

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN JUWET (*Syzygium cumini*) TERHADAP DAYA HAM BAT BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA *IN VITRO*

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh :

**SITI NUR SIYAMI
NIM. 125080501111036**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN JUWET (*Syzygium cumini*) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA *IN VITRO*

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

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

Oleh :
SITI NUR SIYAMI
NIM. 125080501111036



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2016

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN JUWET (*Syzygium cumini*) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA *IN VITRO*

Oleh :
SITI NUR SIYAMI
NIM. 125080501111036

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 09 Mei 2016
dan dinyatakan memenuhi syarat

Menyetujui,
Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Abd. Rahem Faqih, M.Si)
NIP. 19671010 199702 1 001
Tanggal : 19 MAY 2016

Dosen Penguji II

(Ir. Heny Suprastyani, MS)
NIP. 19620904 198701 2 001
Tanggal : 19 MAY 2016

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

(Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS)
NIP. 19550213 198403 1 001
Tanggal : 19 MAY 2016

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. M. Fadiar, M.Sc)
NIP. 19621014 198701 1 001
Tanggal : 19 MAY 2016



Mengetahui,
Ketua Jurusan

(Dr. Ir. Arning Wiluieng Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal : 19 MAY 2016

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, Maret 2015

Penulis

SITI NUR SIYAMI



UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan atas terselesaikannya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih sebesar - besarnya kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan kelancaran dan berbagai kemudahan pada penulis dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
2. Bapak Ahmad dan Ibu Mukeni selaku kedua orang tua, kakak - kakak tercinta Asykuri, Nur Yanto, Puriyanti, M. Mudzakir, M. Sukandar dan Adek Ana Maria Ulfah, terimakasih atas doa, bimbingan dan dukungannya dari awal hingga akhir terselesaikannya laporan skripsi ini.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS sebagai dosen pembimbing 1 dan bapak Dr. Ir. M. Fadjar, M. Sc sebagai dosen pembimbing 2, yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, arahan dan nasehat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
4. Bapak Dr. Ir. Abd. Rahem Faqih, M.Si dan Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen penguji yang telah memberikan arahan dan masukan dalam penyusunan laporan skripsi.
5. Untuk teman *sharing* Ika Khairatun Nisyak, serta teman kos Sumber Sari 1 A No. 66 Wulan, Ifa, Vide dan Madu yang selalu memberikan semangat dan motivasi penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
6. Seluruh rekan - rekan tim penyakit yang telah membantu penulis dan selalu memberikan dukungan dan motivasi untuk terselesaikannya laporan skripsi.

RINGKASAN

SITI NUR SIYAMI. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Juwet (*Syzygium cumini*) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In vitro*. Dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS** dan **Dr. Ir. M. Fadjar, M. Sc.**

Ikan merupakan produk utama dari subsektor perikanan yang merupakan salah satu penghasil protein hewani bagi manusia. Kendala dalam peningkatan usaha perikanan adalah masalah penyakit, di antaranya infeksi yang disebabkan oleh parasit, virus, bakteri, dan jamur yang menyerang ikan. Penyakit ikan adalah segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun tidak langsung. Salah satu bakteri yang sering menginfeksi spesies ikan air tawar adalah bakteri *Aeromonas hydrophila*, dengan tingkat kematian yang cukup tinggi sekitar 80 - 100 % dalam waktu yang singkat yakni 1 - 2 minggu. Upaya pengendalian penyakit dengan pemakaian bahan kimia secara terus - menerus dan pemakaian dalam jangka waktu panjang dapat menimbulkan dampak negatif bagi ikan. Sehingga dibutuhkan alternatif antibakteri yaitu penggunaan tanaman sebagai obat ikan yang aman, mudah didapat, dan efektif. Salah satu tanaman yang dapat digunakan adalah daun juwet (*Syzygium cumini*) yang mengandung senyawa aktif yaitu flavonoid yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada bulan Januari sampai bulan Maret 2016. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh daya hambat ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) dengan konsentrasi berbeda terhadap bakteri *A. hydrophila* secara *In Vitro*.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 5 perlakuan konsentrasi ekstrak kasar daun juwet yaitu 5% (Perlakuan A); 10% (Perlakuan B); 15% (Perlakuan C); 20% (Perlakuan D); dan 25% (Perlakuan E) dan dilakukan 3 kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun juwet terhadap bakteri *A. hydrophila* berbeda sangat nyata yaitu dengan pengamatan besarnya diameter zona bening didapatkan nilai tertinggi pada perlakuan E sebesar 11,11 mm, sedangkan diameter zona bening terendah pada perlakuan A sebesar 4,58 mm. Uji polynomial orthogonal digunakan untuk mengetahui hubungan tiap perlakuan yang berbeda dengan besarnya diameter zona bening, hasil menunjukkan bahwa adanya hubungan antar tiap perlakuan, bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan, maka semakin tinggi pula daya hambat yang terbentuk didapatkan persamaan $Y = 0,33x - 2,79$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,964 dan koefisien korelasi (r) sebesar 0,981.

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini adalah ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) berpengaruh terhadap daya hambat pada bakteri *A. hydrophila* dengan nilai rata-rata diameter zona bening tertinggi 11,11 mm pada perlakuan E dengan konsentrasi 25%.

KATA PENGANTAR

Puji Syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga kami dapat menyusun laporan skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Juwet (*Syzygium cumini*) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*” dengan baik dan tepat waktu tanpa ada halangan suatu apapun. Skripsi ini merupakan salah satu syarat yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana (S-1) Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Dalam tulisan ini disajikan pokok - pokok bahasan yang secara umum meliputi pemberian ekstrak kasar terhadap daya hambat bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun untuk menyempurnakan skripsi ini. Dengan adanya skripsi ini penulis berharap agar bermanfaat dalam ilmu pengetahuan dan memberikan informasi bagi semua pihak yang membutuhkan.

Malang, Maret 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
RINGKASAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.4 Tempat dan Waktu Pelaksanaan.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biologi Tanaman Juwet (<i>S. cumini</i>).....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Juwet (<i>S. cumini</i>)	5
2.1.2 Habitat dan Penyebaran.....	6
2.1.3 Manfaat.....	7
2.1.4 Bahan Aktif Tanaman Juwet (<i>S. cumini</i>).....	7
2.1.5 Aktivitas Antimikroba.....	8
2.2 Biologi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi bakteri <i>A. hydrophila</i>	9
2.2.2 Habitat dan Penyebaran.....	10
2.2.3 Pertumbuhan	10
2.2.4 Infeksi dan Tanda Penyerangan Bakteri <i>A. hydrophila</i>	11
2.3 Uji Efektivitas Bakteri Secara <i>In Vitro</i>	12

3. METODE PENELITIAN	13
3.1 Materi Penelitian	13
3.1.1 Alat penelitian	13
3.1.2 Bahan penelitian	14
3.2 Metode Penelitian	14
3.3 Rancangan Penelitian	14
3.4 Prosedur Penelitian	16
3.4.1 Persiapan Penelitian	16
a. Sterilisasi Alat dan Bahan	16
b. Sterilisasi Tempat Perlakuan	16
c. Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Juwet	17
d. Pembuatan Media	18
e. Pembiakan Bakteri <i>A. hydrophila</i>	18
f. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Kasar Daun Juwet (<i>S. cumini</i>)	19
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian	20
a. Uji Cakram	20
b. Parameter Uji	22
3.5 Analisis Data	22
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Identifikasi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	23
4.2 Zona Hambat Ekstrak Kasar Daun Juwet (<i>S. cumini</i>) Terhadap Bakteri <i>A. hydrophila</i> Secara <i>In vitro</i>	24
4.3 Parameter Penunjang	32
5. KESIMPULAN DAN SARAN	34
5.1 Kesimpulan	34
5.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	38

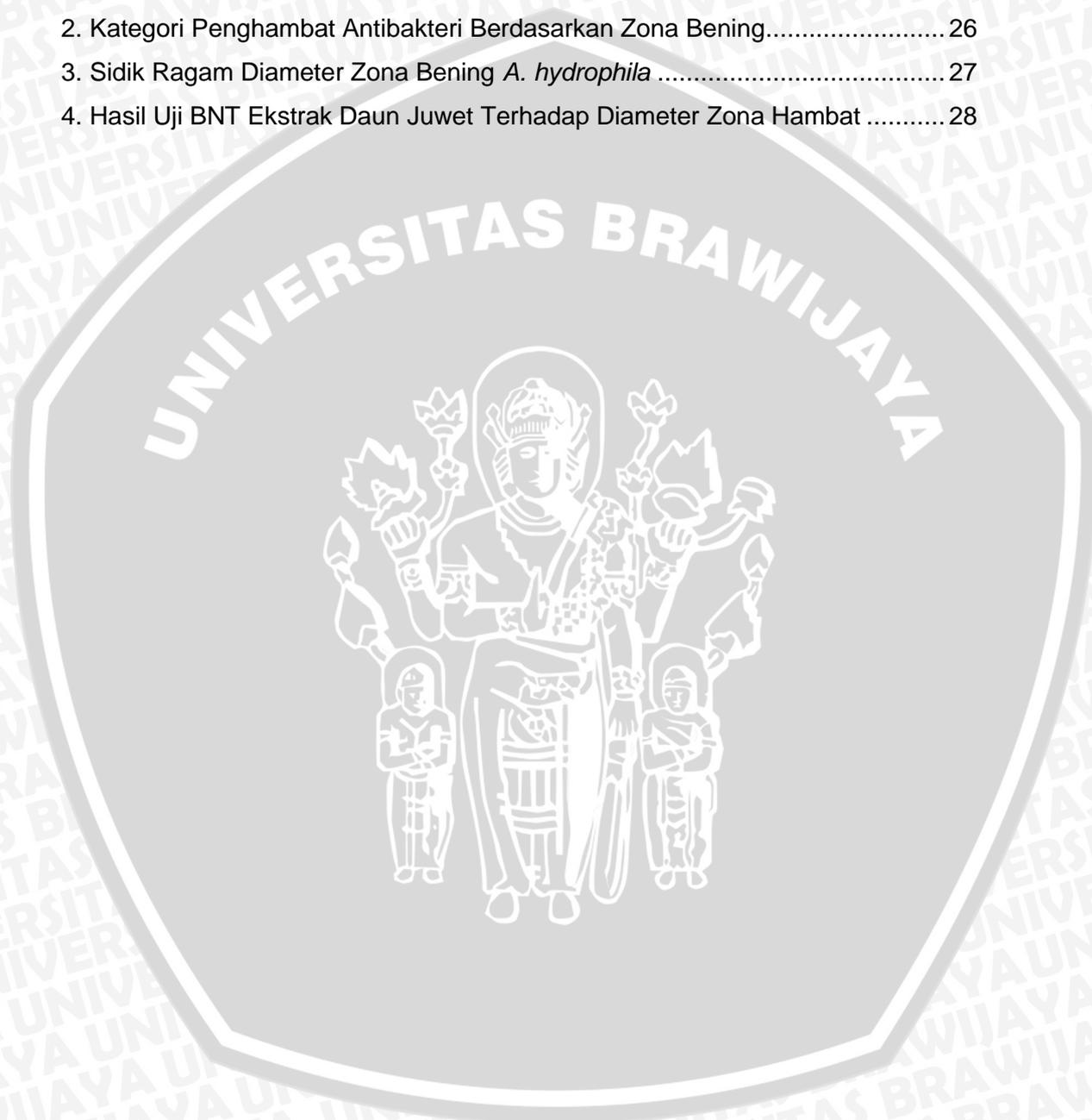
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Juwet (<i>Syzygium cumini</i>)	6
2. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
3. Denah Penelitian Uji Cakram	15
4. Hasil Uji Pewarnaan Gram Negatif <i>A. hydrophila</i> dengan Perbesaran 1000x 24	
5. Zona Hambat Ekstrak Daun Juwet (<i>S. cumini</i>) Terhadap <i>A. hydrophila</i>	25
6. Hubungan Antara Konsentrasi Terhadap Diameter Zona Hambat	29
7. Kerangka C6 – C3 – C6 Flavonoid.....	31



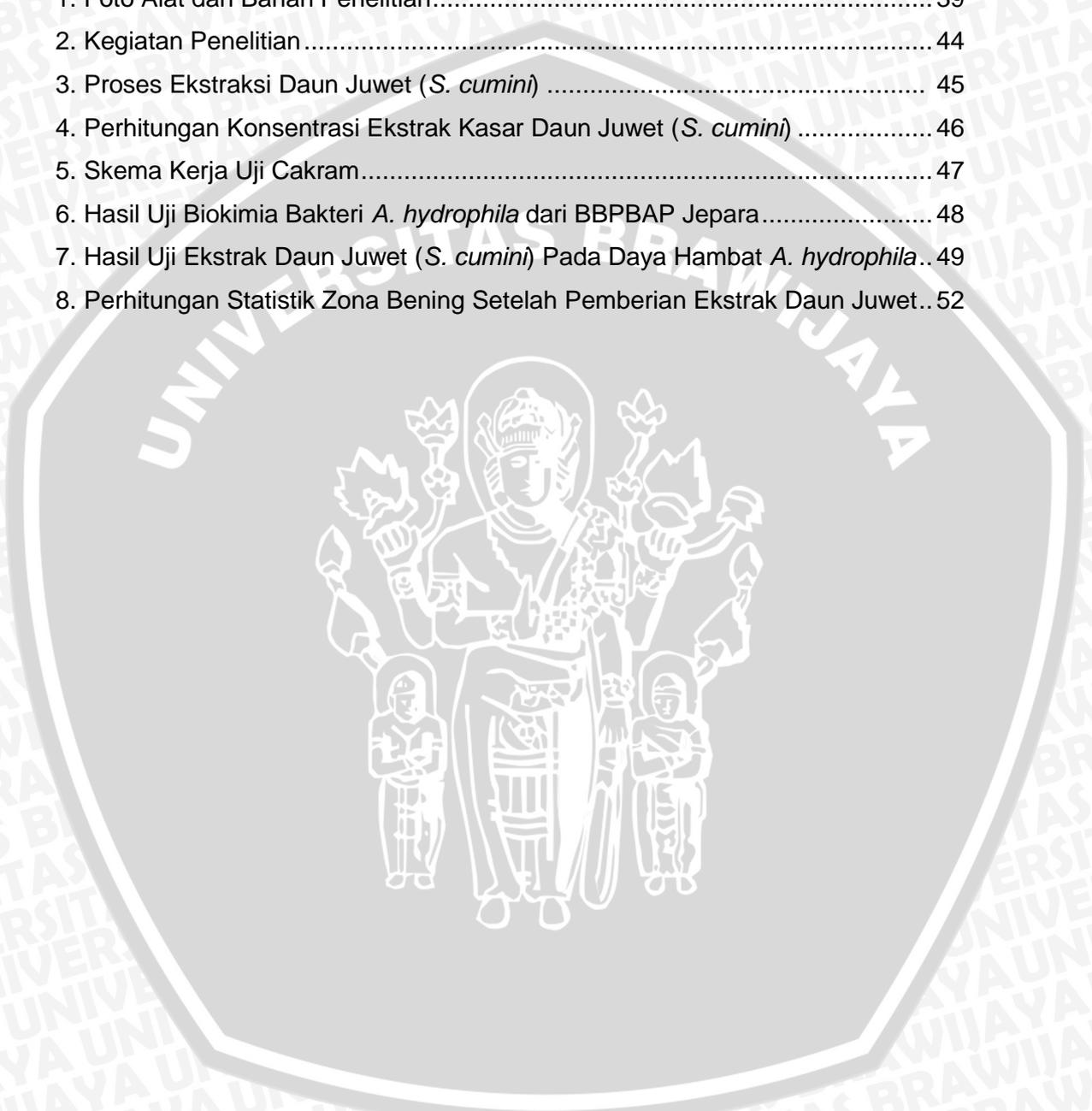
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data Rata - rata Hasil Pengukuran Zona Bening	26
2. Kategori Penghambat Antibakteri Berdasarkan Zona Bening.....	26
3. Sidik Ragam Diameter Zona Bening <i>A. hydrophila</i>	27
4. Hasil Uji BNT Ekstrak Daun Juwet Terhadap Diameter Zona Hambat	28



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Foto Alat dan Bahan Penelitian.....	39
2. Kegiatan Penelitian.....	44
3. Proses Ekstraksi Daun Juwet (<i>S. cumini</i>)	45
4. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Kasar Daun Juwet (<i>S. cumini</i>)	46
5. Skema Kerja Uji Cakram.....	47
6. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>A. hydrophila</i> dari BBPBAP Jepara.....	48
7. Hasil Uji Ekstrak Daun Juwet (<i>S. cumini</i>) Pada Daya Hambat <i>A. hydrophila</i> ..	49
8. Perhitungan Statistik Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Daun Juwet..	52



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perikanan merupakan suatu bidang ilmu yang terus berubah dan berkembang karena ikan merupakan produk utama dari subsektor perikanan yang merupakan salah satu penghasil protein hewani bagi manusia, terutama dalam bentuk lauk pauk yang sangat digemari oleh masyarakat Indonesia. Salah satu kendala dalam usaha peningkatan perikanan adalah masalah penyakit-penyakit diantaranya penyakit infeksi yang diakibatkan oleh parasit, virus, bakteri, dan jamur (Nurdiyanto dan Sumartono, 2006).

Menurut Prajitno (2005), penyakit ikan adalah segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun tidak langsung. Penyakit menyerang ikan tidak datang begitu saja, melainkan melalui proses hubungan antara tiga faktor, yaitu kondisi lingkungan (kondisi di dalam air), inang (ikan), dan adanya jasad patogen (jasad penyakit). Dengan demikian timbulnya serangan penyakit merupakan hasil interaksi yang tidak serasi antara ketiga faktor tersebut. Interaksi yang tidak serasi menyebabkan stress pada ikan, sehingga mekanisme pertahanan diri menjadi lemah dan mudah terserang penyakit.

Penyakit bakterial yang sering menginfeksi spesies ikan air tawar salah satunya adalah bakteri *Aeromonas hydrophila*. Tingkat penyerangan dari bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan kematian pada ikan dengan tingkat yang cukup tinggi sekitar 80 - 100 % dalam kurun waktu singkat yaitu 1 - 2 minggu, tergantung dari racun yang dihasilkan (Lukistyowati dan Kurniasih, 2012).

A. hydrophila merupakan bakteri patogen penyebab penyakit “*Motil Aeromonas Septicemia*” (MAS). Bakteri ini juga merupakan patogen oportunistik yang sebagian hidupnya ada didalam air dan menimbulkan penyakit apabila ikan dalam kondisi kurang baik. Tanda - tanda ikan terserang bakteri *A. hydrophila* antara lain: bercak merah, kerusakan pada kulit, insang dan organ dalam pada ikan (Rahmaningsih, 2012). Bakteri *Aeromonas* spp, cepat menyebar pada padat penebaran tinggi dan sering ditemukan dalam rongga perut ikan didaerah yang bersuhu panas (Prajitno, 2005).

Pengendalian perluasan penyakit harus dilakukan sejak awal masa pemeliharaan, agar tidak terjadi wabah penyakit yang akan menyebabkan kerugian ekonomi. Upaya pengendalian dapat dilakukan dengan pemakaian bahan kimia secara terus - menerus dan pemakaian dalam jangka waktu panjang dapat menimbulkan dampak negatif bagi ikan. Dampak lain lingkungan perairan menjadi tercemar, patogen - patogen yang menjadi resistensi, bahkan terhadap kesehatan konsumen dan adanya residu antibiotik di dalam tubuh ikan (Alifuddin, 2002).

Penggunaan antibiotik menyebabkan dampak negatif terhadap lingkungan budidaya, sehingga dibutuhkan alternatif pengobatan yang efektif, murah, aman terhadap manusia serta ramah lingkungan. Upaya pencegahan dan pengobatan penyakit ikan pada sistem budidaya sedang diarahkan pada penggunaan imunostimulan dari bahan alami yang terbukti efektif dan aman untuk manusia dan lingkungan (Abdullah, 2008). Oleh karena itu, dibutuhkan alternatif antibakteri yaitu penggunaan tanaman sebagai obat ikan yang aman, mudah didapat dan efektif. Salah satu tanaman yang dapat digunakan adalah juwet (*Syzygium cumini*).

Daun tanaman juwet (*S. cumini*) mengandung senyawa antibakteri dari kelompok senyawa flavonol yaitu flavonoid (Shafi, Rosamma, Jamil dan Reddy, 2002). Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang memiliki zat warna merah, ungu, dan biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh - tumbuhan dan senyawa ini digunakan sebagai antimikroba (Gafur, Isa dan Bialangi, 2011).

1.2 Rumusan Masalah

Ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* mengalami pembengkakan pada sirip dada, lesi (luka) dan perdarahan akut. Perut buncit terisi cairan bening dan sirip mengalami pembusukan terutama pada benih ikan. Penyerangan awal ditandai dengan gerakan renang tidak normal, ikan berenang di permukaan dan terjadi kematian massal (Kabata, 1985). Infeksi *A. hydrophila* dapat di diagnosa melalui tiga gejala klinis yang tampak seperti, gejala *Abdominal dropsy*, dicirikan dengan menumpuknya atau terakumulasinya cairan (*oedema*) pada ruang *viceral*, *Ulcerative* (ulkus) dicirikan adanya luka pada kulit dan otot, dan gejala *Bacterial haemorigic septicaemia* yang dicirikan oleh adanya pendarahan pada otot, juga biasa disebut *red disease*, *red pest*, dan *infectious dropsy* (Efianda, 2015).

Penggunaan bahan - bahan antibiotik dan zat kimia untuk menanggulangi penyakit dapat menimbulkan resistensi terhadap bakteri *A. hydrophila*. Penggunaan bahan tersebut juga dapat memberikan efek samping pada konsumen dan kualitas lingkungan perairan menurun (Muslim, Hotly, dan Widjajanti, 2009). Penggunaan antibiotik dalam skala besar kurang efisien karena selain tidak ekonomis juga akan berdampak dengan bertambahnya jenis bakteri yang resisten terhadap antibiotik dan dapat mencemari lingkungan. Salah

satu cara pengobatan alternatif yang efektif adalah dengan menggunakan fitofarmaka (Aniputri, Hutabarat dan Subandiyono, 2014).

Berdasarkan uraian di atas dapat diperoleh rumusan masalah sebagai berikut :

- Bagaimanakah pengaruh daya hambat ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) dengan uji cakram dengan konsentrasi yang berbeda terhadap bakteri *A. hydrophila* ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh daya hambat ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap bakteri *A. hydrophila* secara *In vitro*.

1.4 Hipotesis

H₀ : Diduga pemberian ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila*.

H₁ : Diduga pemberian ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila*.

1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Januari - Maret 2016.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Tanaman Juwet (*Syzygium cumini*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Juwet (*Syzygium cumini*)

Menurut Sharma, Mehta, Mehta, Nagar dan Mishra (2012), klasifikasi juwet (*S. cumini*) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridaeplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Division	: Tracheophyta
Subdivision	: Spermetophytina
Infradivision	: Angiospermae
Class	: Magnliopsida
Superorder	: Rosanae
Order	: Myrtales
Family	: Myrtaceae
Genus	: <i>Syzygium</i>
Species	: <i>Syzygium cumini</i>

Perawakan pohon berukuran sedang, tinggi mencapai 30 m. Batang diameter mencapai 90 cm, kulit batang kasar, berkayu bercabang banyak. Daun tunggal, berhadapan, bentuk bulat telur, ujung runcing, tepi rata, pangkal tumpul, pertulangan menyirip, permukaan atas mengkilat, dengan panjang 7 - 16 cm, lebar 5 - 9 cm, berwarna hijau, tangkai panjang 1 - 3 cm. Buah buni, bulat telur, panjang 2 - 3 cm berwarna merah tua, biji berbentuk lonjong keras berwarna putih (Nurrohman dan Swandayani, 2011).

Menurut Dalimartha (2003), tinggi pohon juwet 10 - 20 m dan berbatang tebal, tumbuhnya bengkok, serta bercabang banyak. Daun tunggal, tebal, tangkai

daun 1 - 3,5 cm. Helai daun lebar bulat memanjang atau bulat telur terbalik, pangkal lebar berbentuk baji, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas mengilap, panjang 7 - 16 cm, lebar 5 - 9 cm, warnanya hijau. Bunga majemuk bentuk malai dengan cabang yang berjauhan, bunga duduk, tumbuh diketiak daun dan diujung percabangan, kelopak berbentuk lonceng berwarna hijau muda, bentuk mahkota bulat telur, benang sari banyak, berwarna putih dan baunya harum. Adapun gambar dari tanaman Juwet (*S. cumini*) disajikan pada

Gambar 1.



Gambar 1. Tanaman Juwet (*S. cumini*) (Nurrohman dan Swandayani, 2011)

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Duwet (*S. cumini*) termasuk dalam family tumbuhan *Euphorbiaceae*. Tanaman ini dikenal dengan nama daerah jamblang, dalas, dhuwak, atau juwet (Joko, 2009). Ditemukan di seluruh India dengan ketinggian hingga 1800 meter. Habitat asli tanaman Juwet (*S. cumini*) di Myanmar dan diperluas ke Afghanistan, juga ditemukan di negara - negara lain seperti Thailand, Filipina, dan Madagaskar (Sah dan Verma, 2011).

Menurut Morton (1963), bahwa tanaman juwet (*S. cumini*) tumbuh subur di daerah curah hujan (sebanyak 400 inci per tahun), berkembang subur di tepi sungai dan telah dikenal sebagai tanaman yang dapat menahan banjir berkepanjangan. Tanaman ini tumbuh didaerah yang lembab dan tanah yang

kering. Di Asia selatan dan di Kepulauan Hawaii, ditemukan dari permukaan laut dengan ketinggian 5.000 sampai 6.000 kaki. Sehingga tanaman ini ditanam dalam satu baris sebagai penahan angin.

2.1.3 Manfaat

Menurut Utami (2008), daging buah Juwet (*S. cumini*) rasanya asam manis dan berbau aromatik. Daging buah berkhasiat untuk melumas organ paru, menyembuhkan batuk, sebagai peluruh buang air kecil (*diuretic*), memperbaiki gangguan pencernaan, merangsang keluarnya air liur, dan menurunkan kadar glukosa darah (*hipolikemik*). Kulit kayunya berkhasiat sebagai peluruh haid serta untuk pengobatan kencing manis (diabetes mellitus) dan diare. Bijinya digunakan untuk pengobatan kencing manis (diabetes mellitus), diare, disentri serta gangguan pencernaan seperti kembung, nyeri lambung, perut kram, keracunan *strychnine* (penawar racun yang tidak spesifik) dan pembesaran limpa.

Menurut Bhowmik, Gopinath, Kumar, Duraivel, Aravind dan Kumar (2013), buah juwet berukuran kecil, rasanya asam, manis dan asam. Berfungsi menyembuhkan penyakit batuk dan empedu, susah buang angin, memperlancar sirkulasi darah dan organ pencernaan, anti asam, penyakit kulit, aktivator hati, anti diare, peluruh bakteri di perut dan efektif dalam sistem pernapasan.

2.1.4 Bahan Aktif Tanaman Juwet (*S. cumini*)

Juwet mengandung minyak asiri, fenol (*methyl-xanthoxylin*), alkanoid (*jambose*), asam organik, triterpenoid, resin yang berwarna tua mengandung asam elegat dan tannin (Dalimartha, 2003). Hasil maserasi dengan menggunakan etanol 96% pada ekstrak buah juwet mengandung senyawa alkanoid, flavonoid, terpenoid, steroid, fenolik, dan saponin (Arifin, Anggraini, Handayani dan Rasyid, 2006).

Batang kayu tanaman juwet banyak mengandung asam betulinic, friedelin, epi friedelanol, asam galat, flavonoid dan tanin. Senyawa yang terkandung dalam daun juwet adalah flavonolid glikosida, quersetin, myrisetin 3-O-4 asetil-L-rhamnopyranoside, triterpenoid dan tanin (Ayyanar dan Pandurangan, 2012). Setelah dilakukan uji fitokimia ekstrak etanol dari daun juwet (*S. cumini*) positif mengandung senyawa antibakteri antara lain: fenol, flavonoid, tanin dan saponin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak daun juwet (*S. cumini*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* (Amalina, 2013).

2.1.5 Aktivitas Antimikroba

Antimikroba merupakan suatu senyawa yang dalam konsentrasi rendah mempunyai kemampuan untuk menghambat atau mencegah proses hidup mikroorganisme atau membunuh mikroorganisme (Rostinawati, 2010). Kemampuan suatu bahan antimikroba dalam meminimalkan kemampuan hidup mikroorganisme tergantung pada konsentrasi bahan antimikroba tersebut. Konsentrasi bahan antimikroba dalam suatu lingkungan sangat menentukan kehidupan bakteri yang terpapar bahan tersebut. Selain faktor konsentrasi, jenis bahan antimikroba juga menentukan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Ajizah, 2004).

Antibakteri atau senyawa kimia digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang bersifat merugikan. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri dikenal aktivitas bakteriostatik. Antibakteri tertentu aktivitasnya juga dapat meningkatkan kemampuan menjadi bakteriosidal (Widyarto, 2009).

2.2 Biologi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Menurut Buchanan dan Gibsons (1974), klasifikasi bakteri *A. hydrophila* adalah sebagai berikut:

Filum	: Protophyta
Klas	: Schizomyecetes
Ordo	: Pseudomonodale
Sub Ordo	: Pseumodineae
Family	: Vibrionceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Species	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

Bakteri *A. hydrophila* (**Gambar 2**) berbentuk batang lurus dengan ujung bulat, diameter 0,3 - 1,0 μm dan panjang 1,0 - 3,5 mikron. Bakteri ini termasuk dalam golongan bakteri gram negatif, bergerak dengan satu polar flagella, termasuk bakteri anaerob fakultatif, dan kemoorganotroph. Suhu optimal bakteri *A. hydrophila* adalah 22 - 28° C, sebagian besar spesies tumbuh baik pada suhu 37° C (Holt, Krieg, Sneath dan Williams, 1994).



Gambar 2. Bakteri *A. hydrophila* (El-sayed, 1950)

Menurut Afrianto dan Liviawaty (1992), menyatakan bahwa *Aeromonas* berbentuk seperti batang, ukurannya 1- 4,4 x 0,4 - 1 mikron, bersifat gram negatif, anaerob fakultatif (dapat hidup dengan atau tanpa oksigen), tidak

berspora, bersifat motil (bergerak aktif) karena mempunyai satu flagel (*monotrichous flagella*) yang keluar dari salah satu kutubnya, hidup di lingkungan bersuhu 15 - 30 °C dan pH 5,5 - 9.

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Aeromonas adalah salah satu bakteri banyak ditemukan di lingkungan perairan air tawar. Akan tetapi, juga ditemukan di perairan payau dengan salinitas kurang dari 15 ppt (setengah dari salinitas air laut). Bakteri *Aeromonas* bersifat anaerob fakultatif yaitu mampu hidup di lingkungan perairan dengan atau tanpa oksigen dan bakteri yang sering menyerang perairan yang kaya akan bahan organik, seperti kolam dan sistem budidaya lainnya. Bakteri ini juga ditemukan di kulit, saluran usus ikan yang sehat, kolam yang berlumpur, dan tanaman air (Camus, Durborow, Hemstreet, Thune dan Hawke, 1998).

Menurut Afrianto, Liviawaty, Jamaris dan Hendi (2015), *Aeromonas* sp. dapat dijumpai di lingkungan air payau, air tawar, atau lautan dan termasuk bakteri yang memiliki kemampuan untuk bergerak (motil). Suhu optimum pertumbuhan 28 °C, tetapi masih mampu bertahan hidup pada suhu (4 °C - 37 °C). Bakteri *Aeromonas* sp. hidup di lingkungan kolam yang tercemar bahan organik, terutama dimusim kemarau, atau menjelang musim hujan. Dapat bertahan hidup dalam air atau sedimen selama beberapa hari hingga beberapa minggu, tetapi tidak dapat berkembang dengan baik.

2.2.3 Pertumbuhan

Sebagian besar bakteri tumbuh melalui proses yang disebut pembelahan biner. Hal ini berarti bahwa sel terbagi menjadi dua sel identik yang tumbuh dan kemudian membelah lagi menjadi empat sel, delapan, enam belas, tiga puluh dua dan seterusnya. Proses ini dapat terjadi hanya dalam 20 menit atau dalam waktu berjam - jam. Perbedaan kecepatan pertumbuhan tergantung pada masa inkubasi suatu bakteri, yaitu waktu yang diperlukan bakteri dalam mencapai

jumlah yang cukup untuk menimbulkan gejala suatu infeksi penyakit (James, Baker dan Swain, 2002).

Pertumbuhan bakteri sangat dipengaruhi berbagai faktor lingkungan, meliputi faktor fisik dan faktor kimia yang dapat menyebabkan penurunan kecepatan tumbuh suatu organisme. Selama pertumbuhan pada medium, bakteri akan menunjukkan respon yang berbeda pada tiap konsentrasi. Respon tersebut ditunjukkan dengan perbedaan masa fase adaptasi pada awal pertumbuhan. Fase adaptasi merupakan fase dimana bakteri menyesuaikan diri dengan substrat dan kondisi lingkungannya. Semakin lama masa adaptasi mikroba pada lingkungan yang terdapat senyawa kimia tersebut menunjukkan bahwa senyawa kimia tersebut memiliki efek penghambatan pertumbuhan mikroba (Retnowati, Bialangi dan Posangi, 2011).

2.2.4 Infeksi dan Tanda Penyerangan Bakteri *A. hydrophila*

Penularan bakteri *Aeromonas* dapat berlangsung melalui air, kontak badan, kontak dengan peralatan yang telah tercemar. Ikan yang terserang bakteri *Aeromonas* memperlihatkan gejala diantaranya: warna tubuh berubah menjadi agak gelap, kulitnya menjadi kasat dan timbul pendarahan dan akhirnya menjadi borok (*hemorrhage*), kemampuan berenang menurun, sering megap - megap dipermukaan air karena insangnya rusak sehingga sulit bernafas, sering terjadi pendarahan pada organ bagian dalam seperti: hati, ginjal dan, limpa. Perutnya agak kembung (*dropsi*), seluruh siripnya rusak dan insangnya menjadi berwarna keputih - putihan, mata rusak dan agak menonjol (*exophthalmia*) (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

Menurut Rahmaningsih (2012), menyatakan bahwa gejala dari ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* memiliki tanda - tanda umum diantaranya: ikan bergerak atau berenang lamban, mengambil oksigen di permukaan air atau diam di dasar perairan, tidak mau makan, sirip rusak, luka pada kulit sampai ke otot,

exophthalmus (mata menonjol), perut membengkak berisi cairan kemerahan, darah dan jaringan ikan yang terserang bakteri *A. hydrophila* menjadi tidak berfungsi.

2.3 Uji Efektivitas Bakteri Secara *In Vitro*

Metode difusi agar (kertas cakram) atau yang sering disebut sebagai antijamur (antimikroba). Penggunaan uji cakram yaitu setelah dicelupkan dalam larutan sampel kertas cakram ditempatkan pada permukaan media agar yang telah ditumbuhkan dengan menggunakan indikator sel jamur (antimikroba). Media agar diinkubasi pada suhu yang tepat (biasanya 25° - 40 °C) selama 2 sampai 4 hari. Aktivitas antijamur sampel uji ditunjukkan dengan adanya zona hambat pertumbuhan bakteri di sekitar cakram. Keuntungan dari metode cakram adalah besar keseluruhan sampel dapat diuji dalam media yang kecil (Omura, 2012).

Menurut Miranti, Prasetyorini dan Suwary (2013), pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi kertas cakram. Pembuatan kertas cakram dilakukan dengan menyiapkan potongan kertas dibuat kertas cakram berdiameter 6 mm dibuat dari kertas saring Whatman, diletakan dalam cawan petri kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit, kemudian kertas cakram yang telah disterilkan tersebut ditetesi larutan uji masing - masing ekstrak dengan berbagai konsentrasi dan kontrol positif serta kontrol negatif.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian tentang Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Juwet (*S. cumini*) Terhadap Bakteri *A. hydrophila* Secara *In Vitro* disajikan pada Lampiran 1 dan untuk perincian adalah sebagai berikut:

- Toples Kaca
- Timbangan Digital
- Timbangan Analitik
- *Beaker Glass*
- Gelas Ukur
- Erlenmeyer
- Bunsen
- Cawan Petri
- Nampan
- Pipet Tetes
- *Micropipet*
- *Hotplate*
- *Pinset*
- *Autoclave*
- Lemari Pendingin
- *Tri Angle*
- Tabung Reaksi
- Rak Tabung Reaksi
- Gunting
- Jarum osse
- *Spatula*
- *Laminar air flow*
- *Rotary vacum evaporator*
- *Incubator*
- Jangka Sorong
- Korek Gas
- Botol Film
- *Blue tip*
- *Vortex Mixer*
- Cuvet

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian tentang Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Juwet (*S. cumini*) Terhadap Bakteri *A. hydrophila* Secara *In Vitro* disajikan pada Lampiran 1 dan untuk perincian adalah sebagai berikut:

- Daun juwet (*S. cumini*)
- TSA (*Tryptic Soya Agar*)
- TSB (*Tryptitone Soy Broth*)
- Bakteri *A. hydrophila*
- Lap Kering
- Kertas Label
- DMSO 10 %
- Alkohol 70 %
- Etanol 70 %
- Kertas Saring
- Akuades
- Spirtus
- Kertas Cakram ukuran 6 mm
- Tali
- Alumunium foil
- Kapas
- Tissue
- Kertas koran

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Menurut Zulnaldi (2007), metode eksperimen adalah prosedur penelitian yang dilakukan untuk mengetahui hubungan sebab - akibat dua variable atau lebih, dengan mengendalikan pengaruh variabel lain. Metode ini dilaksanakan dengan tujuan memberikan variable bebas dengan sengaja kepada objek penelitian untuk diketahui akibatnya didalam variable terikat.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Menurut Sastrosupadi (2000), Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen (sama), karena jika media atau tempat percobaan

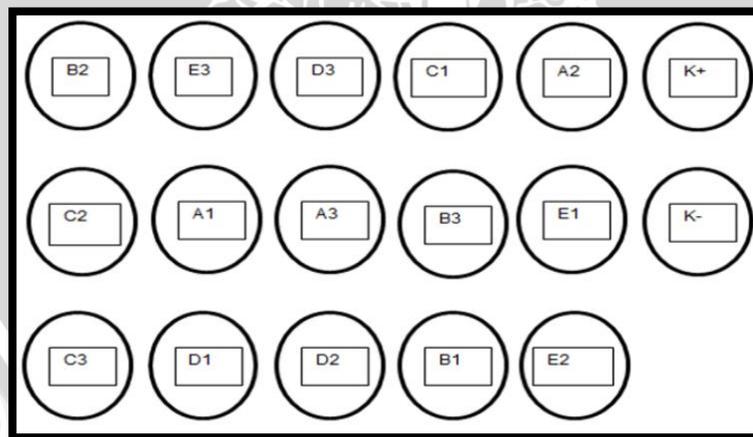
homogen tidak memberikan pengaruh pada respon yang diamati dan model RAL adalah sebagai berikut:

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

Keterangan :

- Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j
- μ = nilai tengah umum
- T_i = pengaruh perlakuan ke-i
- ε_{ij} = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Perlakuan yang diamati untuk penelitian *in vitro* adalah pengaruh pemberian ekstrak daun juwet (*S. cumini*) terhadap bakteri *A. hydrophila* pada cawan petri selama 24 jam. Pengamatan dilakukan berdasarkan pengukuran besarnya zona hambat yang muncul pada media agar dengan satuan milimeter (mm). Dalam penelitian ini rancangan percobaan yang digunakan yaitu menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dengan masing - masing dilakukan 3 kali ulangan dan 2 kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Denah penelitian disajikan pada **Gambar 3** sebagai berikut:



Gambar 3. Denah Penelitian Uji Cakram

Keterangan:

- K : Kontrol positif (+) dan negatif (-)
- A - E : Perlakuan
- 1 - 3 : Ulangan

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

- Alat-alat yang akan digunakan di cuci menggunakan sabun cuci, dikeringkan kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas koran dan diikat menggunakan benang kasar.
- Aquades secukupnya dituang ke dalam *autoclave*, kemudian alat yang telah dibungkus dengan kertas koran dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris.
- Tombol ON dinyalakan, setelah mencapai suhu 121 °C dan tekanan menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit dengan cara membuka atau menutup kran uap yang berada di bagian atas tutup *autoclave*.
- Tombol OFF ditekan, ditunggu beberapa saat sampai suhu menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka kran uap lalu buka penutup *autoclave* dengan cara simetris.
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

b. Sterilisasi Tempat Perlakuan

Setelah dilakukan sterilisasi alat dan bahan, langkah selanjutnya adalah sterilisasi tempat yang berfungsi untuk menghindari kontaminan dari luar pada tempat penelitian. Sterilisasi tempat dilakukan dengan cara kimia menggunakan alkohol 70% maupun cara fisika dengan pembakaran langsung maupun dengan penyinaran dengan sinar UV. Pada penelitian tempat sterilisasi tempat dilakukan dengan menggunakan sinar UV pada *Laminar air flow*. Untuk foto-foto kegiatan penelitian disajikan pada Lampiran 2.

c. Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Juwet

Proses pembuatan ekstrak dimulai dengan menyiapkan daun juwet segar yang didapatkan di sekitar area lapangan basket Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Langkah dalam pembuatan ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) disajikan pada Lampiran 3 dan untuk keterangan lebih jelas adalah sebagai berikut:

- Daun juwet segar diambil dan didapatkan sebanyak 10 kg.
- Selanjutnya daun juwet (*S. cumini*) di keringkan dengan cara di angin-anginkan agar kandungan fitokimia pada daun tidak hilang.
- Berat daun juwet kering menyusut sehingga dilakukan penimbangan ulang dan didapatkan berat sebesar 1 kg dengan persentase berat kering 10 %.
- Kemudian di lakukan pengovenan dengan suhu 40° C selama 10 jam, tujuannya agar didapatkan hasil pengeringan yang lebih sempurna.
- Setelah itu, dihaluskan dengan menggunakan *blender* sampai halus. Daun juwet diambil sebanyak 400 gr dengan cara ditimbang menggunakan timbangan analitik.
- Lalu di lakukan perendaman (*maserasi*) serbuk daun juwet dengan menggunakan larutan etanol 70% dengan perbandingan 1 : 7,5 yaitu setiap 1 gram serbuk juwet, direndam dalam 7,5 ml etanol 70%.
- Kemudian serbuk daun juwet diambil sebanyak 400 gram dan direndam dengan etanol 3 L. Maserasi dilakukan selama 5 x 24 jam dalam suhu kamar.
- Setelah itu, larutan yang didapatkan disaring dengan kertas saring lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak daun juwet sebanyak 54,651 gram dengan nilai rendemen 13,6 %.

d. Pembuatan Media**1) TSA (*Tryptitone Soya Agar*)**

- TSA merk OXOID dengan dosis 40 gram/l.
- TSA ditimbang sebanyak 20 gram dan dimasukkan dalam erlenmeyer berisi 500 ml akuades.
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan *aluminium foil*.
- Diaduk pada kondisi hangat diatas *hotplate* sampai tercampur rata.
- Disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121^oC selama 15 menit.
- Media yang akan dipakai dibiarkan dingin hingga mencapai suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ karena bakteri akan mati apabila ditanam pada media yang masih panas.
- Dituang pada cawan petri *steril* dan di tunggu hingga dingin, kemudian simpan media yang akan digunakan ke dalam lemari pendingin dan beri label.
- Panaskan lagi apabila akan digunakan kembali.

2) TSB (*Tryptitone Soy Broth*)

- TSB ditimbang 0,6 gram di larutkan dalam 20 ml akuades dalam erlenmeyer kemudian diaduk hingga larut sempurna dan berwarna kuning.
- Erlenmeyer ditutup kapas dan *aluminium foil* lalu dibungkus dengan kertas aluminium foil dan diikat dengan benang kasur.
- Disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121^oC selama 15 menit.
- Media yang akan digunakan untuk pembiakan bakteri dibiarkan dingin karena bakteri akan mati bila ditanam pada media yang masih panas.

e. Pemiakan Bakteri *A. hydrophila*

- Larutan TSB disiapkan sebanyak 0,6 gram dalam *erlenmeyer* sebanyak 20 ml.

- Jarum osse dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum osse disentuhkan kebiakan murni *A. hydrophila* kemudian dicelupkan ke TSB.
- Larutan TSB dibiarkan 12 - 24 jam dalam inkubator pada suhu 33⁰ C.
- Semua kegiatan pengkulturan dilakukan secara steril.
- Setelah 24 jam media TSB akan berubah menjadi keruh yang menandakan bahwa bakteri telah tumbuh.
- Setelah bakteri tumbuh, kemudian dicocokkan dengan larutan Mc. Farland.
- Sehingga didapatkan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10⁸ sel/ml.

f. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Kasar Daun Juwet (*S. cumini*)

Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan lima perlakuan yaitu 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%, dengan ditambahkan larutan DMSO 10% sebagai larutan pengencer. Perhitungan konsentrasi ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) disajikan pada Lampiran 4.

○ Konsentrasi 5 %

Ekstrak kasar daun juwet ditimbang sebanyak 0,05 gr kemudian ditambahkan DMSO 10% sebesar 0,95 ml, sehingga menghasilkan 1 ml ekstrak kasar daun juwet dengan konsentrasi 5%.

○ Konsentrasi 10 %

Ekstrak kasar daun juwet ditimbang sebanyak 0,1 gr kemudian ditambahkan DMSO 10% sebesar 0,9 ml, sehingga menghasilkan 1 ml ekstrak kasar daun juwet dengan konsentrasi 10%.

- Konsentrasi 15 %

Ekstrak daun juwet ditimbang sebanyak 0,15 gr kemudian ditambahkan DMSO 10% sebesar 0,85 ml, sehingga menghasilkan 1 ml ekstrak kasar daun juwet dengan konsentrasi 15%.

- Konsentrasi 20 %

Ekstrak kasar daun juwet ditimbang sebanyak 0,2 gr kemudian ditambahkan DMSO 10% sebesar 0,8 ml, sehingga menghasilkan 1 ml ekstrak kasar daun juwet dengan konsentrasi 20%.

- Konsentrasi 25 %

Ekstrak kasar daun juwet ditimbang sebanyak 0,25 gr kemudian ditambahkan DMSO 10% sebesar 0,75 ml, sehingga menghasilkan 1 ml ekstrak kasar daun juwet dengan konsentrasi 25%.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Uji Cakram

Metode cakram digunakan untuk menentukan kerentanan organisme terhadap antibiotik dengan cara menginokulasi pelat agar dengan biakan dan membiarkan antibiotik berdifusi ke media agar. Kertas cakram yang mengandung antibiotik diletakkan pada permukaan pelat agar yang mengandung organisme yang diuji (Harmita dan Radji, 2006).

Pada konsentrasi tertentu uji cakram dapat menghambat bakteri setelah dilakukan di inkubasi selama 24 jam dan dapat membunuh bakteri jika di inkubasi selama 48 jam. Kertas cakram yang telah direndam dengan menggunakan antibakteri diletakkan di atas lempengan agar yang telah ditanam dengan mikroorganisme yang akan diuji. Pertumbuhan mikroorganisme dikatakan terhambat jika terlihat wilayah jernih pada sekitar pertumbuhan mikroorganisme.

Skema kerja uji cakram disajikan pada Lampiran 5, sedangkan untuk prosedur pelaksanaan uji cakram sebagai berikut :

- Disiapkan cawan petri yang sudah terdapat media TSA sebanyak 20 ml
- Disiapkan berbagai konsentrasi ekstrak kasar daun juwet yang akan diujikan untuk mengetahui daya hambatnya.
- Disiapkan bakteri pada media TSB dengan kepadatan 15×10^8 sel/ml.
- Penanaman bakteri pada media TSA dilakukan dengan metode cawan sebar (*Spread plate*).
- Kemudian ambil media TSB sebanyak 0,1 ml dengan pipet ukur kemudian teteskan diatas permukaan agar yang telah memadat.
- Diratakan dengan menggunakan triangle steril.
- Kemudian disebar dengan menempelkan pada permukaan agar supaya tetesan suspensi merata, penyebaran bakteri dilakukan di *Laminar air flow* dengan kondisi yang tetap steril agar tidak terkontaminasi.
- Selanjutnya merendam kertas cakram pada masing-masing konsentrasi yang ditentukan selama 15 menit.
- Kertas cakram ditiriskan dan diletakkan pada lempeng agar yang sebelumnya sudah ditanami bakteri.
- Dilakukan inkubasi selama 24 jam dengan suhu kamar yaitu 33° C.
- Diukur diameter zona bening yang ada di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong untuk menentukan konsentrasi optimum yang dapat menghambat bakteri.
- Untuk mengetahui sifat bakteriosidal (membunuh bakteri) maka dilakukan pengamatan setelah 48 jam.

b. Parameter Uji

Parameter utama yaitu hasil pengamatan uji berupa ukuran dari diameter zona bening yang terlihat di sekitar kertas cakram yang sudah ditumbuhi oleh bakteri *A. hydrophila* dengan menggunakan ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*), sedangkan parameter penunjangnya yaitu lamanya perendaman yang dilakukan dengan kertas cakram pada ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) selama 15 menit.

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini, di analisis dengan menggunakan analisis keragaman atau uji f (ANOVA) dengan rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Uji f (ANOVA) digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur (uji f). Jika nilai uji f berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan perbedaan antar dua perlakuan.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi Bakteri *A. hydrophila*

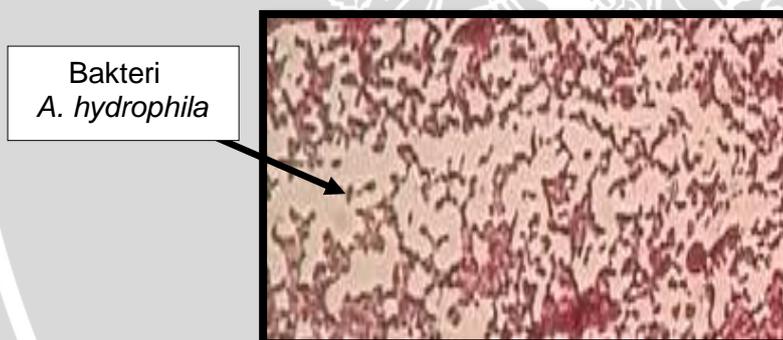
Pada penelitian ini bakteri yang digunakan adalah isolat murni yang diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, kemudian dilakukan peremajaan bakteri pada media agar miring menggunakan TSA (*Tryptic Soya Agar*) dengan metode gores, dan juga dilakukan peremajaan pada media cair yaitu TSB (*Tryptone Soya Broth*). Untuk hasil uji biokimia bakteri *A. hydrophila* disajikan pada Lampiran 6.

Identifikasi bakteri *A. hydrophila* yang digunakan pada penelitian ini adalah uji pewarnaan gram. Menurut Pratita dan Putra (2012), uji pewarnaan gram yaitu uji isolat bakteri diambil 1 ose dan di goreskan pada permukaan preparat steril kemudian dilakukan fiksasi. Kristal violet sebanyak 1 tetes ditambahkan ke permukaan preparat yang terdapat lapisan bakteri dan didiamkan selama 1 menit. Setelah 1 menit, preparat dibilas dengan air sampai zat warna luntur. Preparat dikeringkan di atas api spiritus. Setelah kering, larutan iod sebanyak 1 tetes ditambahkan ke permukaan preparat tersebut dan didiamkan selama 1 menit. Setelah 1 menit, preparat dibilas dengan air. Preparat dibilas dengan alkohol 96% sampai semua zat warna luntur kemudian dicuci dengan air. Preparat dikeringkan di atas api spiritus. Setelah kering, safranin sebanyak 1 tetes ditambahkan ke permukaan preparat dan didiamkan selama 45 detik. Preparat dicuci dengan air dan dikeringkan. Preparat diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x.

Bakteri gram negatif berwarna merah dikarenakan kompleks tersebut larut ketika pemberian larutan pemucat atau lugol, kemudian mengambil zat warna kedua atau larutan safranin yang berwarna merah, sedangkan bakteri

gram positif berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet yodium tetap dipertahankan meskipun telah diberikan larutan pemucat. Perbedaan hasil dalam pewarnaan ini disebabkan adanya perbedaan struktur kedua kelompok bakteri tersebut (Hidayat dan Alhadi, 2012).

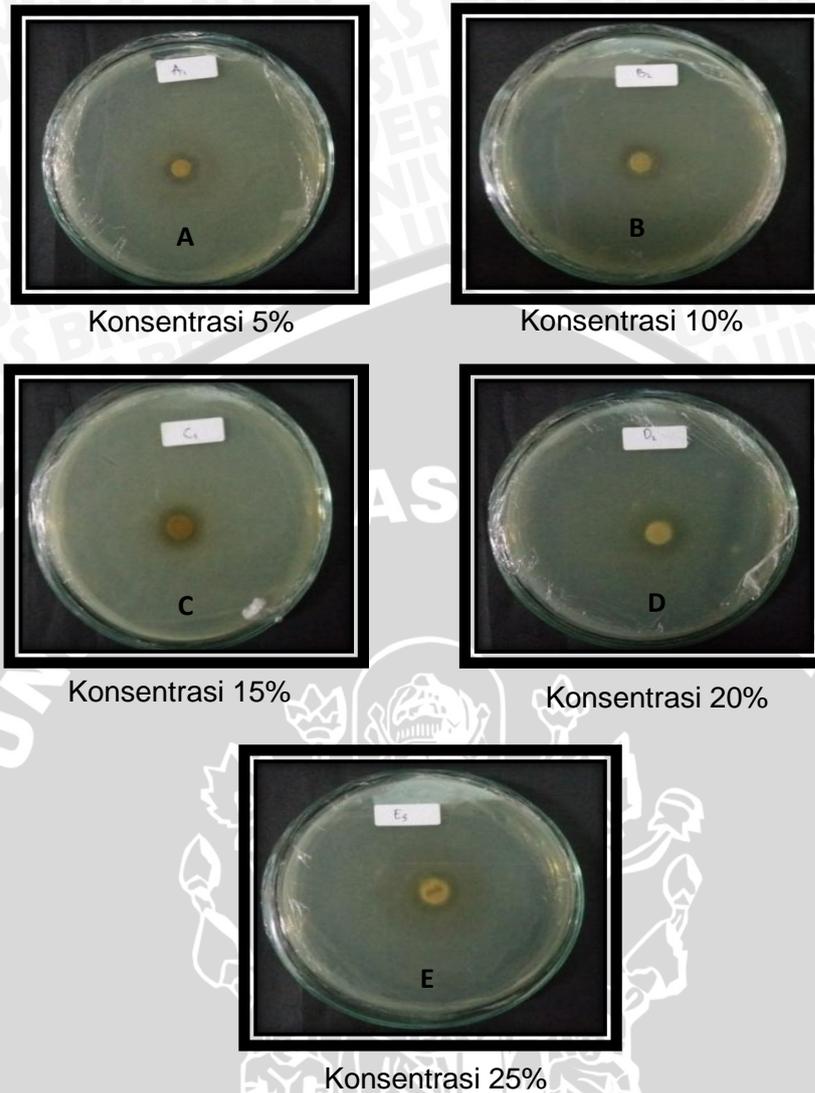
Perbedaan bakteri gram positif dan gram negatif terletak pada struktur dindingnya. Susunan struktur sel bakteri gram positif lebih sederhana sedangkan struktur sel bakteri gram negatif lebih kompleks (Kusmiyati dan Agustini, 2007). Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan lebih banyak kandungan peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat), sedangkan bakteri gram negatif lebih banyak mengandung lipid dan sedikit peptidoglikan (Dewi, 2010). Gambar hasil uji penelitian dari pewarnaan gram disajikan pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Hasil Uji Pewarnaan Gram Negatif *A. hydrophila* dengan perbesaran 1000x

4.2 Zona Hambat Ekstrak Kasar Daun Juwet (*S. cumini*) terhadap Bakteri *A. hydrophila* secara *In Vitro*

Hasil pengamatan daya hambat pada ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dilakukan uji cakram yaitu dengan menghitung diameter zona bening disekitar cakram. Hasil zona bening tiap konsentrasi disajikan pada **Gambar 5**, dan untuk gambar tiap perlakuan disajikan pada Lampiran 7.



Gambar 5. Uji Daya Hambat Ekstak Kasar Daun Juwet (*S. cumini*) terhadap Bakteri *A. hydrophila*)

Perbedaan diameter zona bening dipengaruhi oleh adanya perlakuan dengan konsentrasi yang berbeda. Hasil menunjukkan semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi pula nilai diameter zona bening dan semakin rendah konsentrasi maka nilai diameter zona bening yang dihasilkan semakin kecil. Hal ini sesuai pendapat Karlina, Ibrahim dan Trimulyono (2013), bahwa semakin tinggi pemberian konsentrasi zat antibakteri maka semakin pula besar diameter zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram. Hal ini diperkuat oleh Rahayu (2013), bahwa daya hambat yang dihasilkan pada masing - masing

konsentrasi perlakuan, terlihat bahwa zona hambat yang dihasilkan akan semakin besar sesuai dengan peningkatan konsentrasi.

Pada penelitian ini didapatkan hasil perhitungan rata - rata diameter zona bening lima perlakuan dengan konsentrasi berbeda dan dengan tiga kali ulangan disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Data Rata – Rata Hasil Pengukuran Zona Bening

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata (mm)
	1	2	3		
A (5%)	4,30	4,72	4,73	13,75	4,58
B (10%)	6,65	5,83	4,68	17,16	5,72
C (15%)	8,43	7,46	7,58	23,47	7,82
D (20%)	9,63	9,38	9,37	28,38	9,46
E (25%)	11,09	10,60	11,65	33,34	11,11
Total				116,10	

Hasil dari tabel rata-rata pengukuran zona bening didapatkan dari masing - masing perlakuan yaitu pada perlakuan A dengan konsentrasi (5%) sebesar 4,58 mm, perlakuan B dengan konsentrasi (10%) nilai rata - rata sebesar 5,72 mm, perlakuan C dengan konsentrasi (15%) sebesar 7,82 mm, untuk perlakuan D dengan konsentrasi (20%) sebesar 9,46 mm dan untuk perlakuan E dengan konsentrasi (25%) didapatkan rata-rata zona bening sebesar 11,11 mm.

Menurut Lathifah (2008), menyatakan bahwa respon hambat dari suatu bahan aktif dapat diklasifikasikan menjadi 4 respon disajikan pada **Tabel 2** sebagai berikut:

Tabel 2. Kategori Penghambatan Antibakteri Berdasarkan Zona Bening

Diameter (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
> 20	Sangat kuat
10-20	Kuat
5-10	Sedang
< 5	Lemah

Berdasarkan tabel 2 di atas mengenai kategori penghambatan antibakteri berdasarkan zona bening untuk perlakuan A dengan konsentrasi 5% berdiameter

4,58 mm dikategorikan “lemah” dikarenakan nilai rata-rata kurang dari 5 mm, pada perlakuan B konsentrasi 10% berdiameter 5,72 mm, perlakuan C dengan konsentrasi 15% berdiameter 7,82 mm dan perlakuan D dengan konsentrasi 20% berdiameter 9,46 mm dikategorikan “sedang” dikarenakan nilai rata - rata diameter 5 - 10 mm, dan untuk perlakuan E konsentrasi 25% berdiameter 11,11 mm maka respon hambatan pertumbuhan dikategorikan “kuat” dikarenakan nilai rata - rata diameter 10 - 20 mm. Jadi dari hasil penelitian dapat dikatakan bahwa ekstrak daun juwet (*S. cumini*) dikategorikan respon hambat “kuat”.

Dari hasil pengukuran zona bening dilanjutkan dengan perhitungan sidik ragam yaitu untuk mengetahui pengaruh perlakuan dari pemberian ekstrak daun juwet (*S. cumini*) terhadap bakteri *A. hydrophila*. Tabel sidik ragam dapat dilihat pada **Tabel 3** dan untuk perhitungan disajikan pada Lampiran 8.

Tabel 3. Sidik Ragam Diameter Zona Hambat *A. hydrophila*

SK	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	85,17	21,29	68,67**	3,48	5,99
Acak	10	3,17	0,31			
Total	14	88,34				

Keterangan :

**) Berbeda sangat nyata

Pada tabel di atas mengenai perhitungan sidik ragam didapatkan hasil bahwa pengaruh ekstrak daun juwet (*S. cumini*) terhadap bakteri *A. hydrophila* dikatakan berbeda sangat nyata. Hal ini dapat dilihat dari perhitungan nilai F. Hitung yang lebih besar dibandingkan dengan nilai F. Tabel 5 % dan 1%, yaitu nilai F. hitung sebesar 68,67 lebih besar dibandingkan dengan nilai F. Tabel 5% dan 1% yaitu 3,48 dan 5,99. Kemudian dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan yang disajikan pada **Tabel 4** dan untuk perhitungan pada Lampiran 8.

Tabel 4. Hasil Uji Beda Nyata (BNT) Ekstrak Kasar Daun Juwet (*S. cumini*) terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *A. hydrophila*

Rerata Perlakuan		A	B	C	D	E	Notasi
		4,58	5,72	7,83	9,49	11,11	
A	4,58	-	-	-	-	-	a
B	5,72	1,14**	-	-	-	-	b
C	7,82	3,24**	2,10**	-	-	-	c
D	9,49	4,91**	3,77**	1,67**	-	-	d
E	11,11	6,53**	5,29**	3,29**	1,62**	-	e

Keterangan :

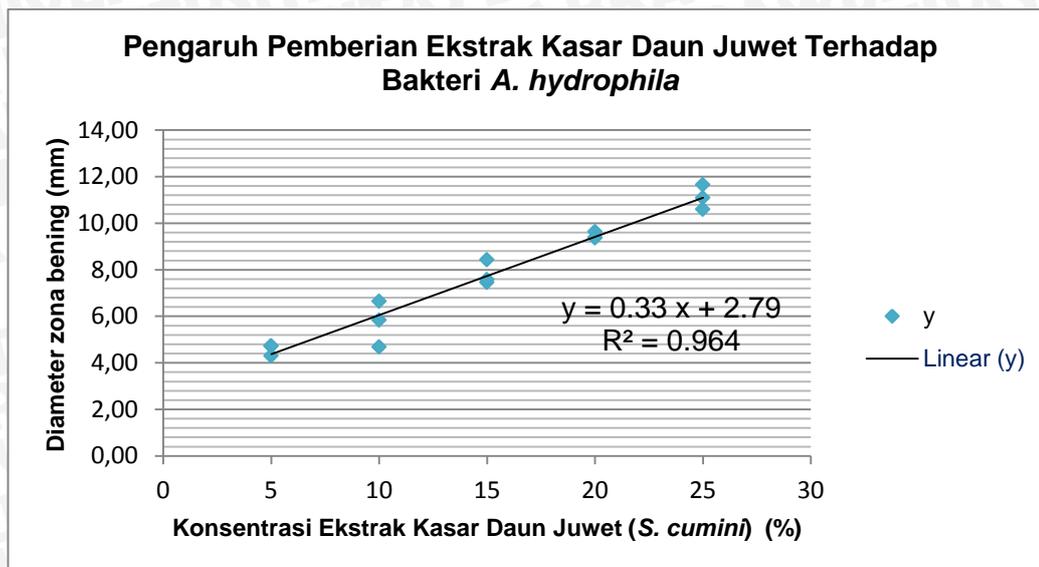
ns : tidak berbeda nyata

* : berbeda nyata

** : berbeda sangat nyata

Pada tabel di atas menunjukkan bahwa perlakuan E memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D, C, B dan A. Perlakuan A tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap seluruh perlakuan sehingga diberi notasi a. Perlakuan B terhadap perlakuan A memberikan pengaruh berbeda sangat nyata sehingga diberi notasi b. Perlakuan C memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap B dan A sehingga diberikan notasi c. Perlakuan D memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan C, B dan A sehingga diberikan notasi d. Dan pada perlakuan E memberikan pengaruh sangat nyata terhadap perlakuan D, C, B dan A sehingga diberi notasi e. Jadi urutan perlakuan terbaik dari hasil penelitian yaitu perlakuan E diikuti oleh perlakuan D, diikuti perlakuan C, kemudian diikuti perlakuan B dan diikuti perlakuan A.

Uji polinomial orthogonal digunakan untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antar perlakuan dengan besarnya nilai diameter zona hambat. Hasil uji polinomial orthogonal disajikan pada **Gambar 6** dan untuk perhitungan selengkapnya pada Lampiran 8.



Gambar 6. Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak Daun Juwet (*S. cumini*) Terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *A. hydrophila*

Berdasarkan grafik pada Gambar 6 menunjukkan adanya hubungan antar tiap perlakuan yang berbeda antar konsentrasi dengan diameter zona bening bakteri *A. hydrophila*. Perpotongan garis pada grafik berbentuk linear menunjukkan adanya hubungan antar keduanya, grafik persamaan $y = 0,33x + 2,79$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,964 dan koefisien korelasi (r) sebesar 0,981. Nilai korelasi (r) mendekati angka 1, hal ini menunjukkan bahwa sumbu X dipengaruhi oleh sumbu Y. Jika nilai r mendekati 1 maka hubungan antara variabel X dan variabel Y sempurna dan positif (hubungan kuat sekali) dan jika nilai r mendekati 0 maka hubungan antara variabel X dan variabel Y lemah sekali atau tidak ada hubungan sama sekali (Poniwatie, 2012). Dari ke lima perlakuan yang ditunjukkan oleh grafik terjadi peningkatan diameter zona hambat dari tiap konsentrasi perlakuan, semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi pula zona bening yang terbentuk. Diduga setiap peningkatan konsentrasi, maka jumlah senyawa bioaktifnya bertambah sehingga kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri semakin meningkat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Suciarti, Wardiyanto dan Sumino (2012), bahwa

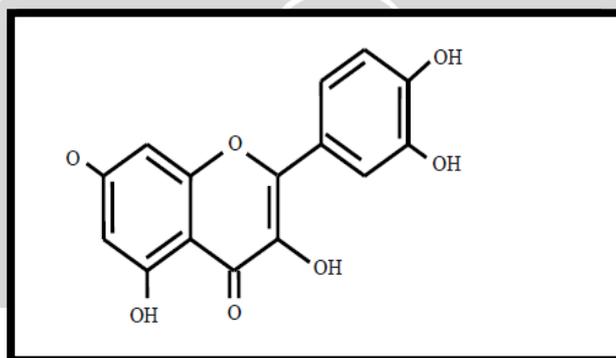
semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka kandungan bahan antibakteri yang dikandungnya juga akan semakin pekat sehingga diameter zona hambat semakin besar. Hal ini diperkuat oleh pendapat Ajizah (2004), bahwa meningkatnya konsentrasi ekstrak maka semakin besar kadar bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuan dalam menghambat bakteri juga semakin besar.

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan diameter zona hambat pada jam ke-48, hal ini bertujuan untuk mengetahui sifat ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) terhadap bakteri *A. hydrophila*. Setelah dilakukan pengamatan selama 48 jam pada masing - masing konsentrasi didapatkan nilai diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 25%, terjadi penurunan diameter zona hambat pada jam ke-48, sehingga penggunaan ekstrak kasar daun juwet sebagai antibakteri hanya bersifat bakteriostatik atau menghambat bakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan Widyana, Khotimah dan Lovadi (2014), bahwa jika zona bening yang terbentuk pada inkubasi 48 jam mengalami penurunan memperlihatkan sifat bakteriostatik yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri uji, diameter zona hambat yang terbentuk sejalan dengan semakin lamanya sel yang terpapar dengan zat. Di duga penggunaan ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Sungkar, 2014), bahwa daun juwet (*S. cumini*) mempunyai kemampuan sebagai antibakteri diantaranya mengandung senyawa kimia yaitu flavonoid yang dapat menghambat aktivitas bakteri.

Flavonoid sebagai salah satu kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman dan berperan sebagai antioksidan (Redha, 2010). Senyawa flavonoid di sintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan dan dalam responnya terhadap infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme,

sehingga senyawa ini efektif sebagai senyawa antimikroba terhadap sejumlah mikroorganisme (Parubak, 2013).

Menurut Indrawati dan Razimin (2013), flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenol alam tersebut yang ditemukan dalam semua tumbuhan (buah dan sayuran). Menurut strukturnya, flavonoid merupakan turunan senyawa induk flavon yang memiliki sejumlah sifat yang sama. Flavonoid pada tumbuhan terdapat dalam berbagai bentuk struktur yang mengandung atom karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat membentuk cincin ketiga. Kerangka C6-C3-C6 flavonoid disajikan pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Kerangka C6 – C3 – C6 Flavonoid (Redha, 2010).

Kemampuan senyawa flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dari dinding sel bakteri, sehingga bagian sel rusak serta kehilangan fungsinya. Flavonoid juga akan merusak membran sel pada pusat terjadinya reaksi enzimatik sehingga memungkinkan kematian pada sel (Cowan, 1999). Mekanisme kerja dari flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Sabir, 2005).

Rusaknya dinding sel akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri, dan pada akhirnya bakteri akan mati. Secara umum adanya kerja suatu

bahan kimia sebagai zat antibakteri dapat mengakibatkan terjadinya perubahan - perubahan yang mengarah pada kerusakan hingga terhambatnya pertumbuhan sel bakteri (Retnowati *et al.*, 2011). Menurut Volk dan Wheeler (1998) dalam Prajitno (2007), senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan – bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri. Pada perusakan membrane sitoplasma, ion H^+ dan turunanya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian.

4.3 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yaitu parameter yang digunakan sebagai pendukung parameter utama. Parameter penunjang yang digunakan dalam penelitian ini adalah lama perendaman kertas cakram selama 15 menit. Selama waktu tersebut diasumsikan kertas cakram sudah terendam dalam ekstrak dan jika terlalu lama waktu perendaman maka kemungkinan kertas cakram akan rusak dan tidak bisa digunakan. Perendaman dilakukan selama waktu 10 - 15 menit agar larutan uji meresap ke dalam kertas cakram, setelah perendaman maka cakram diletakkan diatas permukaan media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri (Amanda, 2014). Kertas cakram direndam dalam bahan diuji selama ± 15 menit. Kertas cakram direndam kemudian ditempatkan pada media dipadatkan, dan diameter daerah yang bening di setiap kertas cakram diukur sebagai zona hambat (Silalahi, Manurung dan Sitompul, 2015).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang uji daya hambat ekstrak daun juwet (*S. cumini*) terhadap bakteri *A. hydrophila* didapatkan kesimpulan bahwa penggunaan ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* serta berpengaruh sangat nyata dan bersifat bakteriostatik. Hasil nilai diameter zona bening tertinggi sebesar 11,11 mm terdapat pada perlakuan E dengan konsentrasi 25%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini konsentrasi minimal yang digunakan sebesar 5% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*, sehingga perlu dilakukan penelitian selanjutnya menggunakan ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) terhadap bakteri *A. hydrophila* dengan konsentrasi yang lebih tinggi supaya mendapatkan konsentrasi yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, Y. 2008. Efektivitas Ekstrak Daun Paci-Paci *Leucas Lavandulaefolia* Untuk Pencegahan dan Pengobatan Infeksi Penyakit Mas *Motile Aeromonas Septicaemia* Ditinjau Dari Patologi Makro dan Hematologi Ikan Lele Dumbo *Clarias* Sp. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan: Institut Pertanian Bogor: Bogor. 131 hlm.
- Afrianto, E dan Liviawaty E. 1992. Pengendalian Hama dan Penyakit. Penerbit Kanisius: Yogyakarta. 91 hlm.
- Afrianto, E., Liviawaty, E., Jamaris, Z., Hendi. 2015. Penyakit Ikan. Penebar Swadaya Cetakan 1: Jakarta. 220 hlm.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonelle typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L.. *Bioscientia*. **1** (1) : 31-38.
- Alifuddin, M. 2002. Imunostimulasi Pada Hewan Akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **1** (2) : 87-92.
- Amalina, F. 2013. Pengaruh Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium cumini* Linn) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara *In Vitro*. *Thesis*. Fakultas Kedokteran. UB: Malang. 62 hlm.
- Amanda, F. A. 2014. Efektivitas Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri (*Escherichia coli*). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah: Jakarta. 37 hlm.
- Aniputri, F. D., J. Hutabarat., Subandiyono. 2014. Pengaruh Ekstrak Bawang Putih (*Allium Sativum*) Terhadap Tingkat Pencegahan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan Kelulushidupan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal Aquaculture Management and Technology*. **3** (2) : 1-10.
- Arifin, H., N. Anggraini., D. Handayani., R. Rasyid. 2016. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia cumini* Merr. *Jurnal Sains Farmasi*. **11** (2) : 88-93.
- Bhowmik, D., H, Gopinath., B. P. Kumar., S. Duraival., Aravind G., K.P. S. Kumar. 2013. Traditional and Medicinal Uses of Indian Black Berry. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. **1** (5) : 36-41.
- Buchanan, R. E and N. E. Gibsons. 1974. Determinative Bacteriology. Eighty edition. Averly Press. Inc. USA. 126 hlm.
- Camus, A. C., R. M. Durborow., W. G. Hemstreet., R. L. Thune and J. P. Hawke. 1998. *Aeromonas* Bacterial Infections *Motile Aeromonas Septicemia*. Kentucky State University. USA. 478 hlm.
- Cowan, M. M. 1999. Plant Products As Antimicrobial Agent. *Clinical Microbiology Reviews*. **12** (4) : 564-582.
- Dalimartha, S. 2003. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Puspa Swara: Jakarta. 198 hlm.

- Dewi, F. K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi*. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret: Surakarta. 37 hlm.
- Efianda, T. R. 2015. Afektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) dalam Pakan Sebagai Alternatif Pengobatan Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti*) Yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Thesis*. Institut Pertanian Bogor: Bogor. 24 hlm.
- El Sayed, A. F. M. 1950. Tialpia Culture. Congress Cataloging in Publication Data Biddles Ltd King's Lynn: University States of America. 275 hlm.
- Gafur, M. A., I. Isa., N. Bialangi. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Jamblang (*Syzygium cumini*). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Gorontalo: Gorontalo. 11 hlm.
- Harmita dan M. Radji. 2006. Buku Ajar Analisa Hayati Edisi 3. Penerbit Buku Kedokteran EGC : Jakarta. 41 hlm.
- Hidayat, R dan F. Alhadi. 2012. Identifikasi *Streptococcus equi* Dari Kuda Yang Diduga Menderita Strangles. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. **17** (3): 199-203.
- Holt, J. G., N. R. Krieg., P. H. A. Sneath., S. T. Williams. 1994. Determinative Bacteriology. Baltimore Maryland: University States of America. 754 hlm.
- Indrawati, N. L dan Razimin. 2013. Bawang Dayak Penakluk Aneka Penyakit. PT Agromedia Pustaka: Jakarta. 132 hlm.
- James, J., C, Baker., H, Swain. Prinsip - Prinsip Sains untuk Keperawatan. Penerbit Erlangga: Jakarta. 245 hlm.
- Kabata, Z. 1985. Parasites and Diseases of Fish Cultured In The Tropics. Pasific Biological Station Nanaimo. British Colombia Canada. 318 hlm.
- Karlina, C. Y., M. Ibrahim., G. Trimulyono. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Lentera Bio*. **2** (1) : 87-93.
- Kusmiati dan N. W. S. Agustini. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Biodiversitas*. **8** (1) : 48-53.
- Lathifah, Q. 2008. Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri pada Buah Belimbing Wuluh (*Aerhiabilimbi* L.) dengan Variasi Pelarut. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (UIN) Malang: Malang. 76 hlm.
- Lukistyowati, I dan Kurniasih. 2012. Pelacakan Gen Aerolysin dari *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Mas Yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih. *Jurnal Veteriner*. **13** (1) : 43-50.
- Miranti, M., Prasetyorini., C. Suwary. 2013. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 30% dan 96% Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdarriafa*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Ekologia*. **13** (1) : 9-18.

- Morton, J. F. 1968. The Jambolan (*Syzygium cumini* Skeels) Its Food Medical, Ornamental And Other Uses. Florida State Horticultural Society. 338 hlm.
- Muslim., M. P. Hotly., H.Widjayanti. 2009. Penggunaan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativa*) Untuk Mengobati Benih Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophilla*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **8** (1) : 91-100.
- Nurdiyanto dan Sumartono. 2006. Model Distribusi Monogenea Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Daerah istimewa Yogyakarta. *Jurnal Sain Vet*. **24** (2) : 135-142.
- Nurrohman, E dan T. H. Swandayani. 2011. Teknis Arboretum. Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Bangkinang Kuok: Riau. 101 hlm.
- Omura, S. 1992. The Search for Bioactive Compounds From Microorganisms. Research Center for Biological Function. 337 hlm.
- Parubak, A. S. 2013. Senyawa Flavonoid yang Bersifat Antibakteri dari Akway (*Drimys beccariana gibbs*). *Chem Prog*. **6** (1) : 34-37.
- Poniwatie, A. 2012. Analisis Pengaruh Kebijakan Deviden Terhadap Fluktuasi Harga Saham Perusahaan Makanan dan Minuman (Studi Kasus Pada Bursa Efek Indonesia). *Jurnal NeO-Bis*. **6** (1) : 1-13.
- Prajitno, A. 2005. Diktat Parasit dan Penyakit Ikan. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya: Malang. 105 hlm.
- . 2007. Penyakit Ikan – Udang: Bakteri. Penerbit Universitas Negeri Malang: Malang. 115 hlm.
- Pratita, M. Y. E dan S. R. Putra. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Mata Air Panas di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi. *Jurnal Teknik Pomits*. **1** (1) : 1-5.
- Rahayu, P. 2013. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Hasanuddin: Makasar. 44 hlm.
- Rahmaningsih, S. 2012. Pengaruh Ekstrak Sidawayah Dengan Konsentrasi Yang Berbeda Untuk Mengatasi Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*). *Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan*. **1** (1) : 1-7.
- Redha, A. 2010. Flavonoid Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologi. *Jurnal Belian*. **9** (2) : 196-202.
- Retnowati, Y., N, Bialangi., N. W. Posangi. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aerus* Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Jurnal Saintek*. **6** (2) : 1-9.
- Rostinawati , T. 2010. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Tespong (*Oenanthe Javavica* D.C) Terhadap *Eschericia Coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Padjadjaran: Bandung. 29 hlm.

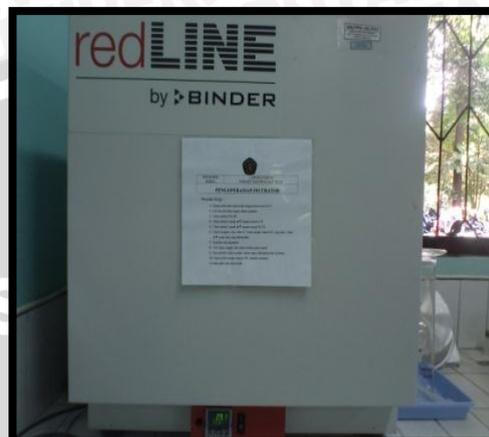
- Sabir, A. 2005. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona* sp. Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (In Vitro). *Maj. Ked. Gigi. (Dent. J.)*. **38** (3) : 135-141.
- Sah, A. K and V. K. Verma. 2011. *Syzygium cumini*. *Journal Of Chemical and Pharmaceutical Research*. **3** (3) : 108-113.
- Sastrosupadi, A. 2002. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Penerbit Kanisius: Yogyakarta. 276 hlm.
- Shafi, P.M., Rosamma, M.K., Jamil, K., dan Reddy, P.S. 2002. Anti Bacterial Activity Of *Syzygium cumini* Leaf Essential Oil. *Jurnal of Biology and Biotechnology Division*. **72** (5): 414-416.
- Sharma, S., B.K. Metha., D. Metha., H. Nagar., A. Mishra. 2012. An Review: Pharmacological Activity Of *Syzygium cumini* Extracts Using Different Solvent and Their Effective Doses. *IRJP*. **3** (12): 54-58.
- Silalahi, J., R. manurung., E. Sitompul. 2015. Antibacterial Activity Of Hydrolyzed Oils Of Different Fatty Acid Composition Against *Salmonella thypi* and *Lactobacillus Plantarum*. *Journal International of Pharm Tech Research*. **7** (2) : 233-237.
- Sucianti, A., Wardiyanto., Sumino. 2012. Efektifitas Ekstrak Daun *Rhizophora mucronata* Dalam Menghambat Pertumbuhan *Aeromonas salmonicida* dan *Vibrio harveyi*. *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya*. **1** (1) : 1-8.
- Sungkar, S. 2014. Efek Ekstrak Etanolik Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L.) Terhadap Faktor Virulensi *Streptococcus mutans* Isolat Dari Karies Gigi Anak Usia Prasekolah. *Disertasi*. Universitas Gajah Mada. 181 hlm.
- Utami, P. 2008. Buku Pintar Tanaman Obat. Penerbit Agromedia Pustaka: Jakarta. 332 hlm.
- Widyana, W., Khotimah. S., I. Lovadi. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lumut *Octoblepharum albidium* Hedw Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Protobiont*. **3** (2) : 166-170.
- Widyarto, A. N. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta : Surakarta. 60 hlm.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto Alat dan Bahan Penelitian



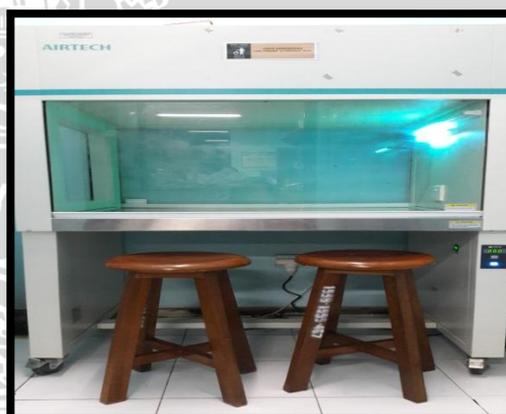
Lemari pendingin



Inkubator



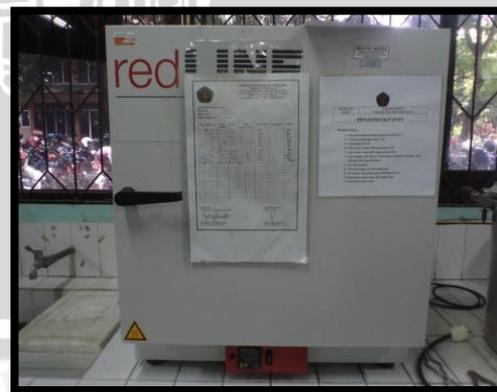
Autoclave



Laminar air flow



Autoclave destruksi



Oven

Lampiran 1. (Lanjutan)



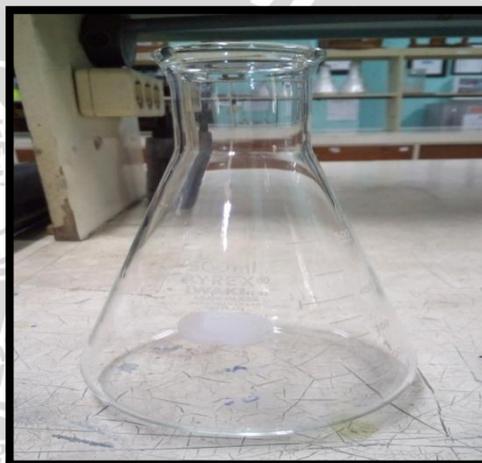
Jangka Sorong



Micropipet



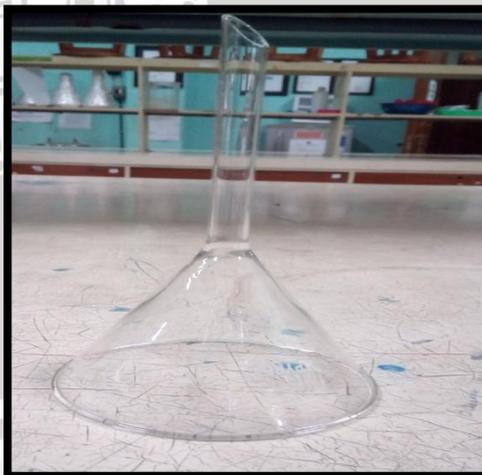
Cawan Petri



Erlenmeyer

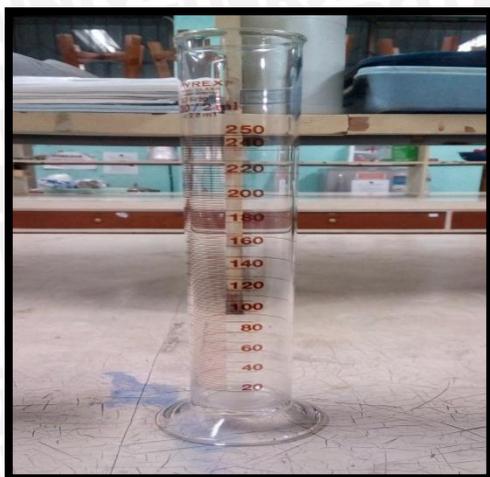


Triangel



Corong

Lampiran 1 (lanjutan)



Gelas ukur



Spatula



Jarum ose



Blue tip



Gelas ukur

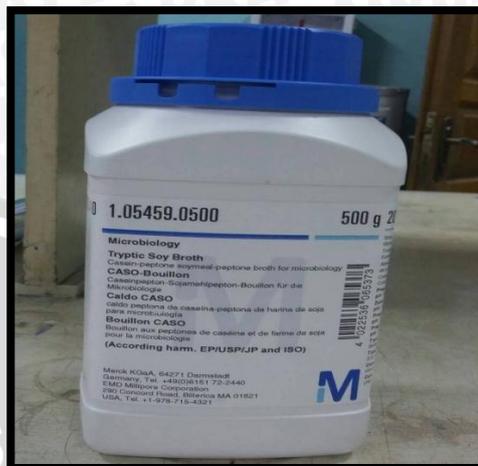


Vortex

Lampiran 1 (lanjutan)



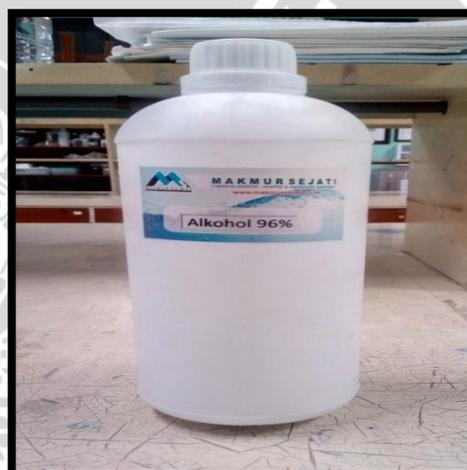
TSA (*Tricptic Soya Agar*)



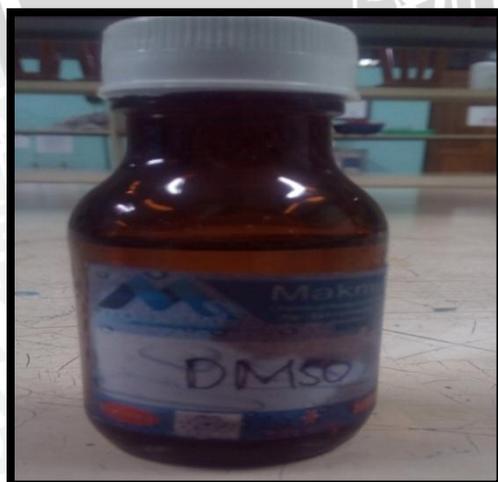
TSB (*Triptic Soy Broth*)



Daun Juwet (*S. cumini*)



Etanol 96%



DMSO 100%



Kertas Cakram

Lampiran 1 (lanjutan)



Akuades



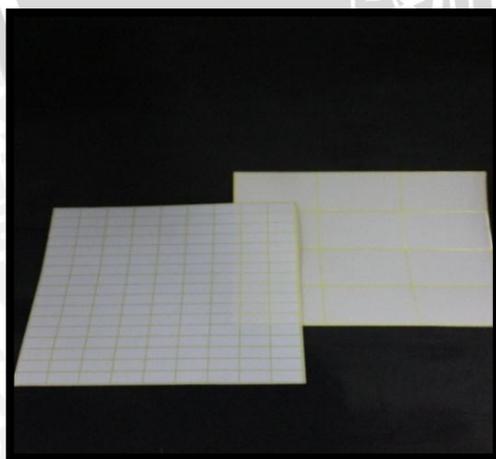
Tisu



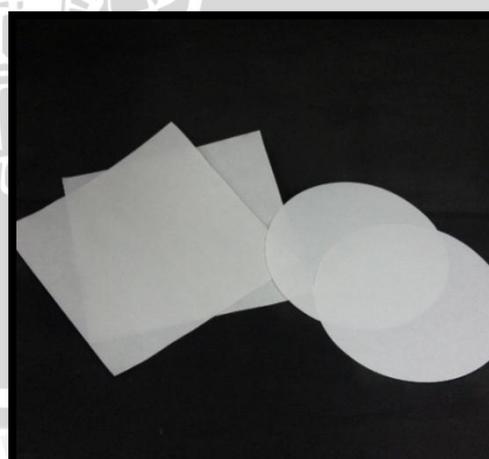
Benang Kasur



Kapas



Kertas label



Kertas Saring

Lampiran 2. Kegiatan Penelitian



Pengeringan Daun Juwet



Pengovenan Daun Juwet



Penimbangan TSA



Pembuatan Media TSA



Penimbangan Ekstrak



Penuangan Media

Lampiran 3. Proses Ekstraksi Daun Juwet (*S. cumini*)



Lampiran 4. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Kasar Daun Juwet (*S. cumini*)

Perhitungan konsentrasi ekstrak kasar daun juwet (*S. cumini*) dan ditambahkan larutan DMSO 10% dengan rumus pengenceran:

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

Keterangan :

V1 : Volume larutan sebelum dilakukan pengenceran (ml)

N1 : Konsentrasi larutan murni (%)

V2 : Volume larutan setelah dilakukan pengenceran (ml)

N2 : Konsentrasi larutan yang dibuat (%)

- **Konsentrasi 5%**

$$\begin{aligned} \text{Ekstrak} &: V1 \cdot 100\% = 1 \cdot 5\% \\ &V1 = 5/100 \end{aligned}$$

$$= 0,05 \text{ gram}$$

$$\text{Larutan} : 1 - 0,05 = 0,95 \text{ ml}$$

- **Konsentrasi 10%**

$$\begin{aligned} \text{Ekstrak} &: V1 \cdot 100\% = 1 \cdot 10\% \\ &V1 = 10/100 \end{aligned}$$

$$= 0,1 \text{ gram}$$

$$\text{Larutan} : 1 - 0,1 = 0,9 \text{ ml}$$

- **Konsentrasi 15%**

$$\begin{aligned} \text{Ekstrak} &: V1 \cdot 100\% = 1 \cdot 15\% \\ &V1 = 15/100 \end{aligned}$$

$$= 0,15 \text{ gram}$$

$$\text{Larutan} : 1 - 0,15 = 0,85 \text{ ml}$$

- **Konsentrasi 20%**

$$\begin{aligned} \text{Ekstrak} &: V1 \cdot 100\% = 1 \cdot 20\% \\ &V1 = 20/100 \end{aligned}$$

$$= 0,2 \text{ gram}$$

$$\text{Larutan} : 1 - 0,2 = 0,8 \text{ ml}$$

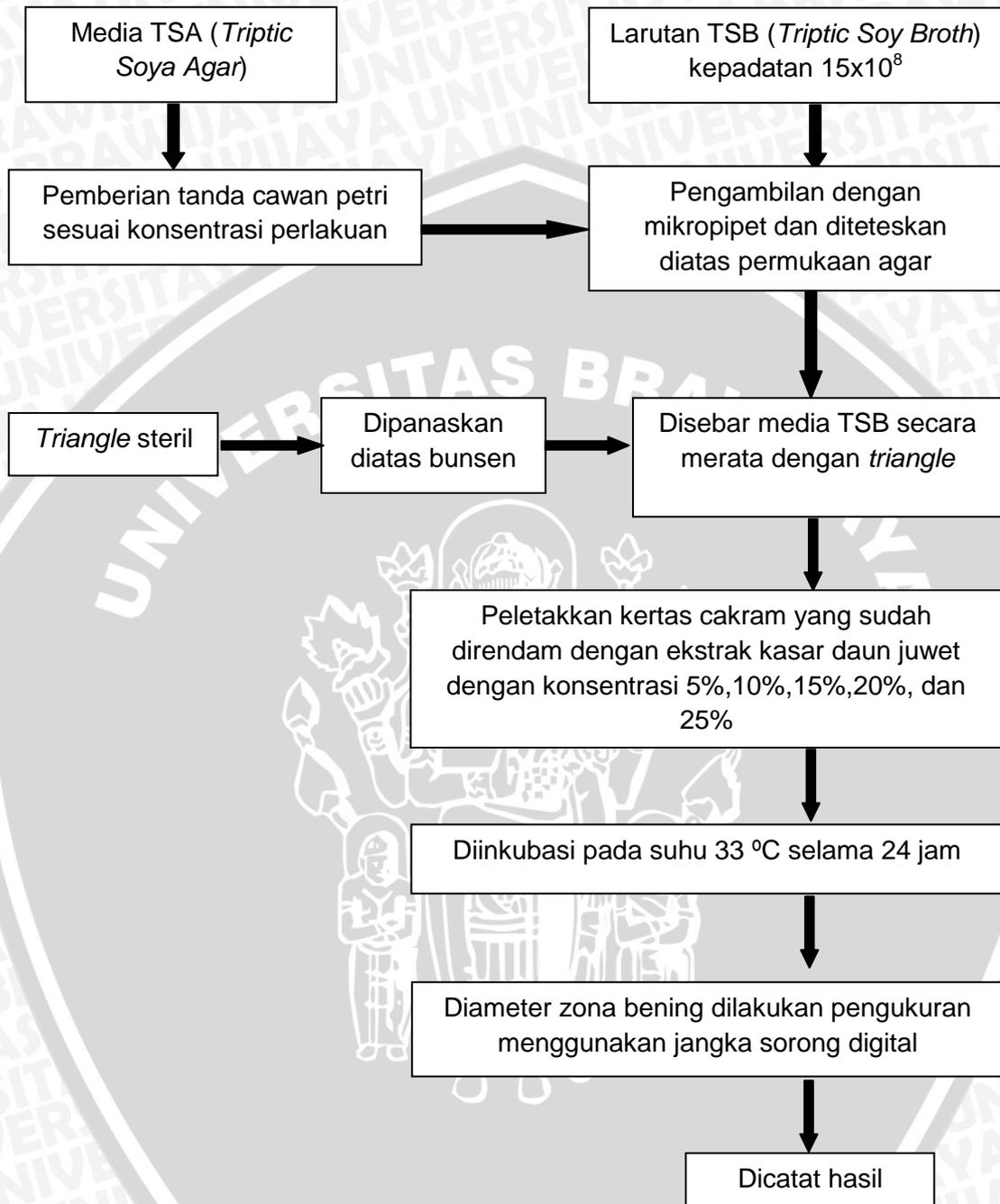
- **Konsentrasi 25%**

$$\begin{aligned} \text{Ekstrak} &: V1 \cdot 100\% = 1 \cdot 25\% \\ &V1 = 25/100 \end{aligned}$$

$$= 0,25 \text{ gram}$$

$$\text{Larutan} : 1 - 0,25 = 0,75 \text{ ml}$$

Lampiran 5. Skema Kerja Uji Cakram



Lampiran 6. Hasil Uji Biokimia Bakteri *A. hydrophila* dari BBPBAP Jepara

KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN
DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA
BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA AIR PAYAU
LABORATORIUM UJI BBPBAP JEPARA

Alamat surat: PO Box 1 Jepara, Kantor: Jl. Cik Lanang – Bulu Jepara 59418
Telp. : (0291) 591125, Faximili : (0291) 591724
Email : bbbapjpr@rad.net.id Website : udang-bbbap.com

HASIL UJI BIOKIMIA

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

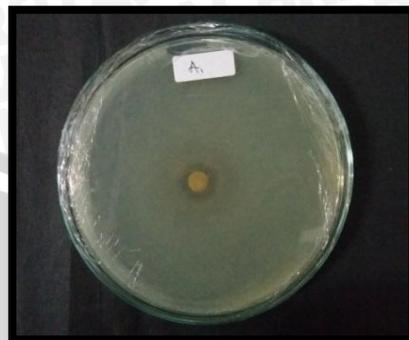
Lab. Mikrobiologi BBPBAP Jepara



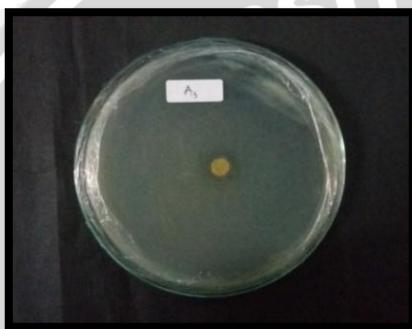
Lampiran 7. Hasil Uji Cakram Ekstrak Kasar Daun Juwet (*S. cumini*) Pada Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila*



A1



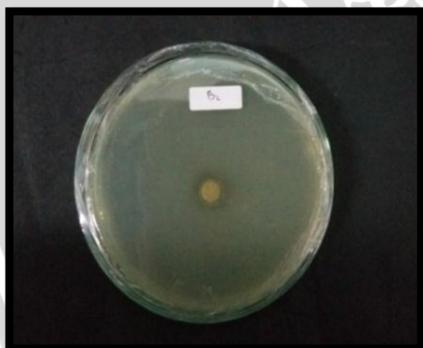
A2



A3



B1



B2



B3

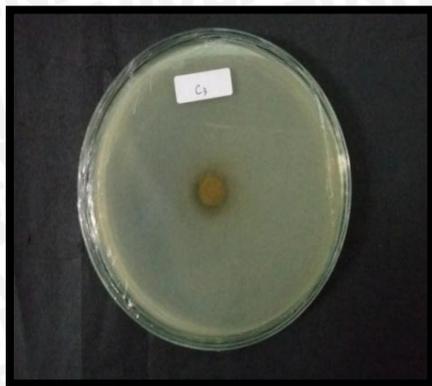


C1



C2

Lampiran 7 (Lanjutan)



C3



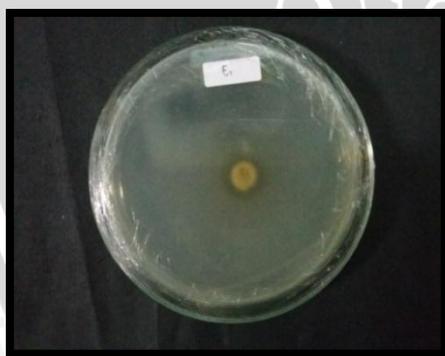
D1



D2



D3



E1

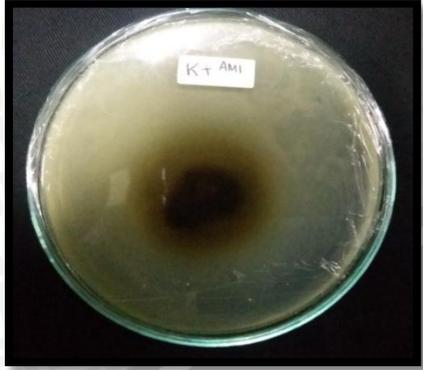


E2

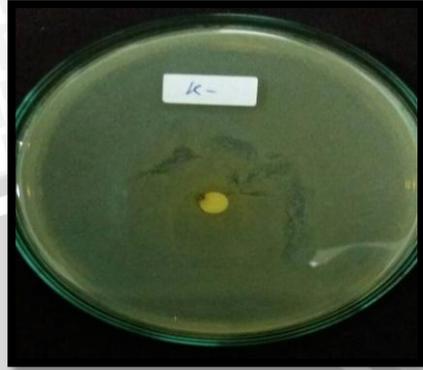


E3

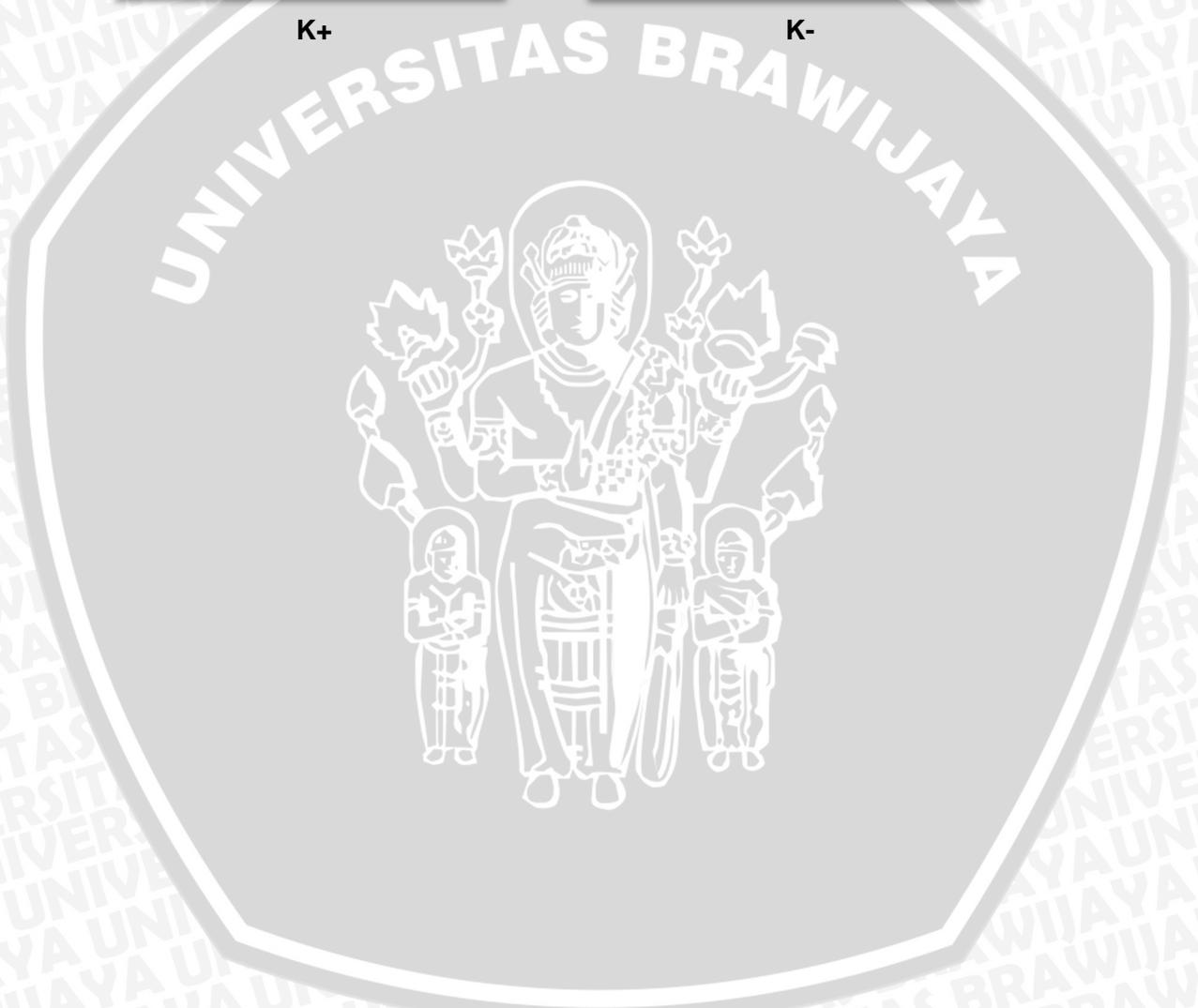
Lampiran 7 (Lanjutan)



K+



K-



Lampiran 8. Perhitungan Statistik Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Juwet (*S. cumini*)

- Data Rata - Rata Diameter Daya Hambat (mm) Bakteri *A. hydrophila*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata (mm)
	1	2	3		
A (5%)	4,30	4,72	4,73	13,75	4,58
B (10%)	6,65	5,83	4,68	17,16	5,72
C (15%)	8,43	7,46	7,58	23,47	7,82
D (20%)	9,63	9,38	9,37	28,38	9,46
E (25%)	11,09	10,60	11,65	33,34	11,11
Total				116,10	

- Perhitungan

FK	$\frac{116,10^2}{5 \times 3}$	898,61
JK Total	$(A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK$	88,34
JK Perlakuan	$\frac{(\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2)}{3} - FK$	85,17
JK Acak	JK Total - JK Perlakuan	3,17
KT	JK/db	

- Analisa Sidik Ragam

SK	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	85,17	21,29	68,67**	3,48	5,99
Acak	10	3,17	0,31			
Total	14	88,34				

F 5% < F.hitung > F 1% = berbeda sangat nyata.

Keterangan :

** : berbeda sangat nyata

Lampiran 8 (lanjutan)

- UJI BNT

SED	$\sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{3}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,31}{3}}$	0,4
BNT 5%	t tabel 5 % (db acak) x SED	0,89
BNT 1%	t tabel 1 % (db acak) x SED	1,26

- Tabel Uji BNT

Rerata Perlakuan		A	B	C	D	E	Notasi
		4,58	5,72	7,83	9,49	11,11	
A	4,58	-	-	-	-	-	a
B	5,72	1,14**	-	-	-	-	b
C	7,82	3,24**	2,10**	-	-	-	c
D	9,49	4,91**	3,77**	1,67**	-	-	d
E	11,11	6,53**	5,29**	3,29**	1,62**	-	e

Keterangan

*) : berbeda nyata

**) : berbeda sangat nyata

- Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total(Ti)	Pembanding (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A (5%)	13,75	-2	2	-1	1
B (10%)	17,16	-2	-1	2	-4
C (15%)	23,47	0	-2	0	6
D (20%)	28,38	1	-1	-2	-4
E (25%)	33,34	2	2	1	1
Q= $\sum Ci \cdot Ti$		50,4	1,7	-2,85	5,75
Hasil Kuadrat		10	14	10	70
Kr=($\sum Ci^2$) [*]		30	42	30	210
r					
JK=Q ² /Kr		84,67	0,06	0,27	0,15

Lampiran 8 (lanjutan)

- **Grafik Daya Hambat Ekstrak Kasar Daun Juwet (*S. cumini*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *A. hydrophila* Secara *In Vitro***

