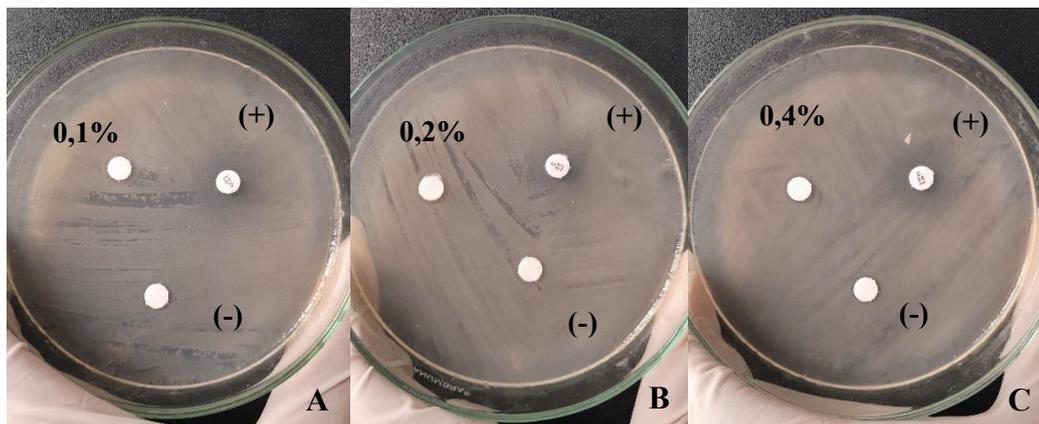


IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Pengujian hambatan pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* dilakukan dengan menggunakan infusa daun berenuk secara *in vitro* dengan metode difusi kertas cakram (*Kirby-bauer*) pada media MHA. Penelitian menggunakan beberapa kelompok perlakuan, yaitu kontrol negatif (DMSO), kontrol positif (kloramfenikol 30 µg), infusa daun berenuk konsentrasi 0,1%, 0,2%, dan 0,4%. Hasil zona hambat dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Hasil uji sensitivitas infusa daun berenuk (A. Konsentrasi 0,1%, B. Konsentrasi 0,2%, C. Konsentrasi 0,4%), kontrol positif (Kloramfenikol), dan kontrol negatif (DMSO) terhadap pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*.

Hasil dari uji ANOVA menunjukkan terdapat pengaruh perlakuan terhadap pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* ($p \leq 0,05$). Zona hambat yang terbentuk pada kelompok P1 (infusa daun berenuk 0,1%), P2 (infusa daun berenuk 0,2%), dan P3 (infusa daun berenuk 0,4%) menunjukkan adanya perbedaan yang nyata jika dibandingkan dengan kelompok K0(-) ($p < 0,05$). Zona hambat yang dihasilkan dari infusa daun berenuk tidak lebih besar dari pada kelompok kloramfenikol ($p < 0,05$).

Hal ini menunjukkan bahwa infusa daun berenuk berpotensi sebagai antibiotik alami meskipun tidak sebaik kloramfenikol (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Hasil uji diameter zona hambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* menggunakan infusa daun berenuk.

Kelompok	Rerata Zona Hambat ± SD (mm)
K0(-) DMSO	6,04 ± 0,10 ^a
K0(+) Kloramfenikol	13,11 ± 0,90 ^b
P1 0,1%	7,45 ± 0,36 ^c
P2 0,2%	7,63 ± 0,47 ^c
P3 0,4%	8,52 ± 0,51 ^c

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Hasil PIDG memperlihatkan persentase diameter hambatan pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* oleh infusa daun berenuk yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Konsentrasi tertinggi (0,4%) menunjukkan persentase PIDG terbaik jika dibandingkan dengan K0(-) ($P < 0,05$), namun lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok kloramfenikol ($p < 0,05$) (Tabel 4.2).

Tabel 4.2 Hasil uji daya hambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* berdasarkan PIDG menggunakan infusa daun berenuk.

Kelompok	PIDG ± SD (%)
K0(-) DMSO	0,80 ± 1,78 ^a
K0(+) Kloramfenikol	118,63 ± 15,00 ^b
P1 0,1%	24,23 ± 6,08 ^c
P2 0,2%	27,20 ± 7,90 ^c
P3 0,4%	42,06 ± 8,55 ^c

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

4.2 Pembahasan

Penyakit MAS disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila* dapat menyerang ikan air tawar dan berpotensi tinggi menyebabkan kematian (Haryani dkk., 2012; Saputra dkk., 2019). Daun berenuk adalah bahan alami yang dipilih pada penelitian ini karena memiliki kandungan flavonoid yang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* (Kusuma, 2017). Pengujian daya hambat infusa daun berenuk dengan beberapa variasi konsentrasi terhadap pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* dinilai berdasarkan nilai rata-rata zona hambat dan PIDG. Zona hambat adalah daerah jernih yang tidak terdapat pertumbuhan bakteri, zona ini terbentuk disekeliling kertas cakram pada media pertumbuhan bakteri uji (Putri dkk., 2016). PIDG adalah perhitungan persentase hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat yang dihasilkan ketika pengujian aktivitas antibakteri (Widhowati dkk., 2022).

Berdasarkan nilai rata-rata zona hambat dan PIDG setiap kelompok perlakuan menunjukkan bahwa ada perbedaan yang nyata pada zona hambat antara kloramfenikol dan variasi konsentrasi infusa daun berenuk 0,1%, 0,2%, dan 0,4%. Menurut *Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI)* (2020), interpretasi zona hambat pada *Aeromonas hydrophila* kelompok K0(+) dikategorikan intermediet karena rata-rata zona hambat yang terbentuk yaitu 13,11 mm, kelompok P1 dikategorikan resisten karena rata-rata zona hambat yang terbentuk yaitu 7,45 mm, kelompok P2 dan P3 dikategorikan resisten karena rata-rata zona hambat yang terbentuk yaitu 7,63 mm dan 8,52 mm. Nilai rata-rata zona hambat K0 (-) (DMSO) dinilai tidak tepat dikarenakan nilai yang dihasilkan adalah 6,04

mm. Hasil ini tidak tepat dikarenakan seharusnya K0(-) tidak menghasilkan zona hambat.

Persentase diameter zona hambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* terhadap infusa daun berenek dihitung berdasarkan PIDG yang diperoleh hasil rata-rata dari setiap kelompok perlakuan yaitu pada kelompok P1 (infusa daun berenek 0,1%) sebesar 24,23%, kelompok P2 (infusa daun berenek 0,2%) sebesar 27,20%, kelompok P3 (infusa daun berenek 0,4%) sebesar 42,06%, dan diperoleh nilai persentase tertinggi yaitu pada K0(+) (kloramfenikol) sebesar 118,63%, serta diperoleh nilai persentase terendah yaitu pada K0(-) (DMSO) sebesar 0,8%. Dari berbagai variasi konsentrasi infusa daun berenek tersebut diperoleh nilai yang tertinggi pada kelompok P3 (infusa daun berenek 0,4%) sebesar 42,06%.

Zona hambat yang terbentuk menunjukkan bahwa terdapat peranan dari kandungan senyawa flavonoid dalam daun berenek. Flavonoid adalah turunan senyawa fenolik yang memiliki kemampuan adsorpsi yaitu kemampuan dalam berikatan dengan sel bakteri (Widhowati dkk., 2022). Kemampuan ini menyebabkan flavonoid dapat bekerja sebagai antibakteri alami melalui beberapa cara yaitu menghambat fungsi membran sel, menghambat sintesis asam nukleat, dan menghambat metabolisme energi (Rijayanti, 2014; Nomer dkk., 2019).

Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat sebagai koagulator protein, dimana mampu membentuk suatu kompleks dari ikatan hidrogen bersama protein ekstraseluler terlarut yang dapat menyebabkan ketidakstabilan pada membran sel. Hal ini menyebabkan terjadinya hambatan pada fungsi membran sel dan kebocoran pada intraseluler (Nomer, 2019; Sari dkk., 2020). Menurut Lestari (2016) dan

Fatoni dan Alexandra (2017), flavonoid juga berperan dalam terhambatnya fungsi membran sel dengan mengganggu permeabilitas yang terdapat pada membran sel dan menghambat terbentuknya ikatan enzim seperti ATPase dan phospholipase.

Mekanisme penghambatan sintesis asam nukleat cincin A dan B pada senyawa flavonoid memiliki peranan besar dalam terbentuknya suatu ikatan hidrogen atau interkelasi, yaitu dengan penumpukan basa asam nukleat sehingga terjadi hambatan dalam proses terbentuknya DNA dan RNA (Rahmawati, 2022). Posisi gugus hidroksil 2',4' atau 2',6' yang telah dihidroksilasi pada cincin B dan gugus hidroksil 5,7 yang dihidroksilasi pada cincin A berperan dalam aktivitas antibakteri flavonoid. Hasil flavonoid dengan DNA yang saling berinteraksi mengakibatkan permeabilitas pada dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom menjadi rusak (Fatoni dan Alexandra, 2017).

Flavonoid juga berperan dalam menghambat metabolisme energi dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri sehingga terbentuknya energi yang terdapat pada membran sitoplasma menjadi terhambat, motilitas atau perpindahan bakteri yang berperan dalam aktivitas antimikroba dan protein ekstraseluler juga terhambat (Sari, 2015). Bakteri juga memerlukan energi yang berperan dalam proses biosintesis makromolekul, sehingga jika metabolisme bakteri terhambat maka secara bersamaan molekul pada bakteri tidak dapat berkembang menjadi molekul yang kompleks (Saptowo dkk., 2022).

Beberapa faktor yang berpotensi mempengaruhi hasil zona hambat dan PIDG pada pengujian daya hambat *Aeromonas hydrophila* dengan menggunakan infusa daun berenek yaitu jenis media pertumbuhan bakteri, komposisi media

pertumbuhan bakteri, perubahan pH, metode pembuatan infusa daun berenuk, variasi konsentrasi infusa daun berenuk yang digunakan, teknik dalam menanam bakteri pada media pertumbuhan, jenis dan konsentrasi antibiotik, jenis bakteri yang diuji, lama inkubasi bakteri, tingkat sterilitas dan sanitasi, dan lain sebagainya (Widhowati dkk., 2022; Puguh, 2016).

Berdasarkan pengujian hambatan pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* dengan menggunakan infusa daun berenuk yang telah dilakukan, menunjukkan adanya potensi bagi infusa daun berenuk sebagai bakteriostatik alami. Kandungan flavonoid pada konsentrasi infusa daun berenuk 0,1%, 0,2%, dan 0,4% berpotensi dalam menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* dengan adanya zona hambat yang terbentuk, dimana semakin tinggi konsentrasi infusa daun berenuk maka semakin besar juga zona hambat dan PIDG yang dihasilkan. Meskipun infusa daun berenuk memiliki zona hambat dan PIDG yang lebih kecil jika dibandingkan dengan zona hambat dan PIDG yang dihasilkan oleh kelompok kloramfenikol. Sehingga dapat dinyatakan bahwa hipotesa penelitian dapat diterima bahwa terdapat efikasi infusa daun berenuk terhadap zona hambat dan PIDG *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*. Berdasarkan hasil pengujian ini maka dapat diketahui bahwa infusa daun berenuk dapat menjadi solusi pengobatan dengan bahan alami bagi ikan air tawar yang terkena penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila*, dengan begitu maka dapat mengurangi penggunaan antibiotik yang dapat menyebabkan dampak negatif yaitu *Antimicrobial Resistance* (AMR) dan residu pada ikan yang dapat membahayakan kesehatan bila dikonsumsi oleh konsumen.

