± 0.47 mm, dan *B. subtilis* 9.33 ± 0.47 mm. Berdasarkan hasil penelitian Dianasari dan Ifitah (2019) dapat diambil kesimpulan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak apu-apu terhadap *S. aureus* dari yang tinggi ke rendah secara berurutan adalah konsentrasi 40%, konsentrasi 30%, konsentrasi 20%, konsentrasi 10% dengan nilai diameter zona hambat berturut-turut sebesar $9,0 \pm 0,30$ mm; $8,1 \pm 0,20$ mm; $7,4 \pm 0,33$ mm; dan $6,5 \pm 0,17$ mm.

4.3 Mekanisme Antibakteri

Senyawa aktif yang terkandung di dalam tanaman apu – apu berperan penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Uji fitokimia yang telah dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica tanaman apu – apu dengan pelarut metanol didapatkan nilai positif yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, dan fenol yang disajikan pada Lampiran 5. Senyawa tersebut memiliki peran penting yang bersifat antibakteri. Mekanisme penghambatan antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri dapat berupa kerusakan dinding sel yang mengakibatkan lisis, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan melalui dinding sel, denaturasi protein sel dan perusakan sistem metabolisme dengan cara penghambatan kerja enzim intraseluler.

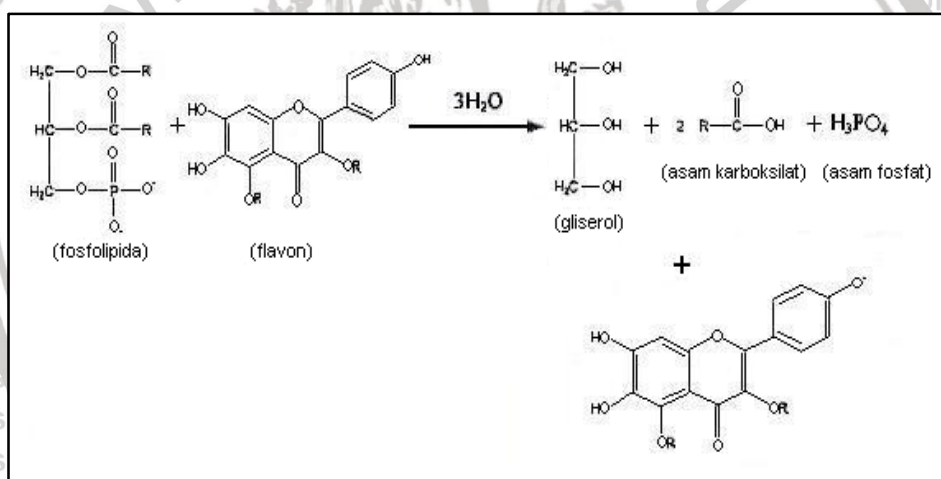
Efektivitas daya hambat ekstrak tanaman apu – apu terhadap *A. hydrophila* disebabkan oleh kandungan senyawa bioaktif pada ekstrak tanaman apu – apu

yang dapat merusak sistem sintesa protein, mengganggu penyusunan peptidoglikan, mentarget polipeptida yang menyebabkan lisis sehingga terjadi kerusakan dinding sel yang dapat mengganggu mekanisme sintesis dinding sel bakteri. Aziz (2019) menyatakan pertumbuhan bakteri yang terhambat atau kematian bakteri akibat adanya penghambatan terhadap sintesis protein oleh senyawa – senyawa bioaktif. Ketahanan bakteri gram negatif dan gram positif terhadap senyawa antibakteri berbeda-beda. Perbedaan kepekaan bakteri gram negatif dan gram positif berkaitan dengan struktur dalam dinding sel, seperti jumlah peptidoglikan (adanya reseptor, pori-pori, dan lipid), sifat ikatan silang dan aktivitas enzim autolitik. Komponen tersebut merupakan faktor yang menentukan penetrasi, pengikatan, dan aktivitas senyawa antimikroba.

Berdasarkan analisis fitokimia tanaman apu – apu yang dilakukan oleh Tyagi dan Parashar (2017) parameter tertinggi merupakan flavonoid pada daun 0.519 ± 0.020 mm dan akar 0.418 ± 0.040 mm. Menurut Nomer, Duniaji, dan Nocianitri (2019) mekanisme kerja flavonoid sebagai senyawa antibakteri yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Dalam menghambat sintesis asam nukleat, cincin A dan B senyawa flavonoid berperan penting yakni dengan menumpuk basa asam nukleat sehingga menghambat pembentukan DNA dan RNA. Dalam menghambat fungsi membran sel flavonoid akan membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler dan terlarut sehingga membran sel akan rusak dan senyawa intraseluler akan keluar. Sedangkan dalam menghambat metabolisme energi dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri, mencegah pembentukan energi pada membran sitoplasma dan menghambat motilitas bakteri yang berperan dalam aktivitas antimikroba dan protein ekstraseluler.

Flavonoid sebagai antibakteri menghambat pertumbuhan dan metabolisme bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma dan mendenaturasi protein sel.

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



Gambar 9. Reaksi Penguraian Fosfolipida pada Membran Sitoplasma Bakteri oleh Flavonoid (Prajitno, 2007).

4.4 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dari penelitian ini adalah suhu. Proses pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan yaitu suhu. Pada penelitian ini suhu inkubasi yang digunakan adalah $32^{\circ}C$. Setiap bakteri tumbuh pada suatu kisaran suhu tertentu. Hal ini sesuai dengan pendapat Arie (2012) bakteri *A. hydrophila* ini dapat hidup pada suhu kehidupan ikan, yakni antara $25 - 30^{\circ}C$ dan tahan hidup hingga suhu $4^{\circ}C$ dan $37^{\circ}C$. Bakteri ini hidup tanpa spora dan tanpa

kapsul serta bersifat metropolitan. Hanya dengan sekali kontak, ikan bisa terinfeksi. Olga (2012) menyatakan bakteri *A. hydrophila* dapat ditemukan dimana – mana, terutama di perairan yang mengandung bahan organik tinggi. Disamping itu, bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 4 – 45 °C, meskipun lambat dan tumbuh optimum pada suhu 37 °C. Menurut Haditomo, Widanarni, dan Angela (2014) kemampuan *A. hydrophila* untuk tumbuh pada rentang suhu dan kadar oksigen yang luas menyebabkan *A. hydrophila* ini menjadi salah satu bakteri yang paling sering ditemukan pada perairan dan menyebabkan sakit pada berbagai jenis ikan budidaya. Bakteri *A. hydrophila* mampu hidup pada lingkungan bersuhu 4 – 37 °C dan pertumbuhan mencapai tingkat tertinggi pada suhu 28 °C.

Berdasarkan data diatas dapat disimpulkan bahwa suhu inkubasi *A. hydrophila* selama penelitian berada dalam kisaran. Apabila suhu inkubasi di luar batas kisaran bakteri maka akan menghambat pertumbuhan bahkan menyebabkan kematian pada bakteri tersebut.

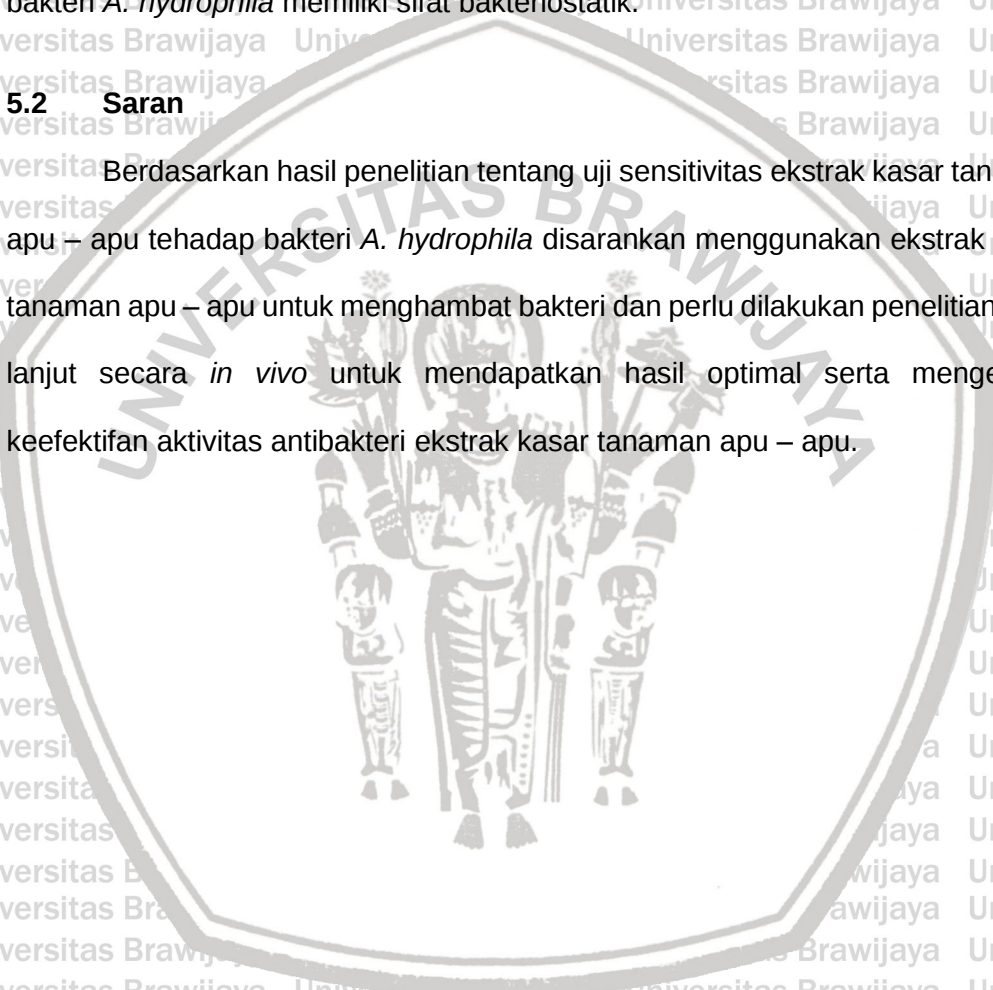
5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang uji sensitivitas ekstrak kasar tanaman apu – apu terhadap bakteri *A. hydrophila* didapatkan kesimpulan bahwa ekstrak kasar tanaman apu – apu memberikan pengaruh dalam menghambat aktivitas bakteri *A. hydrophila* memiliki sifat bakteriostatik.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian tentang uji sensitivitas ekstrak kasar tanaman apu – apu terhadap bakteri *A. hydrophila* disarankan menggunakan ekstrak kasar tanaman apu – apu untuk menghambat bakteri dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* untuk mendapatkan hasil optimal serta mengetahui keefektifan aktivitas antibakteri ekstrak kasar tanaman apu – apu.



DAFTAR PUSTAKA

Ali, K.M.A., P. Paul, I.M. Torequl, B.N. Nath dan S.S. Kumar. 2011. Cytotoxicity, antimicrobial and neuropharmacological evaluation of ethanolic extract of *Pistia stratiotes* L.. *International Research Journal Of Pharmacy*. **2**(2):82-92.

Amalia, A., I. Sari dan R. Nursanty. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Prosiding Seminar Nasional Biotik*. 387-391.

Anwari, M. dan V. Sodik. 2019. Uji aktivitas antibakteri dari fraksi daun kemangi (*Ocimum sanctum*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan formulasinya dalam sediaan krim. 1-7.

Ardy, F.M., Desrina dan A.H.C. Haditomo. 2019. Penambahan kandidat probiotik *Bacillus methylothrophicus* secara berkala pada media pemeliharaan untuk pencegahan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*. **3**(2): 50-59.

Arie U. 2012. Solusi Lele Sehat Dan Cepat Tumbuh. Penebar Swadaya. Jakarta. 83 hlm.

Arifin, N.B., I. Marthapratama, E. Sanoesi dan A. Prajitno. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* Linn) pada *Vibrio harveyi* dan *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*. **19**(1): 11-16.

Ariyani, H., M. Nazemi, Hamidah dan M. Kurniati. 2018. Uji efektivitas antibakteri ekstrak kulit limau kuit (*Cytrus hystrix* DC) terhadap beberapa bakteri. **2**(1): 136-141.

Arwin, M., F.G. Ijong dan R. Tumbol. 2016. Karakteristik *Aeromonas hydrophila* yang di isolasi dari ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Aquatic Science & Management*. **4**(2): 52-55.

Aziz. 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.

Candrasari, A., M.A. Romas, M. Hasbi dan O.R. Astuti. 2012. Uji daya antimikroba ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Eschericia coli* ATCC 11229 dan *Candida albicans* ATCC 10231 secara in vitro. *Biomedika*. **4**(1): 9-16.

Cao, L., W. Wang, Y.J. Yang, C. Yang, Z. Yuan, S. Xiong dan J. Diana. 2007. Environmental impact of aquaculture and countermeasures to aquaculture pollution in China. *Env Sci Pollut Res*. **14**(7): 452-462.

Dewi, R., Emidar dan Y. Rasyid. 2018. Pengaruh discovery learning model berbantuan media objek langsung terhadap keterampilan menulis teks laporan observasi. *Jurnal Pendidikan Bahasa dan Sastra Indonesia*. **1**(7): 169-174.

Dianasari, D dan M.B. Iftitah. 2019. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba apu-apu (*Pistia stratiotes*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmaceutical-care Anwar Medika*. **2**(2): 1-8.

_____, dan I. Firdiyansari. 2019. Potensi ekstrak etanol herba apu-apu (*Pistia stratiotes*) dan fraksi-fraksinya sebagai antioksidan dengan metode DPPH. *Jurnal Farmasi Indonesia*. **16** (2): 83-88.

Dieta, Y. A. dan N. Hendrasarie. 2019. Kemampuan adsorpsi Pb dari limbah industri oleh tumbuhan kayu ambang (*Lemna minor*), kayu apu (*Pistia stratiotes*), dan eceng gondok (*Eichhornia crassipes solm*). *Jurnal Teknik Lingkungan ENVIROTEK*. **11**(1): 39-45.

Elfani dan A. Pujiyanta. 2013. Sistem pakar mendiagnosa penyakit pada ikan konsumsi air tawar berbasis website. *Jurnal Sarjana Teknik Informatika*. **1**(1): 42-50.

Fifendy, M. dan M. Biomed. 2017. Mikrobiologi. Depok: Kencana. 226 hlm.

Fitri, L. dan Y. Yasmin. 2011. Isolasi dan pengamatan morfologi koloni bakteri kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi*. **3**(2): 20-25.

Haditomo, A. H. C., Widanarni dan A. M. Lusiastuti. 2014. Perkembangan *Aeromonas Hydrophila* pada berbagai media kultur. 357-364.

Haidara, A.M., I.M. Magami dan A. Sanda. 2018. Bioremediation of aquacultural effluents using hydrophytes. *Bioprocess Engineering*. **2**(4): 33-37.

Haryani, A., R. Grandiosa, I.B. Buwono dan A. Santika. 2012. Uji efektivitas daun pepaya (*Carica papaya*) untuk pengobatan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas koki (*Carrasius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **3**(3): 213-220.

Hasanah, H., 2016. Teknik-teknik observasi. *Jurnal at-Taqaddum*. **8**(1): 21-46.

Hasyimuddin., M.N. Djide dan M.F. Samawi. 2016. Isolasi bakteri pendegradasi minyak solar dari perairan teluk pare-pare. *Biogenesis*. **4**(1): 41-46.

Hidayat, R., P. Patana dan I. Lesmana. 2014. Deteksi penyebaran bakteri *Aeromonas hydrophilla* pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) di Kecamatan Medan Tuntungan. *Jurnal Aquacoastmarine*. **2**(1): 131-138.

Holderman, M.V., E. Queljoe dan S.B. Rondonuwu. 2017. Identifikasi bakteri pada pegangan eskalator di salah satu pusat perbelanjaan di Kota Manado. *Jurnal Ilmiah Sains*. **17**(1):1-6.

Hossain, J., A. Khan and M.A. Uddin. 2018. Antimicrobial efficacy and phytochemical analysis of three aquatic plant species in Bangladesh. *Bangladesh J Microbiol.* **35**(1): 07-11.

Ikrom., Denok A.T.R., Reni W.A., Bintang P.B., Rafika T.N. dan Wasito. 2014. Studi *in vitro* ekstrak etanol daun kamboja (*Plumeria alba*) sebagai anti *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Sain Veteriner.* **1**: 105-116.

Illing, I., W. Safitri dan Erfiana. 2017. Uji fitokimia ekstrak buah dengan. *Jurnal Dinamika.* **8**(1): 66-84.

Kawengian, S.A.F., J. Wuisan dan M.A. Leman. 2017. Uji daya hambat ekstrak daun serai (*Cymbopogon citratus* L) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal e-GiGi (eG).* **5**(1): 7-11.

Kusuma., S.N.J. Longdong dan R.A. Tumbol. 2014. Uji daya hambat dari ekstrak tanaman pacar air (*Impatiens balsamica* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Ilmiah Agrobisnis Perikanan.* 1-8.

Leba, M.A.U. 2017. Ekstraksi dan Real Kromatografi. Yogyakarta: Deepublish. 112 hlm.

Lukistyowati, I. dan Kurniasih. 2012. Pelacakan gen aerolysin dari *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas yang diberi pakan ekstrak bawang putih. *Jurnal Veteriner.* **13**(1): 43-50.

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): 39-40.

Mangunwardoyo, W., R. Ismayasari dan E. Riani. 2009. Aktivitas kitinase, lesitinase, dan hemolisin isolat dari bakteri ikan nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) yang dikultur dalam keramba jaring apung Waduk Jatiluhur, Purwakarta. *Jurnal Riset Akuakultur.* **4**(2): 257-265.

Manurung, U.N. dan D. Susantie. 2017. Identifikasi bakteri patogen pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di lokasi budidaya ikan air tawar Kabupaten Kepulauan Sangihe. *Budidaya Perairan.* **5**(3): 11-17.

Mardikaningtyas D.A., Ibrohim dan E. Suarsini. 2016. Efektifitas tanaman *Pistia stratiotes* dalam menyerap logam berat kadmium (Cd) yang terkandung dalam limbah cair pengolahan tepung agar ditinjau dari akumulasi logam di organ akar dan daun. *Prosiding Seminar Nasional II.* 65-76.

Muhammad, I., A. Rusgiyono dan M.A. Mukid. 2014. Penilaian cara mengajar menggunakan rancangan acak lengkap. *Jurnal Gaussian.* **3**(2): 183-192.

Muharni., Fitrya dan S. Farida. 2017. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol tanaman obat Suku Musi di Kabupaten Musi Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia.* **7**(2): 127-135.

Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7(2): 361-367.

Mukhtar,, M.D. dan A. Tukur. 2001. Antibacterial activities of aqueous and ethanolic extracts of *Pistia stratiotes* L. *Nigerian Society for Experimental Biology*. 1(1): 51-59.

Mulia D.S. 2010. Isolasi, karakterisasi, dan identifikasi bakteri *Aeromonas* sp. penyebab penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) pada gurami. *Sains Akuatik*. 13(2): 9-17.

Murwani, S., D. Qosimah dan I.A. Amri. 2017. Penyakit Bakterial pada Ternak Hewan Besar dan Unggas. Malang: UB Press. 306 hlm.

Muslikha., S. Pujiyanto, S.N. Jannah dan H. Novita. 2016. Isolasi, karakterisasi *Aeromonas hydrophila* dan deteksi gen penyebab penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) dengan 16S rRNA dan aerolysin pada ikan lele (*Clarias sp.*). *Jurnal Biologi*. 5(4): 1-7.

Nadeak, A. 2009. Kawasan basis sektor perikanan dan kelautan. *Jurnal Perencanaan & Pengembangan Wilayah*. 4(3): 102-110.

Nomer, N.M.G.R., A.S. Duniaji, dan K.A. Novianitri. 2019. Kandungan senyawa flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) serta aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 8(2): 216-225.

Novriadi, R., S. Agustatik, Hendrianto, R. Pramuanggit dan A.H. Wibowo. 2014. Penyakit Infeksi Pada Budidaya Ikan Laut di Indonesia. Jakarta: Kementerian Kelautan dan Perikanan. 37 hlm.

Nursanty, R. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol tanaman *Lawsonia inermis* L. dan *Capsicum frutescens* L. terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. *Bioleuser*. 1(3): 98-103.

Olga. 2012. Patogenisitas bakteri *Aeromonas hydrophila* ASB01 pada ikan gabus (*Ophicephalus striatus*). *Sains Akuatik*. 14(1): 33-39.

Persulessy, E.R., F.K. Lembang dan H. Djidin. 2016. Penilaian cara mengajar menggunakan rancangan acak lengkap (studi kasus: jurusan matematika FMIPA UNPATTI). *Jurnal Ilmu Matematika dan Terapan*. 10(1): 9-16.

Prajitno, A. 2007. Uji sensitifitas flavonoid rumput laut (*Eucheuma cottoni*) sebagai bioaktif alami terhadap bakteri *Vibrio harveyi*. *Jurnal Protein*. 15(2): 66-71.

Prijana dan A.S. Rohman. 2016. Studi eksperimen mengenai metode baca good reading. *Lentera Pustaka*. 2(2): 71-81.

Purwanti, N.U. dan R. Susanti. 2016. Uji aktivitas antibakteri dan antifungal ekstrak etanol rimpang *Acorus* sp.. *Jurnal Kesehatan Khatulistiwa*. 2(1): 257-268.

Putri, D.M., A. Budiharjo dan E. Kusdiyantini. 2014. Isolasi, karakterisasi bakteri asam laktat, dan analisis proksimat dari pangan fermentasi rusip ikan teri (*Stolephorus sp.*). *Jurnal Biologi*. **3**(2): 11-19.

Raharjo, S.J. dan R.W. Ningsih. 2015. Cytotoxic activities of ethyl acetate fractions from petroleum ether extract and methanol extract of pistiae leaves. *Traditional Medicine Journal*. **20**(3): 134-139.

Rahmaningsih, S. 2012. Pengaruh ekstrak sidawayah dengan konsentrasi yang berbeda untuk mengatasi infeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Aquasains*. **1**(1): 1-8.

Rahmawati, E. Sudjarwo dan E. Widodo. 2014. Uji aktivitas antibakteri ekstrak herbal terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. **24**(3): 24-31.

Rejeki, S., Triyanto dan Murwantoko. 2016. Isolasi dan identifikasi *Aeromonas* spp. dari lele dumbo (*Clarias sp.*) sakit di Kabupaten Ngawi. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*. **18**(2): 55-60.

Rijal, M. 2014. Studi morfologi kayu apu (*Pistia stratiotes*) dan kayu (*Salvinia molesta*). *Jurnal Biology Science & Education*. **3**(2): 94-105.

Roihanah S., Sukoso, S. Andayani. 2013. Aktivitas antibakteri ekstrak teripang *Holothuria sp.* terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla* secara *In vitro*. *Journal of Experimental Life Science*. **3** (1): 40-44.

Salni., N. Aminasih dan R. Sriviona. 2013. Isolasi senyawa antijamur dari rimpang lengkuas putih (*Alpinia galanga* (L.) Willd) dan penentuan konsentrasi hambat minimum terhadap *Candida albicans*. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*. 301-307.

Samsundari, S. 2006. Pengujian ekstrak temulawak dan kunyit terhadap resistensi bakteri *Aeromonas hydrophilla* yang menyerang ikan mas (*Cyprinus Carpio*). *Gamma*. **2**(1): 71-83.

Sapara, T.U., O. Waworuntu dan Juliatri. 2016. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **5**(4): 10-17.

Saraswati, D. 2011. Pengaruh konsentrasi ekstrak daun sirih terhadap daya hambat *Escherichia coli*. *Jurnal Health & sport*. **3**(2): 285-362.

Sari, F.P dan S. M. Sari. 2012. Ekstraksi zat aktif antimikroba dari tanaman yodium (*Jatropha multifida* Linn) sebagai bahan baku alternatif antibiotik alami. *Teknik Kimia*. 1-7.

Sari, E.T.P., T. Gunaedi dan E. Indrayani. 2017. Pengendalian infeksi bakteri *aeromonas hydrophilla* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*). *Jurnal Biologi Papua*. **9**(2): 37-42.

Setyanto, A.E. 2015. Memperkenalkan kembali metode eksperimen dalam kajian komunikasi. *Jurnal Ilmu Komunikasi*. **3**(1): 37-48.

Setyowati, H., H.Z. Hanifah dan R.P. Nugraheni. 2013. Krim kulit buah durian (*Durio zibethinus* L.) sebagai obat herbal pengobatan infeksi jamur *Candida albicans*. *Media Farmasi Indonesia*. **8**(2): 1-7.

Sinurat, A.A.P., P.P. Renta, N.E. Herliany, B.F.S.P. Negara dan D. Purnama. 2019. Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol rumput laut *Gracilaria edulis* terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Enggano*. **4**(1): 105-114.

Sudirman, S., Herpandi, R. Nopianti, S.D. Lestari, Wasahla dan H. Mareta. 2017. Isolation and characterization of phenolic contents, tannin, vitamin c and e from water lettuce (*Pistia stratiotes*). *Oriental Journal Of Chemistry*. **33**(6): 3173-3176.

Sukarni, Maftuch dan H Nursyam. 2012. Kajian penggunaan ciprofloxacin terhadap histologi insang dan hati ikan botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *The Journal of Experimental Life Science*. **2**(1): 6-12.

Sumayani., R. Kusdarwati dan Y. Cahyoko. 2008. Daya antibakteri perasan rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) dengan konsentrasi berbeda terhadap pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* secara in vitro. *Berkala Ilmiah Perikanan*. **3**(1): 83-87.

Telaumbanua, S., I. Lukistyowati dan H. Syawal. 2019. Sensitivitas larutan biji mangga harumanis (*Mangifera indica* L) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*. **24**(1): 24-31.

Tripathi, P., R. Kumar, A.K. Sharma, A. Mishra dan R. Gupta. 2010. *Pistia stratiotes* (Jalkumbhi). *Pharmacognosy Reviews*. **4**(8): 153-160.

Tyagi, T. dan P. Parashar. 2017. Antimicrobial and antioxidant activity of *Pistia stratiotes* (L.). *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. **8**(3): 391-399.

Ulfiana, R., G. Mahasri dan H. Suprpto. 2012. Tingkat kejadian aeromonas pada ikan koi (*Cyprinus carpio carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus koi* pada derajat infeksi yang berbeda. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **4**(2): 169-174.

Ulkhag, M, F., Widanarni dan A.M. Lusiastuti. 2014. Aplikasi probiotik *Bacillus* untuk pencegahan infeksi *Aeromonas hydrophilla* pada ikan lele. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **13**(2): 105–114.

Vieira, L.V., L.G. Araujob, R.V.P. Ferreira, E.A. Silva, R.L.S. Canevesic dan J.T. Marumo. 2019. Uranium biosorption by *Lemna* sp. and *Pistia stratiotes*. *Journal of Environmental Radioactivity*. **203**: 179–186.

Wahjuningrum, D., R. Astrini dan M. Setiawati. 2013. Pencegahan *Aeromonas hydrophila* pada benih ikan lele menggunakan bawang putih dan meniran. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **12**(1): 86–94.

Wiyanto, D.B. 2010. Uji aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Eucheuma denticullatum* terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyi*. *Jurnal Kelautan*. 3(1): 1-17.

Zega, O., A. Baehaki dan Herpandi. 2017. Pengaruh ekstrak apu-apu (*Pistia stratiotes*) terhadap daya simpan fillet ikan patin (*Pangasius sp.*) yang disimpan pada suhu dingin. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*. 6(1): 69-79.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Alat Penelitian



Autoklaf



Blender



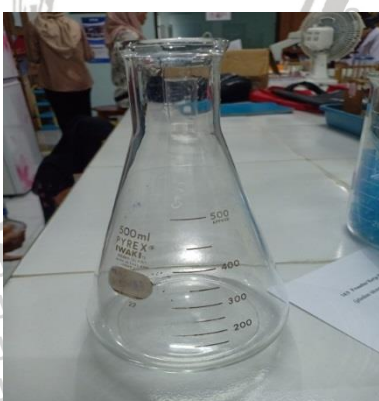
Blue tip, yellow tip, white tip



Bunsen



Cawan petri



Erlenmeyer

Lampiran 1. Dokumentasi Alat Penelitian (Lanjutan)



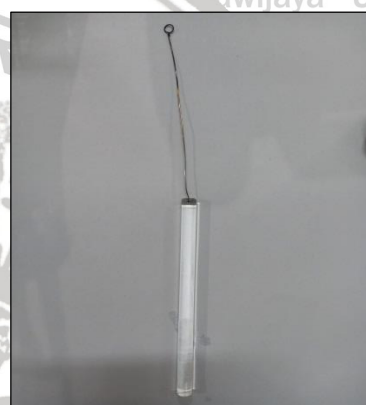
Gelas ukur



Hot plate



Inkubator



Jarum ose



Jerigen 5L



Kulkas

Lampiran 1. Dokumentasi Alat Penelitian (Lanjutan)



Laminar Air Flow



Mikropipet



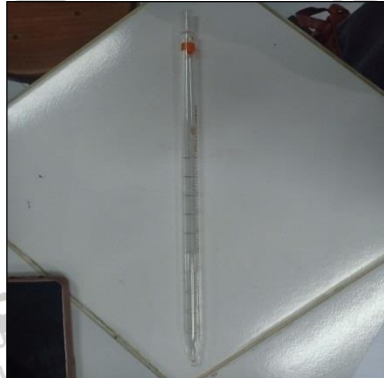
Botol film



Objek glass



Mikroskop



Pipet Volume

Lampiran 1. Dokumentasi Alat Penelitian (Lanjutan)



Rotary evaporator



Spatula



Sprayer



Tabung reaksi



Rak tabung reaksi



Timbangan digital

Lampiran 1. Dokumentasi Alat Penelitian (Lanjutan)



Pinset



Triangle



Vortex mixer



Jangka sorong

Lampiran 2. Dokumentasi Bahan Penelitian



Alkohol 70%



Alumunium foil



Aquadest



Bakteri *A. hydrophilla*



Tanaman apu – apu



DMSO

Lampiran 2. Dokumentasi Bahan Penelitian (Lanjutan)



Metanol



Kapas



Kertas cakram



Kertas saring



TSA



TSB

Lampiran 2. Dokumentasi Bahan Penelitian (Lanjutan)



lateks



Masker



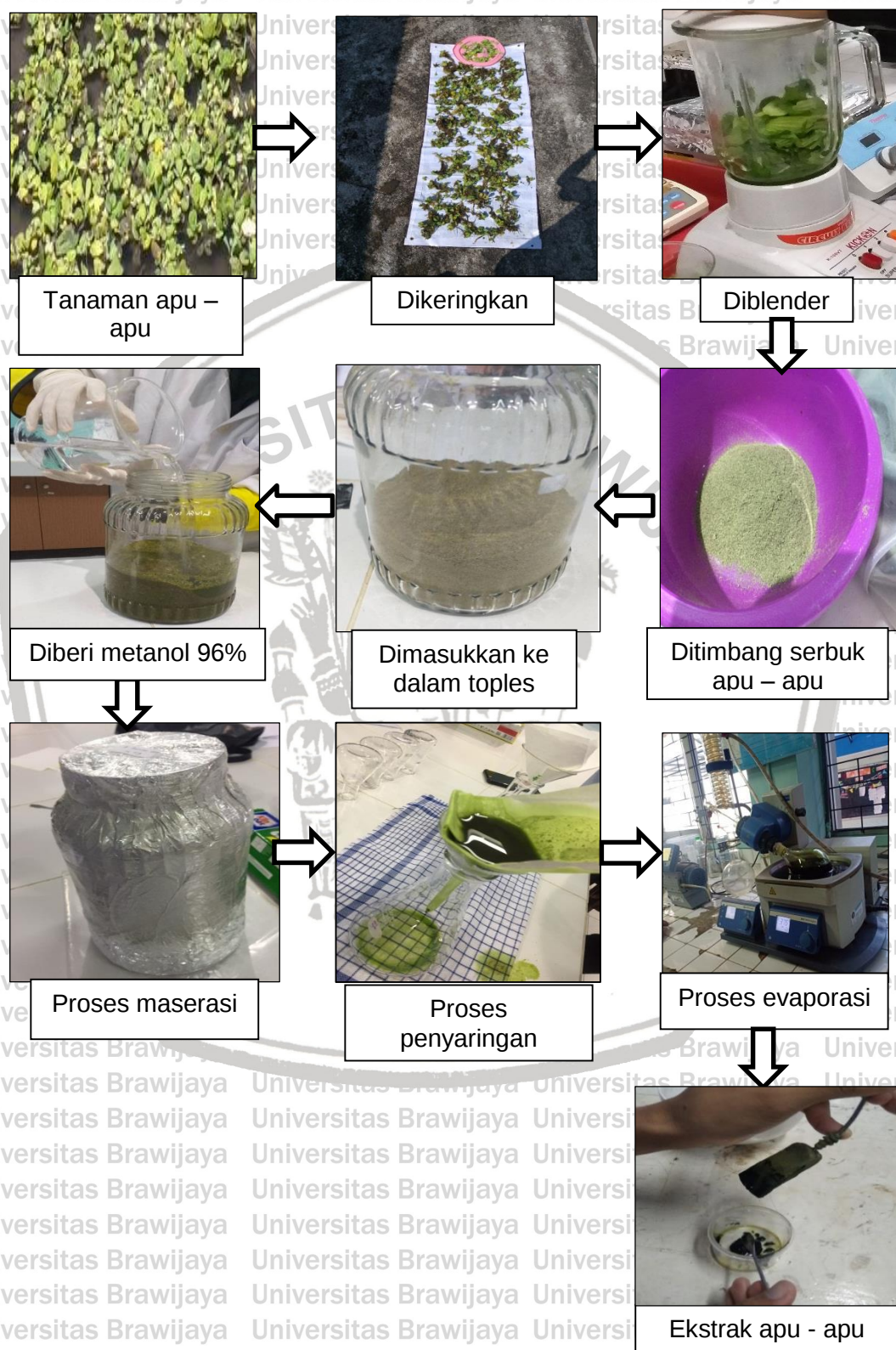
Wrap



Spirtus

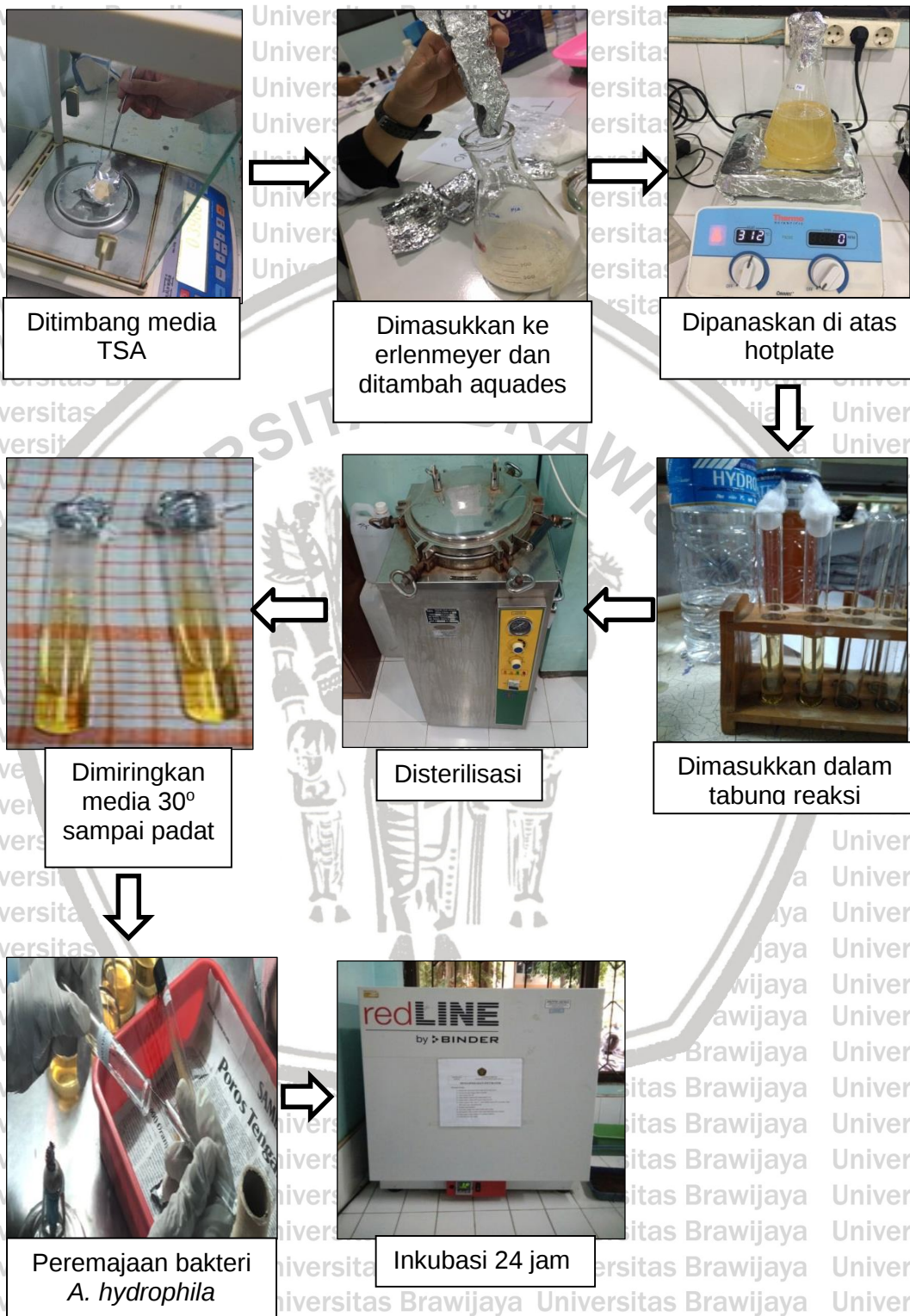
Lampiran 3. Kegiatan Penelitian

A. Pembuatan Ekstrak Kasar Tanaman Apu – Apu



Lampiran 3. Kegiatan Penelitian (Lanjutan)

B. Peremajaan Bakteri *Aeromonas hydrophilla*



Lampiran 3. Kegiatan Penelitian (Lanjutan)

C. Pelaksanaan Uji Cakram



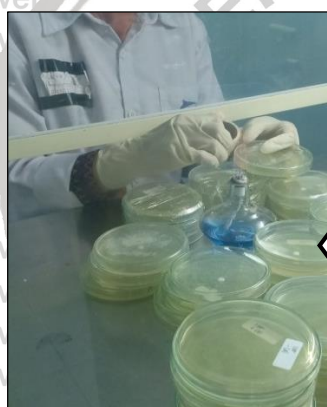
Dimasukkan media TSA pada cawan



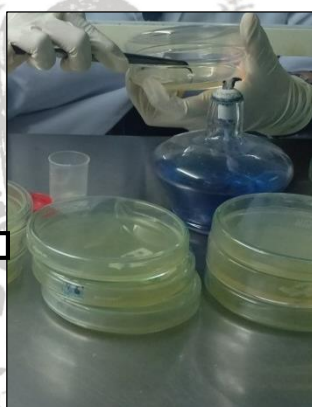
Pengenceran bakteri dari media TSB



Dimasukkan bakteri dan diratakan dengan triangle



Diberi plastik wrap



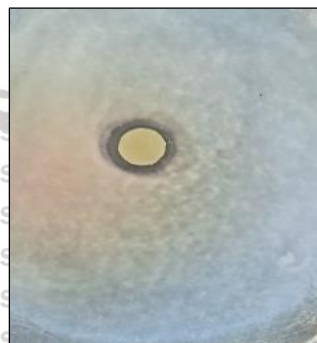
Dimasukkan kertas cakram ke cawan



Proses pembuatan dosis ekstrak tanaman apu - apu



Inkubasi 24 jam



Hasil, zona bening diukur menggunakan jangka sorong

Lampiran 4. Hasil Uji Biokimia Bakteri *Aeromonas hydrophila*

KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN
DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA
BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA AIR PAYAU

LABORATORIUM UJI BBPAP JEPARA

Alamat surat: PO Box 1 Jepara, Kantor: Jl. Cik Lanang – Bulu Jepara 59418

Telp. : (0291) 591125, Faximili : (0291) 591724

www.bbpapjepara.djpb.kkp.go.id; Email: bbpapjpr@gmail.com

HASIL UJI BIOKIMIA

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

Uji Bio Kimia	Isolat
	<i>Aeromonas hydrophilla</i>
Gram	—
Bentuk	Batang
Katalase	+
Oksidase	+
H ₂ S	—
Indol	+
Motil	+
OF medium	Fermentatif
VP	+
MR	—
Gelatin	+
Urea	—
Glukosa	+
Sukrosa	+

Lab. Mikrobiologi BBPAP Jepara

Penyelia

Sri Murti Astuti, SP.



Lampiran 5. Hasil Uji Fitokimia Tanaman Apu – Apu



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

65313

Nomor : 074 / 19D / 102.7 / 2020
Sifat : Biasa
Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon
Nama : Agatha Kristy
NIM : 165080501111066
Instansi : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
Alamat Instansi : Malang
2. Identitas Sampel
Nama daerah sampel : Apu-apu
Nama latin : *Pistia stratiotes L.*
Bagian sampel : Daun
Bentuk sampel : Ekstrak
Pelarut : Metanol
Tanggal penerimaan : 10 Februari 2020
Tanggal pemeriksaan : 13 Februari 2020

3. Hasil

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

4. Lampiran

Nama Sampel	Flavonoid	Alkaloid		
		Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Ekstrak Daun Apu-apu (<i>Pistia stratiotes L.</i>)				
Nama Sampel	Tanin	Saponin		Fenol
Ekstrak Daun Apu-apu (<i>Pistia stratiotes L.</i>)				

5. Pustaka

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1978. "Materia Medika Indonesia", Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 17 Februari 2020
An. Ka. UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu
Kepala Seksi Pelayanan Laboratorium Herbal



Fitri Rahmawati, S.Farm., Apt.
NIP. 199101302014032002



Lampiran 6. Perhitungan Ekstrak Dosis Uji

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

➤ **Dosis 5000 ppm**

Pembuatan dosis 5000 ppm merupakan dosis stok ekstrak kasar tanaman apu – apu tertinggi yang digunakan dalam pembuatan dosis 10 – 210 ppm.

Pembuatan stok ekstrak sebesar 5000 ppm dengan rumus berikut:

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

a. **Dosis 10 ppm**

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$1,5 \text{ ml} \times 10 = V2 \times 5000$$

$$V2 = 0,003 \text{ ml}$$

$$\text{DMSO 10 \%} = 1,5 \text{ ml} - 0,06 \text{ ml} = 1,497 \text{ ml}$$

b. **Dosis 60 ppm**

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$1,5 \text{ ml} \times 60 = V2 \times 5000$$

$$V2 = 0,018 \text{ ml}$$

$$\text{DMSO 10 \%} = 1,5 \text{ ml} - 0,018 \text{ ml} = 1,482 \text{ ml}$$

c. **Dosis 110 ppm**

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$1,5 \text{ ml} \times 110 = V2 \times 5000$$

$$V2 = 0,033 \text{ ml}$$

$$\text{DMSO 10 \%} = 1,5 \text{ ml} - 0,033 \text{ ml} = 1,467 \text{ ml}$$

d. **Dosis 160 ppm**

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$1,5 \text{ ml} \times 160 = V2 \times 5000$$

$$V2 = 0,048 \text{ ml}$$

$$\text{DMSO 10 \%} = 1,5 \text{ ml} - 0,048 \text{ ml} = 1,452 \text{ ml}$$

Lampiran 6. Perhitungan Ekstrak Dosis Uji (Lanjutan)

e. Dosis 210 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

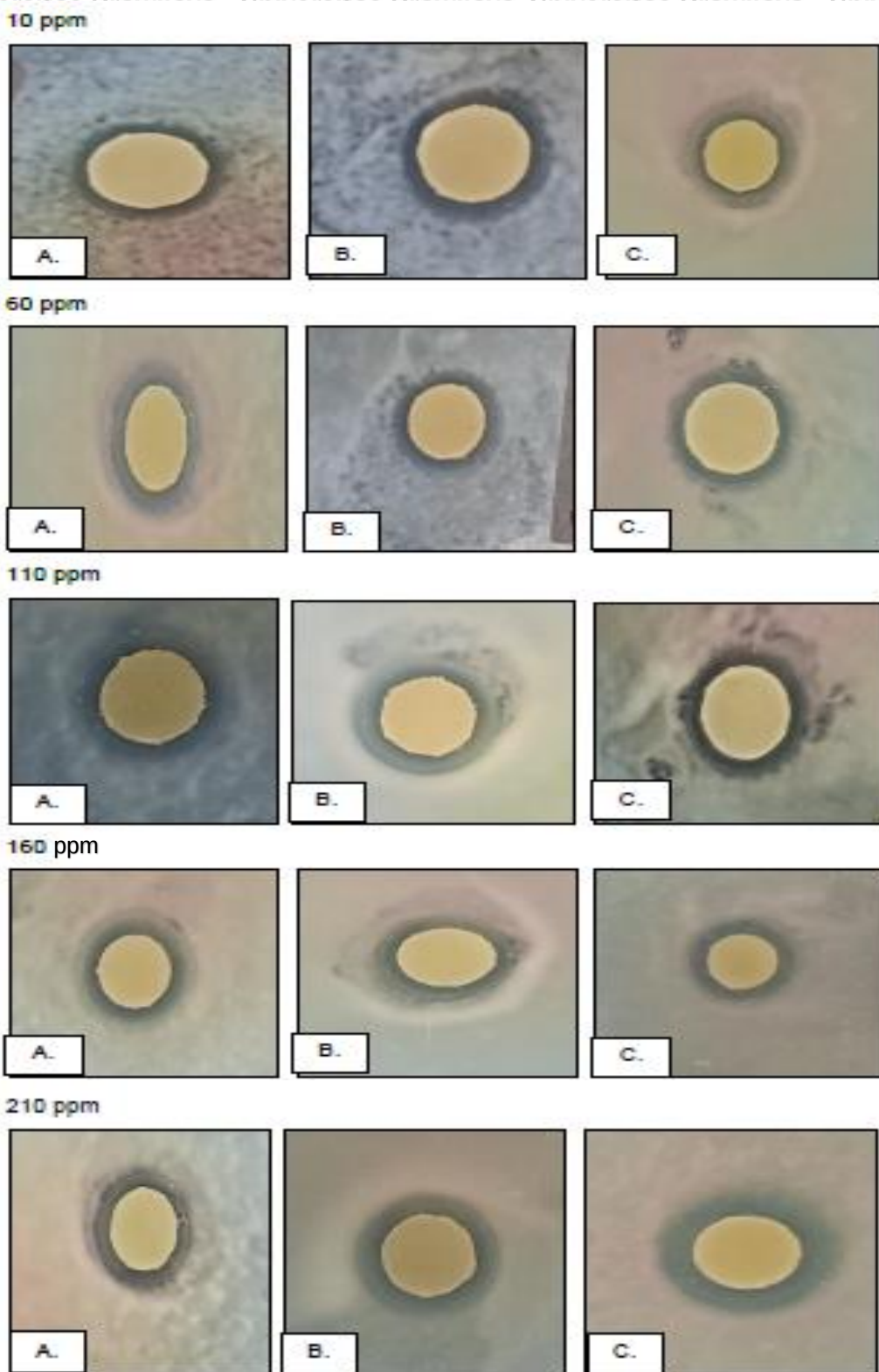
$$1,5 \text{ ml} \times 200 = V_2 \times 5000$$

$$V_2 = 0,063 \text{ ml}$$

$$\text{DMSO } 10 \% = 1,5 \text{ ml} - 0,63 \text{ ml} = 1,437 \text{ ml}$$

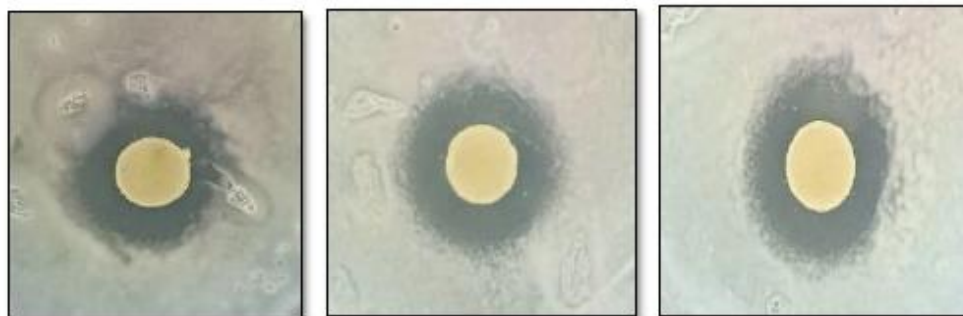


Lampiran 7. Hasil Foto Uji Cakram

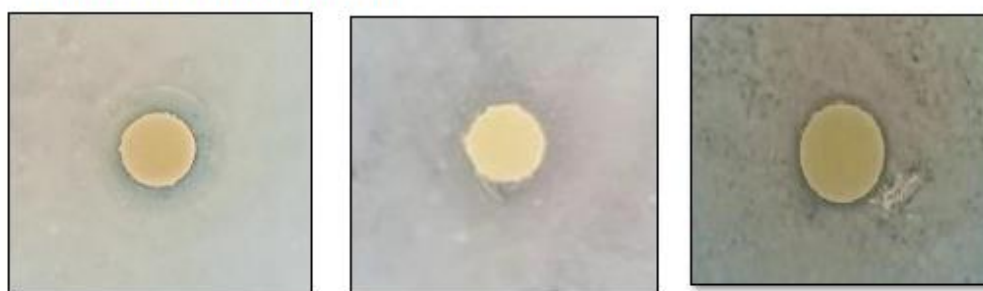


Lampiran 7. Hasil Foto Uji Cakram (Lanjutan)

Kontrol positif (+) antibiotik enrofloxasin

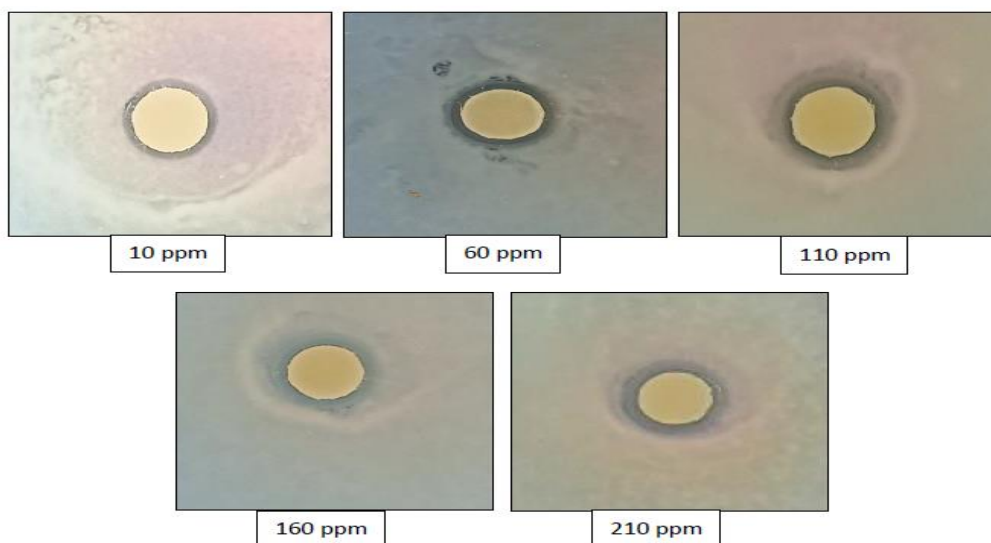


Kontrol negatif (-) hanya cakram



- Data Rata-Rata Diameter Hambatan (mm) Bakteri 48 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata $\pm$ STDEV
	1	2	3		
A	8,28	8,05	7,6	23,93	7,98 $\pm$ 0,35
B	8,23	7,39	8,99	24,61	8,20 $\pm$ 0,80
C	9,6	8,47	9,88	27,95	9,32 $\pm$ 0,75
D	9,88	9,7	8,55	28,13	9,38 $\pm$ 0,72
E	9,28	9,89	9,13	28,3	9,43 $\pm$ 0,40
Total				132,92	



Lampiran 8. Analisis Data Aktivitas Ekstrak Tanaman Apu – Apu

- Data Rata – Rata Diameter Hambatan (mm) Bakteri

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDEV
	1	2	3		
A	9,39	9,13	8,8	27,32	9,11 ± 0,30 mm
B	9,49	9,33	9,89	28,71	9,57 ± 0,29 mm
C	9,7	9,57	9,96	29,23	9,74 ± 0,20 mm
D	10,35	9,91	9,8	30,06	10,02 ± 0,29 mm
E	10,54	10,63	10,38	31,54	10,51 ± 0,13 mm
Total				146,86	

Perhitungan

$$\begin{aligned}
 1. \quad & \text{a. Faktor Koreksi (FK)} = \frac{G^2}{N} \\
 & = \frac{146,86^2}{15} \\
 & = 1437,86 \\
 & \text{b. Jumlah Kuadrat (JK total)} = \sum x_{ij}^2 - FK \\
 & = (A^2 + B^2 + C^2 + \dots + E^2) - FK \\
 & = (9,39^2 + 9,13^2 + 8,8^2 + \dots + 10,38^2) - 1.437,86 \\
 & = 3,90 \\
 & \text{c. JK Perlakuan} = \frac{\sum (\sum x_i)^2}{r} - FK \\
 & = \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2 + TE^2)}{r} - FK \\
 & = \frac{27,32^2 + 28,71^2 + 29,23^2 + 30,06^2 + 31,54^2}{3} - 1437,86 \\
 & = 3,28 \\
 & \text{d. JK Acak} = JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\
 & = 3,90 - 3,28 \\
 & = 0,62
 \end{aligned}$$

Lampiran 8. Analisis Data Aktivitas Ekstrak Tanaman Apu – Apu (Lanjutan)

$$e. \text{ db Total} = (n \times r) - 1$$

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

$$= 14$$

$$f. \text{ db Perlakuan} = n - 1$$

$$= 5 - 1$$

$$= 4$$

$$g. \text{ db Galat} = \text{db Total} - \text{db Perlakuan}$$

$$= 15 - 5$$

$$= 10$$

• Tabel Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	3,30	0,82	13,254**	3,48	5,99
Acak	10	0,62	0,06			
Total	14					

Keterangan : ** Berbeda Sangat Nyata

Hasil analisis sidik ragam diatas menunjukkan bahwa nilai F Hitung sebesar

13,254 lebih besar dibandingkan dengan nilai F Tabel 5% dan F Tabel 1%. Hal

tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tanaman apu - apu (*Pistia*

stratiotes) berpengaruh nyata terhadap daya hambat bakteri *Aeromonas*

hydrophila. Untuk mengetahui perbedaan dari masing - masing perlakuan, maka

dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

$$a. \text{ SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT acak}}{\text{ulangan (r)}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,06}{3}} = 0,20$$

$$b. \text{ BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED}$$

$$= 2,228 \times 0,20$$

$$= 0,45$$

$$c. \text{ BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED}$$

$$= 3,106 \times 0,20$$

$$= 0,63$$

Lampiran 8. Analisis Data Aktivitas Ekstrak Tanaman Apu – Apu (Lanjutan)

• Tabel Anova Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	E	Notasi
		9,11	9,57	9,74	10,02	10,52	
A	9,11	—					a
B	9,57	0,46*	—				ab
C	9,74	0,64*	0,17 ^{ns}	—			ab
D	10,02	0,91*	0,45*	0,28 ^{ns}	—		bc
E	10,52	1,41*	0,95*	0,77*	0,50*	—	c

Keterangan :

ns : Tidak berbeda nyata

* : Berbeda nyata

• Tabel Uji Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A	27,32	-2	2	-1	1
B	28,71	-1	-1	2	-4
C	29,23	0	-2	0	6
D	30,06	1	-1	-2	-4
E	31,55	2	2	1	1
Q= $\Sigma(ci*Ti)$		9,81	0,51	1,53	-0,83
Hasil Kuadrat		10	14	10	70
Kr= $(\Sigma ci^2)*r$		30	42	30	210
JK= Q^2/Kr		3,21	0,0062	0,08	0,0033

• Tabel Sidik Ragram Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	3,21			5,41	12,06
Linier	1	3,21	3,21	51,61	**	
Kuadratik	1	0,01	0,01	0,10	ns	
Kubik	1	0,08	0,08	1,26	ns	
Kuartik	1	0,003	0,003	0,05	ns	
Acak	10	0,62	0,06	1	ns	
Total	14	7,13				

Keterangan :

* = Berbeda nyata

** = Berbeda sangat nyata

ns = Tidak berbeda nyata

Lampiran 8. Analisis Data Aktivitas Ekstrak Tanaman Apu – Apu (Lanjutan)

KT Linier

$$= \frac{JK \text{ Linier}}{db \text{ Linier}}$$

$$= \frac{3,21}{1}$$

$$= 3,21$$

KT Kuadratik

$$= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{db \text{ Kuadratik}}$$

$$= \frac{0,01}{1}$$

$$= 0,01$$

KT Kubik

$$= \frac{JK \text{ Kubik}}{db \text{ Kubik}}$$

$$= \frac{0,08}{1}$$

$$= 0,08$$

KT Kuartik

$$= \frac{JK \text{ Kuartik}}{db \text{ Kuartik}}$$

$$= \frac{0,003}{1}$$

$$= 0,003$$

KT Acak

$$= \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,62}{10}$$

$$= 0,06$$

F hitung linier

$$= \frac{KT \text{ Linier}}{KT \text{ Acak}}$$

$$= \frac{3,21}{0,06}$$

$$= 51,61$$

F hitung kuadratik

$$= \frac{KT \text{ Kuadratik}}{KT \text{ acak}}$$

$$= \frac{0,01}{0,06}$$

$$= 0,10$$

Lampiran 8. Analisis Data Aktivitas Ekstrak Tanaman Apu – Apu (Lanjutan)

F hitung kubik

$$= \frac{KT \text{ Kubik}}{KT \text{ acak}}$$

$$= \frac{0,08}{0,06}$$

$$= 1,26$$

F hitung kuartik

$$= \frac{KT \text{ Kuartik}}{KT \text{ acak}}$$

$$= \frac{0,003}{0,06}$$

$$= 0,05$$

R² Linier

$$= \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{3,19}{3,19 + 0,62}$$

$$= 0,838$$

R² Kuadratik

$$= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,01}{0,01 + 0,62}$$

$$= 0,010$$

R² Kubik

$$= \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,08}{0,08 + 0,62}$$

$$= 0,112$$

Berdasarkan perhitungan diatas nilai F hitung linier sangat berbeda nyata, hal ini menunjukkan bahwa nilai F hitung regresi linier 51,61 lebih besar dibandingkan dengan nilai regresi kuadratik 0,10 dan nilai regresi kubik yaitu sebesar 1,26. Berdasarkan hasil tersebut, maka laju kurva yang digunakan adalah kurva linier. Langkah selanjutnya yaitu menghitung persamaan linier.

Lampiran 8. Analisis Data Aktivitas Ekstrak Tanaman Apu – Apu (Lanjutan)

• Tabel Persamaan Linear

	X	Y	XY	X ²
	10	9,39	93,9	100
	10	9,13	91,3	100
	10	8,80	88	100
	60	9,49	569,4	3600
	60	9,33	559,8	3600
	60	9,89	593,4	3600
	110	9,70	1067	12100
	110	9,57	1052,7	12100
	110	9,96	1095,6	12100
	160	10,35	1656	25600
	160	9,91	1585,6	25600
	160	9,80	1568	25600
	210	10,54	2213,4	44100
	210	10,63	2232,3	44100
	210	10,38	2179,8	44100
Jumlah	1650	146,87	16646,2	256500
Rata2	110	9,79		

Perhitungan :

$$\begin{aligned}
 B_1 &= \frac{\sum XY - (\sum X \cdot \sum Y)/n}{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}} \\
 &= \frac{16646,2 - (1650 \cdot 146,87)/15}{256500 - \frac{(1650)^2}{15}} \\
 &= \frac{490,5}{75000} \\
 &= 0,00654
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 B_0 &= \bar{y} - b_1 \bar{x} \\
 &= 9,79 - (0,00654 \cdot 110) \\
 &= 9,071
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Persamaan linier : } y &= b_0 + b_1 x \\
 y &= b_0 + b_1 x \\
 y &= 9,071 + 0,006x
 \end{aligned}$$

Lampiran 8. Analisis Data Aktivitas Ekstrak Tanaman Apu – Apu (Lanjutan)

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

$$= \frac{JK \text{ Regresi}}{JK \text{ Regresi} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{3,21}{3,21 + 0,62}$$

$$= 0,83$$

- Grafik Hubungan Zona Hambat Antar Perlakuan Estrak Tanaman Apu - Apu Terhadap Bakteri *A. hydrophila*

