

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN
BAKAU KURAP (*Rhizophora mucronata*) TERHADAP
BEBERAPA BAKTERI PATOGEN IKAN**

SKRIPSI

Diajukan Oleh:

**PUTROE NURUL FAZILA
NIM. 170703014
Mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi
Program Studi Biologi**



**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY
DARUSSALAM-BANDA ACEH
2022 M/1444 H**

LEMBAR PERSETUJUAN TUGAS AKHIR

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN BAKAU
KURAP (*Rhizophora mucronata*) TERHADAP BEBERAPA
BAKTERI PATOGEN IKAN**

SKRIPSI

Diajukan Kepada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Ar-Raniry Banda Aceh
Sebagai Salah Satu Beban Studi Memperoleh Gelar Sarjana (S1)
Dalam Ilmu Biologi

Oleh:

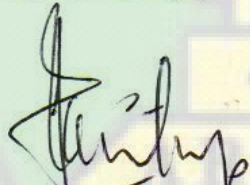
PUTROE NURUL FAZILA

NIM. 170703014

**Mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi
Program Studi Biologi**

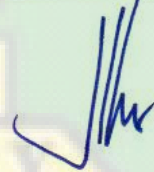
Disetujui Untuk di Munaqasyahkan Oleh:

Pembimbing I,




Diannita Harahap, M.Si
NIDN. 2022038701

Pembimbing II,



Ilham Zulfahmi, M.Si
NIDN. 1316078801

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi



Muslich Hidayat, M. Si.
NIDN. 2002037902

LEMBAR PENGESAHAN TUGAS AKHIR

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN BAKAU KURAP (*Rhizophora mucronata*) TERHADAP BEBERAPA BAKTERI PATOGEN IKAN

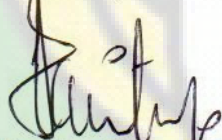
SKRIPSI

Telah Disidangkan Oleh Panitia Ujian Munaqasyah Tugas Akhir
Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Ar-Raniry Banda Aceh
Serta Diterima Sebagai Salah Satu Beban Studi Memperoleh Gelar Sarjana (S1)
Dalam Prodi Biologi

Pada Hari/Tanggal: Senin 26 Desember 2022
22 Jumadil Awal 1443
Tempat: Darussalam, Banda Aceh

Panitia Ujian Munaqasyah Tugas Akhir:

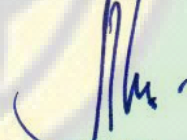
Ketua,



Diannita Harahap, M.Si

NIDN. 2022038701

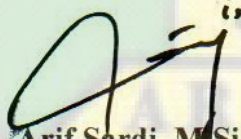
Sekretaris,



Ilham Zulfahmi, M.Si

NIDN. 1316078801

Penguji I,



Arif Sardi, M.Si

NIDN. 2019068601

Penguji II,



Ayu Nirmala Sari, M.Si

NIDN. 2027028901

Mengetahui:

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Ar-Raniry Banda Aceh,



Dr. Ir. Muhammad Dirhamsyah, M.T., IPU

NIP. 196210021988111001

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Putroe Nurul Fazila
NIM : 170703014
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*) terhadap Beberapa Bakteri Patogen Ikan

Dengan ini menyatakan bahwa dalam penulisan tugas akhir, saya:

1. Tidak menggunakan ide orang lain tanpa mampu mengembangkan dan mempertanggungjawabkan;
2. Tidak melakukan plagiasi terhadap naskah karya orang lain;
3. Tidak menggunakan karya orang lain tanpa menyebutkan sumber asli atau tanpa izin pemilik karya;
4. Tidak memanipulasi dan memalsukan data;
5. Mengerjakan sendiri karya ini dan mampu bertanggung jawab atas karya ini;

Bila kemudian hari ada tuntutan dari pihak lain atas karya saya, dan telah melalui pembuktian yang dapat dipertanggung jawabkan dan ternyata memang ditemukan bukti bahwa saya telah melanggar pernyataan ini, maka saya siap dikenai sanksi berdasarkan aturan yang berlaku di Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan tanpa paksaan dari pihak manapun.

Banda Aceh, 26 Desember 2022

Yang Menyatakan,



Putroe Nurul Fazila

ABSTRAK

Nama : Putroe Nurul Fazila
NIM : 170703014
Program Studi : Biologi
Judul : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*) terhadap Beberapa Bakteri Patogen Ikan
Tanggal Sidang : 26 Desember 2022
Jumlah Halaman : 55
Pembimbing I : Diannita Harahap, M.Si
Pembimbing II : Ilham Zulfahmi, M.Si
Kata Kunci : Etil Asetat, Ekstrak, Aktivitas Antibakteri, Bakteri Patogen Ikan, Bakau Kurap, *Rhizophora mucronata*

Penyakit bakteri merupakan salah satu jenis penyakit yang berpotensi menimbulkan kematian ikan dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat yang disebabkan oleh bakteri dan dapat berdampak pada kerugian usaha budidaya perikanan, Selama ini pencegahan dan pengobatan terhadap serangan bakteri patogen dilakukan dengan pemberian antibiotik sintetis, Penggunaan antibiotik tersebut dapat menimbulkan efek samping berupa timbulnya kekebalan mikroba patogen. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui pengaruh ekstrak etil asetat dengan beberapa konsentrasi dan waktu inkubasi yang berbeda terhadap beberapa bakteri patogen ikan. Penelitian dilakukan di Laboratorium Multifungsi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry selama 8 minggu, sampel daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) diambil dari Pantai Alue Naga, Kecamatan Syiah Kuala, Kota Banda Aceh kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etil asetat. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram (*Kirby Bauer Method*) pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966, dan *Vibrio parahaemolyticus*. Hasil uji penghambatan terbesar terdapat pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966, dan *Vibrio parahaemolyticus* Berturut-turut pada konsentrasi 20%, 30% dan 40%.

ABSTRACT

Name : Putroe Nurul Fazila
NIM : 170703014
Department : Biology
Title : *Antibacterial Activity Test of Ethyl Acetate Extract of Mangrove Ringworm (Rhizophora mucronata) Leaves Against Several Fish Pathogenic Bacteria*
Date of Session : 26 December 2022
Number of Page : 55
Advisor I : Diannita Harahap, M.Si
Advisor II : Ilham Zulfahmi, M.Si
Keywords : *Ethyl Acetate, Extract, Antibacterial Activity, Fish Pathogenic Bacteria, Bakau Kurap, Rhizophora mucronata*

Bacteri disease is a type of disease that has the potential to cause the death of large numbers of fish in a short time caused by bacteria and can have an impact on the loss of aquaculture business. can cause side effects in the form of the emergence of pathogenic microbial immunity. This research was conducted with the aim of knowing the effect of ethyl acetate extract with several different concentrations and incubation times on several fish pathogenic bacteria. The research was conducted at the Multifunction Laboratory of Ar-Raniry State Islamic University for 8 weeks, samples of ringworm mangrove leaves (Rhizophora mucronata) were taken from Alue Naga Beach, Syiah Kuala District, Banda Aceh City and then macerated using a solvent ethyl acetate. Furthermore, the antibacterial activity test was carried out using the disc diffusion method (Kirby Bauer Method) on Staphylococcus aureus ATCC 25923, Aeromonas hydrophila ATCC 7966, and Vibrio parahaemolyticus bacteria. The highest inhibition test results were found in Staphylococcus aureus ATCC 25923, Aeromonas hydrophila ATCC 7966, and Vibrio parahaemolyticus respectively at concentrations of 20%, 30% and 40%.

KATA PENGANTAR



Dengan mengucap puji dan syukur serta mengucap Alhamdulillah berkat Rahmat Allah SWT yang senantiasa dilimpahkan kepada penulis, sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir dengan judul “**Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen Ikan**”. Shalawat dan salam semoga selalu dilimpahkan kepada Nabi Muhammad SAW, keluarganya, sahabatnya dan kepada kita selaku umatnya.

Tujuan dari penyusunan skripsi penelitian ini guna memenuhi salah satu syarat untuk pelaksanaan penelitian tugas akhir pada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry. Penulis menyadari bahwa didalam penulisan skripsi ini telah melibatkan banyak pihak yang sangat membantu dalam banyak hal. Oleh sebab itu penulis menyampaikan rasa terima kasih yang setinggi-tingginya kepada:

1. Dr. Ir. Muhammad Dirhamsyah, M.T., IPU selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry.
2. Muslich Hidayat, M.Si selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh.
3. Syafrina Sari Lubis, M.Si selaku Sekretaris Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi yang telah membantu dalam segala keperluan.
4. Diannita Harahap, M.Si selaku Penasehat Akademik dan pembimbing I yang telah memberikan arahan serta bimbingan selama kuliah dan penyusunan skripsi.
5. Ilham Zulfahmi, M.Si, selaku pembimbing II yang telah memberikan masukan dan arahan selama penyusunan skripsi.
6. Arif Sardi, M.Si, Kamaliah, M.Si, dan Ayu Nirmala Sari, M.Si, Feizia Huslina M.Sc dan Raudhah Hayatillah, M.Sc selaku Dosen Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi.

7. Staf Program Studi Biologi yang telah membantu segala keperluan mahasiswa.
8. Kedua orang tua tercinta Ayahanda Irwansyah (Alm) dan Ibunda Faridah Usman serta Kakak tersayang Ita Hudyani yang tiada henti memberikan doa, motivasi, dukungan moral dan material kepada penulis.
9. Sahabat-sahabat terbaik yaitu Nurul Safwati, Rauzatul Firdha, Rizki Nazarni, Badratun Nafis, Iis Safitri Sari yang selalu memberikan semangat kepada penulis serta sahabat lain yang tidak dapat disebut satu persatu yang telah membantu, memberikan semangat dan motivasi kepada penulis.
10. Seluruh teman-teman seperjuangan angkatan 2017, abang-abang dan kakak-kakak Program Studi Biologi yang tidak dapat disebut satu persatu. Terima kasih telah memberi doa serta dukungan kepada penulis.

Rasa hormat dan terima kasih bagi semua pihak atas segala dukungan dan doa sehingga dapat menyelesaikan proposal. Penulis menyadari bahwa proposal ini masih jauh dari kata sempurna dikarenakan terbatasnya pengetahuan dan pengalaman yang dimiliki. Penulis berharap semoga proposal ini dapat bermanfaat khususnya di bidang pendidikan dan semoga Allah SWT memberi perlindungan bagi kita semua.

Banda Aceh, 26 Desember 2022

Penulis,

Putroe Nurul Fazila

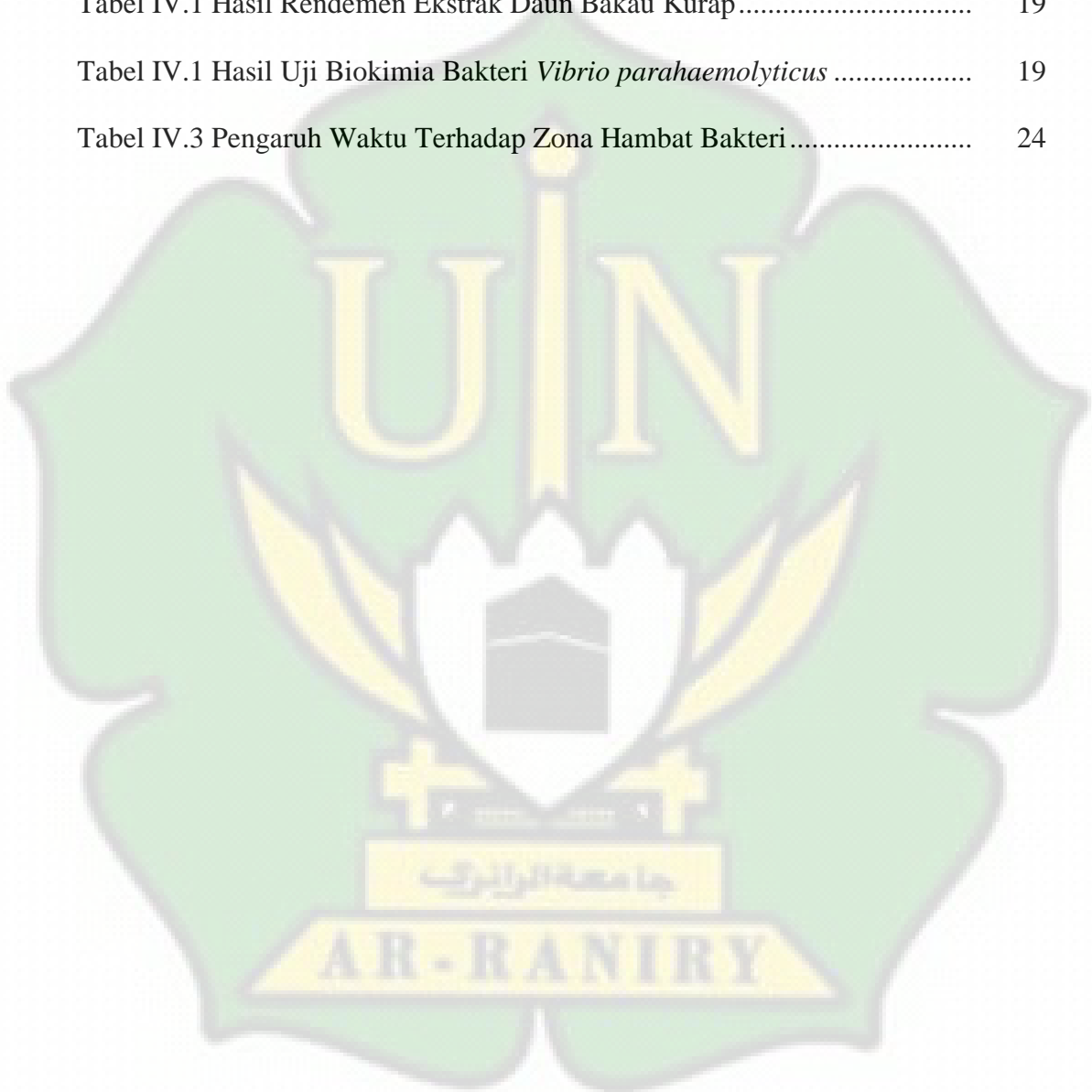
DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN TUGAS AKHIR.....	i
LEMBAR PENGESAHAN TUGAS AKHIR.....	ii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR.....	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Rumusan Masalah.....	4
I.3 Tujuan Penelitian.....	4
I.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
II.1 Deskripsi Tanaman Bakau Kurap (<i>Rhizophora mucronata</i>).....	5
II.2 Kandungan Tanaman Bakau Kurap (<i>Rhizophora mucronata</i>)....	6
II.3 Jenis Ekstraksi.....	6
II.4 Pelarut Ekstraksi.....	7
II.5 Bakteri Patogen Ikan.....	8
II.5.1 Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	8
II.5.2 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
II.5.3 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	10
II.6 Aktivitas Antibakteri.....	11
BAB III METODE PENELITIAN.....	12
III.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	12
III.2 Jadwal Pelaksanaan Penelitian.....	12
III.3 Objek Penelitian.....	13
III.4 Alat dan Bahan.....	13
III.5 Metode Penelitian.....	13

III.6	Prosedur Kerja.....	13
III.6.1	Koleksi dan Preparasi Sampel Daun Bakau Kurap	13
III.6.2	Maserasi dan Ekstraksi	13
III.6.3	Isolasi Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	14
III.6.4	Uji Biokimia Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	14
III.6.5	Isolat dan Suspensi Bakteri	16
III.6.6	Uji Aktivitas Antibakteri	16
III.7	Analisis Data	17
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
IV.1	Hasil Penelitian	19
IV.1.1	Maserasi dan Ekstraksi	19
IV.1.2	Hasil Isolasi Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	19
IV.1.3	Uji Aktivitas Bakteri Patogen Ikan.....	20
IV.1.3.1	Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Terhadap Zona Hambat pada Beberapa Bakteri Patogen Ikan.....	21
IV.1.3.2	Tabel Pengaruh Waktu Terhadap Zona Hambat Beberapa Jenis Bakteri Patogen Ikan	23
IV.1.3.3	Pengaruh Ekstrak Etil Asetat Daun Bakau Kurap (<i>Rhizophora mucronata</i>) Terhadap Zona Hambat Pada Beberapa Bakteri Patogen Ikan	25
IV.2	Pembahasan.....	29
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	34
V.1	Kesimpulan	34
V.2	Saran.....	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

Tabel III.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian.....	12
Tabel III.2 Kategori Zona Hambat.....	17
Tabel IV.1 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Bakau Kurap.....	19
Tabel IV.1 Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	19
Tabel IV.3 Pengaruh Waktu Terhadap Zona Hambat Bakteri.....	24

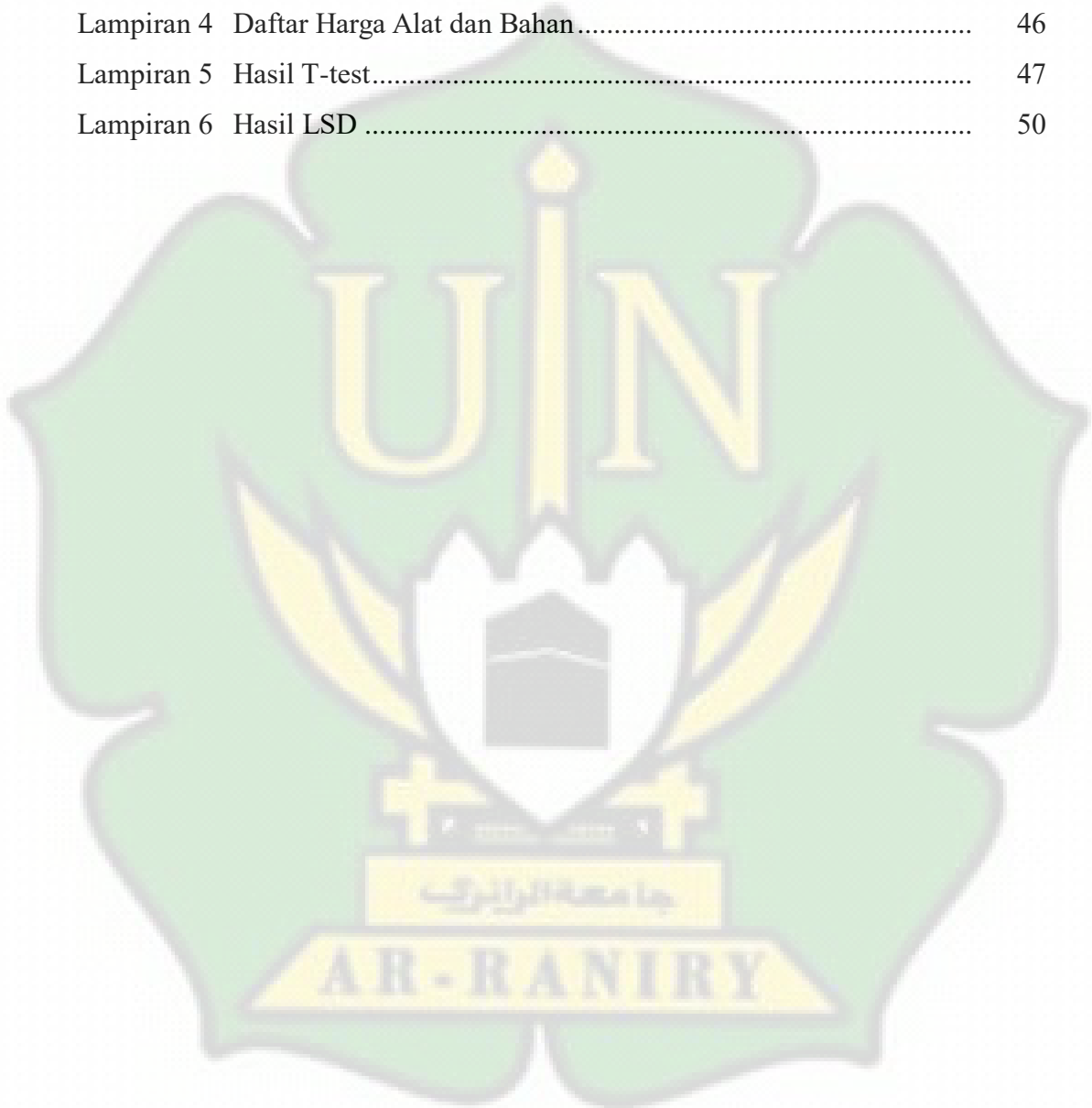


DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	9
Gambar II.2	Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
Gambar II.3	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	11
Gambar IV.1	Hasil Isolasi Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	20
Gambar IV.2	Pengaruh Konsentrasi Ekstrak terhadap Zona Hambat Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	21
Gambar IV.3	Pengaruh Konsentrasi Ekstrak terhadap Zona Hambat Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> ATCC 7966.....	22
Gambar IV.4	Pengaruh Konsentrasi Ekstrak terhadap Zona Hambat Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	23
Gambar IV.5	Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Etil Asetat Daun Bakau Kurap (<i>Rhizophora mucronata</i>) terhadap Beberapa Bakteri.....	25
Gambar IV.6	Perbandingan Zona Hambat Bakteri pada Pengaruh Setiap Perlakuan	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Foto Penelitian	42
Lampiran 2	Alur Penelitian	44
Lampiran 3	Alur Isolasi Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	45
Lampiran 4	Daftar Harga Alat dan Bahan.....	46
Lampiran 5	Hasil T-test.....	47
Lampiran 6	Hasil LSD	50



BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Penyakit bakterial merupakan salah satu jenis penyakit yang berpotensi menimbulkan kematian ikan dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat yang disebabkan oleh bakteri dan dapat berdampak pada kerugian usaha budidaya perikanan (Marunung, 2017). Beberapa faktor penyebab penyebaran bakteri patogen pada ikan adalah kualitas perairan yang menurun (Pusparani *et al.*, 2021), padat tebar yang tinggi, kondisi hidrodinamika yang buruk, dan pemberian pakan yang berlebihan (Stratev *et al.*, 2018).

Beberapa jenis bakteri yang umum menginfeksi ikan-ikan dari perairan Indonesia adalah *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* jika menginfeksi ikan dapat menyebabkan *fibrosis* dengan dampak seperti kematian 100% pada larva maupun ikan-ikan budidaya ukuran konsumsi (Azhari *et al.*, 2018). Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* menginfeksi beberapa jenis ikan lain diantaranya ikan hias (*Amphiprion sebae*) (Marudhupandi *et al.*, 2017). Hasil penelitian Melyani & Putra (2019) mengungkapkan bahwa gejala klinis *vibriosis* yang tampak pada ikan lele sangkuriang adalah terdapat lendir yang berlebih, luka di bagian kepala, berenang menyendiri, luka kemerahan/ borok (ulcer) pada permukaan tubuh, sungut kemerahan, mulut berwarna kemerahan, perut kembung, sirip *gripis* yang disertai luka kemerahan pada sirip dada, sirip punggung, sirip ekor, serta hati dan ginjal berwarna pucat.

Sedangkan pada ikan hias (*Amphiprion sebae*), infeksi bakteri ini dilaporkan memiliki kemampuan yang tinggi terhadap penyakit busuk ekor yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan menyebabkan kematian 100% pada *Amphiprion sebae* (Marudhupandi *et al.*, 2017). Bakteri *Aeromonas hydrophila* bersifat patogen dan mampu menurunkan tingkat pertumbuhan dan mematikan ikan sampai dengan 80%–100% dalam waktu 1-2 minggu (Tarigan *et al.*, 2017). Infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada nila (*Oreochromis*

niloticus) menimbulkan gejala klinis berupa penurunan nafsu makan menurun, iritasi pada bagian tubuh dan perubahan tingkah laku (Maisyaroh *et al.*, 2018). Menurut Pratama *et al.*, (2017) gejala klinis pada benih ikan mas yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* meliputi kerusakan organ tubuh ikan, respon terhadap pakan, keseimbangan tubuh ikan, dan pergerakan renang ikan.

Infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* pada patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) menunjukkan gejala klinis berupa kerusakan pada organ ginjal dan limpa perubahan morfologi diketahui dengan adanya perubahan warna tubuh memudar, terjadi peradangan pada tubuh di bagian operculum dan anus yang tampak berwarna merah, serta adanya pembengkakan dan luka pada bagian perut. Sedangkan perubahan tingkah laku setelah diinfeksi bakteri, diantaranya yaitu pergerakan renang melambat dan penurunan respon pakan, berenang tidak teratur, tingkah laku ikan yang mendekati aerasi (Diana *et al.*, 2018).

Selama ini pencegahan dan pengobatan terhadap serangan bakteri patogen dilakukan dengan pemberian antibiotik sintetis (Azhar *et al.*, 2020). Penggunaan antibiotik tersebut dapat menimbulkan efek samping berupa timbulnya kekebalan mikroba patogen (Pratiwi, 2017). Oleh karenanya upaya untuk mencari sumber alami yang berkhasiat sebagai anti bakteri terus meningkat. Menurut Azhari *et al.*, (2022) penggunaan antibakteri yang bersifat alami dari tumbuhan lebih efisien digunakan untuk menanggulangi penyakit bakterial.

Metabolit sekunder dan senyawa fitokimia yang terkandung dalam tumbuhan seperti tanin, alkaloid, dan flavonoid yang memiliki sifat antibakteri (Saragih & Arsita, 2019). Beberapa ekstrak tumbuhan seperti rumput laut (*Gracilaria edulis*) (Sinurat *et al.*, 2019), akar saluang belum (*Lavanga sarmentosa*) (Maryani *et al.*, 2020), daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) (Oktaviani *et al.* 2019), dan manggis (*Gracinia mangostana*) (Maisyaroh *et al.*, 2018) terbukti efektif menghambat pertumbuhan sejumlah bakteri patogen meliputi *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus*.

Selain tanaman di atas, terdapat tanaman lain salah satu tanaman yang memiliki senyawa antibiotik yaitu daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*). Menurut Sungkar *et al.*, (2018) Mangrove (*Rhizophora mucronata*) merupakan

tanaman yang mengandung senyawa aktif antivirus, antibakteri dan anti jamur. Senyawa tersebut yaitu tanin, alkaloid, flavonoid, terpenoid dan saponin. Menurut Mile *et al.*, (2021) senyawa bioaktif yang teridentifikasi pada tanaman *Rhizophora mucronata* yaitu senyawa Flavonoid, Saponin, Tanin, Triterpenoid dan steroid serta senyawa fenol hidrokuinon

Penelitian yang dilakukan oleh Mahmiah *et al.*, (2020) membuktikan bahwa ekstrak kulit batang dari *Rhizophora mucronata* mempunyai sifat antimikroba terhadap *Salmonella typhi*. Penelitian lain yang dilakukan oleh Karundeng *et al.*, (2022) membuktikan bahwa ekstrak daun mangrove jenis ini mempunyai sifat antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

Pelarut yang digunakan juga memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam ekstraksi, perbedaannya dapat dilihat dari nilai kepolaran masing-masing senyawa kimia. Kepolaran suatu senyawa yang dikandungnya akan menentukan mudah atau tidaknya absorpsi senyawa ke dalam sel, bahan aktif yang memiliki daya larut yang tinggi pada pelarut polar akan lebih mudah untuk menembus fosfolipid membran sel sehingga akan lebih cepat mengganggu fungsi fisiologis bakteri yang akan mengakibatkan sel akan mengalami kematian. Sebagai contoh, fraksi etanol berperan dalam menarik senyawa senyawa kimia yang bersifat polar, n heksan menarik senyawa-senyawa bersifat non polar sedangkan etil asetat menarik senyawa semi polar (Fitriah *et al.*, 2017).

Hasil penelitian Yuliani (2019) menunjukkan bahwa ekstrak daun *Rhizophora mucronata* dengan pelarut etil asetat dan etanol efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli* yang ditandai dengan adanya zona hambat di sekitar kertas cakram. Menurut penelitian Manuhuttu *et al.*, (2021) ekstrak daun mangrove (*Sonneratia alba*) dengan pelarut metanol mempunyai kemampuan yang lebih besar dalam menarik senyawa aktif daun mangrove selama kajian antibakteri terhadap *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dibandingkan dengan pelarut etil asetat dan n heksan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetat daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) terhadap bakteri patogen pada ikan

I.2 Rumusan Masalah

Adapun yang menjadi rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi ekstrak pelarut terhadap zona hambat pada beberapa bakteri patogen ikan?
2. Bagaimana pengaruh waktu terhadap zona hambat pada beberapa bakteri patogen ikan ?
3. Bagaimana pengaruh ekstrak etil asetat daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) terhadap zona hambat pada beberapa bakteri patogen ikan?

I.3 Tujuan Penelitian

Adapun yang menjadi tujuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui kemampuan ekstrak pelarut terhadap zona hambat pada beberapa bakteri patogen ikan
2. Untuk mengetahui pengaruh waktu terhadap zona hambat terhadap bakteri patogen pada ikan.
3. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak etil asetat daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) terhadap zona hambat pada beberapa bakteri patogen ikan.

I.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) terhadap bakteri patogen ikan dan untuk menambah wawasan tentang penggunaan ekstrak daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) sebagai alternatif pengobatan selain menggunakan obat-obatan kimia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Deskripsi Tanaman Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*)

Rhizophora mucronata memiliki nama lokal seperti bakau, bakau kurap, bakau gundul, dan bakau bangko. Tanaman bakau termasuk ke dalam famili *rhizophoraceae* dan sering ditemukan pada daerah yang berpasir serta daerah pasang surut air. Tanaman ini memiliki kulit batang yang berwarna abu-abu hingga kehitaman, pohon yang muda berkulit keabu-abuan sedangkan pohon yang telah tua kulitnya akan berangsur-angsur menjadi hitam (Syah, 2020).

Bentuk akar menyerupai akar tunjang, yang berfungsi sebagai alat pernafasan karena mempunyai lentisel pada permukaan akarnya, akar tanaman bakau tumbuh menggantung dari bagian cabang terendah dari batang dan memiliki sel lilin yang mampu dilewati oleh oksigen namun tidak dapat ditembus oleh air. Tanaman ini memiliki daun memanjang, berwarna hijau dan mengkilap serta memiliki panjang tangkai 17-35 mm. Memiliki bunga yang berwarna kuning serta dikelilingi oleh kelopak yang berwarna kuning kecoklatan sampai kemerahan (Ariyanto, 2018).



Gambar II.1 Morfologi Tanaman *Rhizophora mucronata*
(Sumber:Sadeer *et al.*, 2019)

Klasifikasi tumbuhan bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) menurut Schoch *et al.*, (2020) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Mytales

Famili : Rhizophoraceae

Genus : *Rhizophora*

Spesies : *Rhizophora mucronata*

II.2 Kandungan Tanaman Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*)

Tumbuhan mangrove sering dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk berbagai penyakit seperti diabetes karena tumbuhan mangrove memiliki banyak kandungan kimia seperti golongan senyawa alkaloid, steroid, triterpenoid, senyawa fenol, carotenoid, stilben, flavonoid, tanin, asam amino, benzoquinone, kumarin, quinine, chalcon, senyawa lipid, phorbol ester, rotenone, polifenol, benzofuran, limonoid, sulfur alkaloid, procyanidin, antosianin, antosianidin, inositol, saponin, alkohol rantai panjang, gibberellin dan xiloccensins yang diduga bersifat sebagai anti diabetes (Sain *et al.*, 2020).

Tanaman bakau (*Rhizophora mucronata*) memiliki potensi antibakteri karena memiliki kandungan metabolit sekunder (bioaktif) seperti alkaloid, tannin, dan flavoid (Kurnianingsih *et al.*, 2020). Daun bakau kurap memiliki kandungan metabolit sekunder seperti fenol, alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, terpenoid, dan steroid (Akasia *et al.*, 2021). Menurut Ridlo *et al.*, (2017) daun bakau *Rhizophora mucronata* memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti klorofil karotenoid alkaloid fenolat dan tanin. Menurut hasil penelitian Lesdiani & Usman, (2021) bagian daun *Rhizophora mucronata* pada uji fitokimia menghasilkan pada metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, steroid, fenolik, dan saponin. Bagian tanaman *Rhizophora mucronata* yang lebih efektif digunakan sebagai ekstrak yaitu bagian daun.

II.3 Jenis Ekstraksi

Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif yang ada pada sampel suatu tanaman. Sedangkan ekstraksi merupakan

suatu proses pencarian zat aktif yang terdapat pada bagian tanaman yang bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat di dalamnya (Illing *et al.*, 2017). Beberapa jenis ekstraksi antara lain:

1. Maserasi

Metode ekstraksi maserasi dilakukan secara dingin, teknik maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengadukan atau pengocokan pada suhu ruang. Pelarut yang dipilih berdasarkan kelarutan dan kepolaran akan memudahkan pemisahan bahan alam dalam sampel, proses maserasi yang lama dan dalam keadaan diam selama proses maserasi akan menghasilkan lebih banyak senyawa yang akan terekstraksi. Kelebihan metode ini adalah sederhana, tidak memerlukan alat-alat yang rumit, relatif murah. Kelemahannya adalah dari segi waktu dan penggunaan pelarut yang tidak efektif dan efisien (Kiswando, 2017).

2. Sokletasi

Sokletasi adalah metode ekstraksi dengan menggunakan soklet dengan pemanasan, pada ekstraksi ini pelarut dan sampel ditempatkan secara terpisah. Prinsipnya adalah ekstraksi dilakukan secara terus-menerus menggunakan pelarut yang relatif sedikit. Bila ekstraksi telah selesai maka pelarut dapat diuapkan sehingga akan diperoleh ekstrak (Hasnaeni & Wisdawati, 2019).

3. Refluks

Proses ekstraksi refluks dilakukan dengan cara pemanasan, refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada titik didihnya selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut yang terbatas sehingga relatif konstan dan adanya pendingin balik. Metode refluks mempermudah cairan penyari menembus dinding sel simplisia dengan adanya pemanasan, simplisia mengalami pengembangan sehingga rongga-rongga selnya terbuka dengan demikian pelarut mudah mencapai zat aktif di dalam sel dan mempersingkat proses ekstraksi (Nugraheni *et al.*, 2017).

II.4 Pelarut Ekstraksi

Pelarut merupakan suatu zat yang digunakan untuk melarutkan zat lain atau zat terlarut yang berupa cairan, padatan atau gas yang berbeda sifatnya. Pelarut yang dipakai pada proses ekstraksi haruslah pelarut yang terbaik untuk mendapatkan zat aktif yang terkandung di dalam sampel tanaman. Keberhasilan

proses ekstraksi senyawa aktif dari bahan tanaman sangat tergantung pada jenis pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi (Tanod *et al.*, 2021). Etil asetat merupakan pelarut semi polar yang mudah menguap, tidak beracun. Etil asetat memiliki nilai polaritas 0,38 dan titik didih 77° C (Agustina *et al.*, 2018). Etil asetat merupakan pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan dan memiliki toksisitas rendah (Muthia *et al.*, 2018). Menurut Adhayanti *et al.*, (2018) Senyawa polar dan non polar akan terekstrak pada pelarut etil asetat. Etil asetat bekerja dengan cara menarik senyawa semi polar seperti fenol dan terpenoid.

II.5 Bakteri Patogen Ikan

Bakteri patogen ikan merupakan organisme penyebab penyakit yang menyerang pada ikan dan dapat menimbulkan kematian pada budidaya ikan (Pardamea *et al.*, 2021). Penyakit adalah salah satu faktor yang menyebabkan kematian pada ikan, terutama pada saat stadia benih, penyakit bisa disebabkan oleh patogen yang dibawa oleh ikan carier yang selanjutnya ditularkan pada ikan sehat (Andriyanto *et al.*, 2020). Menurut Rahayu *et al.*, (2019) salah satu penyakit yang paling bahaya yaitu infeksi oleh bakteri atau penyakit bakterial, biasanya kasus yang disebabkan oleh bakteri dapat menyebabkan kerugian pada proses budidaya akibat kematian massal, salah satu penyakitnya yaitu *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*.

II.5.1 Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Vibrio parahaemolyticus merupakan golongan bakteri Gram negatif, berbentuk basil (batang), anaerob fakultatif, tidak membentuk spora, bersifat motil dan tidak dapat memfermentasi sukrosa (Li *et al.*, 2019).

Berikut klasifikasi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*:

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Ordo : Vibrionales

Family : Vibrionaceae

Genus : *Vibrio*

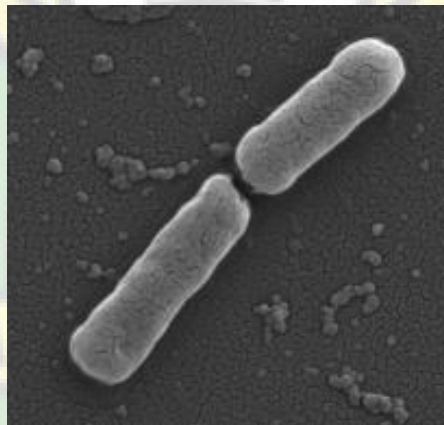
Species : *Vibrio parahaemolyticus* (Schoch *et al.*, 2020)



Gambar II.1 Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*
(Schoch *et al.*, 2020)

II.5.2 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan Gram negatif, berbentuk batang, anaerob fakultatif bakteri yang banyak ditemukan di lingkungan perairan. Beberapa spesies genus *Aeromonas* diketahui menyebabkan penyakit pada ikan budidaya air tawar disebut sebagai septikemia hemoragik, penyakit badan merah, dan sakit gembur-gembur (Mzula *et al.*, 2020).



Gambar II.2 Bakteri *Aeromydrophila*
(Panjaitan *et al.*, 2020)

Menurut Wulandari *et al.*, (2019) bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah bakteri Gram negatif dan bersifat patogen, bakteri ini menyerang ikan lele (*Clarias gariepinus*) hingga menyebabkan bercak merah pada bagian tubuh lele, biasanya gejala yang ditimbulkan oleh serangan *Aeromonas hydrophila* nafsu

makan menurun, terdapat luka pada permukaan tubuh, adanya pendarahan pada insang, dan pembengkakan cairan pada bagian perut. *Aeromonas hydrophila* memiliki susunan klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria

Filum : Protophyta

Kelas : Schizomycetes

Ordo : Pseudomonadeles

Family : Vibrionaceae

Genus : Aeromonas

Spesies : *Aeromonas hydrophila* (Schoch *et al.*, 2020)

II.5.3 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus tergolong bakteri Gram positif. Mempunyai bentuk sel seperti bola, berkelompok, bisa berantai pendek, mampu membelah diri dari satu bidang sehingga memperoleh suatu gerombolan tidak tersusun rapi dengan diameter 0,5–1,5 μm . *Staphylococcus aureus* memiliki lapisan peptidoglikan tebal (Karimela *et al.*, 2017). Menurut Diana *et al.*, (2018) ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) yang terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki perubahan tingkah laku seperti pergerakan renang yang lambat, berenang tidak beraturan, arah renang mendekati aerasi dan respon pemberian pakan yang menurun, sedangkan perubahan morfologi pada ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) seperti warna tubuh memudar, terjadi peradangan pada bagian *operculum* dan adanya luka dan pembengkakan pada bagian perut. Menurut Schoch *et al.*, (2020) klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu:

Kingdom : Bacteria

Filum : Firmicutes

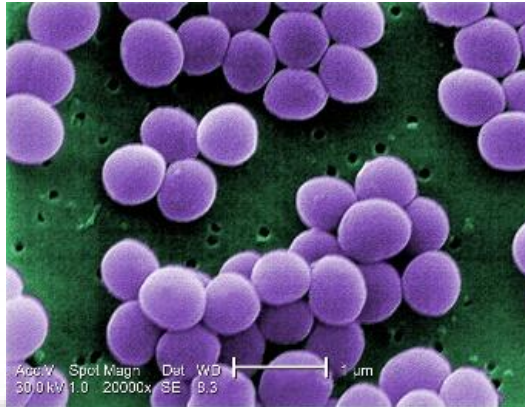
Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Famili : Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar II.3 Bakteri *Staphylococcus aureus*
(Schoch *et al.*, 2020)

II.6 Aktivitas Antibakteri

Antibakteri adalah suatu senyawa yang digunakan untuk menghambat bakteri. Mekanisme senyawa antibakteri secara umum dilakukan untuk menghambat kinerja enzim pada bakteri dan merusak sintesis protein. Senyawa yang dapat merusak dinding sel bakteri yaitu seperti fenol, flavonoid dan alkaloid (Septiani *et al.*, 2017). Menurut Mierza (2020) berdasarkan sifat toksisitas, aktivitas zat antibakteri dapat dibedakan menjadi bakteriostatik dan bakterisidal. Bakteriostatik merupakan antibakteri yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri sehingga jumlah sel bakteri yang hidup akan tetap sedangkan bakterisidal merupakan antibakteri yang mempunyai kemampuan untuk membunuh bakteri karena dihancurkan dinding sel.

Resiko terjadi resistensi antibakteri sangat sering terjadi sehingga dibutuhkan solusi untuk mencari obat alternatif yang aman, murah dan mudah untuk didapatkan sebagai pengganti antibiotik sintetis, penggunaan antibiotik sintetis yang terus menerus dapat menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan perairan, resistensi patogen, dan residu antibiotik sehingga penggunaannya menjadi tidak efektif. Senyawa bahan antibakteri untuk obat alternatif dapat didapatkan dari mikroba, tumbuh-tumbuhan dan hewan (Azhar *et al.*, 2022). Keuntungan menggunakan bahan alami sebagai antibiotik yaitu memiliki efek samping yang rendah apa dibandingkan dengan antibiotik yang sintetis (Nor *et al.*, 2018).

BAB III METODE PENELITIAN

III.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam bulan Oktober 2022 sampai November 2022. Sampel daun bakau kurap diambil dari Pantai Alue Naga, Kecamatan Syiah Kuala, Kota Banda Aceh. Penelitian dan preparasi sampel dilakukan pada Laboratorium Mikrobiologi Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry. Proses ekstraksi sampel dilakukan pada Laboratorium Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry.

III.2 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan sesuai dengan rincian kegiatan pada Tabel III.1 sebagai berikut:

Tabel III.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

No.	Kegiatan	Oktober				November			
		1	2	3	4	1	2	3	4
1.	Observasi								
2.	Penyiapan alat dan bahan								
3.	Pengambilan sampel								
4.	Pembuatan ekstrak daun								
5.	Isolasi bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>								
6.	Uji biokimia bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>								
7.	Uji aktivitas antibakteri								
8.	Analisis data								

III.3 Objek Penelitian

Objek pada penelitian ini adalah daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) yang diperoleh dari pesisir Pantai Alue Naga, Kecamatan Syiah Kuala, Kota Banda Aceh.

III.4 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah blender, *vacuum rotary evaporator*, mortal alu, vortex, lemari pendingin, oven, autoklaf, *Laminar Air Flow*, timbangan analitik, aluminium foil, botol kaca, gelas kimia, mikropipet, cawan petri, gelas ukur, tabung reaksi, lampu bunsen, jarum ose, Erlenmeyer, masker, sarung tangan, tisu, *cotton swab* steril, batang L dan kertas *wrap*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*), isolat bakteri *Aeromonas hydrophila*, isolat bakteri *Staphylococcus aureus*, etil asetat, aquades, media NA (*Nutrient Agar*), media MHA (*Mueller Hinton Agar*), larutan Mcfarlan 0.5, larutan *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO), NaCl 0,9 %, kloramfenikol dan kertas cakram.

III.5 Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian adalah metode kuantitatif untuk menghitung zona hambat yang terbentuk dari aktivitas ekstrak daun terhadap pertumbuhan bakteri patogen pada ikan.

III.6 Prosedur Kerja

III.6.1 Koleksi dan Preparasi Sampel Daun Bakau Kurap

Sebanyak 2 kg sampel daun bakau kurap dikoleksi dari pesisir Pantai Alue Naga, Banda Aceh untuk kemudian dicuci dan dipotong kecil-kecil. Selanjutnya sampel dikeringkan dengan diangin-anginkan pada suhu ruangan selama 7 hari sampai kering sempurna. Daun bakau kurap selanjutnya dihaluskan dengan blender dan disaring menggunakan ayakan hingga menghasilkan serbuk halus yang kemudian disimpan di dalam toples (Rohmah & Wulandari, 2019).

III.6.2 Maserasi dan Ekstraksi

Masing-masing sebanyak 200 gram daun bakau kurap yang sudah dihaluskan dimasukkan ke dalam tabung piala dan ditambahkan etil asetat sebanyak 2 L (perbandingan 1:10). Perendaman dilakukan selama 24 jam, filtrat dan residunya dipisahkan melalui penyaringan. Tahap perendaman dilakukan

selama 2 kali sampai filtratnya mendekati jernih. Filtrat hasil dari maserasi digabung dan diuapkan pelarutnya menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu mendekati titik didih sampai diperoleh ekstrak kental (Prasetya *et al.*, 2020).

III.6.3 Isolasi Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Isolasi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* diambil sampel kakap putih (*Lates calcarifer*) pada bagian yang sakit atau organ dalam dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi media *Peptone Water*, selanjutnya diinkubasi pada suhu 36 °C selama 18-24 jam. Inokulum tersebut kemudian diambil dengan menggunakan jarum ose selanjutnya digores pada media *Thiosulfate Citrate Bile Sucrose* (TCBS). Selanjutnya diinkubasi pada suhu 36 °C selama 24-48 jam. Koloni terpilih (koloni berwarna hijau atau hijau kebiruan) dimurnikan pada media TSA (Zaenuddin *et al.*, 2019). Pengamatan dilakukan secara langsung diidentifikasi (secara morfologi) antara lain pengamatan bentuk sel, warna koloni, ukuran koloni dan tipe koloni, elevasi, dan tekstur koloni. Selain itu, dengan pewarnaan Gram kemudian dilanjutkan proses identifikasi secara mikroskopis yaitu pengujian biokimia antara lain uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), uji Katalase, uji Oksidase, uji *Metil Red*, uji *Voges Proskauer* dan uji Motil (Zamrud *et al.*, 2017).

III.6.4 Uji Biokimia Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Uji biokimia yang dilakukan antara lain uji Gram, uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), uji Katalase, uji indol, uji *Metil Red* (MR), dan uji Motil.

III.6.4.1 Uji Gram

Uji Gram dilakukan menggunakan metode pewarnaan, isolat diambil menggunakan jarum ose kemudian digoreskan pada kaca benda secara halus tidak terlalu tebal kemudian difiksasi di atas api lalu ditetaskan kristal violet selama 1 menit lalu dibilas menggunakan air mengalir secara perlahan-lahan, selanjutnya ditetaskan lugol iodin dan didiamkan selama ± 1 menit dan dibilas menggunakan aquades, kemudian preparat ditetesi alkohol tetes demi tetes dan dibilas selanjutnya diberi pewarna safranin dan dibiarkan selama $\pm 1-2$ menit lalu dibilas. Tahap terakhir preparat dikeringanginkan dan kemudian diamati di bawah mikroskop. Bakteri yang teridentifikasi bakteri Gram positif berwarna ungu dan Gram negatif berwarna merah. Diamati pula ukuran dan bentuk dari sel bakteri tersebut apakah bulat (*coccus*), batang (*basil*), atau bergelombang (*spiral*) (Panjaitan *et al.*, 2020).

III.6.4.2 Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Satu koloni bakteri diinokulasikan pada media TSIA dengan ditusuk tegak lurus pada bagian dasar dan cara *zig zag* pada bagian miring. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan di amati perubahan warna media. Apabila pada bagian media berwarna merah dan butt berwarna kuning, maka bakteri mampu memfermentasi glukosa. Apabila pada bagian miring dan dasar media berwarna kuning, maka bakteri mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa. Kemudian diamati pada bagian dasar dan miring apabila berwarna hitam maka terjadi pembentukan H₂S (Ismail *et al.*, 2017).

III.6.4.3 Uji Katalase

Isolat bakteri stok kultur diambil sebanyak satu ose. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes reagen H₂O₂ pada preparat. Hasil positif apabila terbentuk gelembung gas, dan hasil negatif apabila tidak terbentuk gelembung gas (Kosasi *et al.*, 2019)

III.6.4.4 Uji Motilitas

Uji motilitas dilakukan dengan memasukkan satu koloni isolat bakteri ke dalam media SIM kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C. Pertumbuhan bakteri di sekitar tusukan menunjukkan hasil uji negatif sedangkan pertumbuhan bakteri yang menyebar pada media menunjukkan hasil uji positif (Panjaitan *et al.*, 2020).

III.6.4.5 Uji *Methyl Red* (MR)

Satu koloni isolat bakteri diinokulasi ke dalam media MR dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pengamatan uji MR dilakukan dengan menambahkan tiga tetes reagen MR ke dalam media. Uji positif ditandai dengan perubahan warna media menjadi merah, artinya terbentuk asam (Kursia *et al.*, 2021).

III.6.4.6 Uji Indol

Bakteri diinokulasikan pada media SIM dalam tabung reaksi dengan ose pada media dengan cara dimasukkan hingga setengah media pada tabung reaksi. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Uji Indol akan terbentuk lapisan (cincin) berwarna merah pada permukaan biakan setelah penambahan reagen kovacs (Gunawan *et al.*, 2022)

III.6.5 Isolat dan Suspensi Bakteri

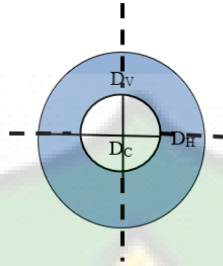
Isolat Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Aeromonas hydrophila* diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau Ujung Batee Aceh Besar dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala sedangkan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* berasal dari Laboratorium Multi Fungsi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry. Bakteri uji dikultur pada media Nutrient Agar dan diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam. Selanjutnya bakteri dipanen dan ditambahkan dalam larutan fisiologis (NaCl 0,9 %) sampai diperoleh kekeruhan sesuai standar kekeruhan larutan Mc Farland 0,5 (Bawondes *et al.*, 2021).

III.6.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram (Nugraha *et al.*, 2017). Secara singkat, ekstrak kental bakau kurap diencerkan menggunakan *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) menjadi beberapa konsentrasi yaitu 20%, 30%, dan 40% sebanyak 10 ml (Mahmiah *et al.*, 2020). Aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan *cakram disc*. Dilakukan penggosokan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang telah disuspensi dengan menggunakan *cotton bud* steril pada media MHA. Hal tersebut juga dilakukan pada perlakuan bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Staphylococcus aureus* pada cawan yang berbeda. Untuk kontrol positif digunakan kloramfenikol dan untuk kontrol negatif menggunakan aquades (Rochmawati *et al.*, 2018). Selanjutnya kertas cakram diletakkan di atas permukaan media dan ditetesi dengan konsentrasi ekstrak yang telah diencerkan sebelumnya sebanyak 40 µl pada masing-masing kertas cakram, perlakuan tersebut dilakukan sebanyak 5 kali ulangan (Supono *et al.*, 2019).

Selanjutnya cawan diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 48 jam (Rahman *et al.*, 2017). Zona hambat/bening dari masing-masing ekstrak daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) terhadap untuk setiap bakteri diukur menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,01 mm. Pengukuran dilakukan pada, 24 jam dan 48 jam (Indarto *et al.*, 2019).

Pengukuran diameter zona hambat dapat diukur dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Sari *et al.*, 2019) :



Rumus zona hambat :

$$\frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$$

Keterangan :

- : Zona Hambat
- D_V** : Diameter Vertikal
- D_H** : Diameter Horizontal
- D_C** : Diameter Cakram

Tabel III.2 Kategori Zona Hambat

Diameter	Kekuatan zona hambat
≤ 5 mm	Lemah
6–10 mm	Sedang
11–20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat Kuat

Sumber: A'lana *et al.*, (2017)

III.7 Analisis Data

Data dianalisis menggunakan SPSS dengan dilakukan pengujian T-test dan ANOVA LSD (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui pengaruh Konsentrasi ekstrak dengan pelarut yang berbeda dan waktu yang berbeda

terhadap zona hambat (bening) yang dihasilkan oleh masing-masing bakteri dan data disajikan dalam bentuk rata-rata dan standar deviasi (Pavesi *et al.*, 2018).



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

IV.1.1 Maserasi dan Ekstraksi

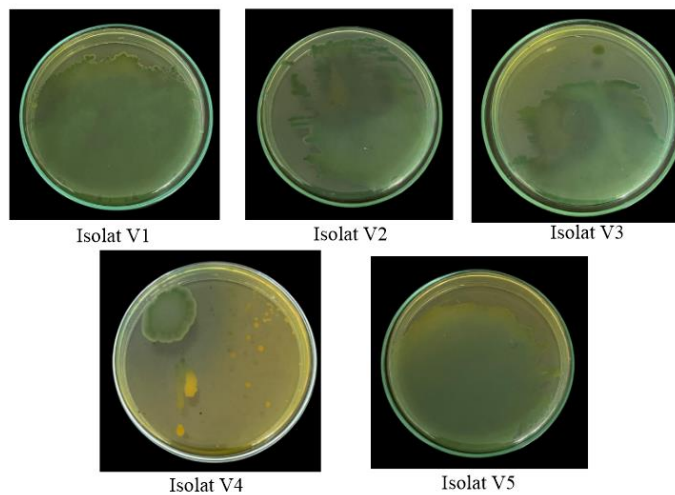
Proses maserasi 200 g daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) dengan menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 2 liter menghasilkan ekstrak etil asetat sebanyak 22,49 gram yang berbentuk pasta berwarna hijau kehitaman dengan kadar rendemen 12,24 %. Selanjutnya, hasil ekstraksi pelarut etil asetat dapat dilihat pada Tabel IV.1

Tabel IV.1 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Bakau Kurap

Sampel	Bobot Serbuk Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)	Standar Rendemen
Daun bakau kurap (<i>Rhizophora mucronata</i>)	200	22,49	12,24	Baik

IV.1.2 Hasil Isolasi Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Isolasi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* pada ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) dengan menggunakan media *Thiosulfate Citrate Bile Sucrose* (TCBS) didapatkan 5 isolat yang berbentuk bulat, tepian bulat, elevasi timbul datar dan berwarna hijau yang selanjutnya dapat dilihat pada Gambar IV.1.



Gambar IV.1 Hasil Isolasi Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Hasil uji biokimia bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dapat dilihat pada Tabel IV.2

Tabel IV.2 Hasil uji biokimia bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Kode Isolat	Bentuk Sel	Gram	Glukosa	Sukrosa	Laktosa	Katalase	Indol	Metil Red	Motil	Bakteri
V1	Bulat	-	+	-	-	+	-	+	+	<i>Vibrio sp. 1</i>
V2	Bulat	-	+	+	+	+	-	-	+	<i>Vibrio sp. 2</i>
V3	Bulat	-	-	-	-	+	+	-	+	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
V4	Bulat	-	+	+	+	+	+	-	+	<i>Vibrio sp. 3</i>
V5	Bulat	-	-	-	-	+	-	-	+	<i>Vibrio sp. 4</i>

Keterangan:

V = *Vibrio parahaemolyticus*

+ = Positif

- = Negatif

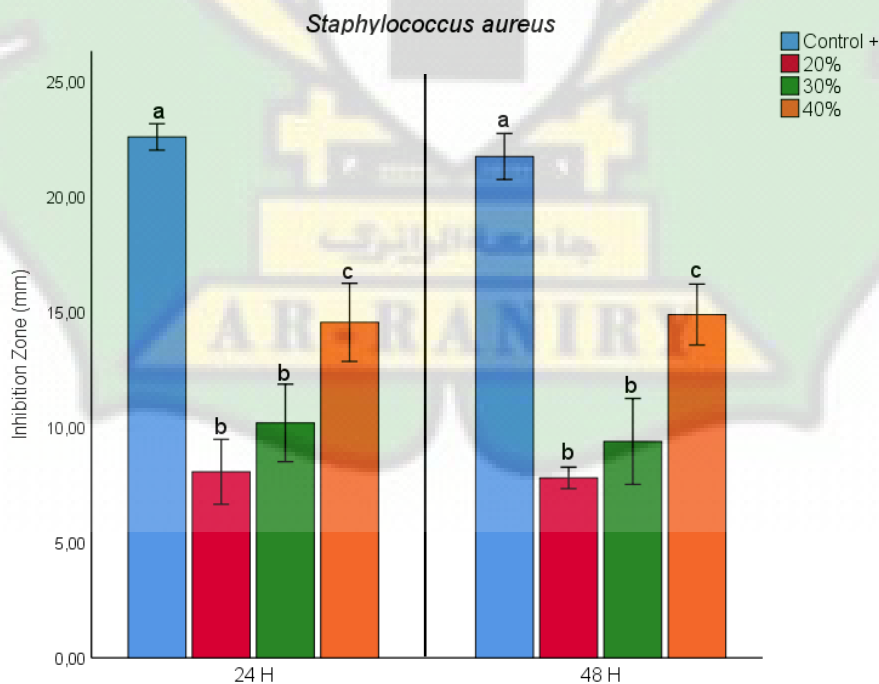
IV.1.3 Uji Aktivitas Bakteri Patogen Ikan

Uji aktivitas bakteri yang telah dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan perlakuan kontrol positif dan konsentrasi yaitu 20%, 30%, dan

40% menghasilkan zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 dan *Vibrio parahaemolyticus*.

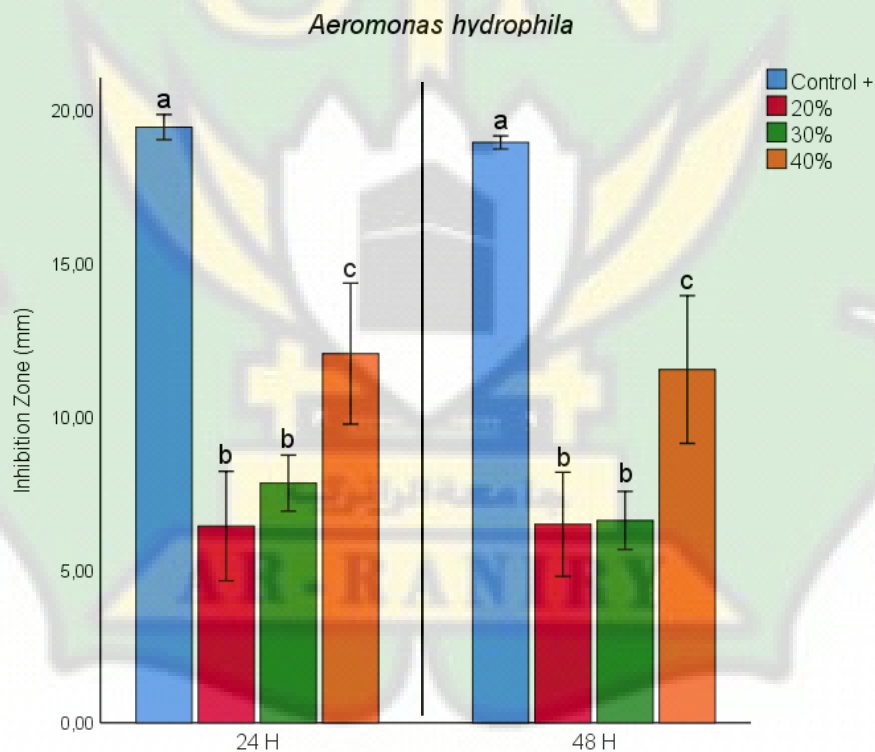
IV.1.3.1 Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Terhadap Zona Hambat pada Beberapa Bakteri Patogen Ikan

Pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang dilakukan selama 24 jam menghasilkan nilai 0 (Kontrol -), 22,41±0,63 (kontrol +), 8,30±1,33 (konsentrasi 20%), 9,91±1,56 (konsentrasi 30%), dan 14,55±1,69 (konsentrasi 40%). Selanjutnya, hasil yang dilakukan dengan waktu 48 jam menghasilkan nilai 0 (Kontrol -), 22,21±1,00 (kontrol +), 7,57±1,39 (konsentrasi 20%), 9,43±1,75 (konsentrasi 30%), dan 15,07±1,13 (konsentrasi 40%). Dari hasil tersebut menunjukkan adanya peningkatan pada setiap konsentrasi baik pada waktu 24 jam ataupun 48 jam. Berdasarkan hasil analisis statistik, kelompok yang menunjukkan pengaruh signifikan yaitu kontrol + dan konsentrasi 40% sedangkan untuk konsentrasi 20% dan 30% tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan. Pengaruh konsentrasi pelarut terhadap zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 selanjutnya dapat dilihat pada Gambar IV.2



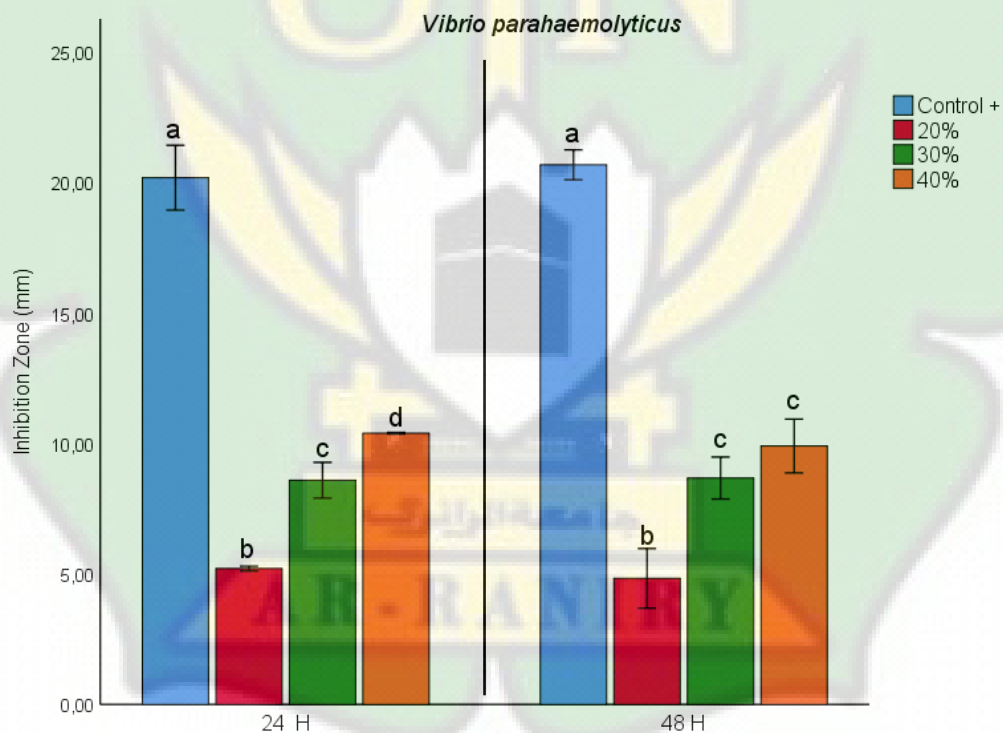
Gambar IV.2 Pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap zona hambat bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 yang telah dilakukan selama 24 jam menghasilkan nilai 0 (Kontrol -), 19,01±0,64 (kontrol +), 5,92±1,76 (konsentrasi 20%), 7,41±1,17 (konsentrasi 30%) dan 12,04±1,87 (konsentrasi 40%). Selanjutnya, hasil yang dilakukan selama 48 jam yaitu 0 (Kontrol -), 18,49±0,66 (kontrol +), 6,02±1,65 (konsentrasi 20%), 5,89±1,20 (konsentrasi 30%), dan 11,53±1,96 (konsentrasi 40%). Dari hasil tersebut menunjukkan adanya peningkatan pada setiap konsentrasi baik pada waktu 24 jam ataupun 48 jam. Berdasarkan hasil analisis statistik kelompok yang menunjukkan pengaruh signifikan ($p < 0,05$) yaitu kontrol + dan konsentrasi 40% sedangkan untuk konsentrasi 20% dan 30% tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan. Pengaruh konsentrasi pelarut terhadap zona hambat bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 selanjutnya dapat dilihat pada Gambar IV.3.



Gambar IV.3 Pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap zona hambat bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966

Pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap zona hambat bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang dilakukan selama 24 jam menghasilkan nilai 0 (Kontrol -), 20,23±0,91 (kontrol +), 5,26±0,10 (konsentrasi 20%), 9,46±1,56 (konsentrasi 30%), dan 11,24±0,96 (konsentrasi 40%). Pada waktu 48 jam menghasilkan nilai 0 (Kontrol -), 20,86±0,41 (kontrol +), 5,74±0,13 (konsentrasi 20%), 9,35±1,28 (konsentrasi 30%), dan 9,76±0,62 (konsentrasi 40%). Dari hasil tersebut menunjukkan adanya peningkatan pada setiap konsentrasi baik pada 24 jam ataupun 48 jam. Berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan pengaruh signifikan ($p < 0,05$) pada setiap konsentrasi pada 24 jam sedangkan pada waktu 48 jam, konsentrasi 20% dan 30% yang hanya menunjukkan pengaruh yang signifikan. Pengaruh konsentrasi pelarut terhadap zona hambat bakteri *Vibrio parahaemolyticus* selanjutnya dapat dilihat pada Gambar IV.4.



Gambar IV.4 Pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap zona hambat bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

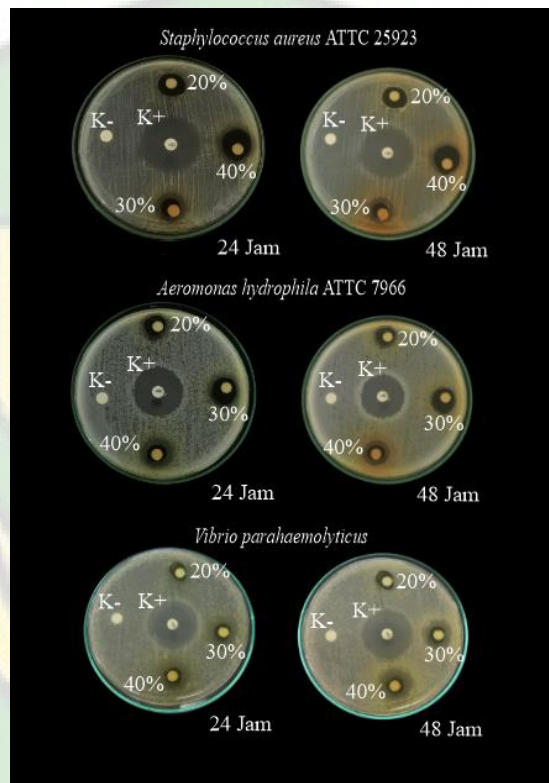
1.3.2 Tabel Pengaruh Waktu Terhadap Zona Hambat Beberapa Jenis Bakteri Patogen Ikan

Pengaruh waktu inkubasi 24 jam dan 48 jam terhadap zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 dan *Vibrio parahaemolyticus* menghasilkan perbedaan nilai. Waktu yang dilakukan selama 48 jam di setiap kelompok konsentrasi mengalami penurunan dibandingkan dengan waktu yang dilakukan selama 24 jam. Analisis statistik *T-Test* dengan konsentrasi 40% pada bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 memiliki pengaruh waktu yang signifikan dengan nilai $p < 0,005$ dibandingkan dengan kelompok konsentrasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Vibrio parahaemolyticus*. Selanjutnya, dapat dilihat hasilnya pada Tabel IV.3. Pengaruh waktu inkubasi 24 jam dan 48 jam terhadap zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 dan *Vibrio parahaemolyticus* dapat dilihat pada Gambar IV.5.

Tabel IV.3 Pengaruh Waktu Terhadap Zona Hambat Bakteri Patogen Ikan

Bakteri	Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)		Kriteria	Sig. T- test
		24 Jam	48 Jam		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Kontrol -	0	0	Tidak Ada	0
	Kontrol +	22,41±0,63	22,21±1,00	Sangat Kuat	0,761
	20%	8,30±1,33	7,57±1,39	Sedang	0,072
	30%	9,91±1,56	9,43±1,75	Sedang	0,148
	40%	14,55±1,69	15,07±1,13	Kuat	0,572
<i>Aeromonas hydrophila</i> ATCC 7966	Kontrol -	0	0	Tidak Ada	0
	Kontrol +	19,01±0,64	18,49±0,66	Kuat	0,065
	20%	5,92±1,76	6,02±1,65	Sedang	0,262
	30%	7,41±1,17	5,89±1,20	Sedang	0,060
	40%	12,04±1,87 ^a	11,53±1,96 ^b	Kuat	0,015 [*]
<i>Vibrio</i>	Kontrol -	0	0	Tidak	0

<i>parahaemolyticus</i>					
	Kontrol +	20,23±0,91	20,86±0,41	Kuat	0,213
	20%	5,26±0,10	5,74±0,13	Sedang	0,891
	30%	9,46±1,56	9,35±1,28	Sedang	0,876
	40%	11,24±0,96	9,76±0,62	Kuat	0,107



Gambar IV.5 Hasil uji aktivitas ekstrak etil asetat daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) terhadap beberapa bakteri patogen ikan

IV.1.3.3 Pengaruh Ekstrak Etil Asetat Daun Bakau Kurap (*Rhizophora mucronata*) Terhadap Zona Hambat Pada Beberapa Bakteri Patogen Ikan

Pengaruh ekstrak etil asetat daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) terhadap zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 dan *Vibrio parahaemolyticus* yang dilakukan selama 24 jam menghasilkan perbedaan nilai setiap perlakuannya. Nilai pada perlakuan

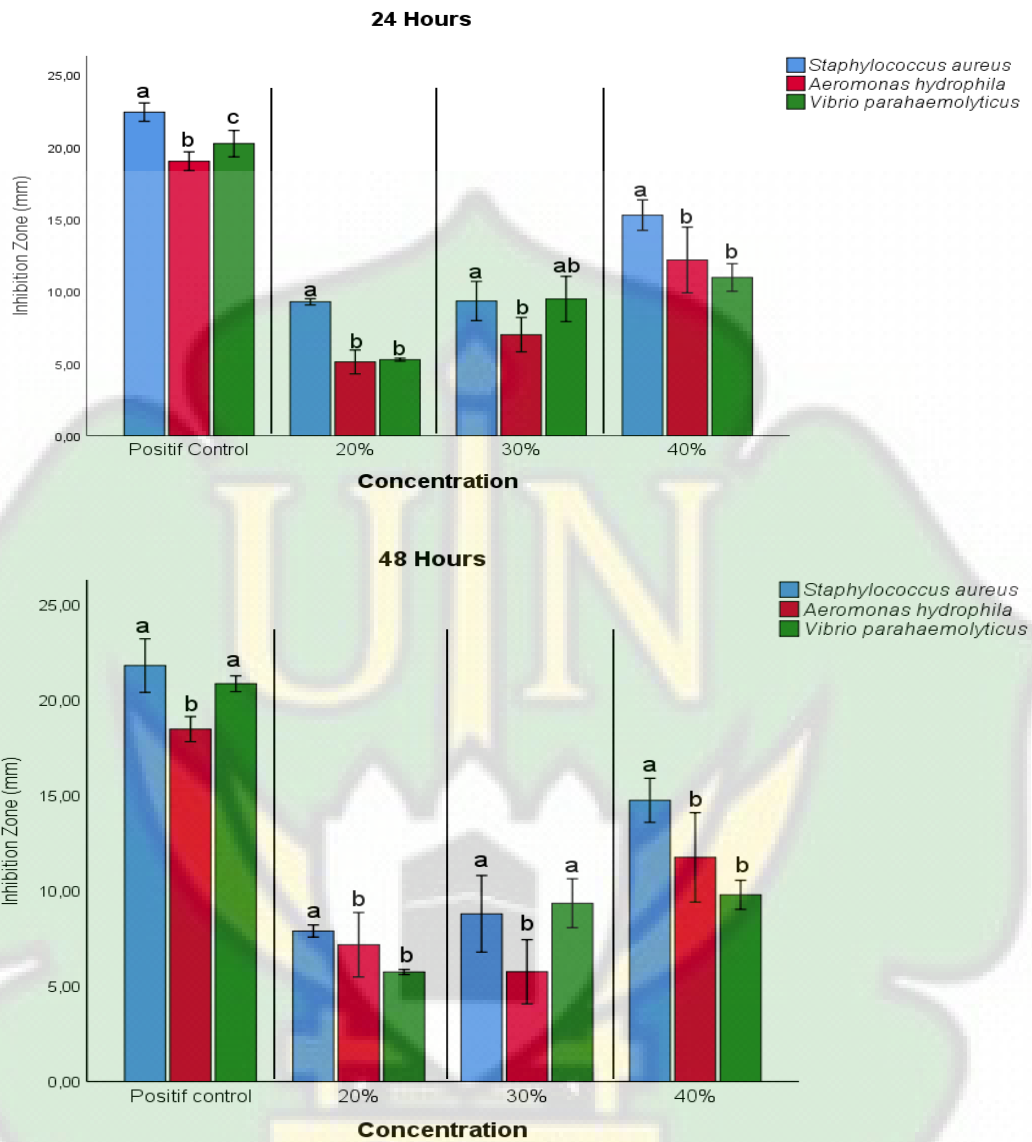
dengan kontrol positif dan konsentrasi 40% lebih dominan dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi 20% dan 30%. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 merupakan bakteri terbaik dengan nilai tertinggi setiap perlakuan dibandingkan *Aeromonas hydrophila* 7966 dan *Vibrio parahaemolyticus*. Pada perlakuan kontrol positif, konsentrasi 20%, dan konsentrasi 40% menunjukkan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 terjadinya pengaruh signifikan pada bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 dan *Vibrio parahaemolyticus*. Namun, hasil pada konsentrasi 30% bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 hanya signifikan terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 tidak pada bakteri *Vibrio parahaemolyticus*.

Selanjutnya, bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 menunjukkan pengaruh signifikan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan perlakuan kontrol positif, konsentrasi 20%, konsentrasi 30% dan konsentrasi 40%. Pengaruh signifikan ($p < 0,05$) bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* hanya terjadi pada perlakuan kontrol positif namun tidak pada perlakuan lainnya. Kemudian pengaruh ekstrak etil asetat daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) terhadap zona hambat bakteri *Vibrio parahaemolyticus* menghasilkan pengaruh signifikan ($p < 0,05$) pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 di perlakuan kontrol positif, konsentrasi 20%, dan konsentrasi 40% tetapi tidak pada konsentrasi 30%. Pengaruh signifikan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 hanya terjadi pada perlakuan kontrol positif.

Pengaruh ekstrak etil asetat daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) terhadap zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 dan *Vibrio parahaemolyticus* yang dilakukan selama 48 jam menghasilkan perbedaan nilai setiap perlakuannya. Nilai pada perlakuan kontrol positif lebih tinggi dibandingkan konsentrasi 20%, konsentrasi 30% dan konsentrasi 40%. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 merupakan bakteri terbaik dengan nilai tertinggi pada perlakuan kontrol positif dan konsentrasi 40% dibandingkan bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 dan *Vibrio parahaemolyticus*. Pengaruh signifikan ($p < 0,05$) bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 terjadi pada

semua perlakuan namun pada bakteri *Vibrio parahaemolyticus* pengaruh signifikan hanya ada di perlakuan konsentrasi 20% dan 40%.

Selanjutnya, bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 menunjukkan pengaruh signifikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan semua perlakuan. Pengaruh signifikan bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 pada bakteri *Vibrio parahaemolyticus* hanya terjadi pada perlakuan kontrol positif dan konsentrasi 30% namun tidak pada perlakuan lainnya. Kemudian pengaruh ekstrak etil asetat daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) terhadap zona hambat bakteri *Vibrio parahaemolyticus* menghasilkan pengaruh signifikan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 di perlakuan konsentrasi 20%, dan konsentrasi 40% tetapi tidak pada perlakuan lainnya. Pengaruh signifikan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 hanya terjadi pada perlakuan kontrol positif dan konsentrasi 30% dan tidak pada perlakuan lainnya. Pengaruh ekstrak etil asetat daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) terhadap zona hambat pada beberapa bakteri yang dilakukan selama 24 jam dan 48 jam dapat dilihat pada Gambar IV.6.



Gambar IV.6 Perbandingan zona hambat bakteri pada pengaruh setiap perlakuan

IV.2 Pembahasan

Rhizophora mucronata merupakan salah satu spesies mangrove yang memiliki sifat antibakteri, antivirus dan anti jamur. Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat atau membunuh bakteri dengan penyebab infeksi. Infeksi disebabkan oleh bakteri atau mikroorganisme yang patogen, dimana mikroba masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak di dalam jaringan (Muharni *et al.*, 2017). Ekstraksi daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) menggunakan pelarut etil asetat. Konsentrasi ekstrak etil asetat daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966, memiliki hasil yang terus meningkat terutama pada kontrol positif dan konsentrasi 40%. Pada konsentrasi 20% dan 30% bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap zona hambat. Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* terjadinya pengaruh yang signifikan ($P > 0,005$) pada konsentrasi 20% dan 30%, namun tidak adanya pengaruh yang signifikan untuk konsentrasi 30% dan 40%.

Hasil penelitian Trisia *et al.*, (2018) diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* untuk konsentrasi ekstrak etanol daun kalanduyung (*Guazuma ulmifolia* Lam.) konsentrasi 20% tidak memiliki perbedaan bermakna dengan konsentrasi 40%, tetapi terdapat perbedaan bermakna pada konsentrasi 60%, 80%, kontrol positif, dan kontrol negatif. Untuk konsentrasi 40%, tidak memiliki perbedaan bermakna dengan konsentrasi 20% dan 60%, tetapi berbeda bermakna dengan konsentrasi 60%, 80%, kontrol positif, dan kontrol negatif. Konsentrasi 60% tidak memiliki perbedaan bermakna dengan konsentrasi 40%, namun berbeda bermakna dengan konsentrasi 20%, 80%, dan seluruh kontrol. Sedangkan konsentrasi 80% berbeda bermakna dengan semua konsentrasi, baik 20%, 40%, 60%, dan seluruh kontrol. Hasil penelitian Sungkar *et al.*, (2018) uji bioaktivitas bedak yang diperkaya dengan konsentrasi ekstrak buah *Rhizophora mucronata* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diperoleh luas zona hambat untuk bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 60% sebesar 12,43 mm, konsentrasi 40% sebesar 7,67 mm, dan konsentrasi 10% sebesar 3,63 mm. Sedangkan bakteri *Escherichia coli* diperoleh

luas zona hambat untuk konsentrasi 60% sebesar 12,45 mm, konsentrasi 40% sebesar 6,67 mm, konsentrasi 10% sebesar 3,13 mm dan kontrol positif (aquades) sebesar 0,15 mm. Berdasarkan hasil ini dapat dikatakan bahwa konsentrasi ekstrak buah yang memiliki daya hambat terbesar yaitu pada konsentrasi 60% dengan luas zona hambat sebesar 12,43 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan 12,45 mm pada bakteri *Escherichia coli*.

Menurut Afifi dan Erlin (2017) konsentrasi zat anti mikroba mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dimana konsentrasi yang lebih besar akan menyebabkan jumlah kematian yang lebih besar terhadap mikroba. Sehingga, konsentrasi berbeda akan memperlihatkan zona hambat yang berbeda pada masing-masing pertumbuhan mikroba. Efektivitas zat antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat. Peningkatan konsentrasi zat menyebabkan peningkatan kandungan senyawa aktif antibakteri sehingga kemampuannya dalam membunuh bakteri juga semakin meningkat (Mufti *et al.*, 2017). Menurut hasil penelitian Lestari *et al.*, (2020) peningkatan zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* sejalan dengan peningkatan konsentrasi propolis. Perbedaan pengaruh konsentrasi propolis sebagai perlakuan, pada bakteri uji *S. aureus* (Gram positif) maka dapat dikatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi propolis yang diberikan akan semakin besar pula zona hambat pertumbuhan bakteri uji yang terbentuk. Penelitian yang dilakukan oleh Syafitri *et al.*, (2020) membuktikan bahwa fitokimia ekstrak etanol daun mangrove *Sonneratia alba* mengandung tanin, steroid, alkaloid, flavonoid, dan saponin. Aktivitas antibakteri menghasilkan bahwa ekstrak daun *S. alba* memiliki potensi dalam mengendalikan pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* dengan zona bening terbesar yaitu 15,67 mm pada perlakuan dosis 10.000 mg/L.

Perhitungan zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 dan *Vibrio parahaemolyticus* dilakukan selama 24 jam dan 48 jam. Secara dominan tidak terdapat pengaruh waktu yang signifikan ($P < 0,005$) pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Vibrio parahaemolyticus*. Pada bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 terjadinya pengaruh yang signifikan pada konsentrasi 40% dengan terjadi penurunan zona hambat. Menurut hasil penelitian Septiani *et al.*, (2017) lama

inkubasi yang berbeda menghasilkan aktivitas antibakteri yang berbeda pula. Ekstrak lamun dengan inkubasi 48 jam pada konsentrasi 15% mempunyai daya hambat yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lain (24 jam dan 72 jam). Semakin lama proses inkubasi, maka diameter zona hambatnya akan semakin luas. Hal ini karena senyawa aktif yang ada di dalam ekstrak tersebut akan semakin meningkat dan memberikan zona hambat yang semakin luas seiring bertambah lamanya inkubasi. Namun, selanjutnya kecepatan pembentukan zona hambat akan melambat karena ekstrak akan mengalami penurunan jumlah kandungan senyawa aktif (Fransisca., 2020).

Ekstrak etil asetat daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) memberikan hasil zona hambat tertinggi pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dibandingkan dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 dan *Vibrio parahaemolyticus* pada waktu 24 jam. Namun, pada waktu 48 jam konsentrasi 30% zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 hampir seimbang dengan bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Hasil zona hambat terendah terdapat pada bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 dan *Vibrio parahaemolyticus* tergantung pada waktu dan konsentrasi. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 merupakan kelompok bakteri Gram positif. Menurut Septiani *et al.*, (2017) Gram positif memiliki struktur dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat). Asam teikoat merupakan polimer yang larut dalam air, yang berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar atau masuk. Karena sifat larut air inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel bakteri Gram positif bersifat lebih polar. Senyawa flavonoid dan tanin merupakan bagian yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar dari pada lapisan lipid yang non polar. Hal tersebut menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri Gram positif lebih besar dari pada bakteri Gram negatif.

Menurut hasil penelitian Renaldi *et al.*, (2022) kombucha bunga telang memiliki diameter tertinggi yaitu pada bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan 3 uji bakteri lainnya yaitu *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Hasil yang diperoleh dapat

diindikasikan bahwa kombucha bunga telang berpotensi sebagai antibakteri Gram positif lebih tinggi jika dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Adanya kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri dan ragi pada kombucha lebih berpotensi sebagai antibakteri pada bakteri Gram positif dibandingkan dengan bakteri Gram negatif.

Hasil penelitian Ma'ruf *et al.*, (2022) nilai rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan dari fermentasi kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea* L) adalah 23,83 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus*, 22,4 mm pada bakteri *Staphylococcus epidermidis*. 21,46 mm pada bakteri *Listeria monocytogenes*. 21,46 mm pada bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. 21,44 mm. 21.30 mm pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. 21,29 mm pada bakteri *Escherichia coli*. 21,28 mm pada bakteri *Salmonella thypi* maupun *Klebsiella pneumoniae*. Hasil penelitian Abdilah *et al.*, (2022) Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula aren 20% adalah 17,13 mm dengan kategori kuat, fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula aren 30% adalah 19,49 mm dengan kategori kuat, dan fermentasi kombucha bunga telang dengan konsentrasi larutan gula aren 40% adalah 23,63 mm dengan kategori sangat kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus*, kombucha bunga telang memiliki diameter tertinggi yaitu pada bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan 3 uji bakteri lainnya yaitu *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*.

Bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 dan *Vibrio parahaemolyticus* merupakan kelompok bakteri Gram negatif. Menurut Muharni *et al.*, (2017) Kelompok bakteri Gram negatif mempunyai sifat kurang rentan terhadap beberapa antibiotik. Hal ini dikarenakan struktur dinding sel bakteri Gram negatif relatif lebih kompleks dan berlapis tiga dimana lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa lipopolisakarida, dan lapisan dalam berupa peptidoglikan. Perbedaan aktivitas hambatan bakteri masing-masing ekstrak juga dipengaruhi oleh komposisi senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Menurut Hanapi *et al.*, (2019) ekstrak etil asetat baik pada akar maupun daun mengandung senyawa flavonoid, steroid, terpenoid dan tanin. Senyawa flavonoid mampu merusak dinding sel sehingga menyebabkan kematian sel, dimana flavonoid

mempunyai aktivitas antibakteri dengan cara mengganggu fungsi metabolisme mikroorganisme dengan merusak dinding sel dan mendenaturasi protease sel mikroorganisme. Selain flavonoid, kandungan senyawa lain seperti senyawa tanin juga dapat merusak membran sel. Senyawa tanin dapat merusak pembentukan konidia bakteri. Tingginya kerapatan sel bakteri kemungkinan juga mempengaruhi kerja zat aktif antibakteri yang terkandung dalam masing-masing ekstrak.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Konsentrasi ekstrak etil asetat daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 dan *Vibrio parahaemolyticus* memiliki hasil yang terus meningkat terutama pada kontrol positif dan konsentrasi 40%.
2. Secara dominan tidak terdapat pengaruh waktu yang signifikan ($P < 0,005$) pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Vibrio parahaemolyticus*. Pada bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 terjadinya pengaruh yang signifikan pada konsentrasi 40% dengan terjadi penurunan zona hambat
3. Ekstrak etil asetat daun bakau kurap (*Rhizophora mucronata*) memberikan hasil zona hambat tertinggi pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dibandingkan dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 dan *Vibrio parahaemolyticus* pada waktu 24 jam. Namun, pada waktu 48 jam konsentrasi 30% zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 hampir seimbang dengan bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Hasil zona hambat terendah terdapat pada bakteri *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 dan *Vibrio parahaemolyticus* tergantung pada waktu dan konsentrasi

V.2 Saran

Perlu dilakukan uji lanjutan mengenai konsentrasi hambat minimum (KHM), uji lanjutan menggunakan jenis pelarut yang berbeda, uji lanjutan pengaplikasian pada ikan yang terserang bakteri patogen dengan dosis dan waktu pemberian yang sesuai.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdilah, N. A., Rezaldi, F., Kusumiyati, K., Sasmita, H., & Somantri, U. W. (2022). Aktivitas Antibakteri Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) yang Difermentasi dengan Gula Aren pada Konsentrasi Berbeda. *Tirtayasa Medical Journal*, 1(2), 29-39. E-ISSN: 2809-5111 DOI: [http:// dx. doi. org/10.52742/tmj.v1i2.15139](http://dx.doi.org/10.52742/tmj.v1i2.15139)
- A'iana, L. L., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2017). Penentuan Nilai FICI Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe vera* L) dan Gentamisin Sulfat terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(3), 132-142. ISSN: 2407-2354.
- Afifi, R., & Erlin, E. (2018). Uji Anti Bakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L) Terhadap Zona Hambat Bakteri Jerawat *Propionibacterium acnes* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*, 17(2), 321-330. <https://bit.ly/3hnmSvc>.
- Agustina, E., Andiarna, F., Lusiana, N., Purnamasari, R., & Hadi, M. I. (2018). Identifikasi Senyawa Aktif Dari Ekstrak Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) dengan Perbandingan Beberapa Pelarut pada Metode Maserasi. *Biotropic The Journal Of Tropical Biology*, 2(2), 108-118. E-ISSN: 2580-5029.
- Akasia, A. I., Putra, D. N., & Putra, I. G. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora mucronata* dan *Rhizophora apiculata* yang Dikoleksi dari Kawasan Mangrove Desa Tuban, Bali. *Journal Of Marine Research And Technology*, 4(1), 16-22. ISSN: 2621-0096.
- Andriyanto, S., Novita, H., Lusiastuti, A. M., & Taukhid, T. (2020). Identifikasi Bakteri Patogen dan Parasit Penyebab Penyakit pada Ikan Toman (*Channa micropeltes*). *Media Akuakultur*, 15(1), 39-46. P-ISSN: 1907-6762, E-ISSN: 2502-9460.
- Ariyanto, D., 2018. Stomata Dynamic on All Types of Mangrove in Rembang Distric, Central Java, Indonesia. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*. 38(1), 64-69. ISSN: 2307-4531.
- Azhar, F., Junaidi, M., Mukhlis, A., & Scabra, A. R. (2020). Penanggulangan Penyakit Mas (*Motile Aeromonas septicemia*) pada Ikan Nila menggunakan Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). *Jurnal Abdi Insani*, 7(3), 320-324. P-ISSN: 2356-2935, E-ISSN:2657-0629. DOI: <Http://Doi.Org/10.29303/Abdi nsani.V7i3.282>. Diakses pada tanggal 12 Februari 2022.
- Azhar, F., Scabra, A. R & Lestari, D. P., (2022). Penanggulangan Penyakit Bakterial pada Ikan Nila Menggunakan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*

L.) di Desa Gontoran Lombok Barat. *Jurnal Pepadu*, 3(2), 287-291. E-ISSN: 2715-9574.

Azhari, D., Makisake, A. M., Tomaso, A. M., Lumiu, G., & Balansa, W. (2018). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Spons *Agelas clathrodes* terhadap Bakteri Patogenik Ikan *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Ilmiah Tindalung*, 4(2), 53-56. <https://bit.ly/3zfdiff>. Diakses pada tanggal 12 Februari 2022

Bawondes, J. N., Maarisit, W., Ginting, A., & Kanter, J. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Awar-Awar *Ficus septica* Burm. F Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Biofarmasetikal Tropis*, 4(1), 21-29. E-ISSN: 2685-3167.

Diana, F., Ukhty, N., & Ajurullah. (2018). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kari (*Murraya koenigii*) untuk Mengobati Benih Ikan Patin Siam (*Pangasianodon Hypophthalmus*) yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Akuakultura*, 2(2), 40-51. ISSN: 2579-4752.

Fitriah, F., Mappiratu, M., & Prismawiryanti, P. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanaman Johar (*Cassia siamea* Lamk.) dari Beberapa Tingkat Kepolaran Pelarut. *Kovalen: Jurnal Riset Kimia*, 3(3), 242-251. E-ISSN: 2477-5398.

Fransisca, D., Kahanjak, D. N., & Frethernety, A. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Cakram Kirby-Bauer. *Jurnal Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan (Journal of Environmental Sustainability Management)*, 460-470. P-ISSN: 2598-0017. E-ISSN: 2598-0025.

Gunawan, G., Kholik, K., & Agustin, A. L. D. (2022). Profil Uji Biokimia Hasil Isolasi *Escherichia coli* pada Feses, Air Minum dan Air Saluran Buangan Kandang Sapi Bali di Kelompok Tani Ternak Menemeng (KT2M) Kabupaten Lombok Tengah. *Mandalika Veterinary Journal*, 2(1), 26-36. eISSN : 2798-8732. DOI : 10.33394/MVJ.V1I2.2021.1-6

Hanapi, A., Fasya, A. G., & Syakuro, A. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, Metanol Daun dan Akar Bakau Merah (*Rhizophora stylosa*) dengan Metode DPPH. *Alchemy*, 7(1), 20-24. <https://bit.ly/3PpiA2L>.

Hasnaeni, H., & Wisdawati, W. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Rendemen dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*, 5(2), 175-182. ISSN: 2442-8744. DOI: [10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13149](https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13149). Diakses pada tanggal 11 Januari 2022.

Illing, I., Safitri, W., & Erfiana, E. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengen. *Dinamika*, 8(1), 66-84. P-ISSN: 2087- 889, E-ISSN: 2503-4863.

- Indarto, I., Narulita, W., Anggoro, B. S., & Novitasari, A. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong terhadap *Propionibacterium acnes*. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, 10(1), 67-78. P-ISSN: 2086-5945, E-ISSN: 2580-4960.
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C & Putriani, P., (2017). Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Bioleuser*, 1(2). <https://bit.ly/3ozkljl> Diakses pada tanggal 11 Januari 2022.
- Karimela, E. J., Ijong, F., & Dien, H. (2017). Karakteristik *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang Diisolasi dari Ikan Asap Pinekuhe Hasil Olahan Tradisional Kabupaten Sangihe. *JPHPI*, 20(1). DOI: [10.17844 /jphpi .2017.20.1.356](https://doi.org/10.17844/jphpi.2017.20.1.356). Diakses pada tanggal 11 Januari 2022.
- Karundeng, E. D. B., Hanizar, E., & Sari, D. N. R. (2022). Potensi Ekstrak Daun *Rhizophora mucronata* sebagai Antibakteri pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Bio Sapphire: Jurnal Biologi dan Diversitas*, 1(1), 10-18. <https://bit.ly/3A4xfKV> Diakses pada tanggal 10 Januari 2022.
- Kiswandono, A. A. (2017). Perbandingan Dua Ekstraksi yang Berbeda pada Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lamk) Terhadap Rendemen Ekstrak dan Senyawa Bioaktif yang Dihasilkan. *Jurnal Sains Natural*, 1(1), 53-60. [https:// bit.ly/3oG8Kgu](https://bit.ly/3oG8Kgu) Diakses pada tanggal 13 Februari 2022.
- Kosasi, C., Lolo, W. A., & Sudewi, S. (2019). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Alga *Turbinaria ornata* J. Agardh Serta Identifikasi Secara Biokimia. *Pharmacon*, 8(2), 351-359. [https:// bit.ly/3zX8kJ1](https://bit.ly/3zX8kJ1) Diakses pada tanggal 30 Februari 2022.
- Kurnianingsih, D., Setiyabudi , L., & Tajudin, T. (2020). Uji Efektivitas Sediaan Krim Kombinasi Ekstrak Daun Bakau Hitam (*Rhizophora mucronata*) dan Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Ilmiah Jophus : Journal Of Pharmacy UMUS*, 2(1), 28-35. ISSN: 2715-3320.
- Kursia, S., Imrawati, I., Halim, A., Sasmita, S., & Hanifah, F. (2019). Identifikasi Biokimia dan Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Limbah Sayur Sawi (*Brassica juncea* L.). *Jurnal Kesehatan*, 16(1), 51-60. P-ISSN: 0216-2083, E-ISSN: 2622-0962.
- Lesdiana, L., & Usman, U. (2021). Uji Toksisitas dan Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Mangrove *Rhizophora mucronata*. *Prosiding Seminar Kimia*. 94-98. [https:// bit.ly/3QaoZxU](https://bit.ly/3QaoZxU) Diakses pada tanggal 24 Februari 2022.
- Lestari, A. L. D., & Permana, A. (2020). Daya Hambat Propolis Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pro-Life*, 7(3), 237-250. E-ISSN: 2579-7557.

- Li, L., Meng, H., Gu, D., Li, Y., & Jia, M. (2019). Molecular Mechanisms of *Vibrio parahaemolyticus* Pathogenesis. *Microbiological Research*, 22(2), 43-51. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.03.003>.
- Mahmiah, M., Rama, S. P., & Riwanti, P. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Kulit Batang *Rhizophora mucronata* Poiret terhadap *Salmonella thypi*, Lignières 1900 (*Enterobacteriaceae: Gammaproteobacteria*). *Jurnal Kelautan Tropis*, 23(2), 175-182. P-ISSN: 1410-8852, E-ISSN: 2528-3111.
- Maisyaroh, L. A., Susilowati, T., Haditomo, A. H. C., Yuniarti, T., & Basuki, F. (2018). Penggunaan Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*) sebagai Antibakteri untuk Mengobati Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Sains Akuakultur Tropis: Indonesian Journal Of Tropical Aquaculture*, 2(2). 36-43. E-ISSN: 2621-0525.
- Manuhuttu, D., & Saimima, N. A. (2021). Potensi Ekstrak Daun Mangrove (*Sonneratia alba*) sebagai Antibakteri terhadap *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli*. *Biopendix: Jurnal Biologi, Pendidikan dan Terapan*, 7(2), 71-79. P-ISSN: 2407-4969, E-ISSN: 2684-8341.
- Marudhupandi, T., Kumar, T. T. A., Prakash, S., Balamurugan, J., & Dhayanithi, N. B. (2017). *Vibrio parahaemolyticus* A Causative Bacterium For Tail Rot Disease In Ornamental Fish, *Amphiprion sebae*. *Aquaculture Reports*, 8, 39-44. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aqrep.2017.09.004>.
- Marunung, U. N. (2017). Identifikasi Bakteri Patogen pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Lokasi Budidaya Ikan Air Tawar Kabupaten Kepulauan Sangihe. *Prosiding Seminar Nasional KSP2K II*, 1(3). <https://bit.ly/3lxkgvx> Diakses pada tanggal 19 Maret 2020.
- Maryani, M., Bungas, K., & Anwar, H. (2020). Penggunaan Kombinasi Ekstrak Akar Saluang Belum (*Lavanga sarmentosa*) dengan Akar Kuning (*Arcangelisia flava* Merr) terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*, 20(3), 1038-1042. E-ISSN: 1411-8939, P-ISSN: 2549-4236. DOI: 10.33087/jiubj.v20i3.1015.
- Ma'ruf, A., Safitri, E., Ningtias, R. Y., Pertiwi, F. D., & Rezaldi, F. (2022). Antibakteri Gram Positif dan Negatif dari Sediaan Sabun Cuci Piring Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) sebagai Produk Bioteknologi Farmasi. *Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*, 1(2), 16-25. P-ISSN: 2829-0437, E-ISSN: 2829-050X
- Meylani, V., & Putra, R. R. (2019). Keberagaman Bakteri Anggota Genus *Vibrio* Penyebab *Vibriosis* pada Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus* var. Sangkuriang) di Kota Tasikmalaya. In *Seminar Nasional Sains & Entrepreneurship 1*(1), P-ISSN: 2356-458X, E-ISSN: 2550-1305 DOI: <http://dx.doi.org/10.31289/biolink.v5i1.1689>.

- Mierza, V. (2020). Aktivitas Antibakteri dan Mekanisme Kerja Komponen Kimia Umbi Rarugadong (*Dioscorea pyrifolia Kunth.*) terhadap Kebocoran Sel *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus ATCC 25923*. Skripsi. Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. <https://bit.ly/3ttapex> Diakses pada tanggal 12 Maret 2022.
- Mile, L., Nursyam, H., Setijawati, D., & Sulistiyati, T. D. (2021). Studi Fitokimia Buah Mangrove (*Rhizophora mucronata*) di Desa Langge Kabupaten Gorontalo Utara. *Jambura Fish Processing Journal*, 3(1), 1-8. P-ISSN: 2655-3465, E-ISSN: 2720-8826. DOI: <https://doi.org/10.37905/jfpj.v3i1.8585>.
- Mufti, N., Bahar, E., & Arisanti, D. (2017). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sawo terhadap Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 6(2), 289-294. <https://bit.ly/3Fp64Mi>
- Muharni, M., Fitriya, F., & Farida, S. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Obat Suku Musi di Kabupaten Musi Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 127-135. P-ISSN: 2085-675X. E-ISSN: 2354-8770.
- Mzula, A., Wambura, P. N., Mdegela, R. H., & Shirima, G. M. (2020). Virulence Pattern of Circulating Aeromonads Isolated from Farmed Nile Tilapia In Tanzania and Novel Antibiotic Free Attenuation of *Aeromonas hydrophila* Strain TZR7-2018. *Aquaculture Reports*, 17, (10) DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100300>. Diakses pada tanggal 20 Februari 2022.
- Nor, T. A., Indriarini, D., & Koamesah, S. M. J. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya L*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara in Vitro. *Cendana Medical Journal (CMJ)*, 6(3), 327-337. <https://bit.ly/3S14AIK> Diakses pada tanggal 30 Februari 2022.
- Nugraha, A. C., Prasetya, A. T., & Mursiti, S. (2017). Isolasi Identifikasi Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid Sebagai Antibakteri Dari Daun Mangga. *Indonesia Journal Of Chemical Science*, 6(2). P-ISSN: 2252-6951, E-ISSN:2502-6844.
- Nugraheni, F. T., Dewi, M., & Septiyana, R. (2017). Perbandingan Rendemen Kristal Kafein pada Biji Kopi (*Coffea arabica l.*) dan Coklat (*Theobroma cacao l.*) dengan Menggunakan Metode Refluks. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 1(1), 41-48. P-ISSN: 2559-2163, E-ISSN: 2599-2155.
- Oktaviani, E., Harpeni, E., & Wardiyanto, W. (2019). Fitofarmaka Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) untuk Meningkatkan Imunitas Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus Forsskal 1775*) terhadap Serangan Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*, 12(1), 52-64. P-ISSN: 1907-9931, E-ISSN: 2476-9991.

- Panjaitan, M. A. P., Suprayitno, E., & Hardoko, M. (2020). Identifikasi Perubahan Morfologi Sel *Aeromonas hydrophila* Terhadap Paparan Ekstrak Daun Mangrove *Rizophora mucronata*. *JFMR (Journal Of Fisheries And Marine Research)*, 4(1), 41-45. <https://bit.ly/3srlvha> Diakses pada tanggal 2 Februari 2022.
- Pardamean, E. S., Syawal, H., & Riauваты, M. (2021). Identifikasi Bakteri Patogen Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Dipelihara dalam Keramba Jaring Apung. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 26(1), 26-32. E-ISSN: 0853-7607.
- Pavesi, C., Banks, L. A., & Hudaib, T. (2018). Antifungal and Antibacterial Activities of Eugenol and Non-polar Extract of *Syzygium aromaticum* L. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(2), 337-339. ISSN: 0975-1459.
- Prasetya, I. W. G. A., Putra, G. G., & Wrasati, L. P. (2020). Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Maserasi terhadap Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai Sumber Antioksidan. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 8(1), 150-159. ISSN: 2503-488X.
- Pratama, R. C., Rosidah, S., & Rustikawati, I. (2017). Efektivitas Ekstrak Biji Rambutan dalam Mengobati Benih Ikan Mas yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan Kelautan*, 8(1).130-138 <https://bit.ly/3bsczTJ> Diakses pada tanggal 4 Februari 2022.
- Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik. *Jurnal Pro-Life*, 4(3), 418-429. ISSN: 2579-7557.
- Pusparani, R., Widyorini, N., & Jati, O. E. Analisis Total Bakteri *Aeromonas* sp. pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Wilayah Keramba Jaring Apung (Kja) dan Non-Kja Rawa Pening. *Jurnal Pasir Laut*, 5(1), 9-16. P-ISSN: 1858-1684, E-ISSN: 2747-0776.
- Rahayu, N. N., Prayogo, Ulkhaq, M. F., Kenconoјati, H., & Azhar, M. H. (2019). Identifikasi Bakteri pada Komoditas Ikan Air Tawar di Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Surabaya I. *Journal Of Aquaculture Science*, 4(2), 102-110. E-ISSN: 2579-4817.
- Rahman, F. A., Haniastuti, T., & Utami, T. W. (2017). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(1), 1-7. P-ISSN: 2460-0164, E-ISSN 2442-2576. DOI: <http://dx.doi.org/10.22146/majkedgiind.11325>. Diakses pada tanggal 13 Januari 2022.
- Ridlo, A., Pramesti, R., Koesoemadji, S. E., & Soenardjo, N. (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora Mucronata*. *Buletin Oseanografi Marina*, 6(2), 110-116. ISSN: 2089-3507.

- Rezaldi, F., Fadillah, M. F., Agustiansyah, L. D., Tanjung, S. A., Halimatusyadiah, L., & Safitri, E. (2022). Aplikasi Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Buah Nanas Madu (*Ananas comosus*) Subang sebagai Antibakteri Gram Positif Dan Negatif Berdasarkan Konsentrasi Gula Yang Berbeda. *Jurnal Agroteknologi Merdeka Pasuruan*, 6(1), 9-21.
- Rochmawati, I., Ibrahim, M., & Ambarwati, R. (2018). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kerang Pisau (*Solen Sp.*) dan Kerang Sumping (*Placuna placenta*). *Biosaintifika: Journal Of Biology & Biology Education*, 7(2). E-ISSN: 2338-7610.
- Rohmah, J., & Wulandari, F. E. (2019). Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Selada Merah (*Lactuca sativa Var. Crispa*) pada Berbagai Pelarut Ekstraksi dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Jurnal Kimia Riset*, 4(1). E-ISSN: 2528-0422.
- Sadeer, N. B., Rocchetti, G., Senizza, B., Montesano, D., Zengin, G., Uysal, A., & Mahomoodally, M. F. (2019). Untargeted Metabolomic Profiling Multivariate Analysis and Biological Evaluation of The True Mangrove (*Rhizophora mucronata* Lam.). *Antioxidants*, 8(10), 489. DOI: [10.3390/antiox8100489](https://doi.org/10.3390/antiox8100489). Diakses pada tanggal 6 Februari 2022
- Sain, U., Sukma, D. N., & Simatupang, B. S. (2020). Potensi Daun Mangrove (*Rhizophora mucronata*) sebagai Antidiabetes. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(1), 135-142. ISSN: 2477-1821.
- Saragih, D. E., & Arsita, E. V. (2019). Kandungan Fitokimia *Zanthoxylum acanthopodium* dan Potensinya sebagai Tanaman Obat di Wilayah Toba Samosir dan Tapanuli Utara, Sumatera Utara. In *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* 5(1), 71-76. ISSN: 2407-8050. DOI: [10.13057/Psnmbi/M050114](https://doi.org/10.13057/Psnmbi/M050114).
- Sari, N. K. Y., Permatasari, A. A. A. P., & Sumadewi, N. L. U. (2019). Uji Aktivitas AntiFungi Ekstrak Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*) terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Media Sains*, 3(1). 28-31. P-ISSN : 2549-7413, E-ISSN : 2620-3847.
- Schoch, C., N, Ciufu, S, Domrachev, M, Hotton, C., L, Kannan, S, Khovanskaya, R, Leipe, D, Mcveigh, R, O'neil, K, Robbertse, B, Sharma, S, Soussov, V, Sullivan, J, P, Sun, L, Turner, S., & Mizrachi, I., K. (2020). *NCBI Taxonomy: A Comprehensive Update On Curation, Resources And Tools. Database (Oxford)*. DOI: [10.1093/Databse/Baaa062](https://doi.org/10.1093/Databse/Baaa062). Diakses pada tanggal 22 Februari 2022
- Septiani, S., Dewi, E. N., & Wijayanti, I. (2017). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Antibacterial Activities of Seagrass Extracts (*Cymodocea rotundata*) Against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli*). *Journal of Fisheries Science and Technology*, 13(1), 1-6. ISSN: 1858-4748.

- Sinurat , A. P., Renta, P. P., Herliany, N. E., Negara, B. F., & Purnama , D. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rumpun Laut (*Gracilaria endulis*) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Enggano*, 4(1), 105-114. E-ISSN: 2527-5186, P-ISSN: 2615-5958.
- Stratev, D., Zhelyazkov, G., Noundou, X. S., & Krause, R. W. (2018). Beneficial Effects Of Medicinal Plants In Fish Diseases. *Aquaculture International*, 26(1), 289-308. DOI: <https://doi.org/10.1007/S10499-017-0219-X>.
- Sungkar, O. F., Khanza, S., & Pangestu, R. A. (2018). Aktivitas Antibakteri Bedak yang Diperkaya dengan Konsentrasi Ekstrak Buah *Rhizopora mucronata*. *Jurnal Teknologi Pangan*, 2(2), 135-141. E-ISSN: 2597-9892.
- Supono, S., Wardiyanto, W., & Harpeni, E. (2019). Identification of *Vibrio* sp. As a Cause of White Feces Diseases in White Shrimp *Penaeus Vannamei* and Handling with Herbal Ingredients in East Lampung Regency. *AAFL Bioflux*, 12(2), 417-425. <https://bit.ly/3KsHWdP>. Diakses pada tanggal 29 Agustus 2022.
- Syah, A. F. (2020). Penanaman Mangrove sebagai Upaya Pencegahan Abrasi di Desa Socah. *Jurnal Ilmiah Pangabdhi*, 6(1), 13-16. ISSN: 2477-6289 DOI: <https://doi.org/10.21107/pangabdhi.v6i1.6909>.
- Tanod, w. a., Frets, J. R., & Jaka, FP., P. (2021). *Kimia Dasar Analitik & Organik*. ISBN: 978-623-94155-2-5.
- Tarigan, L. A., Desrina., & Sarjito (2017). Pengaruh Perendaman Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) terhadap Kelulushidupan dan Histopatologi Hati Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal Of Aquaculture Management And Technology*, 6(3), 150-158. <https://bit.ly/3JGAKnt> Diakses pada tanggal 25 Februari 2022.
- Trisia, A., Philyria, R., & Toemon, A. N. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia* Lam.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). *Anterior Jurnal*, 17(2), 136-143. P-ISSN: 1412-1395; E-ISSN: 2355-3529. DOI: <https://doi.org/10.33084/anterior.v17i2.12>
- Wulandari, T., Indrawati, A., & Pasaribu, F. (2019). Isolasi dan Identifikasi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) Pertambakan Muara Jambi Provinsi Jambi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 89-95. ISSN: 2615-7497.
- Yuliani. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksana, Etil Asetat, Serta Etanol 96% dari Daun Bakau Hitam (*Rhizophora mucronata* Lam) terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. <https://Repository.Usu.Ac.Id/Handle/123456789/27070>. Diakses pada tanggal 5 Januari 2022.

Zaenuddin, Y. L., Nuraini, A. F., & Wahyuningsih, S. (2019). Pengendalian Penyakit *Vibriosis* pada Ikan Kakap Putih. *Jurnal Perekayasa Budidaya Air payau dan Laut*, 14, 77-83. <https://bit.ly/3PUooAe>. Diakses pada tanggal 25 Agustus 2022.

Zamrud, M., Ndobe, S., & Laapo, A. (2019). Diagnosis dan Patologi Infeksi Bakterial *Vibrio* sp. pada Ikan Kardinal Banggai (*Pterapogon kauderni*). *Mitra Sains*, 7(2), 150-160. ISSN: 2302-202



LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto Penelitian



Pengambilan sampel



Pemotongan sampel daun



Pencucian daun



Pengeringan hari pertama



Pengeringan hari terakhir



Proses blender



Penyaringan



Hasil penyaringan



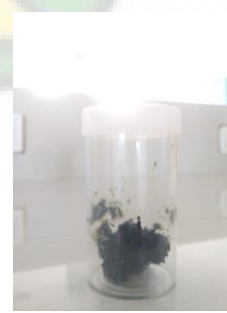
Maserasi



Penyaringan maserasi



Residu



Ekstrak etil asetat daun bakau kurap



Konsentrasi ekstrak



Suspensi *Vibrio parahaemolyticus*



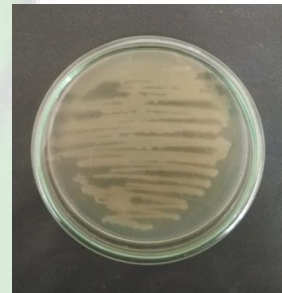
Suspensi *Staphylococcus aureus* dan *Aeromonas hydrophila*



Uji aktivitas antibakteri



Peremajaan *Staphylococcus aureus*

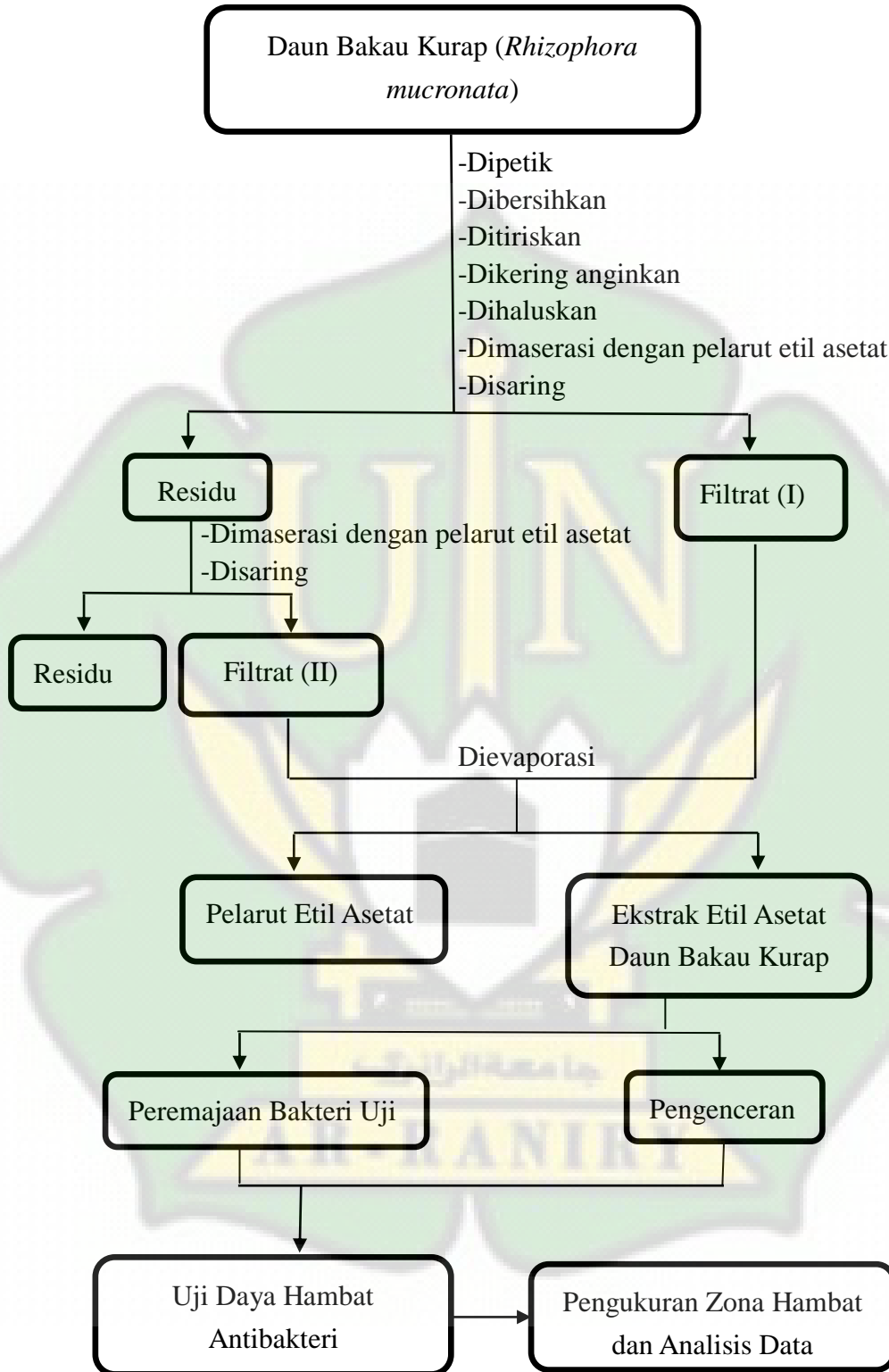


Peremajaan *Aeromonas hydrophila*

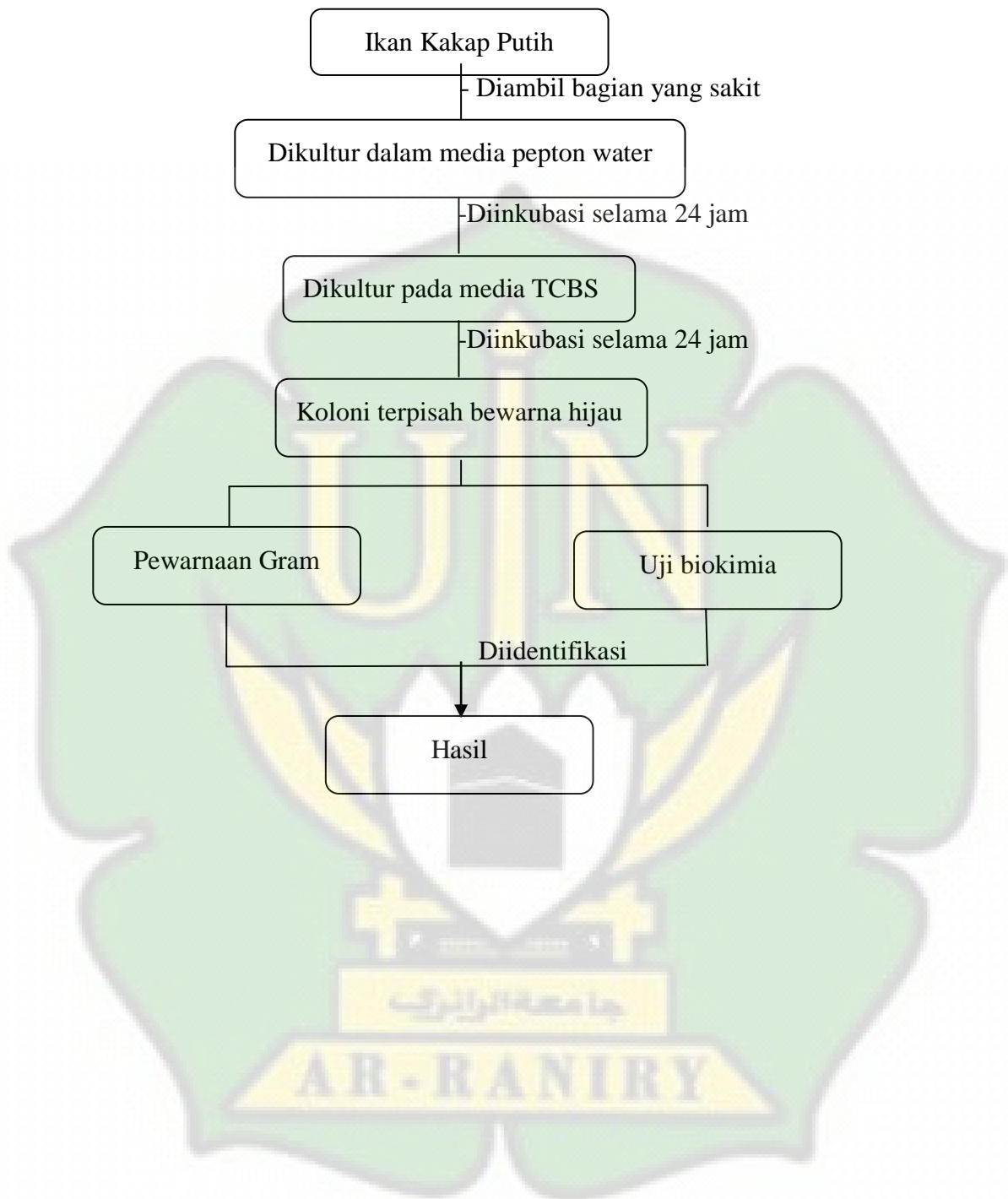


Peremajaan *Vibrio parahaemolyticus*

Lampiran 2. Alur Penelitian



Lampiran 3. Alur Isolasi Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*



Lampiran 4. Daftar Harga Alat dan Bahan

Uraian	Unit	Harga Satuan (Rp)	Total (Rp)
Media <i>Nutrien Agar</i>	15 gr	5000/gr	75000
Media <i>Mueller Hinton Agar</i>	10 gr	5000/gr	50000
Aquades	4 liter	3000/liter	12000
Alkohol 70%	1 liter	25000/liter	25000
Spiritus	1 liter	25000/liter	25000
Wrap	1 pcs	25000/pcs	25000
Isolat Bakteri <i>Aeromonas hydrophilla</i>	1 tabung	250000/tabung	250000
Isolat Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	1 tabung	250000/tabung	250000
Pelarut Etil Asetat	2 liter	50000/liter	100000
DMSO	11 ml	55000/ml	550000
Media TCBS	15 gr	4000/gr	60000
Media TSIA	3.5 gr	5000/gr	17500
Media TSA	6 gr	6000/gr	36000
Media MR	2 gr	5500/gr	11000
Evaporasi	1 sampel	45000/sampel	45000
Blank disc	87 pcs	3000/pcs	261000
Kloramfenikol disc	15 pcs	3000/pcs	45000
Kertas Saring	1 lembar	15000/lembar	15000

Lampiran 5. Hasil T-test

Vibrio parahaemolyticus

Paired Samples Test

		Paired Differences							
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
					Lower	Upper			
Pair 1	D1 - D2	-,63200	,95539	,42726	-1,81827	,55427	-1,479	4	,213

Paired Samples Test

		Paired Differences							
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
					Lower	Upper			
Pair 1	D1 - D2	,09000	1,00464	,58003	-2,40566	2,58566	,155	2	,891

Paired Samples Test

		Paired Differences							
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
					Lower	Upper			
Pair 1	D1 - D2	,11333	1,10952	,64058	-2,64287	2,86953	,177	2	,876

Paired Samples Test

		Paired Differences							
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
					Lower	Upper			
Pair 1	D1 - D2	1,48250	1,29991	,64995	-,58594	3,55094	2,281	3	,107

Aeromonas hydrophila

Paired Samples Test

		Paired Differences		95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)	
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper				
Pair 1	D1 - D2	,52200	,46241	,20679	-,05215	1,09615	2,524	4	,065

Paired Samples Test

		Paired Differences		95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)	
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper				
Pair 1	D1 - D2	-,10250	,14886	,07443	-,33936	,13436	-1,37	3	,262
							7		

Paired Samples Test

		Paired Differences		95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)	
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper				
Pair 1	D1 - D2	1,53400	1,32162	,59105	-,10701	3,17501	2,59	4	,060
							5		

Paired Samples Test

		Paired Differences							
		Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
					Lower	Upper			
Pair 1	D1 - D2	,50500	,20042	,10021	,18609	,82391	5,040	3	,015

Staphylococcus aureus

Paired Samples Test

		Paired Differences							
		Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
					Lower	Upper			
Pair 1	D1 - D2	,19800	1,35977	,60811	-1,49038	1,88638	,326	4	,761

Paired Samples Test

		Paired Differences							
		Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
					Lower	Upper			
Pair 1	D1 - D2	1,32750	,97325	,48663	-,22117	2,87617	2,728	3	,072

Paired Samples Test

		Paired Differences							
		Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
					Lower	Upper			

Pair	D1	-	,4980	,62319	,27870	-,27580	1,27180	1,787	4	,148
1	D2		0							

Paired Samples Test

Pair	D1	-	Mean	Std. Deviation	n	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
							Lower	Upper			
1	D1	-	-,910	2,39031	1,38005	-6,84787	5,02787	-,659	2	,577	
	D2		00								

Lampiran 6. Hasil LSD

LSD *Staphylococcus aureus*

Multiple Comparisons

Dependent Variable	(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
H24	1	2	14.10800*	.85014	,000	12.2960	15.9200
		3	12.48000*	.85014	,000	10.6680	14.2920
		4	7.86600*	.90171	,000	5.9440	9.7880
	2	1	-14.10800*	.85014	,000	-15.9200	-12.2960
		3	-1.62800	.85014	,075	-3.4400	.1840
		4	-6.24200*	.90171	,000	-8.1640	-4.3200
	3	1	-12.48000*	.85014	,000	-14.2920	-10.6680
		2	1.62800	.85014	,075	-.1840	3.4400
		4	-4.61400*	.90171	,000	-6.5360	-2.6920
	4	1	-7.86600*	.90171	,000	-9.7880	-5.9440
		2	6.24200*	.90171	,000	4.3200	8.1640
		3	4.61400*	.90171	,000	2.6920	6.5360
H48	1	2	13.69550*	.90900	,000	11.7459	15.6451
		3	12.38000*	.85701	,000	10.5419	14.2181
		4	6.74800*	.90900	,000	4.7984	8.6976
	2	1	-13.69550*	.90900	,000	-15.6451	-11.7459
		3	-1.31550	.90900	,170	-3.2651	.6341

	4	-6.94750*	.95817	,000	-9.0026	-4.8924
3	1	-12.38000*	.85701	,000	-14.2181	-10.5419
	2	1.31550	.90900	,170	-.6341	3.2651
4	4	-5.63200*	.90900	,000	-7.5816	-3.6824
	1	-6.74800*	.90900	,000	-8.6976	-4.7984
	2	6.94750*	.95817	,000	4.8924	9.0026
	3	5.63200*	.90900	,000	3.6824	7.5816

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

LSD *Aeromonas hydrophila*

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) PERLAKUA N	(J) PERLAKUA N	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
H24	1	2	13.09150*	.93406	,000	11.0881	15.0949
		3	11.60200*	.88064	,000	9.7132	13.4908
		4	6.97400*	.93406	,000	4.9706	8.9774
	2	1	-13.09150*	.93406	,000	-15.0949	-11.0881
		3	-1.48950	.93406	,133	-3.4929	.5139
		4	-6.11750*	.98458	,000	-8.2292	-4.0058
	3	1	-11.60200*	.88064	,000	-13.4908	-9.7132
		2	1.48950	.93406	,133	-.5139	3.4929
		4	-4.62800*	.93406	,000	-6.6314	-2.6246
	4	1	-6.97400*	.93406	,000	-8.9774	-4.9706
		2	6.11750*	.98458	,000	4.0058	8.2292
		3	4.62800*	.93406	,000	2.6246	6.6314
H48	1	2	12.46100*	.93867	,000	10.4478	14.4742
		3	12.60800*	.88499	,000	10.7099	14.5061
		4	6.95100*	.93867	,000	4.9378	8.9642
	2	1	-12.46100*	.93867	,000	-14.4742	-10.4478
		3	.14700	.93867	,878	-1.8662	2.1602
		4	-5.51000*	.98944	,000	-7.6321	-3.3879
	3	1	-12.60800*	.88499	,000	-14.5061	-10.7099
		2	-.14700	.93867	,878	-2.1602	1.8662
		4	-5.65700*	.93867	,000	-7.6702	-3.6438

4	1	-6.95100*	.93867	,000	-8.9642	-4.9378
	2	5.51000*	.98944	,000	3.3879	7.6321
	3	5.65700*	.93867	,000	3.6438	7.6702

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

LSD *Vibrio parahaemolyticus*

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) PERLAKUA N	(J) PERLAKUA N	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
H24	1	2	14.97267*	.73295	,000	13.3595	16.5859
		3	10.76933*	.73295	,000	9.1561	12.3825
		4	8.99350*	.67326	,000	7.5117	10.4753
	2	1	-14.97267*	.73295	,000	-16.5859	-13.3595
		3	-4.20333*	.81947	,000	-6.0070	-2.3997
		4	-5.97917*	.76654	,000	-7.6663	-4.2920
	3	1	-10.76933*	.73295	,000	-12.3825	-9.1561
		2	4.20333*	.81947	,000	2.3997	6.0070
		4	-1.77583*	.76654	,041	-3.4630	-.0887
	4	1	-8.99350*	.67326	,000	-10.4753	-7.5117
		2	5.97917*	.76654	,000	4.2920	7.6663
		3	1.77583*	.76654	,041	.0887	3.4630
H48	1	2	15.69800*	.58928	,000	14.4010	16.9950
		3	11.51467*	.58928	,000	10.2177	12.8117
		4	11.10800*	.54128	,000	9.9166	12.2994
	2	1	-15.69800*	.58928	,000	-16.9950	-14.4010
		3	-4.18333*	.65883	,000	-5.6334	-2.7333
		4	-4.59000*	.61628	,000	-5.9464	-3.2336
	3	1	-11.51467*	.58928	,000	-12.8117	-10.2177
		2	4.18333*	.65883	,000	2.7333	5.6334
		4	-.40667	.61628	,523	-1.7631	.9498
	4	1	-11.10800*	.54128	,000	-12.2994	-9.9166
		2	4.59000*	.61628	,000	3.2336	5.9464
		3	.40667	.61628	,523	-.9498	1.7631

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

LSD 24 jam

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I)	(J)	Mean	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Difference (I-J)			Lower Bound	Upper Bound
CO	1	2	3.40200*	.47060	,000	2.3766	4.4274
		3	2.18000*	.47060	,001	1.1546	3.2054
	2	1	-3.40200*	.47060	,000	-4.4274	-2.3766
		3	-1.22200*	.47060	,023	-2.2474	-.1966
	3	1	-2.18000*	.47060	,001	-3.2054	-1.1546
		2	1.22200*	.47060	,023	.1966	2.2474
TA	1	2	2.38550*	.90805	,027	.3314	4.4396
		3	3.04467*	.98856	,013	.8084	5.2809
	2	1	-2.38550*	.90805	,027	-4.4396	-.3314
		3	.65917	1.03386	,540	-1.6796	2.9979
	3	1	-3.04467*	.98856	,013	-5.2809	-.8084
		2	-.65917	1.03386	,540	-2.9979	1.6796
TB	1	2	2.52400*	.89890	,019	.5211	4.5269
		3	.46933	1.03796	,661	-1.8434	2.7821
	2	1	-2.52400*	.89890	,019	-4.5269	-.5211
		3	-2.05467	1.03796	,076	-4.3674	.2581
	3	1	-.46933	1.03796	,661	-2.7821	1.8434
		2	2.05467	1.03796	,076	-.2581	4.3674
TC	1	2	2.51000*	1.10531	,049	.0096	5.0104
		3	3.30750*	1.10531	,015	.8071	5.8079
	2	1	-2.51000*	1.10531	,049	-5.0104	-.0096
		3	.79750	1.10531	,489	-1.7029	3.2979
	3	1	-3.30750*	1.10531	,015	-5.8079	-.8071
		2	-.79750	1.10531	,489	-3.2979	1.7029

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

LSD 48 jam

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) JAM	(J) JAM	Mean	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Difference (I-J)			Lower Bound	Upper Bound
CO	1	2	3.33200*	.58673	,000	2.0536	4.6104
		3	.95000	.58673	,131	-.3284	2.2284
	2	1	-3.33200*	.58673	,000	-4.6104	-2.0536
		3	-2.38200*	.58673	,002	-3.6604	-1.1036
	3	1	-.95000	.58673	,131	-2.2284	.3284
		2	2.38200*	.58673	,002	1.1036	3.6604
TA	1	2	2.09750*	.86190	,041	.1100	4.0850
		3	2.95250*	.93096	,013	.8057	5.0993
	2	1	-2.09750*	.86190	,041	-4.0850	-.1100
		3	.85500	.93096	,385	-1.2918	3.0018
	3	1	-2.95250*	.93096	,013	-5.0993	-.8057
		2	-.85500	.93096	,385	-3.0018	1.2918
TB	1	2	3.56000*	.92471	,003	1.4996	5.6204
		3	.08467	1.06777	,938	-2.2945	2.4638
	2	1	-3.56000*	.92471	,003	-5.6204	-1.4996
		3	-3.47533*	1.06777	,009	-5.8545	-1.0962
	3	1	-.08467	1.06777	,938	-2.4638	2.2945
		2	3.47533*	1.06777	,009	1.0962	5.8545
TC	1	2	3.53500*	.96291	,005	1.3567	5.7133
		3	5.31000*	.96291	,000	3.1317	7.4883
	2	1	-3.53500*	.96291	,005	-5.7133	-1.3567
		3	1.77500	.96291	,098	-.4033	3.9533
	3	1	-5.31000*	.96291	,000	-7.4883	-3.1317
		2	-1.77500	.96291	,098	-3.9533	.4033

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.