

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR JINTAN HITAM  
(*Nigella sativa*) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Vibrio harveyi*  
SECARA IN VITRO**

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

**Oleh:  
ELLYDA HASAN  
NIM. 125080500111028**



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

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR JINTAN HITAM  
(*Nigella sativa*) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Vibrio harveyi*  
SECARA *IN VITRO***

**LAPORAN 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:  
ELLYDA HASAN  
NIM. 125080500111028**



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

LAPORAN SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR JINTAN HITAM  
(*Nigella sativa*) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Vibrio harveyi*  
SECARA *IN VITRO*

Oleh :  
ELLYDA HASAN  
NIM. 125080500111028

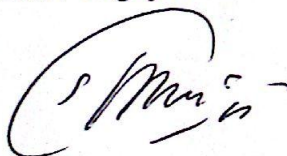
Telah dipertahankan didepan penguji  
Pada tanggal 27 April 2016  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat  
Tanggal : \_\_\_\_\_

Dosen Penguji I



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

Dosen Penguji II



Ir. Ellana Sanoesi, MP  
NIP. 19630924 199803 2 002  
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. Fadjar, M.Sc  
NIP. 19621014 198701 1 001  
Tanggal : 19 MAY 2016

Mengetahui  
Ketua Jurusan



Dr. Ir. Arning Wilujeng 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, 27 April 2016

Mahasiswa

Ellyda Hasan

## RINGKASAN

**Ellyda Hasan.** Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Jintan Hitam (*N. sativa*) Terhadap Daya Hambat Bakteri *V. harveyi* Secara *In Vitro*. Dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS** dan **Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc**

Perkembangan budidaya baik udang maupun ikan di Indonesia semakin lama semakin pesat, akan tetapi terdapat beberapa kendala dalam budidaya salah satunya adalah serangan penyakit yang bersifat bakterial yaitu penyakit vibriosis atau penyakit kunang-kunang (*luminescent vibriosis*) yang disebabkan oleh bakteri *V. harveyi*. Untuk mengatasi permasalahan tersebut, penggunaan antibiotik banyak digunakan akan tetapi penggunaan secara terus menerus akan mengakibatkan resistensi, penimbunan residu dalam tubuh ikan maupun udang dan juga akan mengakibatkan pencemaran lingkungan. Untuk mengatasi permasalahan tersebut yakni menggunakan tumbuhan obat tradisional, salah satunya adalah jintan hitam (*N. sativa*). Jintan hitam (*N. sativa*) mengandung bahan aktif yaitu flavonoid, alkaloid dan minyak atsiri yang bersifat antibakteri.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada tanggal 01 Januari – 28 Februari 2016.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, yang dilakukan di laboratorium dengan bentuk rancangan penelitian yang memanipulasi subjek penelitian dengan kondisi terkontrol. Rancangan percobaan yang dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan yakni perlakuan A (10 ppm), B (20 ppm), C (30 ppm), D (40 ppm) dan E (50 ppm) yang dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* sangat berbeda nyata. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama penelitian menunjukkan bahwa zona hambat tertinggi terdapat pada perlakuan E (50 ppm) yang didapatkan rata-rata zona hambat dengan ukuran 5,48 mm sedangkan zona hambat terendah terdapat pada perlakuan A (10 ppm) yang didapatkan rata-rata zona hambat dengan ukuran 3,16 mm, semakin tinggi dosis yang diberikan zona hambat yang terbentuk semakin besar. Hubungan zona hambat antar perlakuan ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap bakteri *V. harveyi* menunjukkan perpotongan garis secara linear dengan persamaan  $y = 2,335 + 0,058x$  dengan koefisien nilai determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,830 dan nilai korelasi sebesar 0,9, dimana derajat keeratan hubungan antara dosis ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) dan nilai rata-rata zona hambat termasuk dalam kategori erat.

Kesimpulan yang didapat dari hasil penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* secara *in vitro* bahwa ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) berpengaruh terhadap zona hambat bakteri *V. harveyi* dengan nilai rata-rata zona hambat terbaik pada perlakuan E (50 ppm) sebesar 5,48 mm yang termasuk dalam kategori daya hambat sedang dan bersifat bakteriostatik.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga Laporan Skripsi dengan judul Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*N. sativa*) Terhadap Daya Hambat Bakteri *V. Harveyi* Secara *In Vitro* ini terselesaikan. Laporan ini disusun untuk Penelitian yang telah dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 01 Januari sampai dengan 28 Februari 2016. Laporan Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan pada Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah laporan Skripsi ini masih belum sempurna, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan dan kesempurnaan karya tulis ilmiah ini di masa mendatang. Penulis berharap karya tulis ilmiah laporan Skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan informasi yang berguna bagi pembaca.

Malang, 27 April 2016

Penulis

## UCAPAN TERIMAKASIH

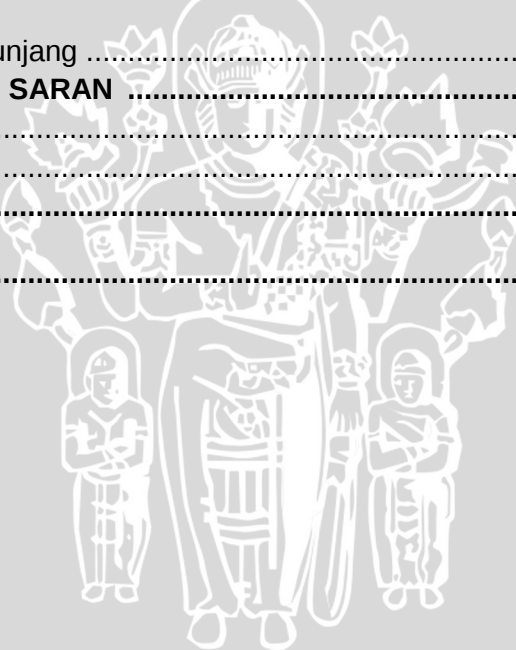
Puji syukur penulis ucapkan atas terselesaikannya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih sebesar besarnya kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa mengiringi dan memberi petunjuk-Nya dalam setiap langkah, serta Nabi besar Muhammad SAW yang menjadi suri tauladan bagi umatnya.
2. Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno MS selaku Dosen Pembimbing Akademik, pembimbing Praktek Kerja Magang (PKM) dan pembimbing skripsi yang telah banyak memberikan motivasi, saran, bimbingan, arahan dan nasihat bagi penulis selama masa studi.
3. Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, saran dan arahan kepada penulis selama penelitian.
4. Ir. Heny Suprastyani, MS selaku penguji I dan Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku penguji II yang telah memberikan bimbingan, arahan dan saran bagi penulis.
5. Ayah Mohammad Hasan dan ibu Mustiyem yang selalu memberikan doa yang terbaik yang selalu menjadi penuntun dan memberi ilmu yang bermanfaat bagi penulis. Serta saudara-saudaraku Anik Latifah, Rif'atul Afidah dan Hidayatul Masrurroh.
6. Seluruh rekan - rekan tim harveyi: Annisa Farhana Dewi, Arfin Reskinigrum, Muniroh Ulfah, Okky Septia Raharja, Rusmawanto, Release Aurora, Siti Nur Siyami dan seluruh rekan-rekan Tim Skripsweet yang telah banyak membantu penulis dan selalu memberikan dukungan dan motivasi untuk terselesaikannya laporan skripsi ini.
7. Serta pihak-pihak yang membantu selama penelitian.

## DAFTAR ISI

|                                                             | Halaman  |
|-------------------------------------------------------------|----------|
| HALAMAN JUDUL .....                                         | i        |
| HALAMAN PENGESAHAN .....                                    | ii       |
| PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI .....                       | iii      |
| RINGKASAN .....                                             | iv       |
| KATA PENGANTAR .....                                        | v        |
| UCAPAN TERIMA KASIH .....                                   | vi       |
| DAFTAR ISI .....                                            | vii      |
| DAFTAR GAMBAR .....                                         | ix       |
| DAFTAR TABEL .....                                          | x        |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                                       | xi       |
| <b>1. PENDAHULUAN .....</b>                                 | <b>1</b> |
| 1.1 Latar Belakang .....                                    | 1        |
| 1.2 Perumusan Masalah .....                                 | 4        |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....                                 | 4        |
| 1.4 Kegunaan Penelitian .....                               | 5        |
| 1.5 Hipotesis .....                                         | 5        |
| 1.6 Tempat dan Waktu .....                                  | 5        |
| <b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>                            | <b>6</b> |
| 2.1 Jintan Hitam ( <i>N. sativa</i> ) .....                 | 6        |
| 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi .....                       | 6        |
| 2.1.2 Habitat dan Penyebaran .....                          | 7        |
| 2.1.3 Manfaat .....                                         | 7        |
| 2.1.4 Bahan Aktif .....                                     | 8        |
| 2.1.5 Aktivitas Anti Mikroba .....                          | 9        |
| 2.2 Bakteri <i>V. harveyi</i> .....                         | 10       |
| 2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi .....                       | 10       |
| 2.2.2 Habitat dan Penyebaran .....                          | 11       |
| 2.2.3 Pertumbuhan .....                                     | 12       |
| 2.2.4 Perkembangbiakan .....                                | 13       |
| 2.2.5 Infeksi Bakteri <i>V. harveyi</i> dan Gejalanya ..... | 14       |
| 2.3 Uji Aktivitas Antibakteri Secara <i>In Vitro</i> .....  | 15       |

|                                                                                                                                    |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>3. MATERI DAN METODE PENELITIAN .....</b>                                                                                       | <b>17</b> |
| 3.1 Materi Penelitian .....                                                                                                        | 17        |
| 3.1.1 Alat Penelitian .....                                                                                                        | 17        |
| 3.1.2 Bahan Penelitian .....                                                                                                       | 18        |
| 3.2 Metode Penelitian .....                                                                                                        | 19        |
| 3.3 Pengambilan Data .....                                                                                                         | 20        |
| 3.4 Rancangan Penelitian .....                                                                                                     | 20        |
| 3.5 Prosedur Penelitian .....                                                                                                      | 22        |
| 3.5.1 Persiapan Penelitian .....                                                                                                   | 22        |
| 3.5.2 Pelaksanaan Penelitian .....                                                                                                 | 26        |
| 3.6 Parameter Uji .....                                                                                                            | 27        |
| 3.6.1 Parameter Utama .....                                                                                                        | 27        |
| 3.6.2 Parameter Penunjang .....                                                                                                    | 27        |
| 3.7 Analisa Data .....                                                                                                             | 27        |
| <b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>                                                                                               | <b>28</b> |
| 4.1 Daya Hambat Ekstrak Kasar Jintan Hitam ( <i>N. sativa</i> )<br>Terhadap Bakteri <i>V. harveyi</i> Secara <i>In Vitro</i> ..... | 28        |
| 4.2 Parameter Penunjang .....                                                                                                      | 36        |
| <b>5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>                                                                                               | <b>37</b> |
| 5.1 Kesimpulan .....                                                                                                               | 37        |
| 5.2 Saran .....                                                                                                                    | 37        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>                                                                                                        | <b>38</b> |
| <b>LAMPIRAN .....</b>                                                                                                              | <b>43</b> |



## DAFTAR GAMBAR

| Gambar                                                                                                                                     | Halaman |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Jintan Hitam ( <i>N. sativa</i> ) .....                                                                                                 | 6       |
| 2. Bakteri <i>V. harveyi</i> dengan Perbesaran 1000 x .....                                                                                | 11      |
| 3. Fase Pertumbuhan Bakteri .....                                                                                                          | 13      |
| 4. Denah Rancangan Penelitian .....                                                                                                        | 21      |
| 5. Hasil Uji Daya Hambat (a) Dosis 10 ppm (b) Dosis 20 ppm<br>(c) Dosis 30 ppm (d) Dosis 40 ppm (e) Dosis 50 ppm .....                     | 28      |
| 6. Grafik Hubungan Zona Hambat Antar Perlakuan Ekstrak Kasar<br>Jintan Hitam ( <i>N. sativa</i> ) Terhadap Bakteri <i>V. harveyi</i> ..... | 32      |



## DAFTAR TABEL

| Tabel                                                                                                                        | Halaman |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Alat-alat Penelitian .....                                                                                                | 17      |
| 2. Bahan-bahan Penelitian .....                                                                                              | 18      |
| 3. Hasil Rata-rata Pengamatan Zona Hambat .....                                                                              | 29      |
| 4. Klasifikasi Respon Hambat .....                                                                                           | 30      |
| 5. Sidik Ragam Zona Hambat .....                                                                                             | 31      |
| 6. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Ekstrak Kasar Jintan Hitam<br>( <i>N. sativa</i> ) Terhadap Bakteri <i>V. harveyi</i> ..... | 31      |



## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran                                                                                                                                                         | Halaman |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Alat-alat yang Digunakan Selama Penelitian .....                                                                                                              | 43      |
| 2. Bahan-bahan yang Digunakan Selama Penelitian .....                                                                                                            | 46      |
| 3. Prosedur Ekstraksi Jintan Hitam ( <i>N. sativa</i> ) .....                                                                                                    | 48      |
| 4. Pembuatan Dosis Ekstrak Kasar Jintan Hitam ( <i>N. sativa</i> ) .....                                                                                         | 49      |
| 5. Hasil Uji Cakram Ekstrak Kasar Jintan Hitam ( <i>N. sativa</i> )<br>Terhadap Daya Hambat Bakteri <i>V. harveyi</i> .....                                      | 50      |
| 6. Analisis Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Jintan Hitam<br>( <i>N. sativa</i> ) Terhadap Daya Hambat Bakteri <i>V. harveyi</i><br>Secara <i>In Vitro</i> ..... | 53      |



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ketersediaan sumberdaya perairan umum yang luas dan didukung oleh kebijakan pemerintah dalam hal penggunaannya untuk kepentingan rakyat adalah modal dasar bagi masyarakat untuk mengembangkan usaha perikanan dan meningkatkan pendapatan. Potensi sumberdaya perairan umum yang sangat luas ini merupakan peluang besar untuk membuka usaha perikanan di perairan umum (Cahyono, 2001).

Menurut Grandiosa (2010), melihat besarnya potensi pengembangan perikanan budidaya serta didukung peluang pasar internasional yang baik maka perikanan budidaya di Indonesia merupakan salah satu komponen yang penting di sektor perikanan. Hal tersebut berkaitan dengan perannya dalam menunjang persediaan pangan nasional, penciptaan pendapatan dan lapangan kerja serta mendatangkan penerimaan negara dari ekspor. Perikanan budidaya juga berperan dalam mengurangi beban sumberdaya laut. Selain itu perikanan budidaya dianggap sebagai sektor penting untuk mendukung perkembangan ekonomi.

Menurut Akbar, Marsoedi, Soemarno, dan Kusnendar (2012), budidaya merupakan salah satu upaya untuk mendapatkan produksi dan nilai produksi perikanan yang tinggi, terutama untuk biota yang mempunyai ekonomis penting. Dikarenakan beberapa kendala seperti ketersediaan di alam mengalami penurunan atau mendekati punah, sulitnya usaha penangkapan di alam dan mahal, permintaan dari konsumen yang sangat tinggi serta kesinambungan produksi tergantung dari kondisi alam maka pengembangan usaha budidaya perlu dilakukan.

Perkembangan budidaya ikan semakin lama semakin pesat, hal tersebut akan mengakibatkan banyak faktor yang harus dihadapi, salah satunya adalah serangan penyakit (Supriyadi, 2002). Timbulnya serangan penyakit dalam suatu usaha budidaya menjadi permasalahan yang cukup menakutkan salah satunya adalah penyakit yang bersifat bakterial (Kordi, 2012).

Menurut Purnomowati, Garbono dan Nugroho (2011), penyakit bakterial merupakan salah satu masalah utama dalam usaha budidaya. Pada keadaan biasa bakteri tersebut ada pada lingkungan perairan atau tubuh ikan tanpa menimbulkan penyakit, tetapi akan menimbulkan penyakit bahkan kematian apabila terjadi stres atau daya tahan tubuh ikan menurun.

*V. harveyi* merupakan salah satu bakteri yang menimbulkan penyakit pada ikan atau udang yang biasa disebut dengan penyakit vibriosis atau penyakit kunang-kunang (*luminescent vibriosis*) (Sarida, Tarsim dan Faiza, 2010). *V. harveyi* muncul dengan infeksi mematikan pada ikan atau udang yang diikuti infeksi primer dengan patogen-patogen yang lain, kualitas lingkungan, luka-luka, ketidakseimbangan terhadap pakan. Untuk mengatasi permasalahan tersebut, penggunaan antibiotik banyak digunakan akan tetapi penggunaan antibiotik secara terus menerus akan menyebabkan permasalahan baru, yaitu timbulnya resistensi, penimbunan residu obat-obatan didalam tubuh ikan atau udang, maupun pencemaran lingkungan yang akhirnya dapat mempengaruhi organisme perairan (Prajitno, 2007).

Hal tersebut juga sesuai dengan pendapat Nuryati, Suparman dan Hadiroseyani (2008), penggunaan bahan kimia cenderung tidak ramah lingkungan dan ada juga yang bersifat karsinogenik. Dengan adanya kecenderungan yang memperhatikan masalah keamanan pangan dan lingkungan maka diharapkan adanya metode pencegahan penyakit yang bersifat aman bagi pembudidaya, ramah lingkungan dan murah.

Berkaitan dengan permasalahan tersebut, perlu adanya alternatif bahan obat yang lebih aman yang dapat digunakan dalam pengendalian penyakit ikan. Salah satu alternatifnya adalah dengan menggunakan tumbuhan obat tradisional yang bersifat anti parasit, anti jamur, anti bakteri, dan anti viral. Adapun keuntungan menggunakan tumbuhan obat tradisional antara lain relatif lebih aman, mudah diperoleh, murah, tidak menimbulkan resistensi, serta relatif tidak berbahaya terhadap lingkungan sekitarnya (Sugianti, 2005).

Salah satunya adalah dengan menggunakan jintan hitam (*N. sativa*). Jintan hitam (*N. sativa*) telah banyak digunakan di Negara timur tengah untuk pengobatan alami. Tanaman ini dipercaya oleh masyarakat Asia, khususnya Timur Tengah dan Asia Tenggara karena memiliki khasiat pengobatan yang sangat banyak (Jamil, Adi, Prasaja, Ariani dan Hardi, 2014). Menurut Endarti (2009), jintan hitam (*N. sativa*) merupakan tanaman yang berpotensi sebagai imunostimulan karena mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Jintan hitam mengandung beberapa bahan aktif diantaranya, *Thymoquinone*, *Dithymoquinone*, *Thymohidriquinone*, dan *Thymol*.

Selain itu, jintan hitam (*N. sativa*) mempunyai kemampuan sebagai imunostimulan atau dapat meningkatkan sistem imun. Hal tersebut diduga berkaitan dengan kandungan kimia yang terdapat didalamnya. Jintan hitam (*N. sativa*) mempunyai efek imunostimulan yakni minyak atsiri dan asam lemak yang membantu tubuh mencegah infeksi, meningkatkan kekebalan dan mengendalikan reaksi alergi (Yanti, 2010).

Berdasarkan permasalahan tersebut maka perlu dilakukan penelitian terkait pengaruh pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* yang dapat dijadikan sebagai pengganti antibiotik yang lebih aman bagi lingkungan perairan, dimana jintan hitam (*N. sativa*) mengandung senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri

*V. harveyi* pada khususnya. Sehingga tidak mengakibatkan kematian dan penurunan produktivitas dan kerugian besar pada kegiatan budidaya ikan atau udang.

### 1.2 Perumusan Masalah

Penyakit bakterial yang paling sering ditemukan menyerang udang adalah penyakit vibriosis yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Vibrio* spp. Upaya pengendalian penyakit umumnya menggunakan antibiotik dan bahan kimia. Namun, saat ini penggunaan antibiotik sudah dibatasi dan dilarang karena dapat menimbulkan strain patogen yang resisten terhadap antibiotik tersebut (Arisa, 2010).

Maka dari itu, perlunya penggunaan bahan alternatif lain yang lebih aman terhadap biota dan lingkungannya, salah satunya adalah menggunakan ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) yang didalamnya terkandung senyawa antibakteri. Menurut Dontriska, Sasanti dan Yulisman (2014), jintan hitam (*N. sativa*) mengandung bahan aktif seperti minyak atsiri, alkaloid, dan flavonoid yang diduga sebagai zat antimikrobia.

Berdasarkan rumusan yang telah dipaparkan, maka didapat permasalahan sebagai berikut:

- Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) dengan menggunakan uji cakram dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap daya hambat dari bakteri *V. harveyi* secara *In Vitro*.

#### 1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi yang berguna bagi masyarakat mengenai potensi ekstrak jintan hitam (*N. sativa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri, khususnya bakteri *V. harveyi*.

#### 1.5 Hipotesis

$H_0$  : Diduga pemberian ekstrak jintan hitam (*N. sativa*) dengan dosis yang berbeda tidak mempengaruhi daya hambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*.

$H_1$  : Diduga pemberian ekstrak jintan hitam (*N. sativa*) dengan dosis yang berbeda dapat mempengaruhi daya hambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*.

#### 1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 01 Januari – 28 Februari 2016.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

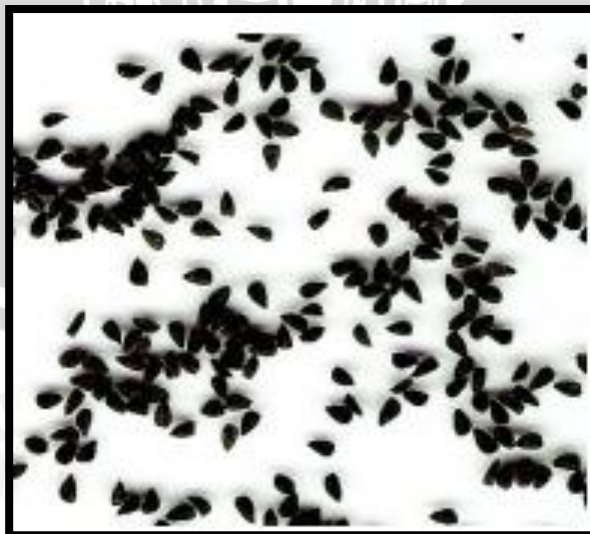
### 2.1 Jintan Hitam (*N. sativa*)

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Rajsekhar dan kuldeep (2011), klasifikasi jintan hitam (*N. sativa*) adalah sebagai berikut:

|         |                         |
|---------|-------------------------|
| Kingdom | : Plantae               |
| Divisi  | : Magnoliophyta         |
| Kelas   | : Magnoliopsida         |
| Ordo    | : Ranunculales          |
| Famili  | : Ranunculaceae         |
| Genus   | : <i>Nigella</i>        |
| Spesies | : <i>Nigella sativa</i> |

Menurut Permata (2009), tanaman ini mempunyai tinggi sekitar 20-30 cm. Tanaman yang juga dikenal dengan nama *black seed* ini mempunyai bunga yang lembut dengan 5-10 kelopak dan biasanya berwarna biru atau putih. Bagian dari jintan hitam yang sering digunakan sebagai obat tradisional adalah bijinya. Adapun gambar dari jinten hitam (*N. sativa*) disajikan pada **Gambar 1**.



**Gambar 1** Jintan Hitam (*N. sativa*)  
(Salman, Khan dan Shukla, 2008)

Arifin (2005), juga berpendapat bahwa tumbuhan musiman ini ketika matang mencapai ukuran antara 12-18 inci. Buahnya berbentuk kapsul yang mengandung banyak biji-biji kecil berwarna putih dan berbentuk triagonal. Ketika matang, kapsulnya akan terbuka dan biji-biji berubah menjadi hitam setelah terkena udara.

### 2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Jintan hitam (*N. sativa*) tumbuh diketinggian kurang dari 700 m diatas permukaan laut. Tanaman ini membutuhkan suhu udara 9-45°C, kelembaban sedang (70-90%), juga penyinaran matahari penuh. Tanaman ini bisa tumbuh dengan baik di tanah inseptisol atau tanah lempung berpasir. Di Negara empat musim, tanaman ini akan bereproduksi optimal pada musim semi (Yulianti dan Junaedi, 2006).

Menurut Junaedi, Yulianti, Suty dan Kuncari (2011), jintan hitam (*N. sativa*) merupakan tanaman yang berasal dari Eropa Selatan, Afrika Utara, dan Asia Selatan. Tanaman ini terkenal dengan nama lain, diantaranya *kalvanji* (bahasa Urdu), *kalonji* (Bahasa Hindi), *kezhah* (Hebrew), *chamushka* (Rusia), dan *siyah daneh* (Persian). Jinten hitam (*N. sativa*) dikenal baik di Timur Tengah maupun Asia Tengah dan Asia Timur yang digunakan sebagai obat alami untuk berbagai penyakit dan sebagai bumbu roti. Di Indonesia sendiri tanaman ini disebut dengan *jintan hitam* yang pada umumnya dimanfaatkan sebagai rempah dalam masakan. Dalam bahasa inggris, herbal ini biasa disebut dengan *black seed* sedangkan dalam bahasa arab disebut dengan *habbatussauda*.

### 2.1.3 Manfaat

Jintan hitam (*N. sativa*) merupakan tanaman herba tahunan dari famili Ranunculaceae yang berasal dari Mediterania, yang juga ditemukan di Asia, Timur Tengah dan Afrika. Jintan hitam (*N. sativa*) telah dimanfaatkan secara tradisional selama berabad-abad oleh masyarakat Islam kuno, yakni dengan

menggunakan sebagai obat alami untuk sejumlah penyakit yang meliputi asma, batuk, hipertensi, bronkitis, diabetes, sakit kepala, eksim, demam, peradangan dan penyakit lainnya (Abdelmalek, Moussa, Nouredine dan Saad, 2012).

Menurut Dontriska, Sasanti dan Yulisman (2014), bahwa dalam bidang perikanan sendiri bahwa jintan hitam (*N. sativa*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophilla* dikarenakan jintan hitam (*N. sativa*) mengandung zat kimia seperti minyak atsiri, alkaloid, dan flavonoid yang diduga sebagai zat antimikrobia sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*.

#### 2.1.4 Bahan Aktif

Biji jintan hitam memiliki kandungan *fixed oils*, *essential oils*, protein, alkaloid dan saponin. Namun, aktivitas biologi yang terlihat paling menonjol dari biji ini adalah thymoquinone (Ali dan Blunden, 2003). Selain mengandung bahan aktif thymoquinone, jintan hitam juga mengandung bahan aktif seperti minyak atsiri, alkaloid, dan flavonoid yang diduga sebagai zat antimikrobia (Dontriska, Sasanti dan Yulisman, 2014).

Menurut Jamil (2010) yang mengutip pendapat dari Randhanawa bahwa senyawa aktif yang terkandung didalam *N. sativa* diantaranya adalah nigellisine, nigellidine, nigellimine N-oksida, thymoquinone, dithymoquinone, thymohydroquinon, nigellone, thymol, arvacrol, oxy-coumarin, 6-methoxycoumarin, dan 7-hydroxy-coumarin, alpha-hedrin, steryl-glucoside, selain itu juga mengandung flavonoids, tannin, asam amino esensial, asam askorbat, besi dan kalsium.

Para ilmuwan di Eropa baru-baru ini menyatakan bahwa jintan hitam bekerja sebagai antimikroba dan antimikotik. Salah satu kandungan jintan hitam adalah minyak volatil. Komponen utama minyak volatil, adalah timokuinon, timohidrokuinon, ditimokuinon, timol, dan tannin terbukti mampu menghambat

pertumbuhan bakteri dan fungi, meskipun mekanisme aksi antimikroba dari senyawa-senyawa ini belum jelas (Mashhadian dan Rakhshandeh, 2005).

### 2.1.5 Aktivitas Anti Mikroba

Secara umum antimikroba yang mempengaruhi pembentukan dinding sel atau permeabilitas membrane sel bekerja bakterisidal sedangkan pada sintesis protein bekerja bakteriostatik. Istilah bakterisidal digunakan untuk zat yang dapat membunuh bakteri dan bakteriostatik adalah suatu keadaan yang mencegah pertumbuhan bakteri sehingga populasi bakteri tetap (Pelczar dan Chan, 1986).

Menurut Manuaba (2003), bahwa mekanisme kerja antimikroba dapat bersifat bakterisida apabila membunuh bakteri. Adapun mekanisme kerja antimikroba adalah sebagai berikut:

- Menghambat metabolisme sel mikroba
- Menghambat sintesis dinding sel mikroba
- Merusak keutuhan membran sel mikroba
- Menghambat sintesis protein mikroba
- Menghambat dan merusak sintesis asam nukleat mikroba.

Hal tersebut sesuai dengan pendapat Kee dan Hayes (1996), bahwa mekanisme kerja antimikroba yang menghambat pertumbuhan atau penghancuran mikroorganisme antara lain: (1) penghambatan sintesis dinding sel bakteri, (2) pengubahan permeabilitas kapiler, (3) penghambatan sintesis protein, dan (4) mengganggu metabolisme di dalam sel.

Aktivitas antimikrobia pada ekstrak biji *N. sativa* tersebut terjadi pada hampir seluruh bakteri gram positif dan beberapa strain gram negatif pada isolat-isolat yang diuji. Mekanisme antimikroba yang terdapat pada jintan hitam (*N. sativa*) adalah dengan cara meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel, serta mengendapkan protein sel mikroba. Selain itu juga mendenaturasi enzim yang bertanggung jawab terhadap germinasi spora atau

berpengaruh terhadap asam amino yang terlibat dalam proses germinasi (Rahmawati, Al-Anwary dan Sasongkowati, 2012).

## 2.2 Bakteri *V. harveyi*

### 2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Garrity, Bell dan Liburn (2004), klasifikasi dan morfologi *V. harveyi* adalah sebagai berikut:

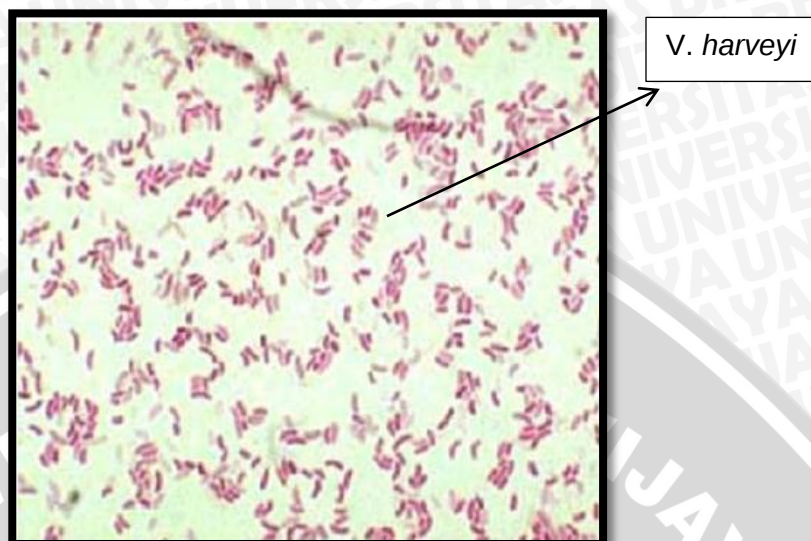
|         |                         |
|---------|-------------------------|
| Divisi  | : Protophyta            |
| Kelas   | : Schizomycetes         |
| Ordo    | : Eubacteriales         |
| Famili  | : Enterobacteriaceae    |
| Genus   | : <i>Vibrio</i>         |
| Spesies | : <i>Vibrio harveyi</i> |

*Vibrio* adalah genus bakteri gram negatif, sel tunggal berbentuk batang pendek yang bengkok (koma), berukuran panjang 1,4 – 5,0  $\mu\text{m}$  dan lebar 0,3 – 1,3  $\mu\text{m}$ , bersifat motil dan mempunyai flagel polar dan dapat ditemukan pada air laut. *Vibrio* bersifat anaerob fakultatif, yaitu dapat hidup baik dengan atau tanpa oksigen. Semua anggota jenis *Vibrio* adalah motil (bergerak) dan mempunyai kutub flagella dengan sarung pelindung (Pelczar dan Chan, 2008).

Hal tersebut sesuai dengan pendapat Jawetz, Melnick dan Adelberg (1992), bahwa *Vibrio* termasuk dalam bakteri gram negatif, mempunyai bentuk batang bengkok dengan ukuran 2-4  $\mu\text{m}$  panjangnya dan sangat aktif bergerak dengan memakai satu flagel kutub. *Vibrio* membentuk koloni yang konveks, halus, bulat, opak dan bergranula pada sinar cahaya

Cruickshank, Duguid, Marmion dan Swain (1980), juga berpendapat bahwa *Vibrio* sp. termasuk bakteri gram negatif, bentuk batang, biasanya dalam kultur awal berbentuk melengkung seperti koma, dengan bulat atau runcing pada bagian ujungnya (sekitar 2,0 x 0,5  $\mu\text{m}$ ), mempunyai motil yang bergerak aktif

dengan satu flagela polar panjang, vibrio pada media cair berbentuk S atau spiral. Adapun koloni bakteri *V. harveyi* disajikan pada **Gambar 2**.



**Gambar 2** Bakteri *V. harveyi* dengan perbesaran 1000x (Muchlis, 2013)

### 2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Bakteri *V. harveyi* termasuk dalam bakteri gram negatif yang bisa ditemukan diperairan laut, estuari maupun dalam kolam budidaya ikan atau udang. Dalam budidaya ikan atau udang, *V. harveyi* merupakan salah satu bakteri yang sering menginfeksi jenis udang windu (*Penaeus monodon*), udang vaname (*Litopenaeus vannamei*), dan jenis ikan-ikan seperti kerapu (*Epinephelus* sp.) (Chatterjee dan Haldar, 2012).

Menurut Prajitno (2007), penyakit kunang-kunang adalah jenis penyakit udang yang hanya ditemukan di daerah tropis. Penyakit ini dimulai dikenal sejak berkembangnya usaha hatchery udang windu di beberapa Negara tropis seperti Indonesia, Thailand, Philipina, Equador dan Taiwan. Di Indonesia sendiri dilaporkan telah menyerang daerah yang terdapat banyak hatchery misalnya di daerah Jawa Timur (Situbondo, Besuki, dan Banyuwangi), Jawa Barat (Serang, Pandeglang, Pelabuhan Ratu dan Indramayu), Jawa Tengah (Jepara), Sulawesi Selatan (Bone), Bali dan Lampung.

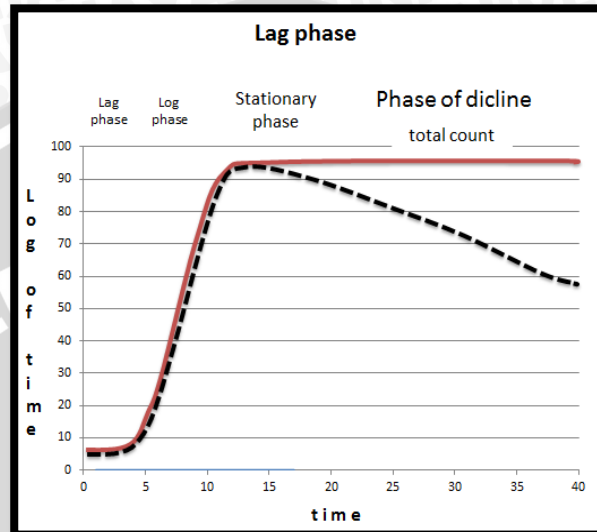
### 2.2.3 Pertumbuhan

Pertumbuhan pada bakteri atau mikroorganisme lain biasanya mengacu pada perubahan di dalam hasil panen sel (pertambahan total massa sel) dan bukan perubahan individu organisme. Inokulum hampir selalu mengandung ribuan organisme, pertumbuhan menyatakan pertambahan jumlah dan atau massa melebihi yang ada di dalam inokulum asalnya. Selama fase pertumbuhan seimbang (*balanced growth*) yang akan diuraikan kemudian, pertambahan massa bakteri berbanding lurus (proposional) dengan perubahan komponen seluler yang lain seperti DNA, RNA dan protein (Pelczar dan Chan, 2008).

Kurva pertumbuhan bakteri disajikan pada **Gambar 3**. Menurut Duguid, Marmion dan Swain (1978), Terdapat empat fase utama pertumbuhan bakteri, yaitu:

- a) Fase lag, adalah fase dimana belum ada kegiatan pertambahan sel, akan tetapi terjadi perubahan ukuran sel dan terjadi aktifitas metabolik. Pada fase ini, sel bakteri melakukan adaptasi untuk pertumbuhan terhadap lingkungan hidupnya.
- b) Fase eksponensial, pada fase ini sel-sel membelah dengan laju yang konstan dan merupakan sebagai akibat dari pembelahan biner. Jumlah sel bakteri pada fase ini meningkat sepuluh kali lipat dalam jangka waktu tertentu.
- c) Fase stasioner, pada fase ini pertumbuhan eksponensial berhenti, laju multiplikasi berkurang sampai berhenti sama sekali dan sel-sel masuk ke dalam fase diam. secara teori terjadi keseimbangan antara pertumbuhan dan kematian pada sel bakteri. Pada fase ini, sel bakteri masih melakukan aktivitas metabolik yakni dengan metabolisme endogen dengan menyediakan energi dan zat yang diperlukan untuk mempertahankan hidup.

- d) Fase kematian, pada fase ini terjadi penurunan laju pertumbuhan dan juga penurunan jumlah sel bakteri. Hal tersebut disebabkan karena nutrisi yang dibutuhkan sel bakteri sudah habis dan kondisi lingkungan yang tidak sesuai.



**Gambar 3** Fase Pertumbuhan Bakteri (Duguid, Marmion dan Swain, 1978)

Aktivitas dan pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh faktor abiotik yaitu faktor fisik seperti suhu, cahaya, tekanan osmose dan radiasi. Selain itu juga faktor kimia seperti pH, salinitas, bahan organik dan zat-zat kimia lain yang bersifat bakteriosidal atau bakteriostatik. Bakteri *Vibrio* spp. termasuk jenis bakteri halofit yakni bakteri yang dapat hidup pada salinitas yang tinggi dan dapat tumbuh dengan baik pada kondisi alkali (Prajitno, 2007).

#### 2.2.4 Perkembangbiakkan

Secara umum, bakteri bereproduksi dengan pembelahan. Selanjutnya diikuti pemanjangan sel, pembentukan membran sel melintang dan dinding sel secara berurutan. Pada bakteri, membran melintang yang baru dan dinding sel tumbuh ke dalam dari lapisan luar, yang melibatkan mesosom septal. Membran melintang dibentuk sebagai jalan untuk memisahkan dua sister kromosom

(kromosom kembar) yang dibentuk saat replikasi kromosom. Ini diakhiri dengan pelekatan kromosom pada membran sel (Brooks, Butel dan Morse, 2001).

Hal tersebut sesuai dengan pendapat Pelczar dan Chan (2008), bahwa proses reproduksi paling umum didalam daur pertumbuhan yang biasa pada populasi bakteri adalah pembelahan sel secara biner melintang. Pembelahan biner melintang yakni suatu proses reproduksi aseksual, setelah pembentukan dinding sel melintang maka satu sel tunggal membelah menjadi dua sel.

#### **2.2.5 Infeksi Bakteri *V. harveyi* dan Gejalanya**

Proses infeksi bakteri diawali dengan menempel atau melekat pada sel inang. Setelah bakteri mempunyai kedudukan yang tetap untuk menginfeksi, bakteri tersebut mulai memperbanyak diri dan menyebar secara langsung melalui jaringan atau aliran darah. Infeksi bakteri ini dapat bersifat sementara atau menetap. Pada proses infeksi ini bakteri akan menyebar ke dalam tubuh serta mencapai jaringan yang cocok untuk memperbanyak diri (Jawetz, Melnick dan Adelberg, 1992).

Jenis bakteri yang menyebabkan kematian terbesar pada ikan dan udang adalah *Vibrio* sp. Bakteri ini biasanya bertindak sebagai patogen sekunder yang timbul akibat infeksi primer protozoa. Penyakit yang ditimbulkan akibat serangan bakteri ini adalah vibriosis atau penyakit merah. Gejala serangan penyakit vibriosis antara lain nafsu makan berkurang, lesu, terdapat pembusukan pada sirip (*fin rot*), mata menonjol (*popeye*), terjadi pengumpulan cairan pada perut (perut kembung), serta terdapat radang berwarna merah pada bagian anus (Akbar dan Sudaryanto, 2002).

*V. harveyi* merupakan bakteri bercahaya yang termasuk dalam bakteri gram negatif, bakteri ini termasuk bakteri patogen yang menyerang ikan air laut dan invertebrata terutama jenis udang-udangan. Pada ikan, patogen yang disebabkan *V. harveyi* ini menyebabkan timbulnya luka disekitar anal, perut

buncit yang berisi cairan dan luka pada mata. Sedangkan pada udang, ditandai dengan *Luminous vibriosis* (bercahaya pada malam hari) dan *Bolitas negricans* (rusaknya jaringan epidermis pada saluran pencernaan) (Austin dan zhang, 2006).

### 2.3 Uji Aktivitas Antibakteri Secara *In Vitro*

Pengujian aktivitas antibakteri secara *In Vitro* dapat dilakukan dengan beberapa metode, salah satunya adalah metode difusi agar. Menurut Kusmiyati dan Agustini (2007), metode difusi agar merupakan salah satu metode yang sering digunakan, metode difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode kertas cakram, metode sumuran dan metode silinder. Adapun penjelasan dari masing-masing metode adalah sebagai berikut:

- Metode difusi kertas cakram

Menurut Brooks, Butel dan Morse (2001), bahwa metode yang paling sering digunakan dalam aktifitas antimikroba adalah metode difusi agar dengan menggunakan kertas cakram. Kertas cakram saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisika dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekuler dan stabilitas obat).

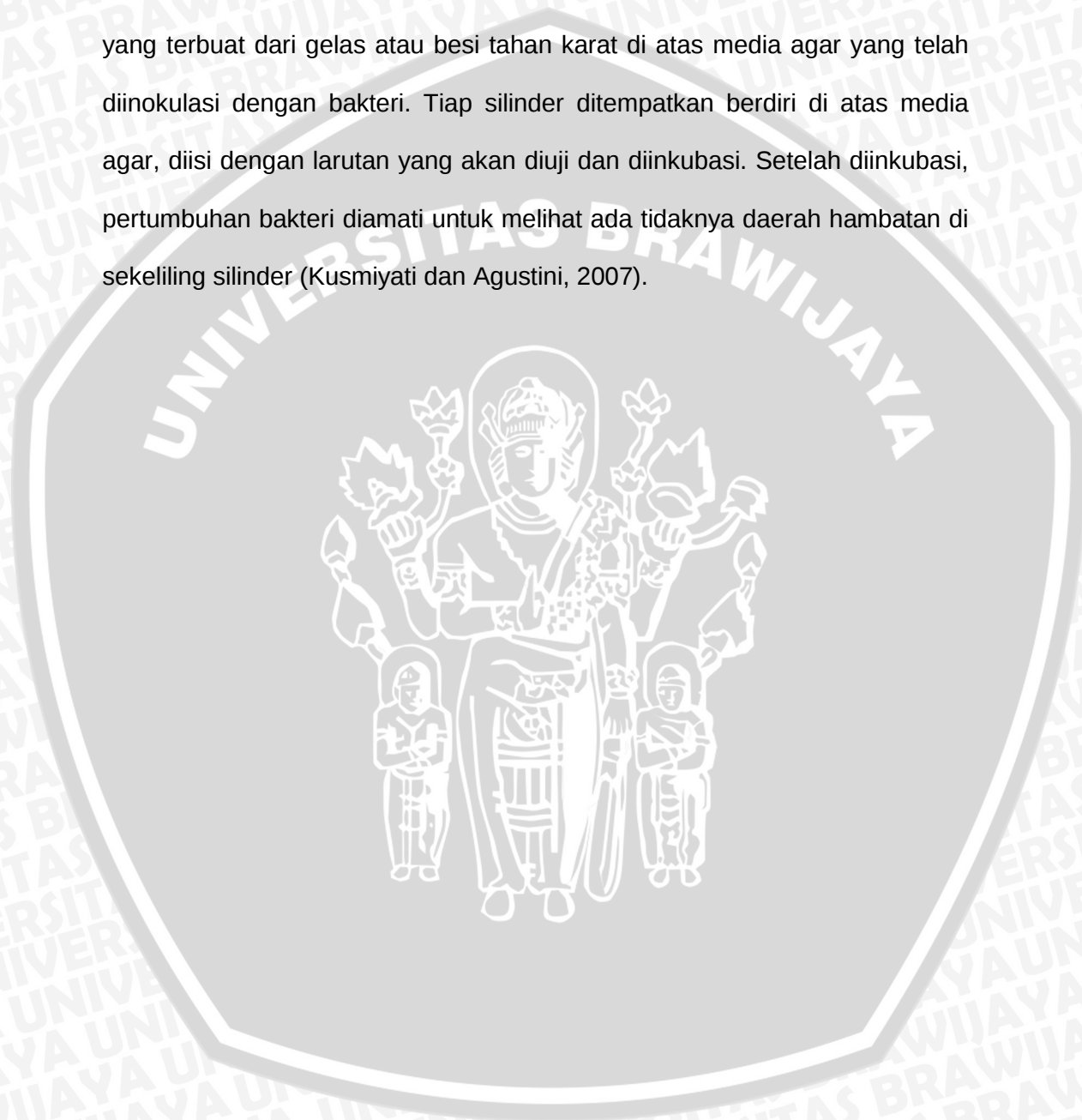
- Metode Sumuran

Metode sumuran dapat dilakukan dengan cara membuat sebidang parit atau lubang pada media agar yang telah diinokulasi bakteri. Lubang tersebut diisi dengan zat antimikroba dan diinkubasi pada waktu dan suhu optimum

yang sesuai dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh adalah ada tidaknya zona hambatan di sekitar lubang (Pratiwi, 2009).

- Metode Silinder

Metode silinder dilakukan dengan cara meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder (Kusmiyati dan Agustini, 2007).



### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* secara *in vitro* disajikan pada **Tabel 1**. Adapun gambar dari alat-alat yang digunakan dalam penelitian disajikan pada **Lampiran 1**.

**Tabel 1** Alat-alat Penelitian

| No  | Alat                    | Kegunaan                                                         |
|-----|-------------------------|------------------------------------------------------------------|
| 1.  | Tabung reaksi           | Sebagai tempat untuk peremajaan bakteri di media miring          |
| 2.  | Rak Tabung Reaksi       | Sebagai tempat meletakkan tabung reaksi                          |
| 3.  | Erlenmeyer              | Sebagai tempat pembuatan media                                   |
| 4.  | Pinset                  | Sebagai alat untuk mengambil kertas cakram                       |
| 5.  | Gelas ukur              | Sebagai tempat mengukur media cair                               |
| 6.  | Beaker glass            | Sebagai tempat tabung reaksi saat proses sterilisasi             |
| 7.  | Inkubator               | Sebagai tempat inkubasi bakteri                                  |
| 8.  | Jarum osse              | Sebagai alat untuk mengambil dan menanam bakteri                 |
| 9.  | Mikropipet              | Sebagai alat untuk mengambil larutan ukuran 100-1000 $\mu$ l     |
| 10. | Autoclave               | Sebagai untuk mensterilisasi alat dan bahan                      |
| 11. | Lemari pendingin        | Sebagai tempat penyimpanan bakteri dan bahan                     |
| 12. | Blender                 | Sebagai alat menghaluskan bahan kering menjadi simplisia         |
| 13. | Timbangan digital       | Sebagai alat untuk menimbang dengan ketelitian $10^{-3}$         |
| 14. | Timbangan analitik      | Sebagai alat untuk menimbang dengan ketelitian $10^{-2}$         |
| 15. | Oven                    | Sebagai alat untuk mengeringkan petri setelah proses sterilisasi |
| 16. | Laminary Air Flow (LAF) | Sebagai tempat penanaman bakteri dalam kondisi steril            |
| 17. | Bunsen                  | Sebagai alat untuk pembakaran dan pengkondisian steril           |

|     |                                 |                                                                                |
|-----|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| 18. | <i>Sprayer</i>                  | Sebagai tempat alkohol                                                         |
| 19. | <i>Rotary vacuum evaporator</i> | Sebagai alat untuk memisahkan cairan dan padatan pada proses pembuatan ekstrak |
| 20. | <i>Blue tip</i>                 | Sebagai alat untuk menuang campuran bakteri dalam media TSB                    |
| 21. | <i>Spatula</i>                  | Sebagai alat untuk mengaduk dan mengambil ekstrak                              |
| 22. | <i>Nampan</i>                   | Sebagai alat untuk meletakkan alat dan bahan                                   |
| 23. | <i>Cawan petri</i>              | Sebagai tempat untuk menanam bakteri dan meletakkan kertas cakram              |
| 24. | <i>Vortex</i>                   | Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan                                      |
| 25. | <i>Hot plate</i>                | Sebagai alat untuk memanaskan media                                            |
| 26. | <i>Gunting</i>                  | Sebagai alat untuk memotong benang                                             |
| 27. | <i>Toples kaca</i>              | Sebagai tempat saat proses maserasi                                            |
| 28. | <i>Botol film</i>               | Sebagai tempat untuk mengencerkan ekstrak                                      |
| 29. | <i>Jangka sorong digital</i>    | Sebagai alat untuk menghitung zona hambat                                      |
| 30. | <i>Corong</i>                   | Untuk membantu memindahkan larutan                                             |
| 31. | <i>Triangle</i>                 | Untuk meratakan bakteri                                                        |

### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar jinten hitam (*N. sativa*) terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* secara *in vitro* disajikan pada **Tabel 2**. Adapun gambar bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian disajikan pada **Lampiran 2**.

**Tabel 2** Bahan-bahan Penelitian

| No | Bahan                                                       | Kegunaan                                             |
|----|-------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| 1. | Jintan Hitam ( <i>N. sativa</i> )                           | Sebagai bahan ekstrak yang akan diujikan daya hambat |
| 2. | Bakteri <i>V. harveyi</i>                                   | Sebagai bahan penelitian                             |
| 3. | TCBSA ( <i>Thiosulphate Citrat Bile Salt Sucrose Agar</i> ) | Sebagai media hidup bakteri <i>V. harveyi</i>        |
| 4. | TSA ( <i>Tryptic Soy Agar</i> )                             | Sebagai media peremajaan bakteri                     |
| 5. | TSB ( <i>Tryptitone Soy Broth</i> )                         | Sebagai media pengencer bakteri                      |
| 6. | Alkohol 70%                                                 | Sebagai bahan aseptis                                |
| 7. | DMSO 10%                                                    | Sebagai pelarut ekstrak                              |
| 8. | Etanol 96%                                                  | Sebagai bahan pelarut saat proses maserasi           |
| 9. | Akuades                                                     | Sebagai pelarut media                                |

|     |                           |                                                                              |
|-----|---------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| 10. | Spirtus                   | Sebagai bahan bakar pada bunsen                                              |
| 11. | Kertas Saring             | Sebagai bahan untuk menyaring hasil maserasi                                 |
| 12. | Tali                      | Sebagai bahan untuk mengikat alat saat proses sterilisasi                    |
| 13. | <i>Aluminium foil</i>     | Sebagai bahan untuk menutupi seluruh bagian toples kaca saat proses maserasi |
| 14. | Kertas berkas atau Koran  | Sebagai bahan pembungkus alat saat proses sterilisasi                        |
| 15. | Kertas Cakram ukuran 6 mm | Sebagai bahan untuk mengetahui besar zona hambat dari ekstrak yang digunakan |
| 16. | Kertas label              | Sebagai pemberi tanda pada setiap perlakuan                                  |
| 17. | Kapas                     | Sebagai bahan untuk menutup alat saat proses sterilisasi                     |
| 18. | Tissue                    | Sebagai bahan untuk mengeringkan alat setelah dicuci                         |
| 19. | NaCl                      | Sebagai bahan campuran dari media TCBSA                                      |
| 20. | KCl                       | Sebagai bahan campuran dari media TCBSA                                      |
| 21. | MgSO <sup>4</sup>         | Sebagai bahan campuran dari media TCBSA                                      |

### 3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan metode eksperimen. Menurut Sugiyono (2011), bahwa penelitian eksperimental dilakukan dilaboratorium dengan kondisi terkontrol dan terdapat perlakuan (*treatment*). Pada dasarnya, metode penelitian eksperimental sendiri digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendali.

Penelitian dengan menggunakan metode eksperimental ini bersifat menguji, artinya semua variable yang diuji harus diukur dengan menggunakan instrumen pengukuran atau tes yang sudah distandardisasikan atau dibakukan (Hamdi dan Bahrudin, 2014). penelitian eksperimen merupakan jenis penelitian

yang dikembangkan untuk mempelajari fenomena dalam kerangka korelasi sebab-akibat. Selain itu penelitian eksperimen ini merupakan suatu bentuk rancangan penelitian yang memperlakukan dan memanipulasi subjek penelitian dengan kontrol secara ketat (Rajab, 2008).

### 3.3 Pengambilan Data

Pengambilan data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah dengan cara observasi secara langsung. Menurut Mania (2008), secara umum, observasi merupakan cara atau metode menghimpun keterangan atau data yang dilakukan dengan mengadakan pengamatan dan pencatatan secara sistematis terhadap fenomena yang sedang dijadikan sasaran pengamatan. Observasi sangat diperlukan jika observer belum memiliki banyak keterangan tentang masalah yang diselidikinya. Sehingga observer dapat memperoleh gambaran yang jelas tentang masalahnya serta petunjuk-petunjuk cara memecahkannya.

Pengamatan atau observasi merupakan suatu prosedur yang berencana, antara lain meliputi melihat, mendengar, dan mencatat sejumlah dan taraf aktifitas tertentu atau situasi tertentu yang ada kaitannya dengan permasalahan yang sedang diteliti. Jadi dalam melakukan observasi bukan hanya mengunjungi, melihat atau menonton saja, akan tetapi disertai keaktifan jiwa atau perhatian khusus dan melakukan pencatatan-pencatatan (Notoatmodjo, 2010).

### 3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan 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, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan laboratorium, rumah kaca, dan peternakan. Adapun model untuk RAL adalah sebagai berikut:

$$Y = \mu + T + \epsilon$$

Keterangan:

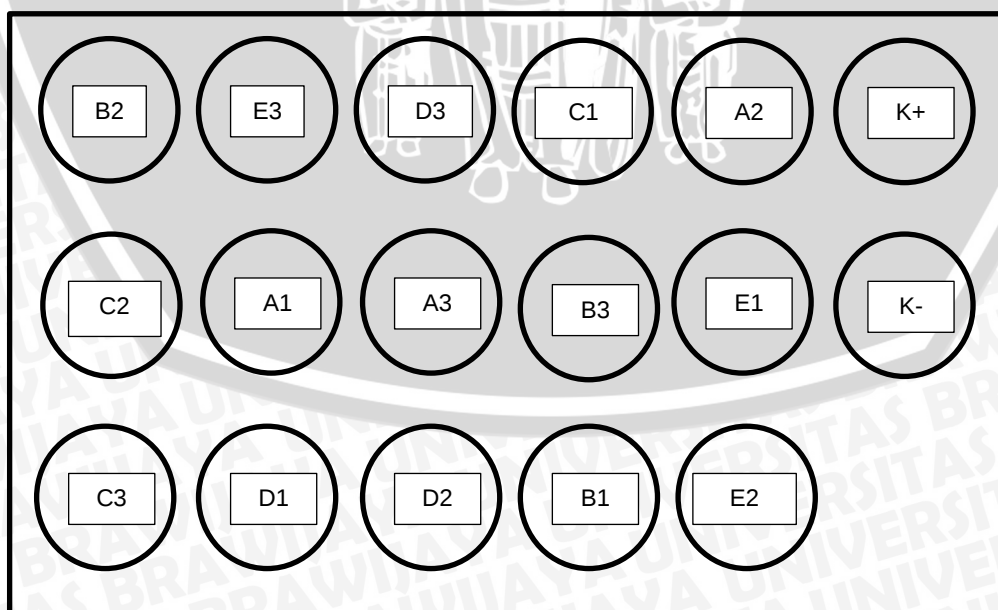
$Y$  : Respon atau nilai pengamatan

$\mu$  : Nilai tengah umum

$T$  : Pengaruh perlakuan

$\epsilon$  : Pengaruh galat percobaan

Penelitian dengan menggunakan variebel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) dengan perlakuan yang diberikan adalah perbedaan dosis ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap bakteri *V. harveyi* yang dilakukan pengamatan selama 48 jam. Dasar penelitian ini adalah untuk mengetahui dosis daya hambat yang muncul pada medium agar padat dengan satuan milimeter (mm) yang tepat dalam penggunaan ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*). Dalam penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dengan menggunakan dosis ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) yang berbeda yaitu dosis 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm yang dilakukan 3 kali pengulangan, sedangkan untuk kontrol menggunakan kontrol positif dengan perlakuan ekstrak 100% dan kontrol negatif dengan perlakuan dosis DMSO 10%. Adapun rancangan penelitian yang dilakukan disajikan pada **Gambar 4**.



**Gambar 4** Denah Rancangan Penelitian

Keterangan:

- A : Perlakuan dosis 10 ppm
- B : Perlakuan dosis 20 ppm
- C : Perlakuan dosis 30 ppm
- D : Perlakuan dosis 40 ppm
- E : Perlakuan dosis 50 ppm
- K- : Perlakuan dosis DMSO 10%
- K+ : Perlakuan konsentrasi 100%

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Persiapan Penelitian

##### a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dapat menggunakan *autoclave*, adapun prosedur penggunaan *autoclave* adalah sebagai berikut:

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan sabun cuci, dikeringkan kemudian dibungkus dengan menggunakan plastik tahan panas atau dengan menggunakan kertas bekas dan diikat menggunakan benang.
- Air secukupnya dituang ke dalam *autoclave*, kemudian alat yang telah dibungkus kertas dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara diagonal.
- Tombol ON dinyalakan, kemudian suhu diputar maksimal hingga lampu hijau untuk prosos *heating* menyala, ditunggu hingga uap air pada klep keluar dan klep pada autoklaf ditutup ke arah samping.
- Kemudian suhu diturunkan hingga lampu kuning untuk *sterilization* menyala, setelah mencapai suhu 121<sup>0</sup>C dan tekanan menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan selama 15 menit
- Tombol OFF ditekan, ditunggu beberapa saat sampai suhu menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka kran uap lalu buka penutup *autoclave* secara diagonal

- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil, apabila alat dan bahan tidak langsung dipakai, alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

#### **b. Sterilisasi Tempat Perlakuan**

Sterilisasi tempat perlakuan perlu dilakukan untuk menghindari kontaminasi terhadap bakteri yang terdapat disekitar tempat perlakuan. Sterilisasi dapat dilakukan secara kimia yakni dengan menggunakan alkohol 70% yang dilakukan dengan cara menyemprotkan disekitar tempat penelitian. Selain itu, sterilisasi juga dapat dilakukan secara fisika yakni dengan melakukan penyinaran menggunakan sinar *ultraviolet*. Pada penelitian ini sterilisasi tempat dilakukan dengan menggunakan sinar UV yang terdapat pada *laminar air flow*.

#### **c. Pembuatan Ekstrak Kasar Jintan Hitam (*N. sativa*)**

Proses pembuatan ekstrak dimulai dengan menyiapkan jintan hitam (*N. sativa*) yang didapatkan dari Balai Medika Tanaman Obat Batu, Jawa Timur sebanyak 200 gram. Selanjutnya jintan hitam (*N. sativa*) tersebut dihaluskan dengan menggunakan *blender* sampai halus.

Jintan hitam (*N. sativa*) yang telah dihaluskan selanjutnya direndam dengan menggunakan metode *macerasi* dengan perbandingan 1:5 dimana serbuk jintan hitam (*N. sativa*) sebanyak 200 gr di direndam menggunakan etanol 96% sebanyak 1 liter selama 1 x 24 jam dalam suhu kamar. Larutan yang didapat kemudian disaring dengan kertas saring dan diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 50°C dengan kecepatan 110 rpm dan ditunggu sehingga menghasilkan ekstrak jintan hitam (*N. sativa*) berbentuk seperti pasta dengan berat 9,87 gram. Adapun skema pembuatan ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) disajikan pada **Lampiran 3**.

**d. Pembuatan Media**

- Media TSA (*Trypti Soy Agar*)

Prosedur pembuatan media TSA (*Trypti Soy Agar*) miring yang akan digunakan untuk peremajaan bakteri adalah sebagai berikut:

- Media TSA (*Trypti Soy Agar*) ditimbang sebanyak 0,8 gram, NaCl sebanyak 0,37 gram,  $MgSO_4$  sebanyak 0,14 gram dan KCl sebanyak 0,015 gram dan dilarutkan dalam 20 ml aquades
- kemudian Media TSA (*Trypti Soy Agar*) dihomogenkan pada kondisi hangat di atas *hot plate*, media selanjutnya dituang ke tabung reaksi sebanyak 10 ml. Kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}C$  selama 15 menit.
- Selanjutnya tabung reaksi yang berisi media TSA (*Trypti Soy Agar*) dimiringkan dan ditunggu hingga padat, media yang tidak langsung digunakan dapat disimpan dalam lemari pendingin.

- Media TSB (*Tryptitone Soy Broth*)

Prosedur pembuatan media TSB (*Tryptitone Soy Broth*) yang akan digunakan untuk reinokulasi bakteri *V. harveyi* adalah sebagai berikut:

- Media TSB (*Tryptitone Soy Broth*) ditimbang sebanyak 0,32 gram dilarutkan dalam 10 ml akuades dalam erlenmeyer kemudian dicampur dengan 0,184 gram NaCl, 0,069 gram  $MgSO_4$  dan 0,007 gram KCl.
- Erlenmeyer ditutup kapas dan *aluminium foil* kemudian media dihomogenkan pada kondisi hangat diatas *hotplate* sampai tercampur rata. kemudian TSB (*Tryptitone Soy Broth*) disterilkan dalam autoklaf pada suhu  $121^{\circ}C$  selama 15 menit.
- Media TSB (*Tryptitone Soy Broth*) yang telah dingin dapat digunakan untuk reinokulasi bakteri dari TSA (*Trypti Soy Agar*) miring ke media cair.

- Media TCBSA (*Thiosulphate Citrat Bile Salt Sucrose Agar*)

Prosedur pembuatan Media TCBSA (*Thiosulphate Citrat Bile Salt Sucrose Agar*) yang akan digunakan untuk uji cakram adalah sebagai berikut:

- Media TCBSA (*Thiosulphate Citrat Bile Salt Sucrose Agar*) ditimbang sebanyak 35,2 gram dengan menggunakan timbangan digital
- 7,36 gram NaCl, 2,78 gram  $MgSO_4$  dan 0,3 gram KCl ditimbang dan dilarutkan dalam 400 ml aquades
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan kertas perkamen / *aluminium foil*, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}C$  selama 15 menit
- Media TCBSA (*Thiosulphate Citrat Bile Salt Sucrose Agar*) dimasukkan dalam Erlenmeyer dan dipanaskan diatas *hot plate*, media selanjutnya dituang ke cawan petri. Media yang tidak langsung digunakan dapat disimpan dalam lemari pendingin.

- **Pembiakan Bakteri *V. harveyi***

Prosedur yang dilakukan dalam pembiakan bakteri *V. harveyi* adalah sebagai berikut:

a. Media TSA (*Trypti Soy Agar*) miring

- Jarum osse dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum ose disentuh ke biakan murni *V. harveyi* kemudian digores secara *zig-zag* pada media TSA (*Trypti Soy Agar*) miring dan dibiarkan 18 - 24 jam dalam inkubator dengan suhu  $33^{\circ}C$ .

b. Media TSB (*Tryptitone Soy Broth*)

- Media TSB (*Tryptitone Soy Broth*) disiapkan sebanyak 50 ml dalam Erlenmeyer
- Jarum osse dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin diambil satu osse ke biakan *V. harveyi* kemudian dicelupkan pada media

- TSB (*Tryptitone Soy Broth*) dan dibiarkan 18 - 24 jam dalam inkubator dengan suhu 33°C.

### 3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

#### a. Uji Cakram

Uji cakram digunakan untuk mengetahui tanaman pada dosis tertentu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang bersifat bakteriostatik setelah diinkubasi selama 24 jam yang ditandai dengan terdapatnya zona hambat setelah dilakukan inkubasi. Dan juga bakteri yang bersifat bakteriosidal setelah diinkubasi selama 48 jam yang ditandai dengan ukuran zona hambat mengalami penurunan (Kusmiyati dan Agustini, 2007). Adapun prosedur uji cakram adalah sebagai berikut:

- Disiapkan cawan petri yang telah terdapat media TCBSA (*Thiosulphate Citrat Bile Salt Sucrose Agar*) dan dosis ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) untuk uji cakram, adapun pembuatan dosis ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) disajikan pada **Lampiran 4**
- Dilakukan penanaman bakteri dari media TSB (*Tryptitone Soy Broth*) ke media TCBSA (*Thiosulphate Citrat Bile Salt Sucrose Agar*) dengan menggunakan metode sebar dengan volume 100 µl kemudian diratakan pada seluruh permukaan media agar hingga merata.
- Kertas cakram steril ukuran 6 mm direndam dalam ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) selama 15 menit berdasarkan dosis perlakuan yang telah ditentukan.
- Kemudian kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) ditiriskan dan diletakkan pada permukaan lempeng agar, saat meletakkan kertas cakram tidak boleh bergeser karena akan mengurangi validasi pengukuran.

- Dibaca hasil setelah diinkubasi pada suhu ruang 33°C selama 24 jam dengan mengukur zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong digital.

### **3.6 Parameter Uji**

#### **3.6.1 Parameter Utama**

Parameter utama pada penelitian ini adalah parameter uji yang berupa ukuran zona hambat yang dihasilkan setelah uji difusi kertas cakram dengan menggunakan ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) dalam satuan milimeter (mm).

#### **3.6.2 Parameter Penunjang**

Parameter penunjang adalah parameter uji yang berupa suhu inkubasi yang digunakan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri *V. harveyi* selama penelitian.

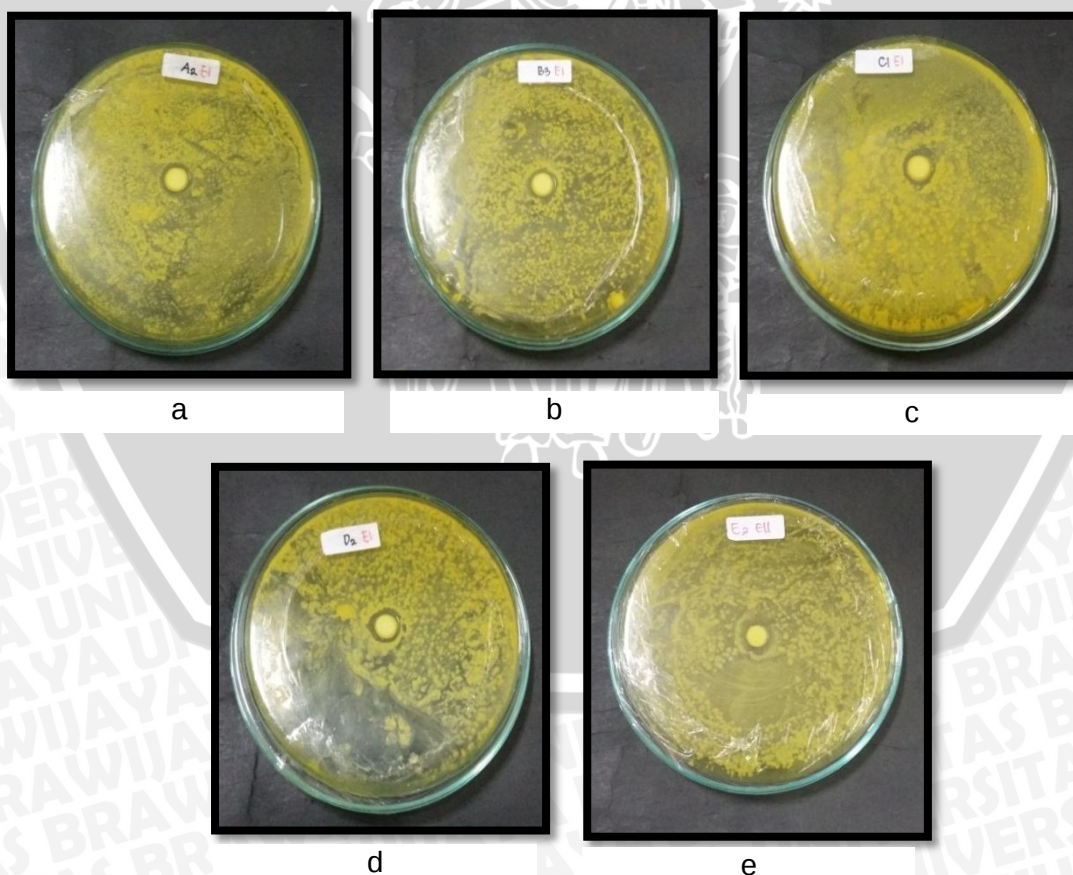
### **3.7 Analisa Data**

Berdasarkan hasil uji daya hambat ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap bakteri *V. harveyi* maka dilakukan analisa data secara statistik dengan menggunakan analisa keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Uji ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon zona hambat yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yaitu untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Kemudian untuk mengetahui hubungan antar perlakuan dengan zona hambat digunakan uji *polynomial orthogonal* yang memberikan keterangan mengenai pengaruh keterangan terbaik.

#### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### 4.1 Daya Hambat Ekstrak Kasar Jintan Hitam (*N. sativa*) Terhadap Bakteri *V. harveyi* Secara *In Vitro*

Berdasarkan hasil pengamatan selama penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* menunjukkan bahwa ukuran zona hambat yang terbentuk pada tiap perlakuan berbeda, tergantung dari jumlah dosis yang diberikan. Semakin tinggi dosis maka zona hambat yang dihasilkan akan semakin besar, sedangkan semakin rendah dosis yang diberikan maka zona hambat yang dihasilkan akan semakin kecil. Adapun gambar zona hambat dalam penelitian disajikan pada **Gambar 5**, dan untuk lebih lengkapnya gambar hasil pengamatan zona hambat disajikan pada **Lampiran 5**.



**Gambar 5** Hasil Uji Daya Hambat (a) Dosis 10 ppm (b) Dosis 20 ppm (c) Dosis 30 ppm (d) Dosis 40 ppm (e) Dosis 50 ppm

Berdasarkan gambar diatas menunjukkan bahwa zona hambat tertinggi ditunjukkan pada perlakuan E dengan dosis 50 ppm sedangkan zona hambat terendah ditunjukkan pada perlakuan A dengan dosis 10 ppm. Hal tersebut disebabkan karena banyaknya jumlah bahan aktif ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) yang diserap oleh kertas cakram. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Rahman (2013), menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk dipengaruhi oleh dosis bahan aktif yang digunakan, semakin tinggi dosis yang digunakan maka semakin tinggi zona daya hambat yang terbentuk. Dimana besarnya diameter zona hambat berbanding lurus dengan kenaikan konsentrasi bahan aktif. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Ajizah (2004), bahwa konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi membentuk zona hambat yang semakin besar. Semakin pekat konsentrasi suatu ekstrak, maka senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya akan semakin banyak sehingga memberikan pengaruh terhadap diameter zona hambat yang terbentuk.

Hasil uji dengan menggunakan kertas cakram dari ekstrak jintan hitam (*N. sativa*) dengan lima perlakuan dan tiga kali ulangan didapatkan rata-rata zona hambat setelah dilakukan pengamatan selama 24 jam disajikan pada **Tabel 3**.

**Tabel 3** Hasil Rata-rata Pengamatan Zona hambat

| Perlakuan    | Ulangan (mm) |      |      | Total (mm) | Rata-rata (mm) |
|--------------|--------------|------|------|------------|----------------|
|              | 1            | 2    | 3    |            |                |
| A (10 ppm)   | 2,33         | 3,7  | 3,46 | 9,49       | 3,16 ± 0,73    |
| B (20 ppm)   | 3,2          | 3,12 | 3,68 | 10,00      | 3,33 ± 0,30    |
| C (30 ppm)   | 3,56         | 4,01 | 4,12 | 11,69      | 3,90 ± 0,30    |
| D (40 ppm)   | 4,81         | 4,57 | 4,15 | 13,53      | 4,51 ± 0,33    |
| E (50 ppm)   | 5,96         | 4,94 | 5,53 | 16,43      | 5,48 ± 0,51    |
| <b>Total</b> |              |      |      | 61,14      |                |

Berdasarkan data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa rata-rata ukuran zona hambat tertinggi yaitu pada perlakuan E dengan perlakuan dosis 50 ppm yang didapatkan rata-rata zona hambat dengan ukuran 5,48 mm. Sedangkan rata-rata zona hambat terendah yaitu pada perlakuan A dengan perlakuan dosis 10 ppm

yang didapatkan rata-rata zona hambat dengan ukuran 3,16 mm. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Asniyah (2009), menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak jintan hitam maka diameter zona hambatan yang terbentuk juga semakin besar. Diameter zona hambatan yang meningkat dengan meningkatnya konsentrasi minyak jintan hitam menunjukkan adanya hubungan dosis respons (*dose-response relationship*).

Suriawiria (2005), menyatakan bahwa respon hambat dari suatu bahan aktif dapat diklasifikasikan berdasarkan empat respon seperti yang disajikan pada **Tabel 4**.

**Tabel 4** Klasifikasi Respon Hambat

| No | Zona Hambat (mm) | Respon Hambatan |
|----|------------------|-----------------|
| 1  | <5               | Lemah           |
| 2  | 5-10             | Sedang          |
| 3  | 10-19            | Kuat            |
| 4  | >20              | Sangat Kuat     |

Sumber: Suriawiria (2005)

Berdasarkan Tabel 4 mengenai respon hambat suatu bahan aktif terhadap bakteri dengan metode uji cakram menunjukkan bahwa respon hambatan ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap bakteri *V. harveyi* pada perlakuan A, B, C, dan D dengan dosis 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm dan 40 ppm didapatkan hasil rata-rata pengukuran zona hambat sebesar 3,5 mm, 3,67 mm, 3,9 mm dan 4,51 mm yaitu termasuk dalam kategori respon daya hambat lemah karena ukuran zona hambat yang terbentuk kurang dari <5 mm, sedangkan pada perlakuan E dengan dosis 50 ppm didapatkan hasil rata-rata 5,48 mm yang menunjukkan bahwa respon daya hambat sedang, karena ukuran zona hambat yang terbentuk antara 5-10 mm.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi* maka dilakukan uji sidik ragam. Adapun uji sidik ragam disajikan disajikan pada **Tabel 5**.

**Tabel 5** Sidik Ragam Zona Hambat

| Sumber Keragaman | Db | JK    | KT   | F. Hit  | F 5% | F 1% |
|------------------|----|-------|------|---------|------|------|
| Perlakuan        | 4  | 10,70 | 2,68 | 12,28** | 3,48 | 5,99 |
| Acak             | 10 | 2,18  | 0,22 |         |      |      |
| Total            | 14 |       |      |         |      |      |

Keterangan: (\*\*) berbeda sangat nyata

Pada tabel sidik ragam didapatkan hasil bahwa pengaruh pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* berbeda sangat nyata. Hal tersebut dikarenakan F hitung lebih besar dari tabel F5% dan F1% atau nilai 12,28 lebih besar dari nilai 3,48 dan 5,99. Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan maka dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang disajikan pada **Tabel 6**, untuk perhitungan lengkapnya disajikan pada **Lampiran 6**.

**Tabel 6** Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Ekstrak Kasar Jintan Hitam (*N. sativa*) Terhadap Bakteri *V. harveyi*

| Perlakuan | Rerata (mm) | A                  | B                  | C                  | D     | E    | Notasi |
|-----------|-------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------|------|--------|
|           |             | 3,16               | 3,33               | 3,90               | 4,51  | 5,48 |        |
| A         | 3,16        | —                  |                    |                    |       |      | a      |
| B         | 3,33        | 0,17 <sup>ns</sup> | —                  |                    |       |      | a      |
| C         | 3,90        | 0,73 <sup>ns</sup> | 0,56 <sup>ns</sup> | —                  |       |      | a      |
| D         | 4,51        | 1,35**             | 1,18*              | 0,61 <sup>ns</sup> | —     |      | a      |
| E         | 5,48        | 2,31**             | 2,14**             | 1,58**             | 0,97* | —    | b      |

Keterangan:

ns : Tidak berpengaruh nyata

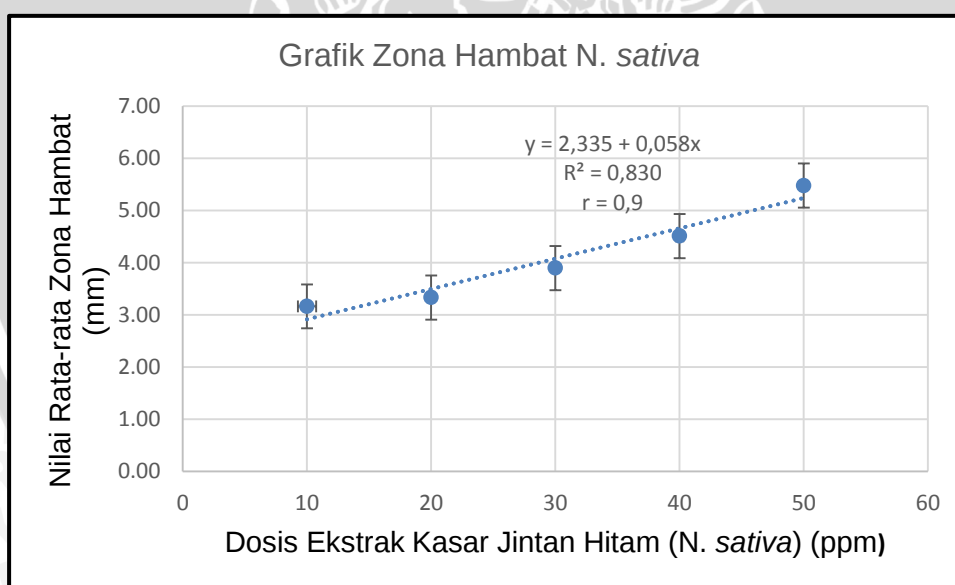
\* : Berpengaruh nyata

\*\* : Berpengaruh sangat nyata

Pada hasil tabel uji BNT (Beda Nyata Terkecil) diketahui bahwa nilai dari perlakuan E (50 ppm) memiliki nilai yang berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A (10 ppm), B (20 ppm), C (30 ppm) dan D (40 ppm). Dari Tabel 6 tersebut dapat dikatakan bahwa perlakuan terbaik yaitu pada perlakuan E

dengan dosis 50 ppm, karena pada perlakuan tersebut mempunyai kemampuan menghambat paling baik daripada dosis lainnya, hal tersebut juga ditunjukkan juga dengan lebar dari zona hambat bakteri uji. Jawetz, Melnick dan Adelberg (1992), menyatakan bahwa penghambatan bakteri yang terbentuk diakibatkan senyawa aktif yang terkandung dari ekstrak jintan hitam. Pertumbuhan bakteri yang terhambat merupakan akibat dari suatu zat antibakteri yang mampu melakukan penghambatan terhadap sintesis dinding sel bakteri, penghambatan terhadap fungsi membran, penghambatan terhadap sintesis protein dan penghambatan terhadap sintesis asam nukleat

Untuk mengetahui bentuk hubungan (*regresi*) antar perlakuan dengan parameter yang diuji yaitu daya hambat bakteri *V. harveyi* maka perlu dilakukan uji *polynomial orthogonal*. Adapun grafik regresi zona hambat yang dihasilkan disajikan pada **Gambar 6**.



**Gambar 6** Grafik Hubungan Zona Hambat Antar Perlakuan Ekstrak Kasar Jintan Hitam (*N. sativa*) Terhadap Bakteri *V. harveyi*

Berdasarkan gambar grafik hubungan zona hambat antar perlakuan ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap bakteri *V. harveyi* menunjukkan perpotongan garis secara linear dengan persamaan  $y = 2,335 + 0,058x$  dengan

koefisien nilai determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,830 dan nilai korelasi sebesar 0,91, dimana derajat keeratan hubungan antara dosis ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) dan nilai rata-rata zona hambat termasuk dalam kategori erat.

Berdasarkan Gambar 6, hubungan antara pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* dengan rata-rata ukuran zona hambat yang dihasilkan menunjukkan respon yang meningkat seiring dengan bertambahnya dosis ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) dari dosis 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm. Hal tersebut disebabkan karena semakin tinggi dosis yang diberikan maka kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam dosis juga semakin banyak sehingga akan mempengaruhi zona hambat yang dihasilkan. Tingginya kandungan senyawa aktif dalam ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) akan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara maksimal. Menurut Kumala dan Indriani (2008), menyatakan bahwa konsentrasi ekstrak mempengaruhi kecepatan difusi zat yang berkhasiat. Makin besar konsentrasi ekstrak, maka semakin cepat difusi, sehingga makin besar daya antibakteri dan makin luas diameter zona hambat yang terbentuk.

Pengaruh daya hambat terhadap bakteri *V. harveyi* tersebut juga disebabkan oleh bahan aktif yang terkandung dalam jintan hitam (*N. sativa*). Menurut Dontriska, Sasanti, Yulisman (2014), jintan hitam (*N. sativa*) mengandung bahan aktif seperti minyak atsiri, alkaloid, dan flavonoid yang diduga sebagai zat antimikrobia.

Seperti yang telah dijelaskan bahwa jintan hitam (*N. sativa*) mengandung senyawa aktif yang bersifat antibakteri, salah satunya adalah senyawa flavonoid. Menurut Sriyono dan Andriani (2013), bahwa flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein, sehingga mengganggu proses metabolisme, selain itu dapat menyebabkan

perubahan komponen organik dan transpor nutrisi yang akhirnya mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri.

Mekanisme kerja dari flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Sabir, 2005). Selain itu Manik, Hertiani dan Anshory (2014), menambahkan bahwa flavonoid mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri dan menghambat motilitas bakteri. Gugus hidroksil pada struktur flavonoid mengakibatkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi yang akhirnya menimbulkan efek toksik terhadap bakteri.

Kemampuan ekstrak jintan hitam (*N. sativa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri juga dipengaruhi oleh zat terlarut dalam jintan hitam (*N. sativa*), zat terlarut tersebut adalah minyak atsiri. Terdapat beberapa komponen minyak atsiri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu *p-Cymene*, *thymoquinone*, *pinene*, *carvacrol* dan *terpinene* (Gerige, Gerige, Rao dan Ramanjaneyulu, 2009). Bakteri yang diberikan perlakuan dengan minyak atsiri menunjukkan peningkatan permeabilitas membran sel bakteri terhadap proton (seperti  $H^+$ ) sehingga dapat mengganggu keseimbangan pH intraseluler yang mengakibatkan terganggunya sintesis protein dan ATP. Hal ini merupakan penyebab bakteri tidak dapat tumbuh dan kemudian mati (Burt, 2004).

Menurut Mayer (2011) dalam Saptiani, Prayitno dan Anggoro (2013), suatu bahan dapat dikategorikan sebagai antibiotik jika bersifat bakteriostatik, yaitu mampu menghambat pertumbuhan bakteri, atau bakterisidal jika mampu membunuh bakteri. Jika antibiotik yang bersifat bakteriostatik digunakan untuk terapi, maka harus cukup menimbulkan mekanisme immunitas seluler dan humoral untuk membasmi bakteri.

Dari hasil penelitian pengaruh pemberian ekstrak kasar jintan (*N. sativa*) terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* membuktikan bahwa pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) dengan dosis 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm bersifat bakteriostatik, hal tersebut diketahui setelah inkubasi selama 48 jam terlihat bahwa zona hambat dari masing-masing perlakuan rata-rata mengalami penurunan.

Sifat bakteriostatik terlihat dengan adanya penurunan diameter zona hambat pada jam ke-48. Terjadinya penurunan tersebut disebabkan bakteri bersifat gram negatif dan mempunyai dinding sel lebih tebal dibandingkan bakteri gram positif. Dimana bakteri gram negatif dan bakteri gram positif mempunyai dinding sel yang berbeda sensitivitasnya terhadap perlakuan fisik, enzim dan antibiotik (Talaro, 2008 dalam Anita, Khotimah dan Yanti, 2014). Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) berpengaruh terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* dengan nilai rata-rata zona hambat terbaik pada perlakuan E dengan dosis 50 ppm sebesar 5,48 mm yang termasuk dalam kategori daya hambat sedang dan bersifat bakteriostatik.

Kemampuan ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) dalam menghambat bakteri *V. harveyi* tergantung dari kemampuan antibakteri karena bakteri gram negatif cenderung lebih sulit dibandingkan dengan bakteri positif. Hal tersebut disebabkan karena susunan dinding sel bakteri negatif lebih kompleks jika dibandingkan dengan bakteri gram positif yang cenderung lebih sederhana. Menurut Brooks, Butel dan Morse (2001), bahwa kandungan utama dinding sel pada bakteri gram positif adalah *peptidoglycan* dan *teichoic acid*, sedangkan dinding sel pada bakteri gram negatif meliputi peptidoglikan dan membran luar, dimana membran luar tersebut menghalangi masuknya molekul yang berukuran besar.

Menurut Adries, Gunawan dan Supit (2013), antibakteri merupakan substansi yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme (bakteri), yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan ataupun membunuh mikroorganisme lain. Aktivitas antibakteri diukur secara in vitro untuk menentukan potensi agen antibakteri dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan tubuh atau jaringan, dan kerentanan mikroorganisme tertentu terhadap obat dengan konsentrasi tertentu. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba in vitro yaitu lingkungan, komponen medium, stabilitas obat, ukuran inokulum, lama inkubasi, dan aktivitas metabolik mikroorganisme.

#### 4.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang digunakan selama penelitian ini adalah suhu inkubasi. Dimana selama penelitian suhu inkubasi yang digunakan adalah 33<sup>0</sup> C, dengan menggunakan suhu inkubasi tersebut maka pembiakkan bakteri *V. harveyi* sudah dapat tumbuh dengan baik. Pertumbuhan bakteri *V. harveyi* pada media ditandai dengan berubahnya warna media agar dari hijau menjadi kuning. Menurut Prajitno (2007), suhu yang optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio* berkisar antara 30<sup>0</sup> C - 35<sup>0</sup> C. Sedangkan pada suhu 4<sup>0</sup> C dan 45<sup>0</sup> C bakteri tersebut tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55<sup>0</sup> C akan mengalami kematian.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* secara *in vitro* dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) berpengaruh terhadap zona hambat bakteri *V. harveyi* dengan nilai rata-rata zona hambat terbaik pada perlakuan E dengan dosis 50 ppm sebesar 5,48 mm yang termasuk dalam kategori daya hambat sedang dan bersifat bakteriostatik.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) terhadap daya hambat bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*, untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* disarankan untuk menggunakan ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) dengan dosis tertinggi yakni 50 ppm, dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar jintan hitam (*N. sativa*) untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* yang menyerang ikan atau udang secara *in vivo*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdelmalek, M., A. Moussa., D. Noureddine dan A. Saad. 2012. Antibacterial Activity Of Honey Alone And In Combination With *N. sativa* Seeds Against *Pseudomonas aeruginosa* Infection. *Journal Of Tropical Disease*. 5428-5430.
- Ajizah, A. 2004. Sensitifitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *Bioscientiae*. **1** (1): 31-38.
- Akbar, S. dan Sudaryanto. 2002. Pembenihan dan Pembesaran Kerapu Bebek. Penebar Swadaya. Jakarta. 104 hlm.
- \_\_\_\_\_, Marsoedi., Soemarno dan E. Kusnendar. 2012. Pengaruh Pemberian Pakan Yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan Ikan Kerapu Macan (*E. fuscoguttatus*) Pada Fase Pendederan Di Keramba Jaring Apung (KJA). *Jurnal Teknologi Pakan*. **1** (2): 93-101.
- Ali, B. H. dan G. Blunden. 2003. Pharmacological and Toxicological Properties of *N. sativa*. *Phytotherapy Research*. **17**: 299-305.
- Andries, J. R., P. N. Gunawan dan A. Supit. 2014. Uji Efek Anti Bakteri Ekstrak Bunga Cengkeh Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* Secara *In Vitro*. *Jurnal e-GiGi (eG)*. **2** (2): 1-8.
- Anita, A., S. Khotimah, A. H. Yanti. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Benalu Jambu Air (*Dendrophoe pentandra* (L.) Miq) Terhadap Pertumbuhan *S. typhi*. *Jurnal Protobiont*. **3** (2): 268-272.
- Arifin, N. 2005. Penyembuhan Semula Jadi Dengan Herba. Penerbit PTS. Malaysia. 253 hlm.
- Arisa, I. I. 2010. Pemberian Probiotik, Prebiotik Dan Sinbiotik Untuk Meningkatkan Respon Imun Udang Vaname *Litopenaeus vannamei* Terhadap Infeksi *V. harveyi*. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor. 82 hlm.
- Asniyah. 2009. Efek Antimikroba Minyak Jintan Hitam (*N. Sativa*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli In Vitro*. *Jurnal Biomedika*. **1** (1): 25-29.
- Austin, B. dan X. H. Zhang. 2015. *V. harveyi*: A Significant Pathogen Of Marine Vertebrates And Invertebrates. *Lett Appl Microbiol*. **43**: 119-124.
- Brooks, G. F., J. S. Butel dan S. A. Morse. 2001. Mikrobiologi Kedokteran. Penerbit Salemba Medika. Jakarta. 528 hlm.
- Burt, S. 2004. Essential Oils: Their Antibacterial Properties And Potential Applications In Foods. *International Journal Of Food Microbiology*. **94** (3): 223-253.

- Cahyono, B. 2001. Budidaya Ikan di Perairan Umum. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 95 hlm.
- Chatterjee, S. dan S. Haldar. 2012. Vibrio Related Disease In Aquaculture And Development Of Rapid And Accurate Identification Methods. *J. Marine Sci Res Dev.* **1** (2): 1-7.
- Cruickshank, R., J. P. Duguid., B. P. Marmion dan R. H. A. Swain. 1980. Medical Microbiology. Churchill Livingstone. New York. 587 hlm.
- Dontriska., A. D. Sasanti dan Yulisman. 2014. Efektivitas Tepung Jintan Hitam (*N. Sativa*) Untuk Mencegah Infeksi *A. hydrophila* Pada Ikan Patin. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia.* **2** (2): 188-201.
- Duguid, J. P., B. P. Marmion dan R. H. A. Swain. 1978. Medical Microbiology. Churchill Livingstone. Edinburgh. 666 hlm.
- Endarti. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam Sebagai Imunostimulan Terhadap Hematologi Ikan Lele Dumbo. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 82 hlm.
- Garrity, G. M., J. A. Bell dan T. G. Lilburn. 2004. Taxonomy Outline Of The Prokaryotes Bergey's Manual Of systematic Bacteriology . Second Edition. Michigan State University. New York. 401 hlm.
- Gerige, S. J., M. K. Y. Gerige., M. Rao dan Ramanjaneyulu. 2009. GC-MS Analysis Of *N. sativa* Seeds And Antimicrobial Activity Of Its Volatile Oil. *Braz. Arch. Biol. Technol.* **52** (5): 1189-1192.
- Grandiosa, R. 2010. Efektivitas Penggunaan Larutan Filtrat Jintan Hitam (*N. sativa*) Dengan Konsentrasi Berbeda Terhadap Pertumbuhan Bakteri *A. hydrophila* Secara In-Vitro Dan Uji Toksisitasnya Terhadap Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Laporan Penelitian Mandiri*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjajaran. Jatinangor. 17 hlm.
- Hamdi, A. S. dan E. Bahrudin. 2014. Metode Penelitian Kuantitatif Aplikasi Dalam Pendidikan. Deepublish. Yogyakarta. 171 hlm.
- Jamil, A. S. 2010. Pemanfaatan Biji *N. sativa* Dalam Terapi Penyembuhan Kanker dan Gangguan metabolisme. *Jurnal Farmasains.* **1** (1): 97-101.
- \_\_\_\_\_, B. Adi., B. Prasaja., A. Ariani dan Z. Hardi. 2014. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Biji *N. sativa* Terhadap Viabilitas Bakteri Probiotik Secara *In Vitro* dan *In Vivo*. *Pharmacy.* **11** (2): 214-228.
- Jawetz, E., J. L. Melnick., E. A. Adelberg. 1982. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. Terjemahan Oleh G. Bonang. 1986. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 846 hlm.
- Junaedi, E., S. Yulianti., S. Suty dan E. S. Kuncari. 2011. Kedahsyatan Habbatussauda Mengobati Berbagai Penyakit. Agromedia Pustaka. Jakarta. 82 hlm.

- Kee, J. L. dan E. R. Hayes. 1996. *Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan*. EGC. Jakarta. 802 hlm.
- Kordi, K.M.G.H. 2012. *Jurus Jitu Pengelolaan Tambak Untuk Budidaya Perikanan Ekonomis*. Lily Publisher. Yogyakarta. 396 hlm.
- Kumala, S. dan D. Indriani. 2008. Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Eugenia aromatic L.*). *Jurnal Farmasi Indonesia*. **4** (2): 82-87.
- Kusmiyati dan N. W. S. Agustin. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri Dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Biodiversitas*. **8** (1): 48-53.
- Mania, S. 2008. Observasi Sebagai Alat Evaluasi Dalam Dunia Pendidikan Dan Pengajaran. *Lentera Pendidikan*. **11** (2): 220-233.
- Manik, D. F., T. Hertiani dan H. Anshory. 2014. Analisis Korelasi Antara Kadar Flavonoid Dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi-fraksi Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap *S.aureus*. *Khazanah*. **6** (2): 1-11.
- Manuaba, I. B. G. 2003. *Penuntun Kepaniteraan Klinik Obstetri dan Genokologi*. EGC. Jakarta. 443 hlm.
- Mashhadian, N. V. dan H. Rakhshandeh. 2005. Antibacterial And Antifungal Effects Of *Nigella sativa* Extracts Against *S. aureus*, *P. aureginosa*, And *C. albicans*. *Pak J Med Sci*. **21** (1): 47-52.
- Muchlis, A. R. F. 2013. Skrining Bakteri Simbion Spons Asal Perairan Pulau Polewali dan Pulau Sarappolompo Sebagai Penghasil Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen Pada Manusia dan Ikan. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Makassar. 69 hlm.
- Murtidjo, B. A. 1997. *Budidaya Kakap Dalam Tambak dan Keramba*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 123 hlm.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Rineka Cipta. Jakarta. 243 hlm.
- Nuryati, S., M. A. Suparman dan Y. Hadiroseyani. 2008. Penggunaan Ekstrak Daun Paci-Paci *Leucas Sp.* Untuk Pencegahan Penyakit Mikotik Pada Ikan Gurame *Osphronemus gouramy Lac.* *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **7** (2): 205-212.
- Pelczar, M. J. dan E.C.S Chan. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. UI Press. Jakarta. 443 hlm.
- Permata, M. K. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*N. sativa*) Terhadap Perubahan Histopatologik Hepar Mencit Balb/C Yang Diinfeksi *S. typhimurium*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang. 28 hlm.
- Prajitno, A. 2007. *Penyakit Ikan – Udang: Bakteri*. UM Press. Malang. 115 hlm.

- Pratiwi, S.T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Penerbit Erlangga. Jakarta. 256 hlm.
- Purnomowati, R., A. Garbono dan F. Nugroho. 2011. Monitoring Sebaran Jasad Patogen Sebagai Upaya Pengendalian Penyakit Pada Budidaya Ikan Laut. *Buletin Budidaya Laut*. **30**: 9-17.
- Rahman, M. A. 2013. Uji Efektivitas Ekstrak Jintan Hitam (*N. sativa*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes*. *Skripsi*. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta. 49 hlm.
- Rahmawati, A., N. Al-Anwary dan R. Sasongkowati. 2012. Pengaruh Pemberian Infusa Jintan Hitam (*N. sativa* Linn) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Analisa Kesehatan*. **1** (1): 16-20.
- Rajab, W. 2008. Buku Ajar Epidemiologi Untuk Mahasiswa Kebidanan. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 163 hlm.
- Rajsekhar, S. dan B. Kuldeep. 2011. Pharmacognosy and Pharmacology Of *N. sativa*. *International Research Journal Of Pharmacy*. **2** (11): 36-39.
- Sabir, A. 2005. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona* sp Terhadap bakteri *S. mutans* (*In Vitro*). *Maj. Ked. Gigi*. **39** (3): 135-141.
- Salman, M. T., R. A. Khan dan I. Shukla. 2008. Antimicrobial Activity Of *N. sativa* Linn. Seed Oil Against Multi-drug Resistant Bacteria From Clinical Isolates. *Natural Product Radiance*. **7** (1): 10-14.
- Saptiani, G., S. B. Prayitno dan S. Anggoro. 2013. Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Terhadap *V. harveyi* Secara *In Vitro*. *Jurnal Kedokteran Hewan*. **7** (1): 17-20.
- Sarida, M., Tarsim dan I. Faizal. 2010. Pengaruh Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *V. harveyi* Secara *In vitro*. *Jurnal Penelitian Sains*. **13** (3): 59-63.
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Kanisius. Yogyakarta. 242 hlm.
- Sriyono, R. A. N. dan I. Andriani. 2013. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) Terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *IDJ*. **2** (2): 76-82.
- Sugianti, B. 2005. Pemanfaatan Tumbuhan Obat Tradisional Dalam Pengendalian Penyakit Ikan. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor. 37 hlm.
- Sugiyono. 2010. Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif Dan R & D. Penerbit Alfabeta. Bandung. 334 hlm.
- Supriyadi, H. 2002. Mewaspada dan Menanggulangi Penyakit Pada Lou Han. Agromedia Pustaka. Jakarta. 24 hlm.

Suriawiria, U. 2005. Mikrobiologi Dasar. Papas Sinar Sinanti. Jakarta. 172 hlm.

Yanti, A. R. 2010. Uji Efek Imunostimulasi Ekstrak Air Biji Jinten Hitam (*N. sativa* L.) Pada Mencit Putih (*Mus musculus* L.) Secara Bersihan Karbon. *Farmasains*. **1** (2): 76-79.

Yulianti, S. dan E. Junaedi. 2006. Sembuhkan Penyakit Dengan Habbatussauda (Jinten Hitam). Agromedia Pustaka. Jakarta. 56 hlm.



## LAMPIRAN

### Lampiran 1 Alat-alat yang Digunakan Selama Penelitian



Tabung Reaksi



Rak Tabung Reaksi



Erlenmeyer



Pinset



Gelas Ukur



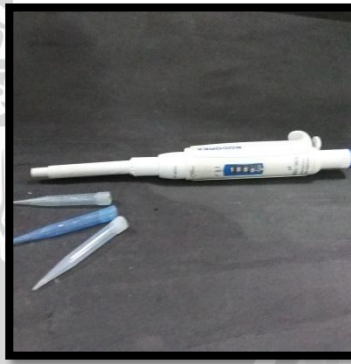
Beaker Glass



Inkubator



Jarum Osse



Mikropipet dan Blue Tip



Autoclave



Lemari Pendingin



Timbangan Digital

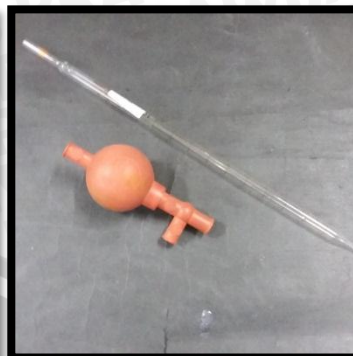
# Lampiran 1 (Lanjutan)



Oven



Timbangan Analitik



Pipet Volume dan Bola Hisap



Laminary Air Flow



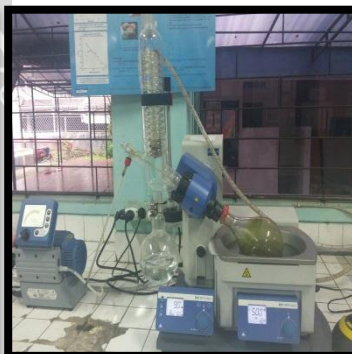
Bunsen dan Korek Api



Sprayer



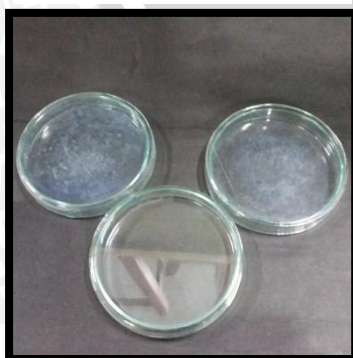
Spatula



Rotary Vacum Evaporator



Nampan



Cawan Petri



Vortex



Hot Plate

# Lampiran 1 (Lanjutan)



Gunting dan Pisau



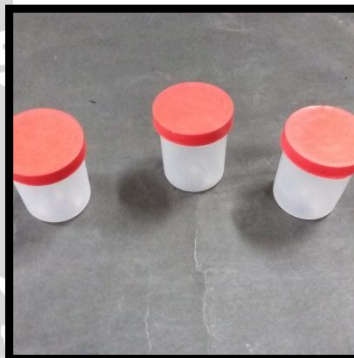
Toples



Corong



Destruksi



Botol Film



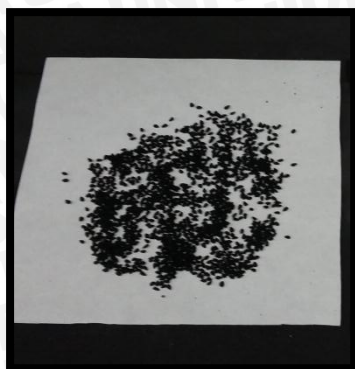
Jangka Sorong



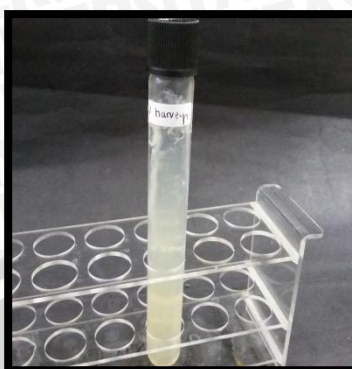
Triangle



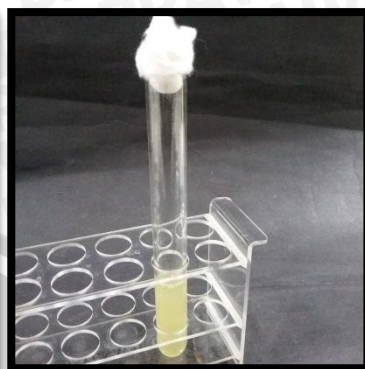
## Lampiran 2 Bahan-bahan yang Digunakan Selama Penelitian



Jintan Hitam (*N. sativa*)



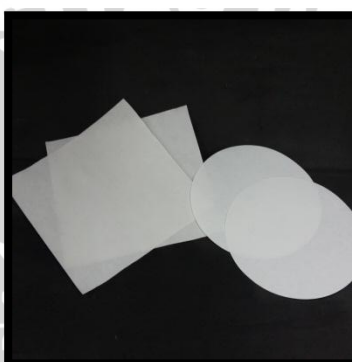
Isolat Murni *V. harveyi*



TSB *V. harveyi*



Tissue



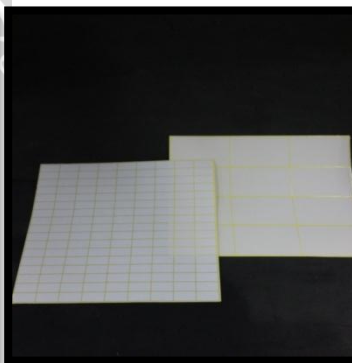
Kertas Saring



Tali



Alumunium Foil



Kertas Label



Kertas Cakram



Kapas



Plastik Bening



DMSO 10%

## Lampiran 2 (Lanjutan)



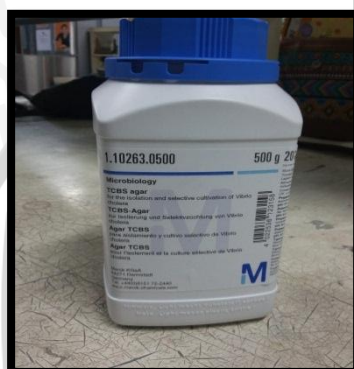
Alkohol 70% dan Etanol 96%



Aquades



NaCl, KCl, MgSO<sub>4</sub>



Media TCBSA



Media TSB



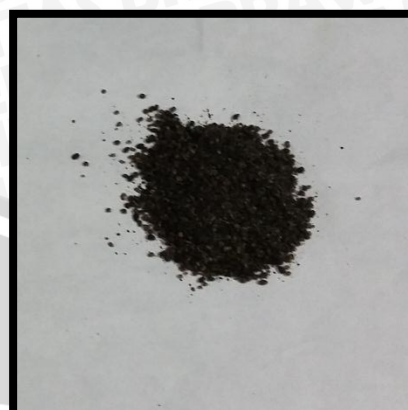
Media TSA



### Lampiran 3 Prosedur Ekstraksi Jintan Hitam (*N. sativa*)



Disiapkan biji jintan hitam (*N. sativa*)



Dihaluskan hingga menjadi bubuk



Disaring hasil maserasi



Direndam menggunakan etanol 96% selama 1 x 24 jam



Dilakukan evaporasi



Hasil Ekstraksi Jintan Hitam (*N. sativa*)

**Lampiran 4** Pembuatan Ekstrak Dosis Uji

Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak dosis uji yaitu DMSO 10% sebanyak 3 ml, adapun dosis yang digunakan dan perhitungannya adalah sebagai berikut:

## a) Dosis 1000 ppm (sebagai stok)

Pembuatan dosis 1000 ppm adalah dengan mencampur ekstrak sebanyak 10 mg dan DMSO 10% sebanyak 10 ml.

## b) Dosis 10 ppm

$$10 \times 3 \text{ ml} = 1000 \times V$$

$$V = 0,03 \text{ ml}$$

$$\text{DMSO 10\%} = 2,97 \text{ ml}$$

## c) Dosis 20 ppm

$$20 \times 3 \text{ ml} = 1000 \times V$$

$$V = 0,06 \text{ ml}$$

$$\text{DMSO 10\%} = 2,94 \text{ ml}$$

## d) Dosis 30 ppm

$$30 \times 3 \text{ ml} = 1000 \times V$$

$$V = 0,09 \text{ ml}$$

$$\text{DMSO 10\%} = 2,91 \text{ ml}$$

## e) Dosis 40 ppm

$$40 \times 3 \text{ ml} = 1000 \times V$$

$$V = 0,12 \text{ ml}$$

$$\text{DMSO 10\%} = 2,88 \text{ ml}$$

## f) Dosis 50 ppm

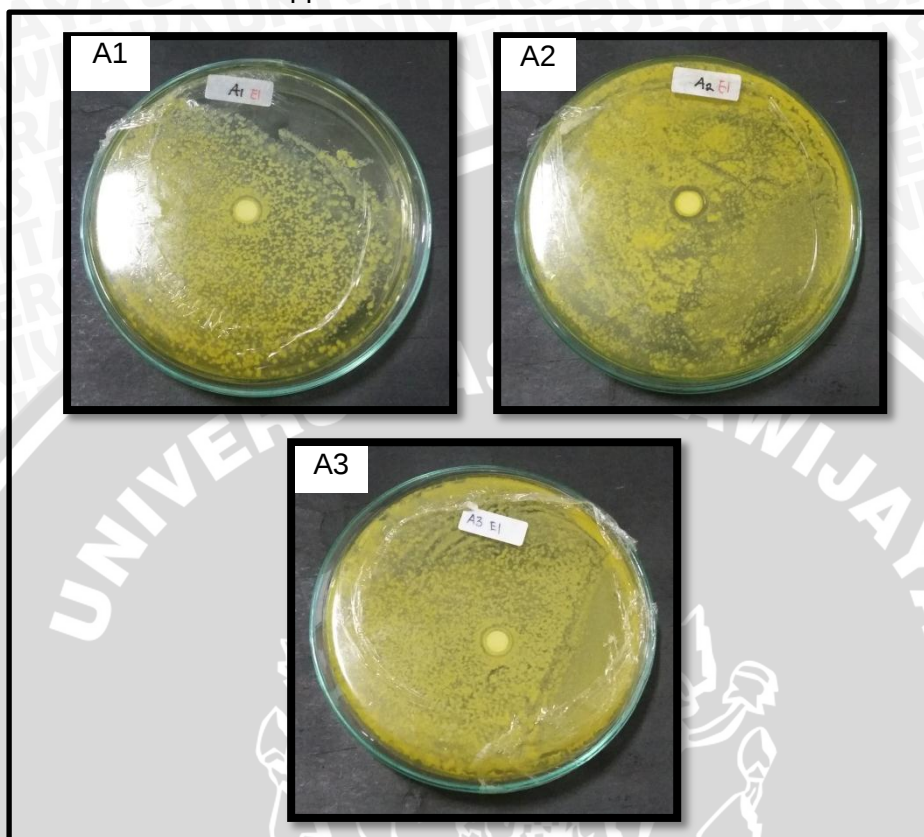
$$50 \times 3 \text{ ml} = 1000 \times V$$

$$V = 0,15 \text{ ml}$$

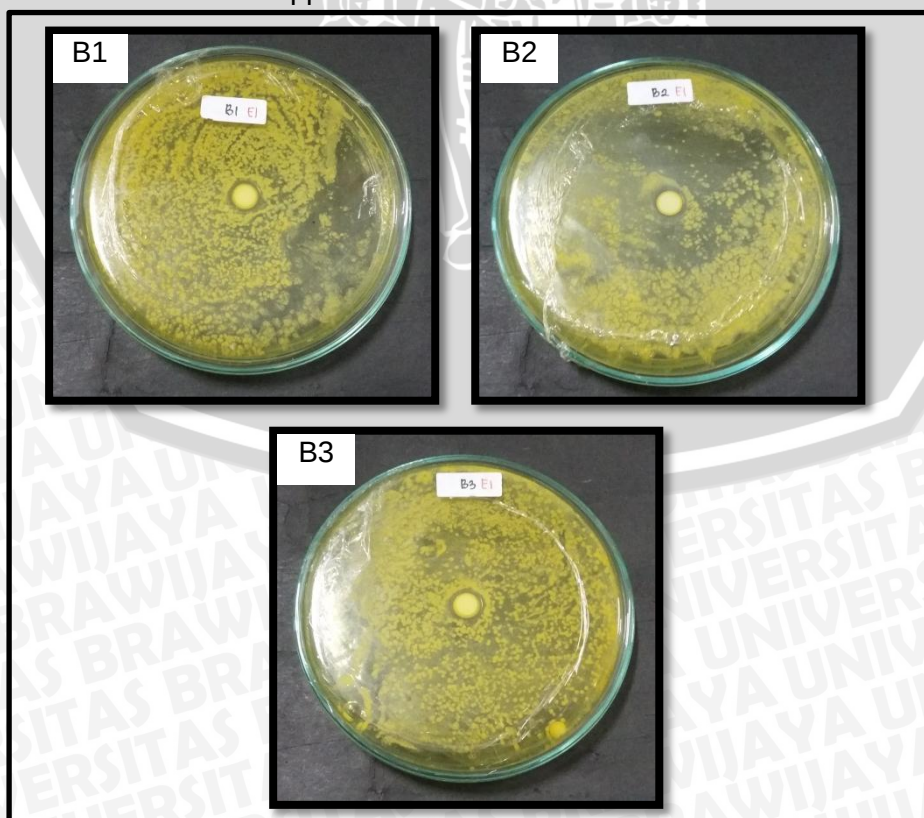
$$\text{DMSO 10\%} = 2,85 \text{ ml}$$

**Lampiran 5** Hasil Uji Cakram Ekstrak Kasar Jintan Hitam (*N. sativa*) Terhadap Daya Hambat Bakteri *V. harveyi*

1) Perlakuan A: Dosis 10 ppm

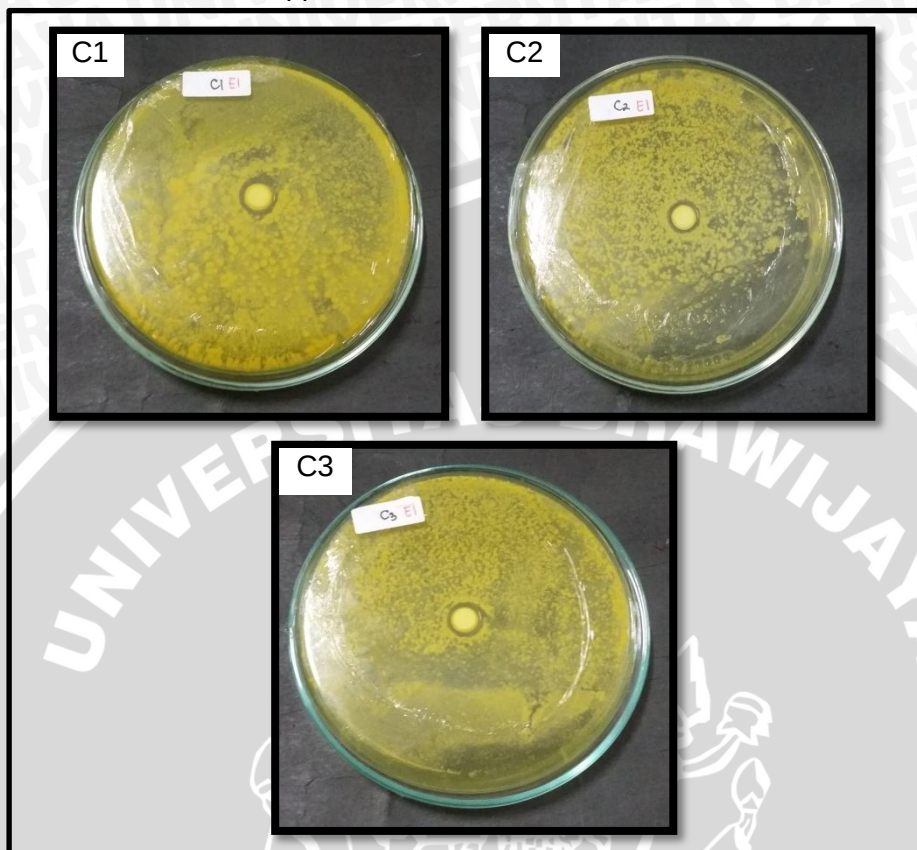


2) Perlakuan B: Dosis 20 ppm

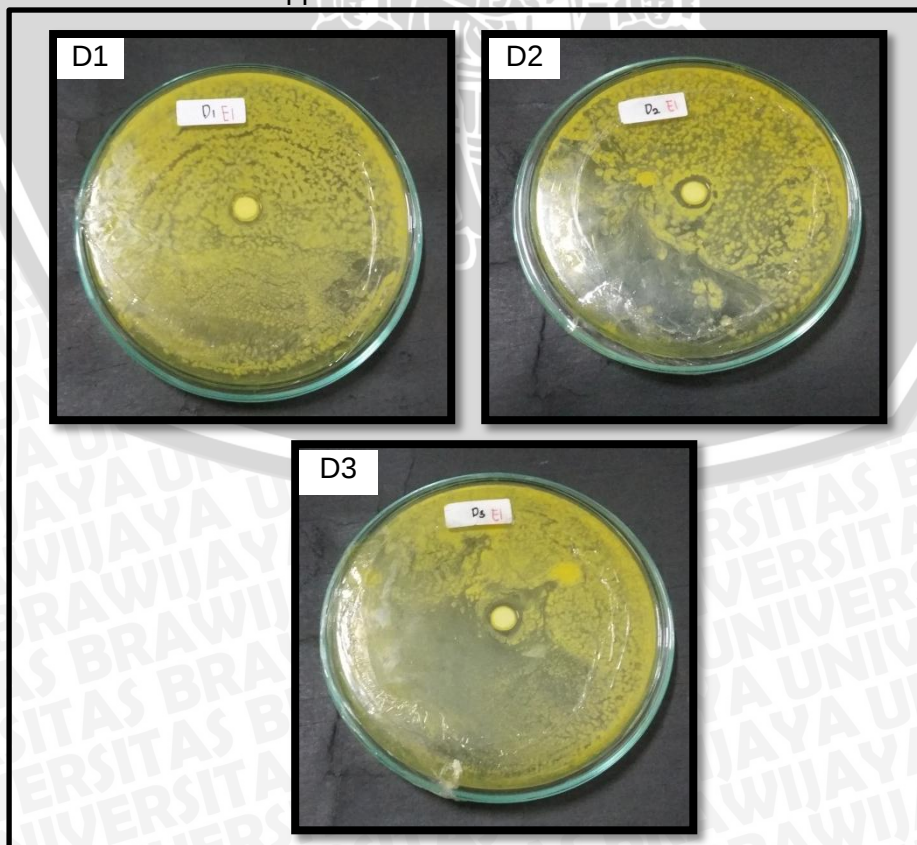


## Lampiran 5 (Lanjutan)

### 3) Perlakuan C: Dosis 30 ppm

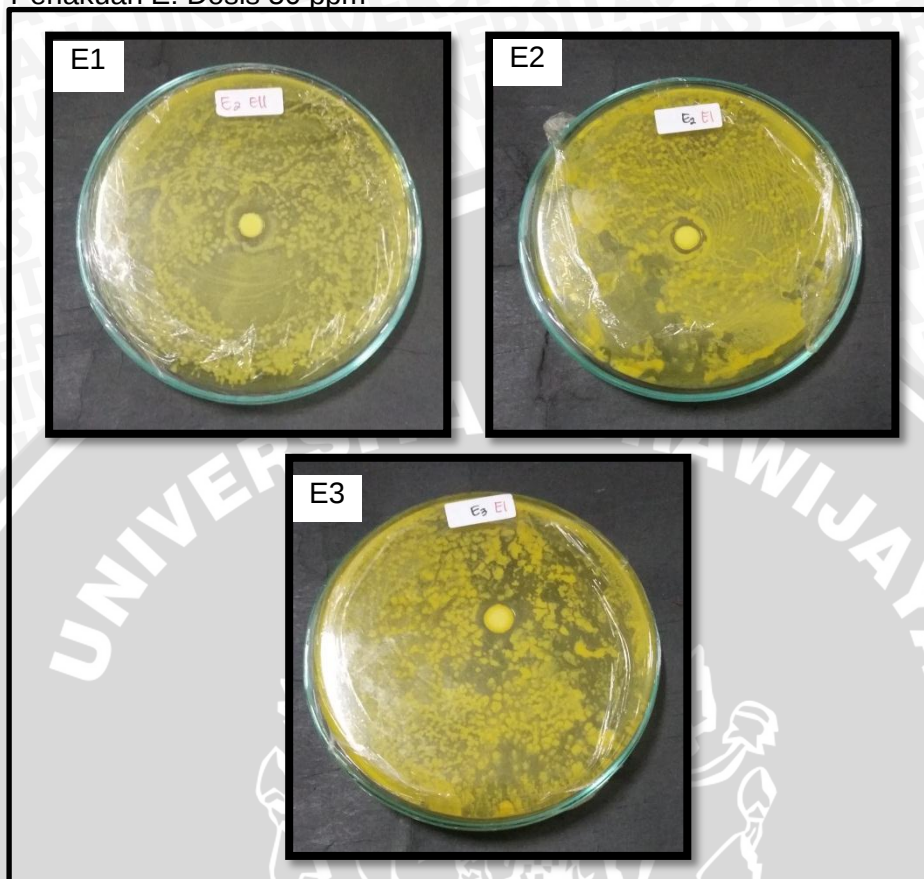


### 4) Perlakuan D: Dosis 40 ppm

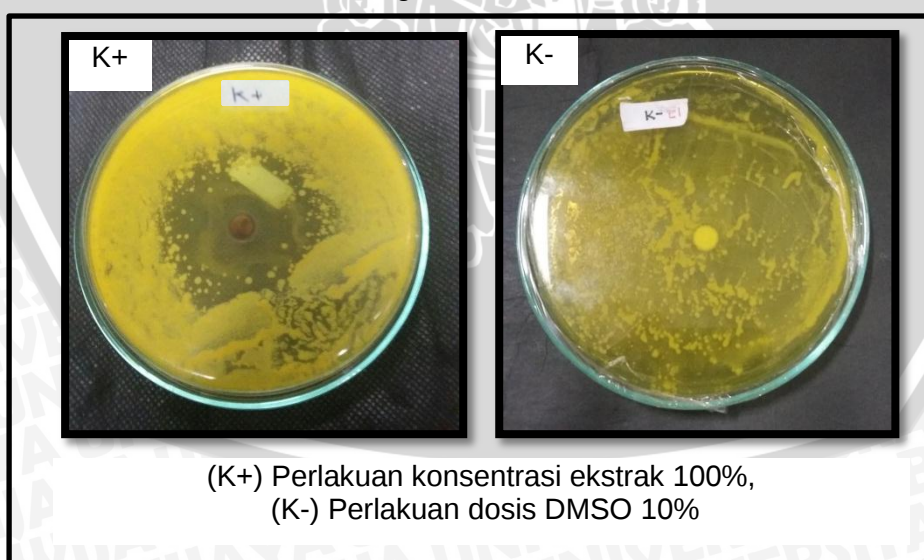


### Lampiran 5 (Lanjutan)

#### 5) Perlakuan E: Dosis 50 ppm



#### 6) Kontrol Positif dan Kontrol Negatif



**Lampiran 6** Analisis Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Jintan Hitam (*N. sativa*) Terhadap Daya Hambat Bakteri *V. harveyi* Secara *In vitro*

- Data rata-rata zona hambat (mm)

| Perlakuan    | Ulangan (mm) |      |      | Total (mm) | Rata-rata (mm) |
|--------------|--------------|------|------|------------|----------------|
|              | 1            | 2    | 3    |            |                |
| A (10 ppm)   | 2,33         | 3,7  | 3,46 | 9,49       | 3,16 ± 0,73    |
| B (20 ppm)   | 3,2          | 3,12 | 3,68 | 10,00      | 3,33 ± 0,30    |
| C (30 ppm)   | 3,56         | 4,01 | 4,12 | 11,69      | 3,90 ± 0,30    |
| D (40 ppm)   | 4,81         | 4,57 | 4,15 | 13,53      | 4,51 ± 0,33    |
| E (50 ppm)   | 5,96         | 4,94 | 5,53 | 16,43      | 5,48 ± 0,51    |
| <b>Total</b> |              |      |      | 61,14      |                |

Perhitungan:

1. Perhitungan JK

|                     |        |
|---------------------|--------|
| <b>FK</b>           | 249,21 |
| <b>JK TOTAL</b>     | 12,88  |
| <b>JK PERLAKUAN</b> | 10,70  |
| <b>JK ACAK</b>      | 2,18   |

Perhitungan:

- a. Faktor Koreksi (FK)

$$= \frac{G^2}{N}$$

$$= \frac{61,14^2}{15}$$

$$= 249,21$$

- b. Jumlah Kuadrat (JK total) =  $\sum x_{ij}^2 - FK$

$$= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK$$

$$= (2,33^2 + 3,7^2 + 3,46^2 + \dots + 5,53^2) - 249,21$$

$$= 12,88$$

- c. JK Perlakuan

$$= \frac{\sum (\sum x_i)^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - FK$$

$$= \frac{9,49^2 + 10,00^2 + 11,69^2 + 13,53^2 + 16,43^2}{3} - 249,21$$

$$= 10,70$$

- d. JK galat

$$= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$$

$$= 12,88 - 10,70 = 2,18$$

### Lampiran 6 (Lanjutan)

e. db Total  $= (n \times r) - 1$   
 $= (5 \times 3) - 1$   
 $= 14$

f. db Perlakuan  $= n - 1$   
 $= 5 - 1$   
 $= 4$

g. db Galat  $= \text{db Total} - \text{db Perlakuan}$   
 $= 14 - 4$   
 $= 10$

#### • Tabel Analisa Keragaman

| Sumber Keragaman | Db | JK    | KT   | F. Hit  | F 5% | F 1% |
|------------------|----|-------|------|---------|------|------|
| Perlakuan        | 4  | 10,70 | 2,68 | 12,28** | 3,48 | 5,99 |
| Acak             | 10 | 2,18  | 0,22 |         |      |      |
| Total            | 14 |       |      |         |      |      |

Keterangan : (\*\*) berbeda sangat nyata

Karena F hitung lebih besar dari F tabel maka diperoleh hasil berbeda sangat nyata, sehingga dilanjutkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT acak}}{\text{ulangan}(r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,22}{3}} = 0,38$$

$$\text{BNT } 5\% = t_{(0,05;\text{dbG})} \text{SED} = 2,228 \times 0,38 = 0,85$$

$$\text{BNT } 1\% = t_{(0,01;\text{dbG})} \text{SED} = 3,169 \times 0,38 = 1,21$$

#### • Tabel Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

| Perlakuan | Rerata | A                  | B                  | C                  | D     | E    | Notasi |
|-----------|--------|--------------------|--------------------|--------------------|-------|------|--------|
|           |        | 3,16               | 3,33               | 3,90               | 4,51  | 5,48 |        |
| A         | 3,16   | —                  |                    |                    |       |      | a      |
| B         | 3,33   | 0,17 <sup>ns</sup> | —                  |                    |       |      | a      |
| C         | 3,90   | 0,73 <sup>ns</sup> | 0,56 <sup>ns</sup> | —                  |       |      | a      |
| D         | 4,51   | 1,35**             | 1,18*              | 0,61 <sup>ns</sup> | —     |      | a      |
| E         | 5,48   | 2,31**             | 2,14**             | 1,58**             | 0,97* | —    | b      |

### Lampiran 6 (Lanjutan)

Keterangan:

- ns : Tidak berpengaruh nyata  
 \* : Berpengaruh nyata  
 \*\* : Berpengaruh sangat nyata

Urutan perlakuan terbaik dari uji BNT adalah E – D/C/B/A, selanjutnya dilakukan

uji *polynomial orthogonal*

- Tabel Uji *Polynomial orthogonal*

| Perlakuan                 | Total | Perbandingan (Ci) |           |       |         |
|---------------------------|-------|-------------------|-----------|-------|---------|
|                           |       | Linier            | Kuadratik | Kubik | Kuartik |
| A (10 ppm)                | 9,49  | -2                | 2         | -1    | 1       |
| B (20 ppm)                | 10    | -1                | -1        | 2     | -4      |
| C (30 ppm)                | 11,69 | 0                 | -2        | 0     | 6       |
| D (40 ppm)                | 13,53 | 1                 | -1        | -2    | -4      |
| E (50 ppm)                | 16,43 | 2                 | 2         | 1     | 1       |
| Q= $\sum Ci \cdot Ti$     |       | 17,41             | 4,93      | -0,12 | 1,94    |
| Hasil Kuadrat             |       | 10                | 14        | 10    | 70      |
| Kr= $(\sum Ci^2) \cdot r$ |       | 30                | 42        | 30    | 210     |
| JK= $Q^2 / Kr$            |       | 10,10             | 0,58      | 0,000 | 0,0179  |

$$JK \text{ Regresi} = 10,10 + 0,58 + 0,00 + 0,0179 = 10,70069$$

- Tabel Sidik Ragam Regresi

| Sumber Keragaman | Db | JK     | KT     | F. Hitung           | F 5% | F 1% |
|------------------|----|--------|--------|---------------------|------|------|
| Perlakuan        | 4  | 10,70  |        |                     | 3,48 | 5,99 |
| Linier           | 1  | 10,10  | 10,10  | 46,40**             |      |      |
| Kuadratik        | 1  | 0,58   | 0,58   | 2,66 <sup>ns</sup>  |      |      |
| Kubik            | 1  | 0,000  | 0,000  | 0,00 <sup>ns</sup>  |      |      |
| Kuartik          | 1  | 0,0179 | 0,0179 | 0,082 <sup>ns</sup> |      |      |
| Acak             | 10 | 2,18   | 0,22   |                     |      |      |
| Total            | 14 |        |        |                     |      |      |

Lampiran 6 (Lanjutan)

Dari hasil sidik ragam terlihat bahwa regresi linier berbeda sangat nyata, berarti regresi yang sesuai untuk kurva respon ini adalah regresi linier.

Mencari persamaan linier  $y = b_0 + b_1x$

| x          | Y     | xy     | x <sup>2</sup> |
|------------|-------|--------|----------------|
| 10         | 2,33  | 23,3   | 100            |
| 10         | 3,7   | 37     | 100            |
| 10         | 3,46  | 34,6   | 100            |
| 20         | 3,2   | 64     | 400            |
| 20         | 3,12  | 62,4   | 400            |
| 20         | 3,68  | 73,6   | 400            |
| 30         | 3,56  | 106,8  | 900            |
| 30         | 4,01  | 120,3  | 900            |
| 30         | 4,12  | 123,6  | 900            |
| 40         | 4,81  | 192,4  | 1600           |
| 40         | 4,57  | 182,8  | 1600           |
| 40         | 4,15  | 166    | 1600           |
| 50         | 5,96  | 298    | 2500           |
| 50         | 4,94  | 247    | 2500           |
| 50         | 5,53  | 276,5  | 2500           |
| Σx = 450   | 61,14 | 2008,3 | 16500          |
| Rerata= 30 | 4,076 |        |                |

$$\begin{aligned}
 B_1 &= \frac{\sum xy - (\sum x \cdot \sum y)/n}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} \\
 &= \frac{2008,3 - (450 \cdot 61,14)/15}{16500 - \frac{(450)^2}{15}} \\
 &= \frac{2008,3 - 1834,2}{16500 - 13500} \\
 &= \frac{174,1}{3000} \\
 &= 0,058
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 B_0 &= \bar{y} - b_1 \bar{x} \\
 &= 4,076 - (0,058 \cdot 30) \\
 &= 4,076 - 1,74 = 2,336
 \end{aligned}$$

Persamaan linier :  $y = b_0 + b_1x \rightarrow y = 2,335 + 0,058x$

### Lampiran 6 (Lanjutan)

$$R^2 = \frac{JK \text{ regresi}}{JK \text{ total terkorelasi}}$$

$$= \frac{JK \text{ regresi}}{JK \text{ regresi} + JK \text{ acak}}$$

$$= \frac{10,70069}{10,70069 + 2,18}$$

$$= \frac{10,70069}{12,88069}$$

$$= 0,830$$

$$r = \sqrt{R^2}$$

$$= \sqrt{0,830}$$

$$= 0,9$$

- Grafik Hubungan Zona Hambat Antar Perlakuan Ekstrak Kasar Jintan Hitam (*N. sativa*) Terhadap Bakteri *V. harveyi*

