

**PENGARUH EKSTRAK LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata*) TERHADAP DAYA
HAMBAT BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA *IN VITRO***

***EFFECT OF RED GALANGAL EXTRACT (*Alpinia purpurata*) ON INHIBITION OF
PSEUDOMONAS FLUORESCENS BACTERIA IN VITRO***

**Desy Amalia Hidayati¹, Rifka Liling Palinggi², Ahazia Imanuel Tampa³,
Lebrina Ivantry Boikh⁴**

^{1,2,3,4} Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan
Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana
Jl. Adisucipto, Penfui 001, Kotak Pos 1212, Tlp (0380) 881589-Kupang
e-mail: desy_hidayati@staf.undana.ac.id

Abstrak - Serangan penyakit merupakan pemicu kegagalan budidaya. Penyakit yang menyerang organisme budidaya air tawar yaitu penyakit bacterial salah satu agen bakteri yang menginfeksi adalah bakteri *P. fluorescens*. Penggunaan antibiotik seringkali digunakan untuk mengatasi penyakit yang disebabkan oleh bakteri, sehingga perlu adanya alternatif dengan penggunaan bahan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak lengkuas merah (*A. purpurata*) terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* secara *In Vitro*. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan, 2 kontrol dan 4 kali ulangan. Perlakuan A (100 ppm), perlakuan B (105 ppm), perlakuan C (110 ppm), perlakuan D (115 ppm), perlakuan E (120 ppm), kontrol positif menggunakan *tetracycline* 30 ppm, dan kontrol negatif tanpa pemberian ekstrak. Hasil penelitian didapat zona hambat tertinggi pada perlakuan E (120 ppm) dengan rerata zona hambat sebesar 10,53 mm dan terendah pada perlakuan A (100 ppm) dengan rerata zona hambat sebesar 8,15 mm. Zona hambat antar perlakuan menunjukkan grafik linier dengan persamaan $y = -3,25 + 0,11x$ dan koefisien determinasi (R^2) yaitu sebesar 0,8552.

Kata kunci: Lengkuas Merah (*A. purpurata*), *P. fluorescens*, Antibakteri

Abstract - Disease attack is a trigger for cultivation failure. Disease attack freshwater aquaculture organisms, namely bacterial disease, one of the bacterial agents that infect are *P. fluorescens* bacteria. The use of antibiotics is still often used to treat diseases caused by bacteria, so there is a need for alternatives to the use of natural ingredients. This study aims to determine effect of red galangal extract (*A. purpurata*) on inhibitory of *P. fluorescens* bacteria *in vitro*. This study used an experimental method with a completely randomized design (CRD) consisting of 5 treatments, 2 controls and 4 replications. Treatment A (100 ppm), treatment B (105 ppm), treatment C (110 ppm), treatment D (115 ppm), treatment E (120 ppm), positive control with 30 ppm *tetracycline*, and negative control without extract. The results showed that the highest inhibition zone was in treatment E (120 ppm) with an average inhibition zone of 10,53 mm and the lowest was in treatment A (100 ppm) with an average inhibition zone of 8,15 mm. The inhibition zone between treatments shows a linear graph with the equation $y = -3,25 + 0,11x$ and the coefficient of determination (R^2) is 0,8552.

Key words: Red galangal (*A. purpurata*), *P. fluorescens*, Antibacterial

I. PENDAHULUAN

Budidaya ikan di Indonesia mengalami perkembangan dari tahun ke tahun. Peningkatan produksi dapat berefek pada lingkungan area budidaya. Ketidakseimbangan lingkungan budidaya akan berdampak pada stresnya organisme budidaya dan akan menyebabkan menurunnya sistem imun sehingga organisme budidaya mudah terinfeksi penyakit. Timbulnya penyakit pada lingkungan budidaya disebabkan ketidakseimbangan hubungan antara inang, lingkungan dan pathogen (Khumaidi & Hidayat, 2018).

Intensitas padat tebar yang tinggi merupakan pemicu munculnya berbagai macam penyakit. Penyakit yang sering menyerang organisme budidaya air tawar merupakan penyakit bakterial. Budidaya ikan dengan padat tebar tinggi atau sistem intensif menjadikan ikan mudah mengalami stres ditambah dengan kualitas air yang buruk mendukung pertumbuhan bakteri merugikan. Bakteri patogen yang sering menginfeksi ikan air tawar umumnya berasal dari genus *Pseudomonas* sp. salah satunya *Pseudomonas fluorescens*. *P. fluorescens* mengakibatkan pembengkakan, luka bahkan dapat mengakibatkan kematian masal (Budianto dan Suprastyani, 2017).

Permasalahan penyakit pada organisme budidaya akibat bakteri patogen biasa menggunakan antibiotik sebagai upaya pengobatan. Penggunaan antibiotik dapat menyebabkan resistensi bakteri terhadap bahan kimia sehingga akan menimbulkan penyakit patogenik lainnya. Penggunaan antibiotik akan menyebabkan mutasi kromosom (Yulvizar *et al.*, 2014). Penggunaan bahan alami merupakan alternatif dalam mengatasi penyakit bakterial.

Penggunaan bahan alami lebih dianjurkan dikarenakan memiliki efek samping kecil, bahan mudah didapat dan harga yang ekonomis. Bahan alami yang dapat digunakan adalah bahan yang mengandung zat antibakteri salah satunya adalah lengkuas merah (*Alpinia*

purpurata K. Schum). Bahan alami yang terkandung dalam lengkuas merah antara lain minyak atsiri, flavonoid, fenol, terpenoid dan lain- lain yang bersifat bakterisidal. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri. Denaturasi protein akan mengakibatkan aktivitas metabolisme sel pada bakteri terhenti sehingga akan menyebabkan kematian sel bakteri (Sari *et al.*, 2017)

Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) terhadap daya hambat bakteri *Pseudomonas fluorescens* secara in vitro.

II. METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di CV. Sumber Rejeki Bandaran, Pasuruan, Jawa Timur pada Desember 2024. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, Erlenmeyer, beaker glass, pinset, incubator, jarum ose, blender, corong, timbangan digital, bunsen, Laminary Air Flow (LAF), rotary vacuum evaporator, autoklaf, mikropipet, blue tip, spatula, jangka sorong, vortex mixer, hot plate, cawan petri, dan nampan. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi rimpang lengkuas merah (*A. purpurata*), bakteri *P. fluorescens*, MHA (Mueller Hinton Agar), TSB (Tryptic Soy Broth), PSA (Pseudomonas Selective Agar), DMSO 10%, etanol 96%, alkohol 70%, spirtus, kertas cakram kertas bekas, kertas label, kertas saring, aquades, aluminium foil, kapas.

Metode penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Yusainy (2019) menyatakan bahwa metode eksperimen merupakan metode yang digunakan peneliti untuk mengetahui hubungan sebab akibat antara variabel terikat dan bebas. Peneliti melakukan manipulasi atau mengontrol variabel bebas untuk mengetahui pengaruh pada variabel terikat.

Metode penelitian ini juga menggunakan metode eksperimen dengan rancangan penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini

menggunakan 5 perlakuan dan 2 kontrol dengan 4 ulangan. Perlakuan penelitian ini menggunakan ekstrak lengkuas merah (*A. purpurata*) sebagai daya hambat bakteri *P. fluorescens*. Setiap perlakuan menggunakan dosis 100 ppm (A), 105 ppm (B), 110 ppm (C), 115 ppm (D), dan 120 ppm (E). Kontrol positif menggunakan antibiotik tetracycline dengan dosis 30 ppm dan kontrol negatif tanpa menggunakan ekstrak.

Parameter yang diamati pada penelitian ini terdiri dari parameter utama dan parameter penunjang. Parameter utama pada penelitian ini adalah besar diameter zona hambat bakteri yang diukur menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam satuan millimeter (mm). Parameter penunjang adalah suhu inkubasi.

Berbagai tahapan atau prosedur yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi :

1. Prosedur Penelitian Sterilisasi Alat dan Bahan
Sterilisasi merupakan proses persiapan penelitian yang dilakukan untuk menjadikan alat bahan steril bebas dari mikroorganisme. Tridianti et al., (2013), sterilisasi adalah proses pemusnahan segala mikroorganisme yang akan menyebabkan kontaminasi. Efek sterilisasi menjadikan perangkat bebas dari agen pathogen. Metode untuk sterilisasi biasanya menggunakan panas, bahan kimia, atau radiasi untuk menghancurkan patogen. Alat untuk sterilisasi yang sering digunakan salah satunya adalah autoklaf. Penggunaan autoklaf untuk sterilisasi yaitu pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.
2. Persiapan Bakteri *P. fluorescens*
Bakteri *P. fluorescens* didapatkan dari Balai Besar Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Perhitungan jumlah bakteri yang terdapat pada media TSB dapat dilakukan dengan metode Mc. Farland dan diperoleh kepadatan 3×10^8 sel/ml.
3. Pembuatan Ekstrak Lengkuas Merah
Pembuatan ekstrak lengkuas merah (*A. purpurata*) dengan cara lengkuas merah

diblender dan dikeringkan hingga didapatkan hasil berupa serbuk. Serbuk lengkuas merah sebanyak 100gram dimasukan kedalam wadah dan ditambahkan 600 ml etanol 96% sebagai pelarut. Simplisia direndam selama 3x24 jam pada suhu ruang hingga didapatkan maserat lengkuas merah. Maserat dievaporasi dengan menggunakan rotary vacuum evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental.

4. Pembuatan Media

a) Media PSA (Pseudomonas Selective Agar)

Media PSA digunakan untuk peremajaan bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Adapun prosedur pembuatannya ialah media PSA ditimbang sebanyak 0,48 gram. Selanjutnya media dilarutkan ke dalam erlenmeyer yang berisi akuades sebanyak 10 ml dan diaduk menggunakan spatula dan dipanaskan pada hot plate agar homogen. Setelah larut, erlenmeyer ditutup menggunakan kapas dan ditutup lagi dengan menggunakan aluminium foil. Media yang sudah tertutup disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit dan ditunggu hingga hangat lalu dituang ke dalam tabung reaksi steril.

b) Media TSB (Tryptic Soy Broth)

Media TSB digunakan untuk media kultur bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan uji MIC. Adapun prosedur pembuatan media TSB ditimbang sebanyak 0,3 gram. Selanjutnya media dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan akuades sebanyak 10 ml. Setelah media dan aquades terlarut, kemudian erlenmeyer yang berisi media cair dipanaskan dengan hot plate agar media homogen. Media yang sudah homogen ditutup dengan kapas dan dilapisi aluminium foil. Kemudian disterilisasi

dengan autoklaf pada suhu 121oC selama 15 menit.

- c) Media MHA (Mueller Hinton Agar)
Media MHA digunakan untuk Uji Cakram. Adapun prosedur pembuatan media MHA ditimbang media MHA sebanyak 3,8 gram. Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan akuades sebanyak 100 ml kemudian dihomogenkan. Setelah media dan aquades terlarut, kemudian erlenmeyer yang berisi media cair dipanaskan dengan hot plate agar media homogen. Media yang sudah homogen ditutup dengan kapas dan dilapisi alumunium foil. Kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121oC selama 15 menit. Ditunggu hingga hangat kemudian dituang ke dalam cawan petri.

5. Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan untuk menginokulasi kembali bakteri, peremajaan dilakukan dalam keadaan steril dengan menginokulasi kembali isolat bakteri dengan menggunakan jarum ose dan digoreskan pada agar miring dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 32°C. Andayani, et al. (2019) menyatakan bahwa peremajaan bakteri dilakukan secara steril, jarum ose yang akan digunakan untuk menginokulasi terlebih dahulu dipanaskan diatas bunsen dan digoreskan pada media secara zig-zag dalam kondisi steril kemudian diinkubasi pada suhu 32oC selama 24 jam.

6. Kultur Bakteri

Kultur bakteri dilakukan menggunakan biakan bakteri yang telah diremajakan pada media agar miring menggunakan jarum ose sebanyak 1 gores. Jarum ose dicelupkan pada media TSB dan dinkubasi menggunakan inkubator selama 24 jam dengan suhu 32oC. Andayani, et al. (2019) menyatakan bahwa prosedur kultur bakteri adalah dengan

mengambil 1 gores jarum ose bakteri yang sudah diremajakan dalam keadaan steril. Jarum ose yang berisi bakteri dicelupkan pada media dan disimpan pada inkubator selama 24 jam.

7. Pembuatan Dosis Ekstrak Lengkuas Merah
Ekstrak kasar lengkuas merah dalam bentuk pasta diencerkan dengan pelarut DMSO 10% dan ditentukan dosis yang diinginkan dalam satuan ppm (mg/L). Pembuatan dosis ekstrak dengan pengenceran dari dosis tertinggi menggunakan rumus sebagai berikut:

$$V_1N_1 = V_2N_2$$

Keterangan:

V1 =Volume larutan stok (ml), V2 = Konsentrasi larutan stok (ppm), V2 = Volume larutan yang diinginkan (ml) dan N2 = Konsentrasi larutan yang diinginkan (ppm)

8. Uji MIC

Uji MIC (Minimum Inhibiting Concentration) dilakukan dengan menambahkan berbagai dosis ekstrak lengkuas merah yang telah dilarutkan menggunakan akuades dan DMSO 10% yang bertujuan untuk mengetahui dosis terkecil dalam menghambat bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Uji MIC dilakukan dengan menggunakan tabung reaksi sebanyak 6 tabung yang telah berisi TSB (Tryptic Soy Broth) steril, bakteri, dan ekstrak. Dosis yang digunakan pada penelitian pendahuluan menggunakan skala log yang berbeda - beda diantaranya 0.01 ppm, 0.1 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm. Pada 2 tabung reaksi dijadikan kontrol positif dan negatif. Kontrol positif diberi antibiotik tetracycline 30 ppm dan kontrol negatif tanpa ekstrak. Selanjutnya tabung reaksi diinkubasi pada suhu 32oC selama 24 jam. Setelah diinkubasi dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan

panjang gelombang 635 nm dan pengamatan kekeruhan. Nilai absorbansi dan tingkat kekeruhan yang mendekati kontrol positif dapat digunakan untuk penentuan dosis uji cakram.

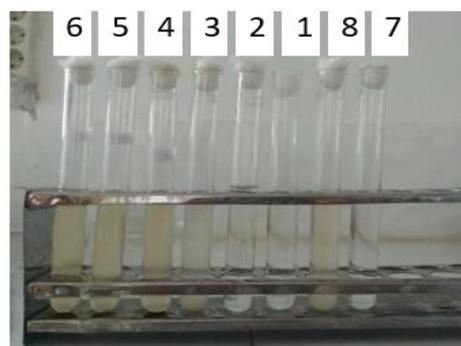
9. Uji Cakram

Pelaksanaan uji cakram dilakukan dengan cara disiapkan cawan petri yang berisi media MHA. Diredam kertas cakram steril selama 30 menit kedalam ekstrak lengkuas merah (*A. purpurata*) sesuai dengan dosis perlakuan. Bakteri *P. fluorescens* ditanam pada cawan petri yang berisi media MHA dengan mencelupkan cotton swap pada bakteri. Selanjutnya bakteri digoreskan pada media MHA dengan metode sebar dan diratakan menggunakan triangle. Kertas cakram yang telah direndam ekstrak diletakkan pada permukaan media yang telah ditanami bakteri. Cawan petri yang telah berisi bakteri, ekstrak dan kertas cakram diinkubasi selama 24 hingga 48 jam pada suhu 32°C. Pengamatan 48 jam dilakukan untuk mengetahui sifat antibakteri pada rimpang lengkuas merah (bakteriostatik atau bakteriosidal). Setelah diinkubasi, diukur zona bening di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong.

Data hasil pengaruh ekstrak lengkuas merah terhadap zona hambat bakteri *P. fluorescens* selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan analisis uji keragaman atau (ANOVA) dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada tingkat kepercayaan 95%. Analisis statistik dilakukan untuk mengetahui pengaruh variabel bebas (perlakuan) terhadap parameter ukur. Jika data sidik ragam berpengaruh nyata maka untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yaitu menggunakan uji beda nyata kecil (BNT) dan untuk mengetahui hubungan atau regresi antar perlakuan dengan diameter zona hambat menggunakan uji polynomial orthogonal.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji MIC mengenai pengaruh ekstrak lengkuas merah (*A. purpurata*) terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* secara in vitro didapatkan hasil nilai absorbansi dan tingkat kekeruhan yang berbeda pada setiap dosis pengenceran. Gambar hasil uji MIC disajikan pada Gambar 1 dan Hasil Pengukuran dengan Spektrofotometer disajikan pada Tabel 1.



Gambar 1. Hasil Uji MIC

Keterangan:

Tabung 1: 1000 ppm, Tabung 2: 100 ppm, Tabung 3: 10 ppm, Tabung 4: 1 ppm, Tabung 5: 0,1 ppm, Tabung 6: 0,01 ppm, Tabung 7: Kontrol (+), Tabung 8: Kontrol (-).

Tabel 1. Hasil Uji MIC dengan Spektrofotometer

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Warna
1	1000	0,148	Bening
2	100	0,200	Bening
3	10	0,441	Agak Bening
4	1	0,668	Keruh
5	0,1	0,855	Keruh
6	0,01	0,902	Keruh
7	K (+)	0,187	Bening
8	K (-)	0,887	Keruh

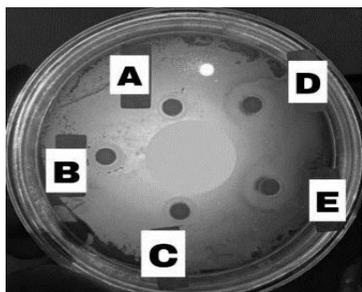
Sumber: Hasil Penelitian, 2021

Hasil uji MIC berdasarkan Gambar 1 dan Tabel 1, pada dosis 100 ppm dapat menghambat pertumbuhan *P. fluorescens* karena hasil spektrofotometer menunjukkan nilai absorbansi dosis 100 ppm mendekati nilai absorbansi kontrol positif dan tingkat kekeruhan pada dosis tersebut berwarna bening mendekati warna kontrol positif. Hal ini dikarenakan ekstrak

rimpang lengkuas merah memiliki kandungan senyawa antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*.

Kandungan antibakteri pada rimpang lengkuas merah berdasarkan hasil uji fitokimia diantaranya mengandung flavonoid, tannin, fenol, dan saponin. Hal ini sesuai dengan pernyataan Puasa et al. (2019), rimpang lengkuas merah mengandung senyawa flavonoid, fenol, dan terpenoid. Rimpang lengkuas merah juga mengandung minyak atsiri yang berfungsi menghambat pertumbuhan dengan mengganggu terbentuknya membran sel. Abubakar et al. (2019), senyawa fenol bersifat koagulator protein sehingga protein akan menggumpal dan tidak bekerja, pada saat itu fenol berperan dalam mengganggu pembentukan dinding sel bakteri yang menyebabkan bakteri dapat kehilangan kemampuan membentuk koloni dan akan menyebabkan kematian sel bakteri. Tannin pada rimpang lengkuas merah bereaksi dengan membran sel sehingga terjadi inaktivasi materi genetik bakteri.

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh ekstrak lengkuas merah (*A. purpurata*) terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* secara in vitro didapatkan hasil zona hambat yang berbeda pada setiap perlakuan. Uji Cakram dilakukan dengan menggunakan dosis 100 ppm, 105 ppm, 110 ppm, 115 ppm, 120 ppm serta kontrol positif dan negatif. Hasil uji daya hambat bakteri *P. fluorescens* setelah pemberian ekstrak rimpang lengkuas merah dapat dilihat pada Gambar 2 sementara data hasil uji cakram dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 2. Hasil Uji Cakram 24 jam

Keterangan:

Dosis perlakuan A = 100 ppm, B = 105 ppm, C = 110 ppm, D = 115 ppm, E = 120 ppm.

Tabel 2. Hasil Rerata Zona Hambat

Perlakuan	Ulangan				Total	Rerata + SD
	1	2	3	4		
A (100 ppm)	8,01	8,2	8,15	8,22	32,58	8,15 ± 0,09
B (105 ppm)	8,58	8,06	8,625	8,65	33,92	8,48 ± 0,28
C (110 ppm)	9,175	9,17	9,18	9,06	36,59	9,15 ± 0,06
D (115 ppm)	9,65	9,652	9,016	9,023	37,34	9,34 ± 0,36
E (120 ppm)	10,01	10,35	10,86	10,9	42,12	10,53 ± 0,43
Total					182,54	

Sumber: Hasil Penelitian, 2021

Berdasarkan Gambar 2 dan Tabel 2, dapat disimpulkan ekstrak rimpang lengkuas merah (*A. purpurata*) berpengaruh terhadap bakteri *P. fluorescens* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening. Diameter zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram bergantung oleh besar kecilnya pemberian dosis, dimana semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan maka zona bening yang terbentuk akan semakin besar begitu juga sebaliknya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Alfiah et al. (2015), besar kecilnya zona hambat atau zona bening yang terbentuk bergantung oleh besar kecilnya konsentrasi ekstrak yang diberikan. Semakin besar konsentrasi maka kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri semakin kuat. Besar kecilnya zona hambat juga dipengaruhi oleh faktor lain diantaranya suhu saat inkubasi, waktu pemasangan cakram serta jarak antar cakram.

Pengamatan 48 jam untuk mengetahui sifat antibakteri pada rimpang lengkuas merah. Hasil pengamatan menunjukkan setelah inkubasi 48 jam diameter zona bening menjadi lebih rendah sehingga dapat disimpulkan rimpang lengkuas merah bersifat bakteriostatik. Wiyanto (2010), inkubasi selama 48 jam dilakukan untuk mengetahui sifat dari ekstrak, jika zona hambat tetap berwarna bening maka ekstrak tersebut bersifat bakteriosidal sementara jika tumbuh bakteri atau zona bening mengecil maka ekstrak bersifat bakteriostatik.

Besaran zona hambat diklasifikasikan menjadi beberapa tingkatan. Suliani et al. (2016), menyatakan bahwa diameter zona hambat sebesar > 20 mm berarti sangat kuat, 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang dan < 5 mm berarti lemah. Berdasarkan pernyataan tersebut respon daya hambat ekstrak rimpang lengkuas merah terhadap *P. fluorescens* pada perlakuan A, B, C, dan D termasuk kategori sedang sementara pada perlakuan E termasuk dalam kategori kuat

Pengaruh antar perlakuan dapat diketahui dengan melakukan analisa sumber keragaman. Data analisa sumber keragaman dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Analisa Sumber Keragaman

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	Fhitung	F5%
Perlakuan	4	13.59	3.40	41,74*	3.06
Acak	15	1.22	0.08		
Total	19	14.81			

Keterangan: (*) = Berbeda nyata

Sumber: Hasil Penelitian, 2021

Berdasarkan data hasil sumber keragaman didapatkan F hitung sebesar 41,74 dimana hasil tersebut lebih besar dari nilai F5%. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak rimpang lengkuas merah (*A. purpurata*) berpengaruh nyata terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* sehingga dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji BNT

Perlakuan	A (8,15)	B (8,48)	C (9,15)	D (9,34)	E (10,53)	Notasi
A (8,15)	-	-	-	-	-	a
B (8,48)	0,33 ^{ns}	-	-	-	-	a
C (9,15)	1*	0,67*	-	-	-	b
D (9,34)	1,19*	0,86*	0,19 ^{ns}	-	-	bc
E (10,53)	2,38*	2,05*	1,38*	1,19*	-	c

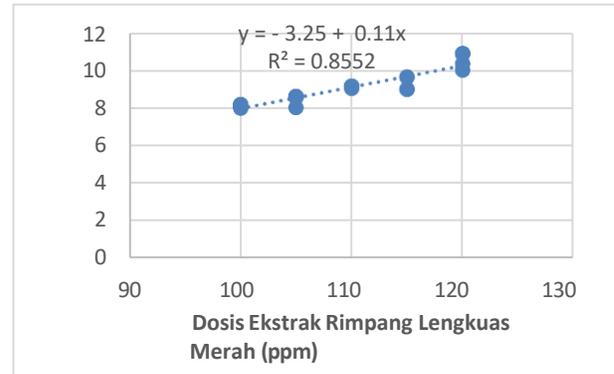
Keterangan: ns = tidak berbeda nyata

(*) = berbeda nyata

Sumber: Hasil Penelitian, 2021

Berdasarkan tabel uji BNT perlakuan E (120 ppm) memberikan pengaruh signifikan terhadap perlakuan A (100 ppm), B (105 ppm), perlakuan C (110 ppm), namun tidak memberikan pengaruh

signifikan terhadap perlakuan D (115 ppm). Berdasarkan hasil penelitian didapatkan grafik regresi polinomial orthogonal seperti yang disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik Uji Polynomial Orthogonal

Berdasarkan grafik hubungan antara penambahan dosis perlakuan ekstrak rimpang lengkuas merah (*A. purpurata*) terhadap zona hambat menunjukkan pola linier dengan persamaan $y = - 3.25 + 0.11x$ dan koefisien $R^2 = 0,85$. Nilai R^2 merupakan nilai koefisien determinasi yang menunjukkan jika pengaruh perlakuan ekstrak terhadap respon daya hambat sebesar 85,5% dan 14,5% dipengaruhi oleh faktor luar seperti human error. Grafik di atas menunjukkan bahwa setiap penambahan dosis, zona hambat yang didapat akan semakin besar. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Munfaati et al. (2015) bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi yang tinggi mengandung senyawa antibakteri yang lebih banyak sehingga bakteri menyerap senyawa antibakteri yang lebih banyak dimana akan mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat. Hal ini didukung oleh pernyataan Ayuratri dan Kusnadi (2017), senyawa antibakteri yang meningkat seperti fenol akan menyebabkan kemampuan fenol dalam memutus ikatan peptidoglikan akan semakin meningkat sehingga dapat merusak dinding sel dan mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat. Mekanisme kerja ekstrak rimpang lengkuas dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan

merusak susunan dan mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri (Kandou, et al., 2016).

Parameter penunjang yang digunakan dalam penelitian adalah suhu inkubator selama proses inkubasi. Hal ini dikarenakan pertumbuhan bakteri sangat dipengaruhi oleh suhu. Kisaran suhu setiap bakteri untuk tumbuh berbeda-beda. Suhu yang digunakan dalam penelitian yaitu 32°C. Suhu 32°C menghasilkan bakteri *P. fluorescens* dapat tumbuh dengan baik, ditandai dengan perubahan warna dan terdapat warna keruh di atas media agar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Scales, et al. (2014), yang mengatakan bahwa suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* antara 27 °C - 32 °C.

IV. KESIMPULAN

Adapun kesimpulan dari penelitian mengenai Pengaruh Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*A. purpurata*) terhadap Daya Hambat Bakteri *P. fluorescens* Secara In Vitro, ekstrak rimpang lengkuas merah (*A. purpurata*) berpengaruh terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* dimana semakin besar konsentrasi ekstrak yang diberikan semakin luas zona bening yang terbentuk.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, M.S dan Ibu Ir. Ellana Sanoesi, M.P yang telah membimbing penelitian ini serta seluruh pihak yang terlibat dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Abubakar, P. M. S., Fatimawali, Yam Lean, P. V. Y. (2019). Uji daya hambat ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* isolat sputum pada penderita pneumonia resisten antibiotik seftriakson. *PHARMACON*, 8(1), 11-22.

Andayani, A., Suprastyani, H. dan Rahmawati, E. D. (2019). Pengaruh pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap daya hambat bakteri *Pseudomonas fluorescens* secara in vitro. *Journal of Fisheries and Marine Research*, 3(3), 301-307

Ayuratri, M. K. & Kusnadi, J. (2017). Aktivitas antibakteri kombucha jahe (*Zingiber officinale*) (kajian varietas jahe dan konsentrasi madu). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 5(3), 95-107

Budianto & Suprastyani, H. (2017). Aktivitas Antagonis *Bacillus subtilis* terhadap *Streptococcus iniae* dan *Pseudomonas fluorescens*. *Jurnal Veteriner*, 18(3), 409-415

Dewi, R., Febriani, A. dan Wenas, D. M. (2019). Uji aktivitas antimikroba ekstrak metanol daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Propioni bacterium acnes* dan khamir *Malassezia furfur*. *Sainstech Farm*, 12(1), 32-38

Khumaidi, A., & Hidayat, A. (2018). Identification of causes of mass death of gurami fish (*Osphronemus gouramy*) in gurami fish cultivation sentra, desa beji, kedung banteng district, banyumas district, central java. *Journal of Aquaculture Science*, 3(2), 145–153.

Sari, E. T.P., Gunaedi, T., Indrayani, E. (2017). Pengendalian infeksi bakteri aeromonas hydrophila pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*). *JURNAL BIOLOGI PAPUA*, 9(2), 37–42.

Sianturi, I. T., Prajitno, A. & Sanoesi, E. (2019). Uji sensitivitas ekstrak kasar batang ciplukan (*Physalis angulata*) terhadap bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara in Vitro. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 10(1), 24-31

Yusainy, C. (2019). *Panduan Riset Eksperimental dalam Psikologi*. Ub Press: Malang. 215 hlm.