

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil

4.1.1. Ekstraksi Daun Pucuk Idat

Ekstraksi daun pucuk idat dengan menggunakan pelarut etanol menghasilkan rendemen sebagai berikut:

Tabel 2 Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Pucuk Idat

| Tumbuhan | Berat kering sampel | Berat ekstrak | Rendemen (%) |
|-----------------|---------------------|---------------|--------------|
| Daun pucuk idat | 640 g | 37.82 g | 5.90 |

Berdasarkan hasil pengukuran Tabel 2 diketahui bahwa rendemen yang dihasilkan adalah 5.90%.

4.1.2. Senyawa Fitokimia

Uji senyawa fitokimia dilakukan secara kualitatif yang meliputi 7 parameter uji yaitu uji alkaloid, saponin, tepenoid, steroid, flavonoid, fenol, dan tanin. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 3 Uji Senyawa Fitokimia Daun Pucuk Idat

| Uji Fitokimia | Hasil Uji | Warna |
|---------------|-----------|----------------------------|
| Alkaloid | (+) | Jingga |
| Saponin | (-) | Tidak ada busa |
| Terpenoid | (-) | Hitam/ membentuk 2 lapisan |
| Steroid | (+) | Hijau pekat |
| Flavonoid | (+) | Jingga |
| Fenol | (+) | Hitam pekat |
| Tanin | (+) | Hijau tua |

Pada Tabel 3 hasil uji menunjukkan bahwa daun pucuk idat memiliki senyawa fitokimia yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, steroid, dan tanin yang ditunjukkan dengan hasil positif (+), sedangkan untuk uji saponin dan terpenoid ditunjukkan dengan hasil negatif (-)

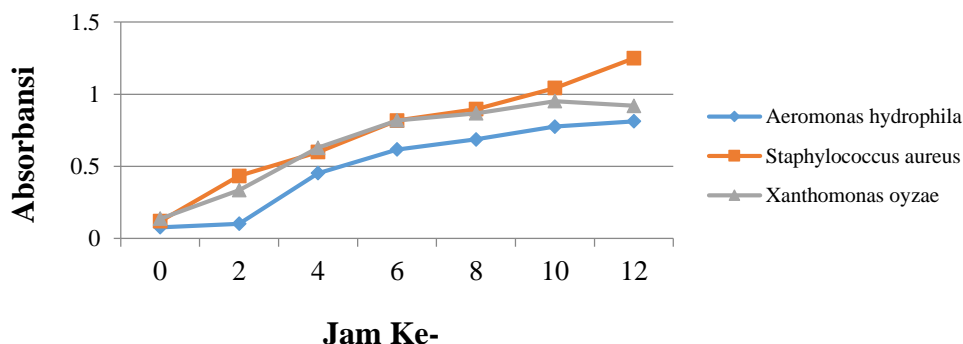


Gambar 2 Hasil Uji Fitokimia (Dokumentasi Pribadi 2018)

Berdasarkan gambar diatas dapat dilihat bahwa hasil uji fenol berwarna jingga (+), uji saponin tidak terdapat busa (-), uji terpenoid berwarna hijau (-), uji steroid ditunjukkan berwarna hijau pekat (+) pada tabung yang sama (uji terpenoid), uji flavonoid berwarna jingga (+), uji fenol berwarna hitam pekat (+), dan uji tanin berwarna hijau tua (+).

4.1.3. Kurva Pertumbuhan Optimum Bakteri

Pengukuran pertumbuhan optimum bakteri dilakukan dengan metode turbidimetri menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 620 nm dengan selang waktu 2 jam selama 12 jam.



Gambar 3 Grafik Pertumbuhan Bakteri dari jam ke-0 sampai dengan jam ke-12

Pengukuran kurva pertumbuhan ketiga bakteri (*Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus aureus* dan *Xanthomonas oryzae*) dilakukan dengan menggunakan metode turbidimetri. Pada Gambar 2 hasil pengukuran kurva pertumbuhan bakteri terjadi peningkatan nilai absorbansi dari jam ke-0 sampai jam ke-12. Bakteri *Aeromonas hydrophila* memiliki pola pertumbuhan yang berbeda, dimana pertumbuhan optimumnya terjadi pada jam ke-12 dengan nilai absorbansi 0.812, sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Xanthomonas oryzae* pertumbuhan optimumnya terjadi pada jam ke-6 dengan masing-masing nilai absorbansinya yaitu 0.818 dan 0.819.

4.1.4. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Uji Konsentrasi hambat minimum (KHM) dilakukan dengan menggunakan metode dilusi agar cair dengan rentang konsentrasi 20mg/mL, 40mg/mL, 60mg/mL, 80mg/mL, dan 100mg/mL. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 3 berikut ini.

Tabel 4 Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Pucuk Idat Terhadap Perumbuhan Bakteri

| Konsentrasi (mg/mL) | Ulangan | <i>Aeromonas hydrophila</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Xanthomonas oryzae</i> |
|---------------------|---------|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|
| 100 | 1 | - | - | - |
| | 2 | - | - | - |
| | 3 | - | - | - |
| 80 | 1 | + | - | - |
| | 2 | + | - | - |
| | 3 | + | - | - |
| 60 | 1 | + | + | + |
| | 2 | + | - | + |
| | 3 | + | - | + |
| 40 | 1 | + | + | + |
| | 2 | + | + | + |
| | 3 | + | + | + |
| 20 | 1 | + | + | + |
| | 2 | + | + | + |
| | 3 | + | + | + |

Keterangan: + = Keruh/adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tersebut

- = Bening/tidak adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tersebut

Pada Tabel 4 konsentrasi daun pucuk idat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* yaitu konsentrasi 100mg/mL, sementara pada konsentrasi 20mg/mL-80mg/mL masih ada pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan keruhnya media pada tabung reaksi. Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Xanthomonas oryzae* pada konsentrasi ekstrak 100g/mL dan 80g/mL tidak tumbuh, yang ditandai dengan media tetap bening pada tabung reaksi. Konsentrasi ekstrak yang keruh atau masih di tumbuh bakteri, selanjutnya digunakan untuk uji konsentrasi bunuh minimum.

Konsentrasi bunuh minimum (KBM) dilakukan dengan mengambil suspensi dari hasil uji KHM menggunakan jarum ose dan digoreskan pada media NA dan diinkubasi selama 24 jam.

Tabel 5 Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Daun Pucuk Idat Terhadap Perumbuhan Bakteri

| Konsentrasi (mg/mL) | Ulangan | <i>Aeromonas hydrophila</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Xanthomonas oryzae</i> |
|---------------------|---------|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|
| 100 | 1 | - | - | - |
| | 2 | - | - | - |
| | 3 | - | - | - |
| 80 | 1 | + | - | - |
| | 2 | - | - | - |
| | 3 | - | - | - |
| 60 | 1 | - | + | - |
| | 2 | + | + | + |
| | 3 | + | + | + |
| 40 | 1 | + | + | + |
| | 2 | + | + | + |
| | 3 | + | + | + |
| 20 | 1 | + | + | + |
| | 2 | + | + | + |
| | 3 | + | + | + |

Keterangan: + = Keruh/adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tersebut

- = Bening/tidak adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tersebut

Tabel 5 menunjukkan bahwa hasil pengujian konsentrasi bunuh minimum tidak jauh berbeda dengan hasil uji konsentrasi hambat minimum, hanya saja ada beberapa ulangan pada konsentrasi 80g/mL dan 60/mL yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

4.1.5. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pucuk Idat

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengambil konsentrasi dari evaluasi Setelah dilakukan uji konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan mengambil evaluasi konsentrasi dari uji sebelumnya. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 30, 40, 50, 60, 70 dan 80 (mg/mL).

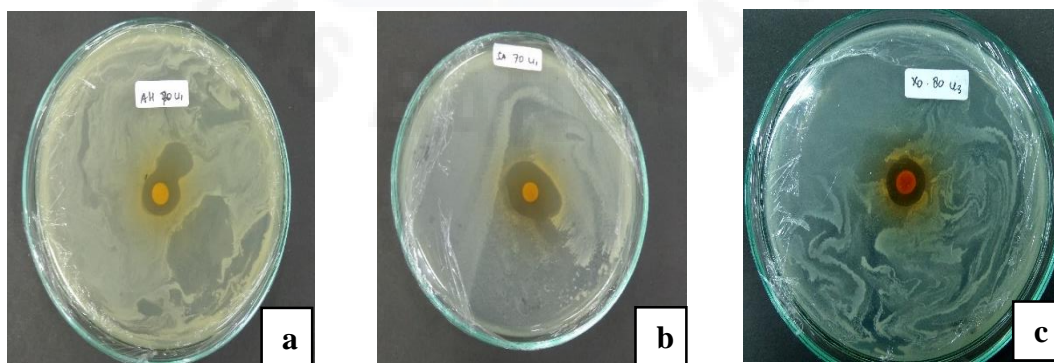
Tabel 6 Rata-Rata Zona Penghambatan Bakteri

| Bakteri | Konsentrasi (mg/mL) | Diameter zona hambat (mm) |
|------------------------------|---------------------|---------------------------|
| <i>Aeromonas hydrophila</i> | 80 | 8.28 |
| | 70 | 8.59 |
| | 60 | 8.37 |
| | 50 | 8.11 |
| | 40 | 7.88 |
| | 30 | 5.82 |
| | Kontrol + | 11.57 |
| | Kontrol - | 0 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 80 | 7.96 |
| | 70 | 9.56 |
| | 60 | 9.29 |
| | 50 | 7.83 |
| | 40 | 7.51 |
| | 30 | 5.55 |
| | Kontrol + | 11.02 |
| | Kontrol - | 0 |

| | | |
|---------------------------|-----------|-------------|
| | 80 | 9.76 |
| | 70 | 8.17 |
| | 60 | 6.91 |
| <i>Xanthomonas oryzae</i> | 50 | 6.71 |
| | 40 | 6.6 |
| | 30 | 6.51 |
| | Kontrol + | 11.92 |
| | Kontrol - | 0 |

Keterangan: **bold** = angka terbesar berdasarkan mikroba uji

Pada tabel diatas dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan diameter zona hambat seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak daun pucuk idat, akan tetapi pada bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 80mg/mL mengalami penurunan diameter zona hambat. Diameter zona hambat terbesar dari bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Staphylococcus aureus* yaitu pada konsentrasi 70mg/mL dengan masing-masing diameter yaitu 8.59 dan 9.56. Pada bakteri *Xanthomonas oryzae* diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi tertinggi yaitu 80mg/mL dengan nilai 9.76. Secara keseluruhan, bakteri *Xanthomonas oryzae* memiliki diameter zona hambat tertinggi jika dibandingkan dengan bakteri lainnya.



Gambar 4 a) Zona hambat *Aeromonas hydrophilla* pada konsentrasi 70mg/mL; b) Zona hambat *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 70mg/mL; c) Zona hambat *Xanthomonas oryzae* pada konsentrasi 80mg/mL

Tabel 7 Hasil Uji ANOVA Analisis Keragaman Pengaruh Konsentrasi dan Interaksi Terhadap Pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus aureus*, dan *Xanthomonas oryzae*.

| Sumber Keragaman | JK | DB | KT | F | ProbF | Sign. |
|------------------|------------|----|------------|----------|-----------|-------|
| B | 2.34103333 | 2 | 1.17051666 | 0.413592 | 0.664372 | |
| K | 49.0281277 | 5 | 9.80562555 | 3.464740 | 0.011705 | * |
| Kb | 20.9427222 | 10 | 2.09427222 | 0.739994 | 0.6826611 | |
| R | 101.884266 | 36 | 2.83011851 | | | |

Keterangan: B=Bakteri, K=Konsentrasi ekstrak, KB=Interaksi antara konsentrasi dan bakteri, R=Residual, JK=Jumlah kuadran, DB=Derajat bebas, KT=Kuadran tengah, *=Notasi dinyatakan signifikan (berpengaruh)

Berdasarkan hasil uji ANOVA bahwa probF konsentrasi ekstrak memiliki nilai lebih kecil dibandingkan 0,05 dan dibuktikan dengan adanya notasi (*) maka hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi berpengaruh nyata pada tingkat kepercayaan 95%. Hasil uji ANOVA yang berpengaruh nyata dilakukan analisis lebih lanjut (DMRT) untuk mengetahui beda jarak nyata setiap konsentrasi.

Tabel 8 Hasil Uji DMRT pengaruh konsentrasi *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus aureus* dan *Xanthomonas oryzae* terhadap zona hambat.

| Konsentrasi (mg/mL) | Diameter zona penghambatan |
|---------------------|----------------------------|
| 80 | 8.668889 ^a |
| 70 | 8,78 ^a |
| 60 | 8.128889 ^a |
| 50 | 7.553333 ^{ab} |
| 40 | 7.334444 ^{ab} |
| 30 | 5.964444 ^b |

Keterangan: angka-angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada kepercayaan 95% ($\alpha=0,5$)

Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT diketahui bahwa konsentrasi 80mL/gr, 70mL/gr, dan 60mL/gr adalah 3 konsentrasi tertinggi, dibuktikan dengan kode huruf yang sama terdapat pada diameter zona penghambatan. Pada tabel tersebut juga dapat dilihat bahwa konsentrasi 70mL/gr merupakan konsentrasi dengan diameter zona hambat terbesar terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus aureus* dan *Xanthomonas oryzae*.

4.2. Pembahasan

4.2.1. Ekstrak Daun Pucuk Idat

Ekstraksi adalah proses pemindahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukriani 2014). Pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Pemilihan metode ekstraksi maserasi karena mempunyai banyak keuntungan dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya. Menurut Puspitasari (tanpa tahun) mengatakan, keuntungan utama metode ekstraksi maserasi yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai. Voight (1994) dalam Mukhriani (2014) menyatakan, ekstraksi dingin memungkinkan banyak senyawa terekstraksi, meskipun beberapa senyawa memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut pada suhu kamar. Rendemen tersebut disimpan di tempat yang terlindungi dari paparan sinar cahaya secara langsung untuk mencegah reaksi yang dikatalisis oleh cahaya atau perubahan warna diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif.

Proses ekstraksi pada penelian ini menggunakan pelarut etanol 70%. Etanol merupakan senyawa organik berbentuk cairan yang mudah menguap, mudah terbakar dan tidak berwarna. Alasan penggunaan pelarut etanol karena sifatnya yang dapat melarutkan seluruh bahan aktif yang terkandung dalam suatu bahan alami, baik bahan aktif yang bersifat polar, semi polar maupun non polar, sehingga senyawa aktif dapat larut dalam pelarut (Munawaroh & Astuti 2010). Konsentrasi etanol yang dipilih adalah etanol 70%. Menurut Indraswari (2008) etanol dengan konsentrasi 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang

optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut dalam cairan pengekstraksi.

Hasil rendemen ekstraksi dau pucuk idat menghasilkan rendemen sebanyak 5.90% yang berkarakteristik sangat pekat, kental dan berwarna coklat kehitaman. Hal ini sesuai dengan pernyataan Voight (1994) yang menyatakan bahwa ekstrak kental memiliki rendemen 5-30%. Perhitungan ini dilakukan agar mengetahui presentase jumlah bahan yang tersisa hasil proses ekstraksi dan mengetahui tingkat keefektifan dari proses yang dihasilkan (Toar *et al* 2020)

4.2.2. Senyawa Fitokimia Ekstrak Daun Pucuk Idat

Uji senyawa fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini yaitu secara kualitatif. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi beberapa uji, yaitu alkaloid, saponin, terpenoid, steroid, flavonoid, fenol dan tanin. Hasil uji yang dilakukan terdapat senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam dalam pucuk idat antara lain yaitu alkaloid, flavonoid, fenol, steroid dan tanin, sedangkan senyawa saponin dan triterpenoid hasilnya negatif. Uji fitokimia pada daun pucuk idat juga pernah dilakukan oleh Mahardika *et al.* (2018) dari hasil uji yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun mengandung golongan senyawa alkaloid, tanin, flavonoid, terpenoid dan steroid, dan tidak terkandung senyawa saponin. Pada penelitian yang lain, Mahardika & Roasnica (2018) juga menguji senyawa fitokimia yang terkandung dalam pucuk idat, dan hasilnya terdapat senyawa alkaloid, flavonoid, dan steroid, senyawa saponin dan alkaloid menunjukkan hasil yang negatif. Berdasarkan ketiga penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa daun pucuk idat (*Cratoxylum glaucum* Korch) mengandung senyawa Alkaloid, flavonoid, tanin, dan steroid. Data ini dapat dipakai sebagai sumber referensi untuk penelitian selanjutnya.

4.2.3. Kurva Pertumbuhan Optimum Bakteri

Pertumbuhan dapat diartikan sebagai penambahan teratur semua komponen sel suatu mikroba. Pengukuran pertumbuhan mikroba secara kuantitatif biasanya disajikan dalam bentuk kurva yang menunjukkan hubungan antara biomassa dengan

waktu (Suhaimi *et al.* 2007). Pratiwi (2008) menyebutkan bahwa pertumbuhan mikroorganisme terdiri dari 4 fase, yaitu fase lag, log, fase stationer dan fase kematian. Pengukuran kurva pertumbuhan bakteri dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan optimum (fase log) yang akan digunakan pada uji selanjutnya serta uji aktivitas antibakteri. Menurut Hadioetomo (1993) untuk mengukur pertumbuhan bakteri dapat menggunakan cara turbidimeter atau pengukuran kekeruhan biakan. Semakin keruh suatu kultur, semakin banyak jumlah sel.

Pengukuran kurva pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus aureus* dan *Xanthomonas oryzae* menggunakan menggunakan metode turbidimetri. Kurva pertumbuhan mikroba mencapai nilai absorbansi 0.8 atau mendekati 0.8 termasuk kedalam fase log (optimum). Gambar 1 hasil pengukuran menunjukkan bahwa bakteri *Aeromonas hydrophilla*, memiliki pola pertumbuhan yang berbeda, dimana pertumbuhan optimumnya terjadi pada jam ke 12, sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Xanthomonas oryzae* pertumbuhan optimumnya terjadi pada jam ke-6. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan waktu dalam pertumbuhan bakteri serta karakteristik dari masing-masing bakteri, sesuai dengan pernyataan Velczar *et al* (1997) bahwa setiap bakteri memiliki waktu generasi yang berbeda-beda, misalnya bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri gram positif pada media NB melakukan pembelahan setiap 48 menit sekali yang mampu menggandakan selnya menjadi 2x lipat.

Perbedaan kurva pertumbuhan bakteri juga bisa disebabkan oleh pengelompokan jenis bakteri. Menurut Hidayat (2006) adanya perbedaan antara gram positif dan gram negatif dalam pembelahan. Bakteri gram positif mensintesis dinding sel baru dalam zona equatorial sepanjang aksis, sedangkan bakteri gram negatif mensintesis dinding sel dengan interkalasi sepanjang dinding utuh. Beberapa faktor juga dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri yaitu temperatur, konsentrasi ion hidrogen (pH), kebutuhan air, tekanan osmosis, oksigen molekuler, kebutuhan bersama, dan sinergisme (Fardiaz 1992).

4.2.4. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dilakukan dengan menggunakan bakteri uji yang telah berada pada fase optimum pertumbuhan. Pengujian KHM menggunakan rentang konsentrasi 20mg/mL, 40mg/mL, 60mg/mL, 80mg/mL dan 100mg/mL. Hasil uji KHM ini ditandai dengan warna media menjadi keruh yang sebelumnya sudah diinokulasikan dengan bakteri uji dan ditambah dengan ekstrak daun pucuk idat, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Media keruh menandakan adanya pertumbuhan bakteri pada media tersebut (Junaidi 2013). Berdasarkan hasil uji KHM pada tabel 4, dapat dilihat bahwa bakteri *Aeromonas hydrophilla* masih tumbuh pada konsentrasi 80mg/mL yang ditandai dengan kekeruhan pada media tabung reaksi. Bakteri *Staphylococcus aureus* konsentrasi 60mg/mL sudah tidak terjadi kekeruhan pada media yang ditandai dengan tabung reaksi berwarna bening. Bakteri *Xanthomonas oryzae* 80mg/mL tidak ada lagi pertumbuhan bakteri. Berdasarkan hal tersebut dapat dilihat bahwa masing- masing nilai KHM pada bakteri berbeda, namun pada konsentrasi tinggi 100mg/mL pada media sudah tidak ada lagi pertumbuhan bakteri, hal ini dikarenakan senyawa fitokimia yang terkandung pada konsentrasi tersebut lebih banyak dibandingkan konsentrasi lainnya dan merupakan konsentrasi tertinggi pada kadar uji.

Konsentrasi bunuh minimum (KBM) adalah kadar terendah dari bahan yang dapat membunuh suatu bakteri uji dalam (Hilmas, 2012). Uji KBM dilakukan menggunakan metode dilusi agar padat dengan cara mencelupkan suspensi menggunakan jarum ose steril pada media KHM ke media NA dan diinkubasi selama 24 jam. Hasil pengamatan uji KBM, bakteri *Aeromonas hydrophilla*, *Staphylococcus aureus*, dan *Xanthomonas oryzae* pada konsentrasi yang sama yaitu konsentrasi 20mg/mL, 40mg/mL dan 60mg/mL masih adanya pertumbuhan bakteri sudah tidak ada bakteri yang tumbuh pada media tersebut. Junaidi (2013) menyebutkan hasil positif suatu ekstrak yang mampu membunuh bakteri ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada kultur, sedangkan pada media yang

masih terdapat pertumbuhan bakteri uji menandakan bahwa konsentrasi tersebut belum mampu membunuh bakteri. Hasil uji KBM yang dilakukan, konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri yaitu konsentrasi 80mg/mL. Hasil uji ini digunakan untuk uji aktivitas antibakteri sebagai acuan penetapan konsentrasi yang akan digunakan.

4.2.5. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pucuk Idat

Uji aktivitas anti bakteri bertujuan untuk mengetahui seberapa besar kemampuan suatu bahan dalam menghambat atau membunuh suatu bakteri. Aktivitas anti bakteri ditandai dengan adanya pembentukan zona bening disekitar kertas cakram. Hasil uji KHM dan KBM menunjukkan bahwa konsentrasi 80gr/mL merupakan konsentrasi terendah yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri. Berdasarkan hal tersebut maka konsentrasi yang akan digunakan untuk aktivitas antibakteri yaitu konsentrasi dibawah 80gr/mL, hal ini dikarenakan penelitian ini bertujuan mengetahui konsentrasi terendah dibawah 80mg/mL apakah masih bisa menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri yaitu 80mg/mL, 70mg/mL, 60mg/mL, 50mg/mL, 40mg/mL, dan 30mg/mL. Konsentrasi 20mg/mL, tidak digunakan dalam uji karena terlalu rendah dan dianggap tidak bisa lagi dalam membentuk zona bening pada isolat uji.

Hasil uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada tabel 6. Bakteri *Aeromonas hydrophilla* dan *staphylococcus aureus* mengalami penurunan diameter zona hambat pada konsentrasi 70mg/mL. Menurut Ayu *et al* (tanpa tahun), penurunan diameter zona hambat dapat juga disebabkan karena zat antibakteri dari ekstrak tidak mampu berdifusi dengan baik, sehingga konsentrasi ekstrak 80mg/mL, terlalu pekat membuat ekstrak tidak mampu berdifusi dengan maksimal. Konsentrasi ekstrak yang tinggi menyebabkan ekstrak menjadi jenuh sehingga menyebabkan zat-zat aktif dalam ekstrak tidak dapat larut sempurna. Elizabet (2015) juga menyatakan hal yang sama dimana sampai pada batas konsentrasi tertentu kemampuan daya hambat sudah maksimal dan semakin menurun walaupun konsentrasinya semakin tinggi. Hal tersebut diduga pada konsentrasi tinggi larutan semakin pekat, sehingga daya difusi zat aktif semakin menurun. Bakteri

Xanthomonas oryzae terjadi peningkatan zona bening seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, hal ini terjadi karena bakteri tersebut memiliki dinding yang lebih sensitive terhadap senyawa aktif (Mulyawanti *et al.* 2011 dalam Arisandi 2017).

Terbentuknya zona hambat, pada pengujian aktivitas antibakteri dikarenakan ekstrak daun pucuk idat, memiliki senyawa-senyawa anti bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya senyawa-senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti senyawa fenol, alkaloid, tanin, dan saponin yang terkandung dalam ekstrak daun pucuk idat. Menurut Naidu (2000) mekanisme senyawa fenol sebagai zat antibakteri yang bekerja dengan cara meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel, mengendapkan sel protein mikroba serta dapat menghambat kerja aktivitas enzim pada mikroorganisme. Senyawa alkaloid memiliki efek anti mikroba karena memiliki sifat antibakteri dengan kemampuan menginterkalasi DNA, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Muphy 1999). Senyawa saponin yang terdapat dalam ekstrak daun pucuk idat juga memiliki sifat antimikroba. Saponin bersifat polar dan non polar sehingga dinding sel bakteri dapat dirusak dan dihancurkan oleh senyawa saponin, dengan mekanisme kerja menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intra seluler akan keluar (Robinson 1995). Menurut Tyler *et al* (1998) senyawa tanin mampu menghambat kerja protein pada dinding sel menyebabkan sel kehilangan aktivitas fisiologisnya dan fisis.

Kloramfenikol yang merupakan control positif memiliki diameter zona hambat yang lebih tinggi dibandingkan dengan berbagai konsentrasi ekstrak, hal ini terjadi karena kloramfenikol merupakan antibiotik sintesis yang memiliki bahan atau senyawa kimia yang kuat dan terkomposisi. Brooks *et al* (2015) menyatakan bahwa kloramfenikol memiliki spektrum yang luas dan merupakan penghambat yang kuat terhadap sintesis protein pada mikroorganisme, bekerja dengan cara memblokir ikatan asam amino pada ikatan rantai peptide yang mulai timbul pada

unit 50 ribosom dengan mengganggu peptidyl transferase. Akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan non fungsional pada sel mikroba.

Penggunaan akuades steril sebagai kontrol (-) tidak terdapat pembentukan zona bening atau tidak berpengaruh terhadap bakteri uji, hal ini dikarenakan akuades steril tidak mengandung zat/senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Penggunaan kontrol negative ini dimaksudkan untuk memastikan bahwa zona penghambat yang terbentuk pada perlakuan uji bukan karena pengaruh pelarut, tapi murni karena senyawa fitokimia yang terdapat dalam ekstrak tersebut.

Uji ANOVA yang dilakukan bertujuan untuk melihat sumber keragaman yang berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri. Pada tabel 7 hasil menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri. Konsentrasi ekstrak yang berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri pada uji ANOVA dilakukan uji lanjut DMRT untuk mengetahui beda nyata pada masing-masing konsentrasi ekstrak terhadap konsentrasi lainnya. Pada tabel 8 konsentrasi ekstrak 60mg/mL, 70mg/mL dan 80mg/mL tidak berbeda nyata, hal ini ditunjukkan dengan notasi lambing huruf yang sama (^a) pada masing konsentrasi terhadap zona hambat bakteri, namun berbeda nyata ada konsentrasi 40mg/mL, 50mg/mL dan 30mg/mL. Pada tabel 8 juga dapat dilihat bahwa diameter zona hambat terbesar yaitu pada konsentrasi 70mg/mL, artinya pada konsentrasi tersebut sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophilla*, *Staphylococcus aureus*, dan *Xanthomonas oryzae* dan merupakan konsentrasi terbaik.

Pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap pertumbuhan atau daya hambat bakteri dikarenakan semakin besarnya konsentrasi yang diberikan, jumlah kandungan senyawa fitokimia yang berada pada konsentrasi tersebut semakin besar, sehingga berpengaruh nyata. Kandungan senyawa fitokimia yang terdapat pada ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri, hal ini dijelaskan oleh Kaur (2011) bahwa kandungan senyawa seperti fenol, derivat fenol, asam asetat dan asam – asam organik yang relatif tinggi dapat menyebabkan lisisnya dinding sel baik karena trauma yang ditimbulkan serta menghambat terbentuknya dinding sel bakteri.