

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN SEMBUNG
(*Blumea balsamifera* (L.) DC.) TERHADAP JUMLAH BAKTERI PADA
INSANG IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI
*Aeromonas hydrophila***

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

Oleh:
**RAHMAN BANGUN SUPRAYOGI
NIM. 125080500111101**



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

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN SEMBUNG
(*Blumea balsamifera* (L.) DC.) TERHADAP JUMLAH BAKTERI PADA
INSANG IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI
*Aeromonas hydrophila***

**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:
RAHMAN BANGUN SUPRAYOGI
NIM. 125080500111101



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN SEMBUNG
(*Blumea balsamifera* (L.) DC.) TERHADAP JUMLAH BAKTERI PADA
INSANG IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI
*Aeromonas hydrophila***

Oleh:

**RAHMAN BANGUN SUPRAYOGI
NIM. 125080500111101**

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 7 Juni 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

**Menyetujui,
Dosen Penguji I**

**Dr. Ir. Maftuch, M.Si
NIP. 19660825 199203 1 001
TANGGAL : 13 JUN 2016**

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing I**

**Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS
NIP. 19611106 198602 2 001
TANGGAL : 13 JUN 2016**

**Menyetujui,
Dosen Penguji II**

**M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc
NIP. 19860717 201504 1 001
TANGGAL : 13 JUN 2016**

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing II**

**Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc
NIP. 19621014 198701 1 001
TANGGAL : 13 JUN 2016**

**Mengetahui,
Ketua Jurusan
Manajemen Sumberdaya Perairan**



**Dr. Ir. Arming Wuljeng Ekawati, MS
NIP :19620805/198603 2 001
TANGGAL : 13 JUN 2016**



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya 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 penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang,
Mahasiswa, 7 Juni 2016

Rahman Bangun Suprayogi



UCAPAN TERIMA KASIH

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

1. Allah SWT atas segala rahmat, karunia dan ridho-Nya.
2. Ibu Warsini, Bapak Suwiyono dan adek Jaya tercinta atas segala dukungan, motivasi, bimbingan serta do'anya.
3. Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS dan Dr. Ir. Mohamad Fadjar, M.Sc selaku dosen pembimbing yang telah sabar membimbing, memberi motivasi serta bersedia meluangkan waktunya kepada penulis.
4. Dr. Ir. Maftuch, M.Si dan M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran demi tercapainya laporan yang baik.
5. Mbak Titin, selaku laboran Laboratorium Parasit da Penyakit Ikan yang telah membantu jalannya penelitian.
6. Teman satu tim perjuangan El, Kiki, Charis serta Viqi, Ekaak, Sona yang telah memberikan kasih sayang, semangat, motivasi serta dukungan selama penelitian dan penyusunan laporan.
7. Teman-teman Aquasean BP 2012 yang telah ikut serta memberikan semangat dan bantuan dalam penelitian.
8. Seluruh pihak yang telah membantu penulis selama penelitian ini.

Malang, 7 Juni 2016

Penulis

RINGKASAN

RAHMAN BANGUN SUPRAYOGI. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Jumlah Bakteri Pada Insang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS** dan **Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc.**

Ikan Nila (*O. niloticus*) merupakan salah satu ikan yang banyak digemari oleh masyarakat, baik lokal maupun mancanegara. Untuk meningkatkan produksi ikan nila (*O. niloticus*), perlu dilakukan budidaya secara intensif dengan pemberian makanan yang berkualitas dan kualitas air yang terjaga. Namun kendala yang sering terjadi ini salah satunya adalah penyakit *Motile Aeromonad Septicemia* yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penanggulangan penyakit yang sering dilakukan adalah penggunaan antibiotik yang sering menyebabkan terjadinya resistensi bakteri terhadap zat antibiotik. Oleh karena itu digunakan bahan alami yang berfungsi sebagai antibakteri yaitu ekstrak daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap jumlah bakteri pada insang ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *A. hydrophila*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya pada bulan Januari sampai dengan Maret 2015. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dosis ekstrak kasar daun sembung yang digunakan yaitu perlakuan A (500 ppm), B (600 ppm), dan C (700 ppm). Parameter utama yang diamati pada penelitian ini adalah jumlah kepadatan bakteri pada insang ikan nila, serta parameter penunjang dalam penelitian kali ini adalah kelulushidupan ikan nila dan kualitas air meliputi suhu, pH dan DO.

Pemberian ekstrak kasar daun sembung berpengaruh terhadap jumlah kepadatan bakteri pada insang dan kelulushidupan ikan nila yang ditunjukkan dengan hasil perhitungan sidik ragam keduanya yang menunjukkan berbeda sangat nyata. Rata-rata jumlah kepadatan bakteri pada insang untuk perlakuan A (500 ppm) yaitu 94 cfu/ml, perlakuan B (600 ppm) 67 cfu/ml, dan perlakuan C (700 ppm) yaitu 48,67 cfu/ml. Jumlah bakteri terendah terdapat pada dosis paling tinggi (700 ppm). Hasil rata-rata kelulushidupan ikan nila pada perlakuan A (500 ppm) yaitu 53,33%, perlakuan B (600 ppm) yaitu 66,67% dan perlakuan C (700 ppm) yaitu 76,67. Hasil SR tertinggi terdapat pada perlakuan dosis paling tinggi (700 ppm). Hal ini dapat terjadi karena pada daun sembung memiliki kandungan senyawa tannin, saponin dan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri. Hubungan ekstrak kasar daun sembung terhadap jumlah bakteri pada insang dan kelulushidupan ikan nila adalah membentuk pola linear. Persamaan regresi untuk kepadatan bakteri $y = 205,89 - 0,2267x$ dengan nilai R^2 sebesar 0,7814. Persamaan regresi untuk kelulushidupan $y = 11,418 + 0,0715x$ dengan nilai R^2 sebesar 0,7997. Semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan maka kelulushidupan ikan nila semakin meningkat akibat banyak bakteri *Aeromonas hydrophila* yang mati.

Hasil dari pengamatan parameter kualitas air yang terdiri dari suhu, pH, dan DO menunjukkan hasil pada kisaran yang normal sehingga kelulushidupan ikan nila tidak dipengaruhi oleh parameter kualitas air pada media pemeliharaan hewan uji.

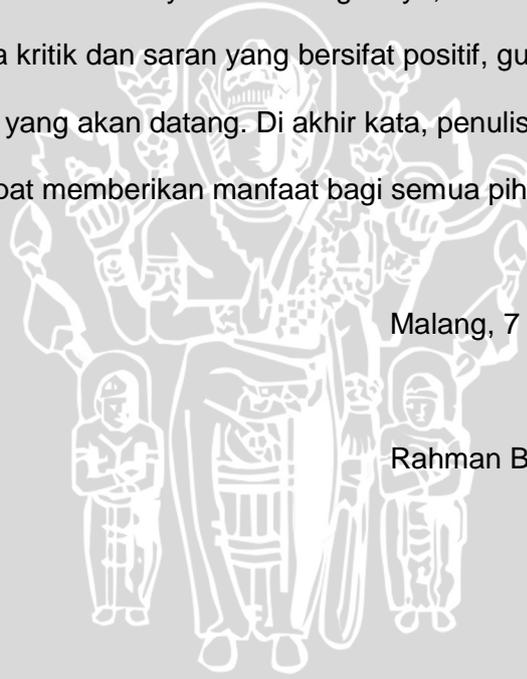
KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya bagi penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan proses penyusunan laporan SKRIPSI dengan baik dan tepat pada waktunya. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan laporan ini tidak lepas dari adanya kerjasama dan bantuan dari berbagai pihak.

Semoga segala bantuan yang telah diberikan kepada penulis menjadi amalan yang akan mendapatkan balasan dari Allah SWT. Kami sadar dalam penulisan laporan ini masih banyak kekurangannya, sehingga kami sangat mengharapkan adanya kritik dan saran yang bersifat positif, guna penulisan yang lebih baik lagi di masa yang akan datang. Di akhir kata, penulis berharap semoga gagasan tertulis ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak.

Malang, 7 Juni 2016

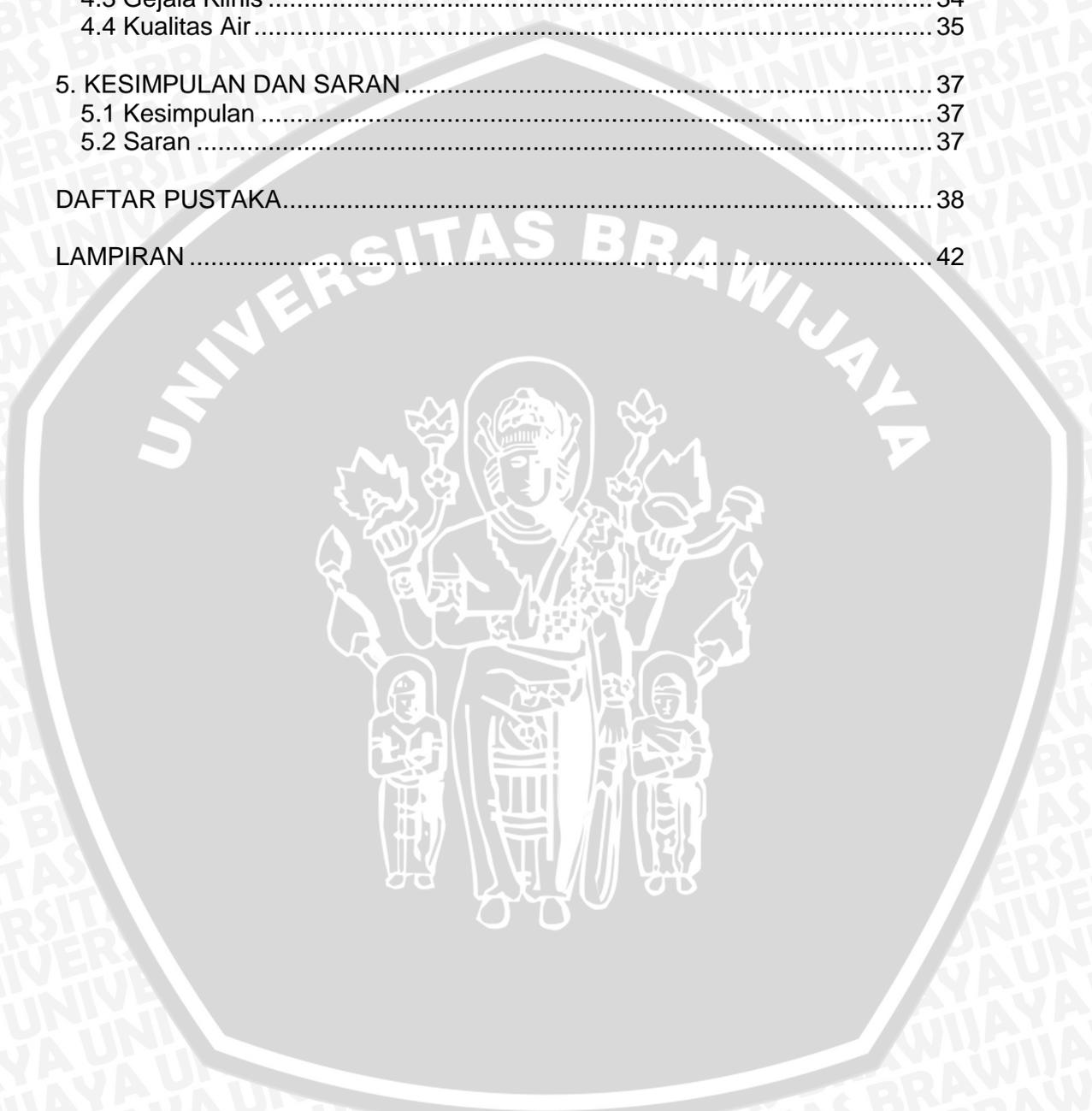
Rahman Bangun Suprayogi



DAFTAR ISI

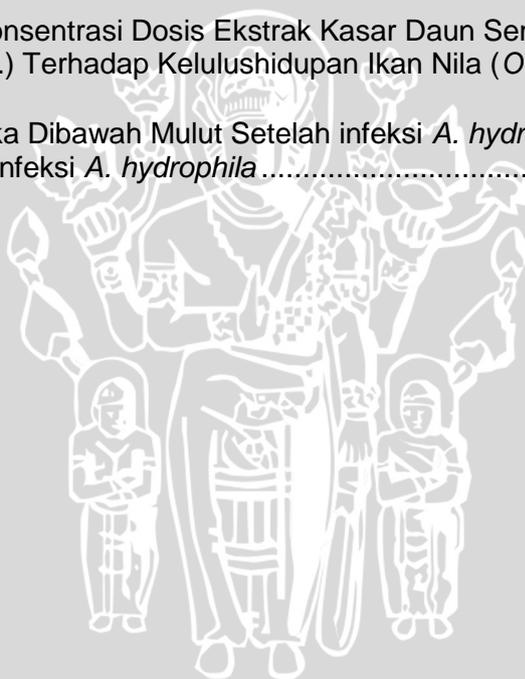
	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Waktu dan Tempat	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Habitat	6
2.1.3 Pakan dan Cara Makan	6
2.2 <i>Aeromonas hydrophila</i>	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	7
2.2.2 Habitat	8
2.2.3 Infeksi Bakteri	9
2.3 Daun Sembung (<i>Blumea balsamifera</i> (L.) DC.)	10
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi	10
2.3.2 Habitat	11
2.3.3 Kandungan Senyawa Aktif dan Manfaat	11
2.4 Ekstraksi	12
2.5 Perhitungan Bakteri	12
3. METODE PENELITIAN	14
3.1 Materi Penelitian	14
3.1.1 Alat-Alat Penelitian	14
3.1.2 Bahan-Bahan Penelitian	15
3.2 Metode Penelitian	15
3.3 Rancangan Penelitian	17
3.4 Prosedur Penelitian	19
3.4.1 Persiapan Penelitian	19
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian	23
3.5 Parameter Uji	26
3.5.1 Parameter Utama	26
3.5.2 Parameter Penunjang	26

3.6 Analisis Data	26
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Jumlah Total Kepadatan Bakteri <i>A. hydrophila</i> pada Insang.....	27
4.2 Kelulushidupan Benih Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) yang Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	30
4.3 Gejala Klinis	34
4.4 Kualitas Air	35
5. KESIMPULAN DAN SARAN	37
5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN	42



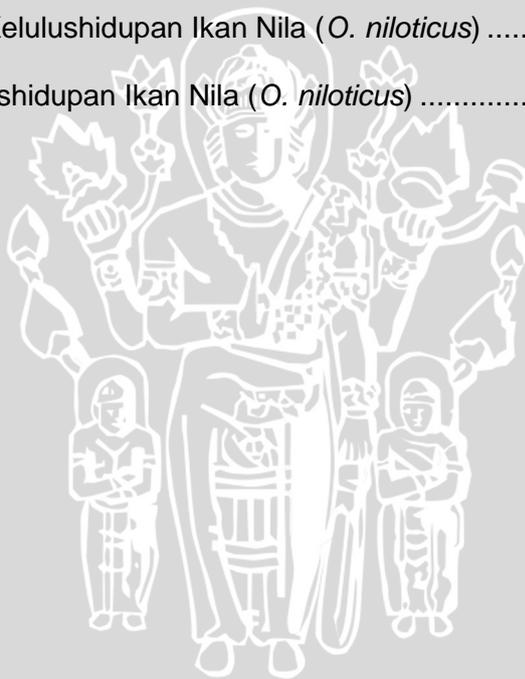
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) (Khairuman dan Amri, 2012).	5
2. Bakteri <i>A. hydrophila</i> (Perbesaran 100x) (Samsundari, 2006).....	8
3. Daun Sembung (<i>B. balsamifera</i> (L.) DC) (badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2008).	10
4. Denah Penelitian	18
5. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak Kasar Daun Sembung Terhadap Jumlah Bakteri pada insang Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	29
6. Grafik Hubungan Konsentrasi Dosis Ekstrak Kasar Daun Sembung (<i>B. balsamifera</i> (L.) DC.) Terhadap Kelulushidupan Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) (%)... 32	
7. Gejala Klinis (A) Luka Dibawah Mulut Setelah infeksi <i>A. hydrophila</i> , (B) Luka Pada Ekor setelah Infeksi <i>A. hydrophila</i>	34



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rancangan Perlakuan	18
2. Larutan Standart Mc Farland	22
3. Rata-Rata Jumlah Kepadatan Bakteri <i>A. hydrophila</i> pada insang (10^6 cfu/ml) selama 6 hari pemeliharaan	27
4. Data Sidik Ragam Perhitungan Kepadatan Bakteri <i>A. hydrophila</i>	27
5. Hasil Uji BNT Perhitungan Jumlah Kepadatan Bakteri pada Insang.....	28
6. Rata-rata Kelulushidupan Ikan Nila (%)	31
7. Data Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	31
8. Hasil uji BNT Kelulushidupan Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	32



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian yang Digunakan	42
2. Bahan Penelitian yang Digunakan	44
3. Proses Ekstraksi Daun Sembung (<i>B. balsamifera</i> (L.) DC.)	45
4. Perhitungan Media	46
5. Hasil Uji Biokimia <i>A. hydrophila</i>	47
6. Pengenceran Bakteri <i>A. hydrophila</i>	48
7. Dokumentasi Penelitian	49
8. Perhitungan Data Hasil Penelitian	50
9. Data Kualitas Air	58



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal memiliki sumber daya perikanan yang cukup besar, diperkirakan sekitar 16% spesies ikan yang ada di dunia hidup diperairan Indonesia. Jumlah jenis ikan yang terdapat di Indonesia mencapai 7.000, hampir 2.000 spesies diantaranya merupakan jenis ikan air tawar, dari 2.000 spesies ikan air tawar yang ada di Indonesia, sedikitnya ada 27 jenis yang dibudidayakan antara lain ikan tersebut memiliki nilai ekonomis penting yang sudah dikenal seperti ikan mas, nilem, patin, lele, gurami dan nila (Khairuman dan Amri, 2008).

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang cukup populer di Indonesia karena mempunyai nilai ekonomis penting dan merupakan komoditas unggulan. Sifat unggul dari ikan tersebut misalnya memiliki laju pertumbuhan yang cepat dan toleran pada kondisi lingkungan yang tinggi (Odara *et al.*, 2015). Ikan nila (*O. niloticus*) merupakan ikan yang memiliki keunggulan yaitu cara membudidayakannya mudah, tahan terhadap penyakit dan memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi (Khairuman dan Amri, 2012).

Ikan nila (*O. niloticus*) merupakan komoditas perairan darat yang banyak digemari oleh masyarakat, baik lokal maupun mancanegara. Untuk meningkatkan produksi ikan nila, budidaya secara intensif perlu dilakukan dengan pemberian makanan yang berkualitas dan kualitas air juga diperhatikan (Putra *et al.*, 2011). Lebih lanjut Cahyono (2000) menyatakan dalam budidaya tidak terlepas dari gangguan hama dan penyakit. Agar usaha budidaya ikan dapat berhasil dengan baik maka usaha pengendalian hama dan penyakit harus diperhatikan dengan sungguh-sungguh.

Menurut Mannopo (1995), penyakit diartikan sebagai suatu proses atau kondisi yang abnormal dari tubuh atau bagian-bagian tubuh ikan yang mempunyai

suatu karakteristik yang membedakannya dengan keadaan normal. Penyakit dapat disebabkan oleh beberapa hal salah satunya seperti padat tebar ikan yang terlalu tinggi. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Afrianto dan Liviawaty (1999), padat tebar ikan yang tinggi menyebabkan intensitas gesekan tubuh antar sesama ikan menjadi lebih sering. Selain dapat menimbulkan luka, gesekan tubuh ini dapat menjadi media penyebaran organisme penyakit. Daya tahan tubuh ikan yang mengalami luka akan menurun sehingga mudah terserang penyakit.

Salah satu penyakit bakterial yang sering menyerang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Kamiso dan Triyanto (1993), menyatakan *A. hydrophila* adalah jenis bakteri yang bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit sistemik serta mengakibatkan kematian secara massal. Yogananth *et al.* (2009) menyatakan bahwa *A. hydrophila* adalah mikroorganisme akuatik yang berada di perairan laut maupun perairan tawar, dalam kondisi stres bakteri tersebut menjadi patogen dan bersifat patogen oportunistik pada penyakit *Hemoragi septicemia* (penyakit bercak merah) pada ikan. Irianto (2005), menyatakan bahwa *A. hydrophila* dapat menyebabkan penyakit *Motile Aeromonad Septicemia* (MAS) yang memiliki tanda-tanda berupa ikan dengan perut busung, peradangan di sekitar luka, pendarahan pada tubuh ikan, insang membusuk, timbul borok, lemas dan mata menonjol (*exophthamia*). Lukistyowati dan Kurniasih (2012), menyatakan bahwa bakteri *A. hydrophila* sangat mempengaruhi usaha budidaya ikan air tawar dan seringkali menimbulkan wabah penyakit dengan tingkat kematian yang tinggi (80-100 %) dalam kurun waktu yang singkat (1-2 minggu). Yin *et al.* (2010), juga menambahkan bahwa infeksi bakteri *A. hidrophila* dapat menyebabkan kematian hingga 80%.

Penanggulangan penyakit pada sistem budidaya umumnya menggunakan antibiotik. Akan tetapi, penggunaan antibiotik sekarang sering menyebabkan terjadinya resistensi bakteri terhadap zat antibiotik, untuk itu perlu dilakukan

penelitian tentang antibiotik alami (pengobatan secara tradisional) dengan menggunakan ramuan tumbuhan. Penggunaan obat-obatan yang berasal dari alam dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan dan tidak menimbulkan efek resisten terhadap bakteri (Rumihat, 2015).

Tanaman obat yang dapat digunakan adalah daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.). Maryani dan Kristiana (2004), menyatakan bahwa daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) merupakan tumbuhan asal Nepal yang hidup di tempat terbuka sampai tempat yang agak terlindung di tepi sungai, tanah pertanian, atau ditanam di pekarangan dan dapat tumbuh pada tanah berpasir atau tanah yang agak basah. Perbanyakannya dapat dilakukan dengan biji. Tumbuhan ini memiliki senyawa aktif seperti saponin, tanin, serta flavonoid yang dimana zat aktif ini mempunyai aktivitas sebagai antibakteri.

Oleh karena itu untuk mengetahui lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak daun sembung (*B. Balsamifera* (L.) DC.) terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophilla* yang diinfeksi pada ikan nila (*O. niloticus*), dilakukan penghitungan jumlah bakteri pada sampel insang ikan yang terinfeksi bakteri.

1.2 Rumusan Masalah

Penggunaan antibiotik dan obat-obatan pada ikan dapat mengakibatkan resistensi bakteri terhadap bahan kimia yang digunakan. Oleh karena itu, diperlukan suatu alternatif pengobatan dengan menggunakan bahan alami yang berasal dari tumbuhan (fitofarmaka). Berdasarkan latar belakang, belum diketahui pengaruh ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap jumlah bakteri *A. hydrophila* pada insang yang diinfeksi pada ikan nila (*O. niloticus*). Perhitungan jumlah bakteri dilakukan pada insang karena insang merupakan tempat sirkulasi pertama oksigen melalui media pemeliharaan dan merupakan organ yang berfungsi sebagai penyaring. Menurut Vatria (2010), terdapat 3 (tiga)

pusat konsentrasi bakteri pada ikan yaitu pada isi perut, insang dan kulit. Berhubungan dengan hal tersebut, maka didapatkan rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu apakah pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) berpengaruh terhadap jumlah bakteri pada insang dan kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *A. hydrophila* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap jumlah bakteri *A. hydrophila* yang diinfeksi pada ikan nila (*O. niloticus*) memiliki tujuan yaitu untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap jumlah bakteri pada insang dan kelulushidupan dari ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *A. hydrophila*.

1.4 Hipotesis

H_0 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) tidak berpengaruh terhadap jumlah bakteri pada insang dan kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *A. hydrophila*.

H_1 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) berpengaruh terhadap jumlah bakteri pada insang dan kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *A. hydrophila*.

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Maret 2015 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan dan Laboratorium Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut (Saain, 1968), klasifikasi ikan nila dapat dijelaskan sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Kelas	: Osteichthyes
Sub kelas	: Acanthoptergii
Bangsa	: Percomorphii
Sub bangsa	: Percoidea
Famil	: Chichlidae
Marga	: <i>Oreochromis</i>
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i>



Gambar 1. Ikan Nila (*O. niloticus*) (Khairuman dan Amri, 2012)

Ikan nila (*O. niloticus*) mempunyai badan pipih dan memanjang, mata tampak menonjol, berukuran agak besar dengan bagian tepi hijau kebiruan. Letak mulut nila (*O. niloticus*) ada di ujung hidung, posisi sirip perut tepat berada dibawah sirip dada (*thorocis*), serta garis rusuk (*line lateralis*) terputus menjadi dua bagian

dan terletak memanjang di atas sirip dada. Sisik pada garis rusuk sebanyak 34 buah bertipe *ctenoid*. Pada sirip punggung terdapat 15-18 jari-jari keras dan 13 jari-jari lunak, sirip perut mempunyai 6 jari-jari keras dan 5 jari-jari lunak, sirip dada terdapat 11-15 jari-jari lunak, sirip dubur atau anus terdapat 3 jari-jari keras dan 10-11 jari-jari lunak. Pada ekor, terdapat 18 jari-jari keras melunak (Kordi, 2013).

2.1.2 Habitat

Habitat atau tempat hidup ikan nila (*O. niloticus*) adalah air tawar, seperti sungai, danau, waduk, dan rawa-rawa. Namun, nila adalah ikan *euryhaline* atau toleran terhadap kisaran salinitas (kadar garam) yang luas, sehingga dapat hidup dengan baik di air payau maupun air laut. Nila dapat hidup di perairan dengan salinitas 0-35 ppt. Nila juga dapat hidup di perairan dengan kisaran pH yang luas, 5-11. Namun pH yang optimal adalah 7-8. Suhu optimal untuk pertumbuhan nila sekitar 25-30°C. Sementara itu nila juga dapat bertahan pada perairan dengan kandungan oksigen kurang dari 3 ppm (Kordi, 2013).

Menurut Suyanto (2010), ikan nila (*O. niloticus*) terkenal sebagai ikan yang sangat tahan terhadap perubahan lingkungan hidup. Ikan nila dapat hidup di lingkungan air tawar, air payau, dan air asin di laut. Kadar garam air yang disukai antara 0-35 ppt. Ikan nila dapat dipindahkan ke air asin dengan proses adaptasi yang bertahap. Ikan nila yang masih kecil lebih tahan terhadap perubahan lingkungan dibandingkan dengan ikan yang sudah besar. Ikan nila dapat tumbuh pada nilai pH 6-8,5, namun optimumnya pH 7-8. Kadar oksigen terlarut 4-7 ppm. Suhu optimum 25-33°C. Pada suhu dibawah 25°C, pertumbuhan menjadi lambat.

2.1.3 Pakan dan Cara Makan

Ikan nila (*O. niloticus*) tergolong ikan pemakan segala (omnivora) sehingga bisa mengonsumsi makanan berupa hewan atau tumbuhan. Ketika masih berbentuk benih, makanan yang disukainya berupa zooplankton. Selain itu, ikan nila juga memakan alga atau lumut yang menempel di bebatuan yang ada di

habitat hidupnya. Saat dibudidayakan, ikan nila juga memakan tanaman air yang tumbuh di kolam. Jika sudah dewasa ikan ini bisa diberi berbagai makanan tambahan seperti pelet (Khairuman dan Amri, 2011).

Menurut Kordi (2013), ikan nila (*O. niloticus*) digolongkan ke hewan omnivora, yaitu ikan pemakan segala, baik hewan maupun tumbuhan. Ikan nila biasanya memakan plankton, perifiton, dan tumbuh-tumbuhan lunak, seperti hydrilla, ganggang sutera, dan klekap. Saat dibudidayakan ikan nila cukup diberi makanan seperti dedak halus, tepung bungkil kacang, dan ampas kelapa, untuk pertumbuhannya. Namun, agar bisa tumbuh lebih baik, ikan nila sebaiknya diberikan pakan buatan berbentuk pellet yang mengandung protein 20-25%. Untuk memacu pertumbuhan ikan nila, sebaiknya diberi pakan yang mengandung protein 25-30%.

2.2 *Aeromonas hydrophila*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

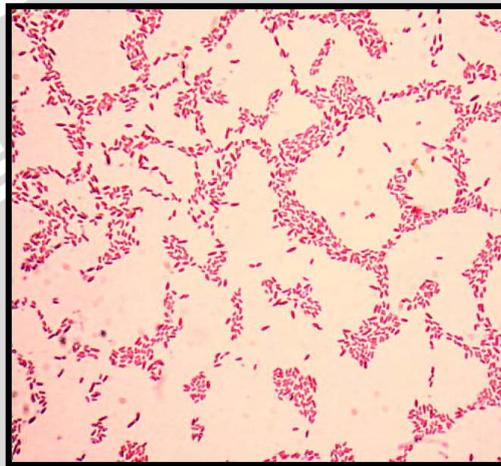
Menurut Martin (2004), klasifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah sebagai berikut:



Domain	: Bacteria
Kingdom	: Proteobacteria
Filum	: Gammaproteobacteria
Kelas	: Aeromonadales
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Spesies	: <i>A. hydrophila</i>

A. hydrophila merupakan bakteri *heterotrofik uniseluler*, tergolong protists prokariot yang dicirikan dengan tidak adanya membran yang memisahkan inti dengan sitoplasma. Bakteri ini biasanya berukuran 0,7-1,8 x 1,0-1,5 μm dan bergerak menggunakan sebuah polar flagel (Kabata, 1985). Hal ini diperkuat oleh Krieg dan Holt (1984), yang menyatakan bahwa *A. hydrophila* bersifat motil dengan

flagela tunggal di salah satu ujungnya. Kabata (1985), menyatakan *A. hydrophila* berbentuk batang sampai dengan kokus dengan ujung membulat, fakultatif anaerob, dan bersifat mesofilik dengan suhu optimum 20-30 °C. Penularan bakteri *A. hydrophila* sangat cepat melalui perantara air, kontak bagian tubuh ikan, atau peralatan budidaya yang tercemar atau terkontaminasi bakteri. Bakteri ini dapat menyebabkan kematian benih sampai 100%.



Gambar 2. Bakteri *A. hydrophila* (Perbesaran 100x) (Samsundari, 2006)

2.2.2 Habitat

A. hydrophila merupakan bakteri yang secara normal ditemukan dalam air tawar. Bakteri ini dapat bertahan dalam lingkungan aerob maupun anaerob dan dapat mencerna material-material seperti gelatin dan hemoglobin. Bakteri ini mampu tumbuh, berkembang biak pada suhu 37°C, dan dapat bertahan pada suhu rendah ± 4 °C dalam waktu 1 bulan (Haryani *et al.*, 2012).

Bakteri *A. hydrophila* mempunyai habitat di daerah estuaria dan air tawar, keberadaannya berhubungan dengan kandungan bahan organik atau sedimen dasar perairan. *A. hydrophila* banyak terdapat di daerah tropis dan subtropis dibandingkan di daerah dingin (Bullock, 1971). Bakteri *A. hydrophila* berperan dalam penguraian bahan organik sehingga sering ditemukan di perairan yang subur. Kandungan oksigen yang rendah, suhu yang tinggi, akumulasi bahan

organik atau sisa metabolisme ikan dan padat tebar ikan yang tinggi sangat menunjang perkembangbiakan bakteri ini (Sutjiati, 2004). Yogananth *et al.* (2009), menambahkan *A. hydrophila* adalah mikroorganisme akuatik yang dapat berada di perairan laut maupun perairan tawar. Bakteri ini dapat hidup di perairan yang bersifat asin maupun tawar.

2.2.3 Infeksi Bakteri

A. hydrophila merupakan bakteri yang mudah sekali menyebar kepada organisme lain dalam lingkungan populasi yang sama, terlebih lagi jika budidaya dilakukan secara intensif. Penyebaran bakteri begitu mudah karena ruang lingkup pemeliharaan yang padat, sehingga membuat intensitas gesekan antara ikan semakin tinggi akibat terlalu padatnya lingkup budidaya. Infeksi oleh bakteri *A. hydrophila* bisa terjadi melalui permukaan tubuh yang luka, saluran pencernaan makanan atau bisa melalui insang, kemudian masuk dalam pembuluh darah dan menyebar pada organ dalam lainnya yang menyebabkan pendarahan yang disertai *haemorrhagic septicaemia* (keracunan darah karena darah keluar dari pembuluh darah melalui pori-pori) (Kabata, 1985).

Pada beberapa kejadian yang terjadi di Indonesia bakteri *A. hydrophila* dapat menyebar secara cepat pada ikan budidaya dengan padat penebaran yang tinggi dan bisa mengakibatkan kematian benih hingga 90% bahkan sampai membunuh semua benih yang ada pada suatu media pemeliharaan sehingga menimbulkan banyak kerugian bagi para petani ikan. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* bersifat "opportunistis" yaitu mampu berkembang menjadi lebih ganas dan berbahaya pada keadaan optimum atau keadaan dengan jumlah bakteri paling tinggi. Penularan penyakit dapat melalui air, kontak badan dengan cara gesekan, kontak dengan peralatan yang tercemar atau dengan pemindahan ikan yang telah terserang *A. hydrophila* dari satu tempat tercemar ke tempat lain yang masih bersih (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

2.3 Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.)

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut badan Padua *et al.* (1999), klasifikasi dari daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) adalah sebagai berikut,

- Divisi : Magnoliophyta
- Class : Magnoliopsida
- Subclass : Asteridae
- Ordo : Asterales
- Family : Asteraceae
- Genus : *Blumea*
- Spesies : *Blumea balsamifera* (L.) DC.



Gambar 3. Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC) (badan POM, 2008)

Daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC) merupakan tanaman perdu yang tumbuh tegak dengan tinggi mencapai 4 meter, berambut halus. Memiliki daun tunggal, bagian bawah bertangkai dan bagian atas merupakan daun duduk, tumbuh berseling, bentuk daun bundar telur sampai lonjong, bagian pangkal dan ujung daun lancip, pertulangan daun menyirip, tepian daun bergerigi, panjang daun 4-40 cm dan lebar 22 cm, terdapat 2-3 daun tambahan pada tangkai daunnya. Permukaan atas daun berambut agak kasar, sedangkan bagian bawah berambut

halus. Tanaman ini memiliki bunga bergerombol pada ujung batang dan berwarna kuning. Buahnya sedikit melengkung dengan panjang 1 mm. Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC) berbunga majemuk berbentuk malai, keluar di ujung tangkai, warnanya kuning. Bagian-bagian dari tanaman ini akan berbau kapur barus apabila diremas. Bagian tanaman yang digunakan sebagai obat herbal adalah daun dan akar (Herliana, 2013).

2.3.2 Habitat

Menurut Herliana (2013), sembung (*B. balsamifera* (L.) DC) merupakan tanaman yang berasal dari Nepal. Tanaman ini hidup di tempat terbuka sampai agak terlindungi ditepi sungai dan lahan pertanian. Dapat tumbuh pada ketinggian sampai 2200 mdpl dengan kondisi tanah berpasir atau tanah yang agak basah. Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC) termasuk dari suku *Asteraceae* biasanya dapat tumbuh ditempat terbuka, terlindung, tepi sungai, tanah pertanian, pekarangan, tanah berpasir dan tanah yang sedikit basah pada ketinggian 2200 meter di atas permukaan laut (Isnawati *et al.*, 2006).

2.3.3 Kandungan Senyawa Aktif dan Manfaat

Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC) bersifat pedas, sedikit pahit, dan hangat. Tanaman ini memiliki senyawa aktif, yaitu 0,5% minyak atsiri yang berupa sineol, borneol, landerol, dan kamper. Daun ini memiliki manfaat memperlancar peredaran darah, sebagai anti peradangan, peluruh dahak (ekspektoran), astrigen, tonikum, mematkan pertumbuhan kuman, dan bersifat analgesik. Saat ini daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC) banyak digunakan sebagai obat penyakit diabetes, rematik, persendian sakit setelah melahirkan, nyeri haid, influenza, demam, bronchitis, perut kembung, diare, dan nyeri dada akibat penyempitan pembuluh darah koroner (Herliana, 2013).

Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) juga mengandung senyawa lain seperti kamper, tanin, saponin, damar, dan ksantoksilin serta flavonoid dimana zat

aktif ini mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Senyawa tanin merupakan suatu zat yang terdapat dalam berbagai tumbuhan salah satunya terdapat pada tanaman sembung. Tanin ini mempunyai sifat mudah larut dalam air, etanol, dan larutan aseton. Tanin akan rusak pada suhu 210°C. Tanin ini mampu menghambat sintesis dinding sel dan sintesis protein sel bakteri (Rumihat, 2015).

2.4 Ekstraksi

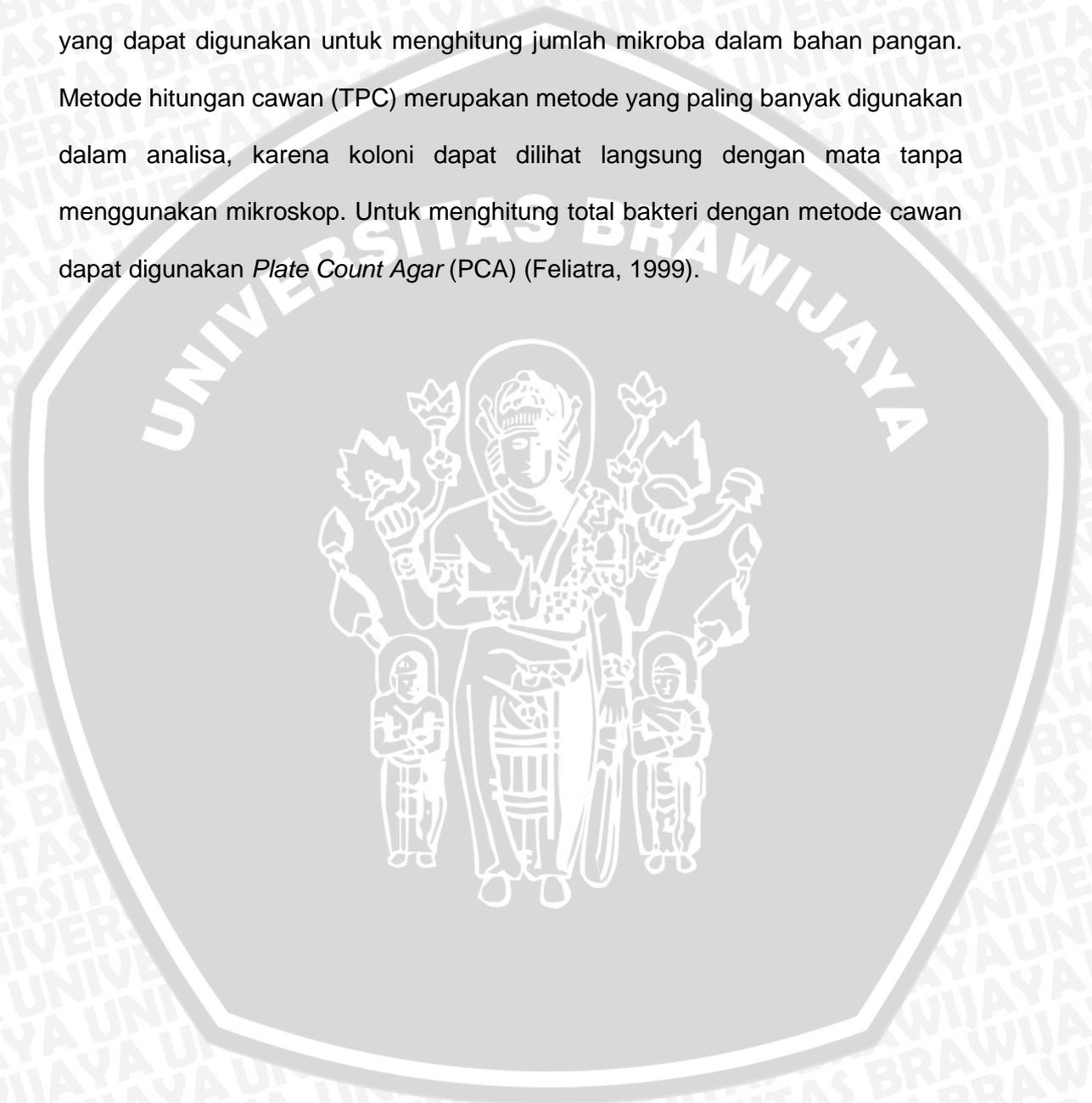
Menurut Senja *et al.* (2014), dalam proses ekstraksi suatu tanaman terdapat beberapa faktor yang perlu diperhatikan karena dapat mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi, diantaranya jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi dan suhu yang digunakan untuk ekstraksi. Hal ini ditambahkan dengan pernyataan menurut Dewi (2010), proses pemisahan senyawa dalam simplisia menggunakan pelarut tertentu sesuai dengan sifat senyawa yang akan dipisahkan. Pemisahan pelarut berdasarkan kaidah '*like dissolved like*' yang berarti suatu senyawa polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar. Metode ekstraksi yang paling sederhana adalah maserasi. Menurut Istiqomah (2013), maserasi adalah proses pengestrakan simplisia menggunakan pelarut yang dilakukan pengocokan atau pengadukan beberapa kali pada temperatur ruangan. Dasar maserasi adalah melarutkan bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi bahan kandungan dari sel yang masih utuh.

2.5 Perhitungan Bakteri

Salah satu metode perhitungan bakteri yang dapat digunakan adalah dengan metode *Total Plate Count*. Metode *Total Plate Count* (TPC) yaitu cara penghitungan jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu produk yang tumbuh pada media agar, pada suhu dan waktu inkubasi yang telah ditetapkan (Badan Standar Nasional, 2009). Prinsip dari metode ini adalah jika jasad renik yang masih

hidup ditumbuhkan pada medium agar, maka sel tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop (Aristianti, 2007).

Total bakteri atau *Total Palte Count* (TPC) merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk menghitung jumlah mikroba dalam bahan pangan. Metode hitungan cawan (TPC) merupakan metode yang paling banyak digunakan dalam analisa, karena koloni dapat dilihat langsung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop. Untuk menghitung total bakteri dengan metode cawan dapat digunakan *Plate Count Agar* (PCA) (Feliatra, 1999).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat-Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk penelitian tentang “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Jumlah Bakteri Pada Insang Ikan Nila (*O. niloticus*) Yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila* antara lain sebagai berikut, untuk gambar lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 1:

- Tabung reaksi
- Jarum ose
- Erlenmeyer 250 ml
- Gelas ukur
- Oven
- Autoclave
- Kulkas
- Mikropipet 100-1000 μ l
- Timbangan digital
- Timbangan analitik
- Inkubator
- Erlenmeyer 500 ml
- Hotplate
- Vortex mixer
- Laminary Air Flow
- Bunsen
- Cawan petri
- Aerator
- Heater
- pH meter
- DO meter
- Spatula
- Sprayer
- Sesor
- Rak Tabung Reaksi
- Mortar dan Alu



3.1.2 Bahan-Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut, untuk gambar lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 2:

- Ikan nila ukuran 8-12 cm dari Desa Banjar Tengah, Sumber Sekar, Batu
- Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC)
- Bakteri *A. hydrophila*
- NA (*Nutrien Agar*)
- NB (*Nutrient Broth*)
- NaCl
- Alumunium foil
- Spirtus
- Plastik wrap
- Sarung tangan
- Masker
- Kertas label
- Alkohol 70%
- Aquades
- Etanol 96%
- Kapas
- Tissue
- Kertas saring
- Benang kasur

3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen. Menurut Sastrosupadi (2007), penelitian eksperimen merupakan penelitian yang dilakukan secara sengaja oleh peneliti, dengan cara memberikan treatment atau perlakuan tertentu

terhadap subjek penelitian guna membangkitkan suatu kejadian/keadaan yang akan diteliti bagaimana akibatnya. Zulnaidi (2007), tujuan penelitian eksperimen adalah mempertajam masalah dan perumusan hipotesa tentang hubungan sebab akibat antara dua variabel atau lebih, dan menguji atau membuktikan hipotesa tersebut.

3.3 Rancangan Penelitian

Menurut Hanafiah (2013), Rancangan Acak Lengkap merupakan rancangan yang paling sederhana dibandingkan rancangan lainnya. Karena dalam rancangan ini tidak terdapat *local control*, sehingga sumber keragaman yang dapat diamati hanya perlakuan dengan galat. Kondisi tersebut hanya dapat dicapai dan dilakukan dalam ruangan terkontrol seperti di laboratorium. Adapun Rancangan Acak Lengkap yang secara umum dinyatakan dalam model matematika sebagai berikut:

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

Keterangan :

- Y_{ij} = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i ke ulangan ke-j
 μ = nilai rerata umum (mean)
 T_i = pengaruh faktor perlakuan ke-i
 ε_{ij} = pengaruh galat

Penelitian ini akan dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.). Pada LD50 didapatkan nilai dosis maksimal sebesar 800 ppm dalam waktu 26 jam sehingga pada penelitian ini digunakan dosis 500 ppm, 600 ppm, dan 700 ppm. Pada penelitian ini digunakan kontrol pembanding yaitu kontrol positif dan kontrol negatif dengan 3 ulangan, kontrol negatif sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri dan ekstrak, sedangkan kontrol positif adalah perlakuan

dengan penginfeksi bakteri tanpa pemberian ekstrak. Berdasarkan perlakuan tersebut diperoleh total sampel sebanyak 15 sampel. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

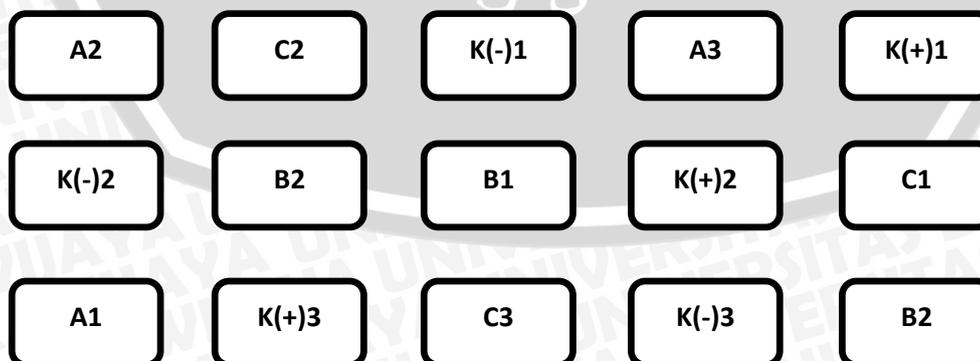
- A : Perlakuan infeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dosis 500 ppm
- B : Perlakuan infeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dosis 600 ppm
- C : Perlakuan infeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dosis 700 ppm
- K(+): Perlakuan sampel infeksi *A. hydrophila* dan tanpa perendaman ekstrak
- K(-): Perlakuan sampel tanpa infeksi *A. hydrophila* dan tanpa perendaman ekstrak

Tabel 1. Rancangan Perlakuan

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A	A ₁	A ₂	A ₃
B	B ₁	B ₂	B ₃
C	C ₁	C ₂	C ₃
K (+)	K (+) ₁	K (+) ₂	K (+) ₃
K (-)	K (-) ₁	K (-) ₂	K (-) ₃

Keterangan:

- A : Pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) 500 ppm
- B : Pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) 600 ppm
- C : Pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) 700 ppm



Gambar 4. Denah Penelitian

Keterangan :

A-B-C : Perlakuan penelitian

K(+) : Kontrol positif

K(-) : Kontrol negatif

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

A. Persiapan Ikan

Ikan yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan nila (*O. niloticus*) yang diperoleh dari petani ikan di daerah Banjar Tengah, Kecamatan Sumber Sekar, Kota Batu. Ikan nila (*O. niloticus*) yang dipilih mempunyai karakteristik sehat dengan ukuran 8-12 cm dan berjumlah sebanyak 300 ekor. Ikan tersebut kemudian diaklimatisasi dalam akuarium selama 7 hari pengamatan. Proses aklimatisasi ini untuk mengetahui keadaan ikan yang digunakan adalah ikan yang benar-benar sehat dan telah beradaptasi dengan lingkungan barunya. Selama aklimatisasi ikan diberi pakan pelet secara *ad libitum* sebanyak 2 kali sehari pada pagi hari pukul 08.00 WIB dan sore hari pukul 16.00 WIB. Selain itu juga dilakukan penyiponan setiap pagi apabila kondisi air pada akuarium telah kotor akibat sisa pakan dan feces. Hal ini dilakukan untuk mencegah timbulnya zat racun. Apabila ikan sampel sudah beradaptasi dengan lingkungan barunya, maka ikan siap untuk digunakan.

B. Pembuatan Ekstrak Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.)

Pembuatan ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dilakukan dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1 : 3. Daun sembung (*B. Balsamifera* (L.) DC.) kering dihaluskan sampai berbentuk serbuk. Ditimbang serbuk 500 gram dimasukkan ke dalam toples dan diberi pelarut etanol 96% sebanyak 1500 ml, kemudian dihomogenkan dengan diaduk menggunakan spatula dan direndam selama 2x24 jam ditempat yang gelap. Proses maserasi ini

didiamkan selama 2 hari pada tempat yang gelap. Menurut Sakee *et al.* (2011), proses maserasi yang paling efektif dilakukan selama 48 jam. Setelah 2 hari hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan larutan dengan endapannya. Setelah terpisah, larutan hasil saringan kemudian di uapkan untuk mendapatkan ekstrak murni dari daun sembung. Proses penguapan ini menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu 50° C dengan kecepatan 80 rpm. Setelah diuapkan selama 1 jam maka akan dihasilkan ekstrak murni sebanyak 8,53 gram. Proses ekstraksi dapat dilihat pada Lampiran 3.

C. Sterilisasi Alat dan Bahan

Mekanisme sterilisasi alat dan bahan adalah sebagai berikut:

- alat dicuci, dikeringkan kemudian dibungkus dengan koran dan diikat
- akuades dimasukkan ke dalam ruang sterilisasi *autoclave* sampai menutup sistem pemanas untuk mencegah penimbunan kapur pada elemen pemanas
- keranjang dimasukkan ke dalam *autoclave*, kemudian tutup *autoclave*
- pada saat menutup, selang dimasukkan ke posisi yang tepat. Tanda panah pada penutup sejajar dengan garis. Tuas ditutup secara diagonal agar seimbang kekuatan pada saat menutup *autoclave*
- klep keluaranya uap diposisikan berdiri atau tegak, tombol ditekan ke arah ON
- thermostat diputar pada posisi maximal di angka 10
- uap air keluar dari klep lalu tutup atau arahkan ke samping
- ditunggu sampai jarum menunjukkan suhu sterilisasi, temperatur diturunkan sampai lampu sterilisasi berwarna kuning, atur time pada posisi 15 menit
- alarm berbunyi tanda sterilisasi berakhir, turunkan temperatur pada posisi minimal, matikan autoklaf pada posisi kebawah (OFF).

D. Persiapan Alat Penelitian

Wadah yang digunakan adalah akuarium dengan ukuran 40 x 40 x 40 cm³ sebanyak 15 buah. Akuarium dicuci dengan detergen kemudian direndam dengan

chlorin selama 30 menit dan kemudian dinetralsir dengan Na-Thiosulfat. Selanjutnya akuarium dibilas dan dikeringkan selama 1 hari untuk kemudian siap diisi dengan air pemeliharaan. Kemudian diisi air sebanyak 2 liter dan dilengkapi dengan aerasi dan juga *heater* untuk menjaga kandungan oksigen dan menjaga suhu dalam air.

E. Pembuatan Media Bakteri

1. Media Padat PCA (*Plate Count Agar*.)

Langkah-langkah pembuatan media dengan bahan PCA yaitu dengan ditimbang sebanyak 17,5 gram bahan, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan (dihomogenisasi) dengan aquadest sebanyak 1000 ml, kemudian dipanaskan diatas hot plate sampai mendidih, kemudian erlemeyer ditutup dengan kapas dan *aluminium foil* lalu ditali dengan benang kasur disterilisasi dengan autoclave pada temperatur 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Kemudian media dikeluarkan dari *autoclave* dan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila ditanam pada media yang masih panas. Tuang medium kedalam petridish steril, pekerjaan ini dilakukan didalam *laminair flow* untuk mencegah kontaminasi. Perhitungan lengkap pembuatan PCA dapat dilihat pada Lampiran 4.

2. Media Cair NB (*Nutrien broth*)

Nutrien Broth ditimbang 6 gram dilarutkan dalam 200 ml akuades dalam erlemeyer kemudian diaduk hingga larut sempurna berwarna kuning. Selanjutnya erlemeyer ditutup kapas dan *aluminium foil* lalu diikat menggunakan benang kasur. Kemudian media disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit, selanjutnya media diangkat dari *autoclave* dan dibiarkan hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas. Perhitungan lengkap pembuatan NB dapat dilihat pada Lampiran 4.

F. Pembuatan Stock Bakteri *A. hydrophila* 10⁷

Bakteri yang digunakan berasal dari Balai Budidaya Air Payau Jepara, Jawa Tengah dengan hasil uji biokimia (Lampiran 5). Bakteri yang diperoleh memiliki kepadatan 6×10^8 sel/ml merupakan hasil pengkulturan pada media NB yang sudah dicocokkan dengan metode Mc Farland. Langkah dalam penentuan kepadatan tersebut adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan Biakan Bakteri pada Media NB

Larutan NB disiapkan sebanyak 220 ml, selanjutnya jarum osse dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum osse disentuhkan ke biakan murni *A. hydrophila* kemudian dicelupkan pada NB sebanyak 2 osse.

Selanjutnya larutan NB dibiarkan 12-24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C

2. Perhitungan Jumlah Bakteri

Perhitungan jumlah bakteri pada media *Nutrien broth* (NB) dilakukan menggunakan metode MC Farland dengan cara:

- Disiapkan 10 tabung reaksi
- Membuat larutan H₂SO₄ murni dalam 1% dan larutan BaCl₂ dalam 1%
- Campurkanlah kedua jenis larutan tersebut dalam tabung berdasarkan perbandingan yang ada pada tabel. Sehingga isi tabung menjadi 10 ml larutan. Kemudian tutuplah tabung-tabung tersebut
- Suspensi larutan yang terdapat dalam tabung tersebut sama dengan jumlah *suspense* sel *E. coli* per ml seperti dalam tabel berikut:

Tabel 2. Larutan Standart Mc Farland

Nomor Tabung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
BaCl ₂ (ml)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
H ₂ SO ₄ (ml)	9,9	9,8	9,7	9,6	9,5	9,4	9,3	9,2	9,1	9
Kepadatan sel <i>E. coli</i> (x10 ⁸)	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30

Adapun langkah-langkah untuk mendapatkan kepadatan bakteri 10^7 dilakukan proses pengenceran berseri sebagai berikut :

- Bakteri *A. hydrophila* disiapkan
- Tabung reaksi masing-masing diisi 9 ml akuades
- 1 ml bakteri dari stok diambil menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung pertama kemudian di vortex
- 1 ml bakteri dari tabung reaksi pertama diambil menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kedua kemudian di vortex
- Didapatkan bakteri dengan kepadatan 10^7 sel/ml.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

A. Penginfeksian Bakteri pada Ikan Nila (*O. niloticus*)

Penginfeksian bakteri dilakukan dengan cara perendaman, yaitu dengan memasukkan bakteri langsung pada media pemeliharaan. Penginfeksian dilakukan menggunakan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^7 sel/ml. Pada perendaman ikan digunakan akuarium dengan ukuran $40 \times 40 \times 40 \text{ cm}^3$ yang sudah dilengkapi aerasi. Perendaman ini dilakukan menggunakan kapasitas air 20 liter (20.000 ml), sehingga dapat digunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times (6 \times 10^8) &= 20.000 \times 10^7 \\ V_1 &= \frac{20.000 \times 10^7}{6 \times 10^8} \\ &= 333,3 \text{ ml} \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan diatas diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan adalah sebanyak 333,3 ml dan dicampurkan dengan air tawar sebanyak 19666,7 ml untuk mendapatkan volume air 20.000 ml dengan kepadatan bakteri 10^7 , selanjutnya ikan nila direndam dalam media yang tercampur bakteri 10^7 selama 24 jam guna untuk memaksimalkan perlakuan untuk membuat ikan sakit,

kemudian setelah itu diamati gejala klinis ikan nila yang sudah diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila*. Perhitungan lengkap pengenceran bakteri dapat dilihat pada lampiran 6.

B. Perendaman Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.)

Pemberian ekstrak kasar daun sembung dilakukan dengan cara perendaman. Langkah pertama disiapkan ekstrak kasar daun sembung yang akan digunakan kemudian dilakukan perhitungan berdasarkan dari volume media perendaman yang digunakan (20.000 ml) dan dosis ekstrak yang akan digunakan (500 ppm, 600 ppm dan 700 ppm) dengan rumus pengenceran. Setelah semua hasil didapat, selanjutnya dilakukan perendaman pada ekstrak selama 13 jam (lama waktu perendaman didapatkan dari waktu LD50 dibagi dua). Kemudian diangkat ikan dan dimasukkan pada media pemeliharaan selama 6 hari, serta diamati parameter penunjang seperti DO, pH dan suhu setiap hari pada pagi dan sore pada pukul (08.00 dan 16.00 WIB) serta *survival rate* nya.

C. Perhitungan Sampel Uji

Sampel uji yang digunakan pada pengamatan ini adalah insang ikan uji. Langkah yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Alat pembedah (*Sectio set*) disiapkan
2. Ikan uji diambil dan dilumpuhkan dengan cara menusuk bagian otaknya dan dibedah dengan cara membuka operculum dan mengambil insang
3. Insang diambil dan ditimbang seberat 1 gram dan dihaluskan dengan cara digerus menggunakan mortar dan alu
4. Sampel yang telah halus dilarutkan dalam aquades 9 ml. Selanjutnya dihomogenkan dan diperoleh larutan dengan pengenceran 10^{-1}
5. Hasil pengenceran 10^{-1} diambil 1 ml menggunakan mikropipet, kemudian diencerkan kedalam akuades 9 ml dan dihomogenkan, begitu seterusnya hingga diperoleh konsentrasi 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}

6. Larutan hasil pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} diambil 1 ml suspensi dan dituang ke cawan petri.
7. Media PCA yang sudah steril dituang dalam cawan petri sebanyak 15-20 ml
8. Sampel diratakan dengan menggeser cawan petri membentuk angka delapan
9. Sampel diinkubasi pada inkubator selama 1x24 jam
10. Setelah 1x24 jam diamati pertumbuhan bakteri dan dihitung dengan ditandai adanya koloni menggunakan *Colony counter*.
11. Dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Koloni per ml} = \text{Jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

D. Analisa Prosedur Penelitian

Analisa prosedur yang dilakukan pada penelitian ini yakni yang pertama menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Setelah itu dilakukan persiapan akuarium yang akan digunakan berjumlah 15 akuarium. Selanjutnya ikan diaklimatisasi selama satu minggu serta diberikan pakan berupa pellet sebanyak dua kali sehari pukul 08.00 WIB dan 16.00 WIB. Setelah aklimatisasi selesai selanjutnya dilakukan penginfeksian bakteri dengan merendam semua ikan pada satu akuarium dengan kepadatan bakteri 10^7 sel/ml air selama 24 jam diamati gejala klinis. Selanjutnya ikan diangkat dan dimasukkan pada ekstrak kasar daun sembung sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan selama 13 jam. Kemudian ikan diangkat dan diletakkan pada media pemeliharaan selama 6 hari dan diamati gejala klinis dari ikan kemudian diambil sampel insang dan dilakukan perhitungan jumlah bakteri. Serta diamati parameter penunjang seperti suhu, pH, dan DO setiap pagi dan sore pada pukul (08.00 dan 16.00 WIB) serta SR nya. Dokumentasi penelitian dapat dilihat pada Lampiran 7.

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama pada penelitian ini adalah pengamatan terhadap jumlah kepadatan bakteri yang terdapat pada insang ikan nila (*O. niloticus*) setelah diinfeksi *A. hydrophila* dan diobati dengan ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC) selama 6 hari dengan perhitungan *Total Plate Count* (TPC).

3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang pada penelitian ini adalah pengukuran kualitas air seperti suhu, oksigen terlarut dan pH yang dilakukan pada pukul 08.00 WIB dan 16.00 WIB setiap hari selama pemeliharaan. Selain itu juga diamati tingkat kelulus hidupan (SR) dari ikan yang dipelihara selama penelitian.

3.6 Analisis Data

Data yang didapat dari penelitian ini dianalisa pengaruhnya pada masing-masing perlakuan dengan menggunakan analisis keragaman atau uji F. Apabila nilai F hitung berbeda nyata atau sangat nyata, maka analisa akan dilanjutkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perlakuan yang memberikan respon terbaik dengan derajat kepercayaan 5% dan 1%. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dan hasil, maka digunakan analisa regresi.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Jumlah Total Kepadatan Bakteri *A. hydrophila* pada Insang

Hasil penelitian tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Jumlah Bakteri pada Insang Ikan Nila (*O. niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila* didapatkan jumlah total kepadatan bakteri *A. hydrophila* pada insang ikan nila selama 6 hari pemeliharaan dapat dilihat pada Tabel 3. Sampel insang diambil setiap hari dan dilakukan pengenceran sebanyak 5 kali kemudian ditanam pada media PCA.

Tabel 3. Rata-Rata Jumlah Kepadatan Bakteri *A. hydrophila* pada insang (10^6 cfu/ml) selama 6 hari pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata \pm Stdev
	1	2	3		
A (500 ppm)	82	99	101	282	94.00 \pm 10,44
B (600 ppm)	76	52	73	201	67.00 \pm 13,08
C (700 ppm)	49	37	60	146	48.67 \pm 11,50
				629	

Berdasarkan Tabel 3 diketahui rata-rata tertinggi terdapat pada perlakuan A (500 ppm) dan terendah pada perlakuan C (700 ppm). Setelah didapatkan hasil rata-rata jumlah kepadatan bakteri *A. hydrophila*, selanjutnya dilakukan perhitungan sidik ragam untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap jumlah kepadatan bakteri *A. hydrophila*. Hasil sidik ragam dapat dilihat pada Tabel 4. serta perhitungan sidik ragam dapat dilihat pada Lampiran 8.

Tabel 4. Data Sidik Ragam Perhitungan Kepadatan Bakteri *A. hydrophila*

Sumber						
Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	3120,22	1560,11	11,35**	5,14	10,92
Acak	6	824,67	137,44			
Total	8	3944,89				

Ket: ** = berbeda sangat nyata

Berdasarkan perhitungan sidik ragam didapatkan hasil bahwa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun sembung dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap jumlah kepadatan bakteri pada insang ikan nila. Hal tersebut dapat dilihat dari F.hitung (11,35) yang lebih besar dibanding nilai F tabel 1% (10,92) sehingga menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata. Setelah diketahui bahwa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun sembung berpengaruh terhadap jumlah kepadatan bakteri pada insang, maka selanjutnya dilakukan perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), hal tersebut bertujuan untuk mengetahui perbedaan pengaruh terkecil antar perlakuan. Hasil uji BNT dapat dilihat pada Tabel 5 dan perhitungan lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 8.

Tabel 5. Hasil Uji BNT Perhitungan Jumlah Kepadatan Bakteri pada Insang

Perlakuan	Rerata	A	B	C	Notasi
		94,00	67,00	48,67	
A	94,00	—			a
B	67,00	27,00*	—		b
C	48,67	45,33**	18,33 ^{ns}	—	b

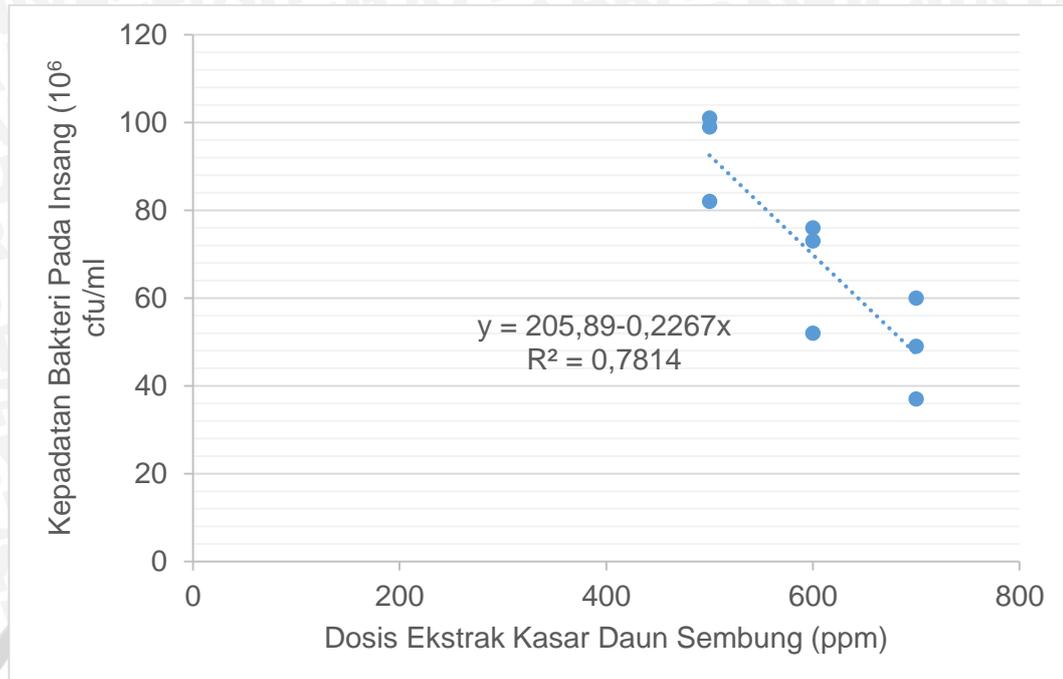
(*) : Berbeda nyata

(**) : Berbeda sangat nyata

(ns) : Tidak berbeda nyata

Berdasarkan hasil uji BNT pada Tabel 5 menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun sembung dengan dosis A (500 ppm) tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap hasil, perlakuan B (600 ppm) memberikan pengaruh yang nyata terhadap hasil, sedangkan perlakuan C (700 ppm) tidak memberikan perbedaan pengaruh terhadap perlakuan B (600 ppm) sehingga dapat dikatakan hasil perlakuan C tidak berbeda nyata terhadap perlakuan B.

Setelah diketahui hasil uji BNT maka dilanjutkan dengan perhitungan polynomial orthogonal untuk mendapatkan kurva regresi (Gambar 5) dan mengetahui bagaimana bentuk hubungan ekstrak kasar daun sembung terhadap jumlah kepadatan bakteri pada insang ikan nila.



Gambar 5. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak Kasar Daun Sembung Terhadap Jumlah Bakteri *A. hydrophila* pada insang Ikan Nila (*O. niloticus*)

Berdasarkan Gambar 5 dapat dilihat bahwa hubungan antara pemberian ekstrak kasar daun sembung terhadap jumlah kepadatan bakteri pada insang memiliki bentuk pola linear dengan persamaan regresi $y = 205,89 - 0,2267x$ dengan nilai R^2 sebesar 0,7814. Hubungan tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun sembung yang semakin tinggi dosisnya menyebabkan jumlah kepadatan bakteri semakin rendah. Hal ini sejalan dengan pendapat Nursal (1998), bahwa dengan konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi maka kemampuan antibakterinya juga semakin besar. Ajizah (2004), juga mengemukakan bahwa konsentrasi senyawa antibakteri sangat mempengaruhi kemampuan senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Badan Standar Nasional (2006), menjelaskan bahwa jumlah total bakteri pada ikan sehat maksimum 5×10^5 koloni/gram. Bambang *et al.* (2014), menyatakan bahwa perhitungan jumlah koloni dilakukan pada pengenceran dengan jumlah koloni antara 30-300. Hal ini bertujuan untuk memperkecil kemungkinan kesalahan dalam perhitungan.

Daun sembung memiliki kandungan zat aktif antara lain minyak atsiri 0,5%, saponin, tanin, serta flavonoid (Rosmalawati, 2008). Namun berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan di laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang didapatkan hasil bahwa kandungan terbanyak adalah tanin. Tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mengkerutkan dinding sel atau membran sel, sehingga permeabilitas terganggu. Akibatnya sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004).

Tanin merupakan senyawa fenol yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan memunculkan denaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan, sehingga permeabilitas bakteri meningkat serta menurunkan konsentrasi ion kalsium, menghambat produksi enzim, dan mengganggu proses reaksi enzimatik pada bakteri sehingga menghambat terjadinya koagulasi plasma. Mekanisme kerja tanin sebagai antimikroba berhubungan dengan kemampuan tanin dalam menginaktivasi adhesin sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel. Tanin memiliki sasaran terhadap polipeptida dinding sel yang menyebabkan kerusakan pada dinding sel. Tanin, dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan pada konsentrasi tinggi, tanin bekerja sebagai antimikroba dengan cara mengkoagulasi atau menggumpalkan protoplasma kuman, sehingga terbentuk ikatan stabil dengan protein kuman pada saluran pencernaan, tanin juga mampu menggugurkan toksin (Sudirman, 2014).

4.2 Kelulushidupan Benih Ikan Nila (*O. niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Perhitungan kelulushidupan benih ikan nila (*O. niloticus*) ini merupakan salah satu parameter pendukung pada penelitian Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Jumlah Bakteri Pada

Insang Yang Diinfeksi *A. hydrophila*. Rata-rata kelulushidupan ikan nila dapat dilihat pada Tabel 6. Perhitungan lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 8.

Tabel 6. Rata-rata Kelulushidupan Ikan Nila (%)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata ± Stdev
	1	2	3		
A (500 ppm)	50	50	60	160	53,33 ± 5,77
B (600 ppm)	60	70	70	200	66,67 ± 5,77
C (700 ppm)	70	80	80	230	76,67 ± 5,77
				590	

Hasil perhitungan rata-rata kelulushidupan menunjukkan bahwa perlakuan C (700 ppm) memiliki nilai paling tinggi dan perlakuan A (500 ppm) memiliki nilai paling rendah. Selanjutnya dilakukan perhitungan sidik ragam untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap kelulushidupan ikan nila yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Hasil perhitungan dapat dilihat pada Tabel 7. Perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 8.

Tabel 7. Data Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	FH	F5%	F1%
Perlakuan	2	307,61	153,81	12,18**	5,14	10,92
Acak	6	75,79	12,63			
Total	8	383,40				

Keterangan: ** = Berbeda sangat nyata

Hasil perhitungan sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun sembung yang berbeda dosis berpengaruh terhadap jumlah kelulushidupan ikan nila dengan hasil berbeda sangat nyata, hal tersebut dapat dilihat pada nilai F. hitung yang lebih besar dibandingkan F5% dan F 1%. Setelah diketahui hasil sidik ragam kemudian dilanjutkan dengan perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), hal ini bertujuan untuk mengetahui tingkat perbedaan pengaruh terkecil tiap perlakuan. Hasil uji BNT dapat dilihat pada Tabel 8, serta perhitungan lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 8.

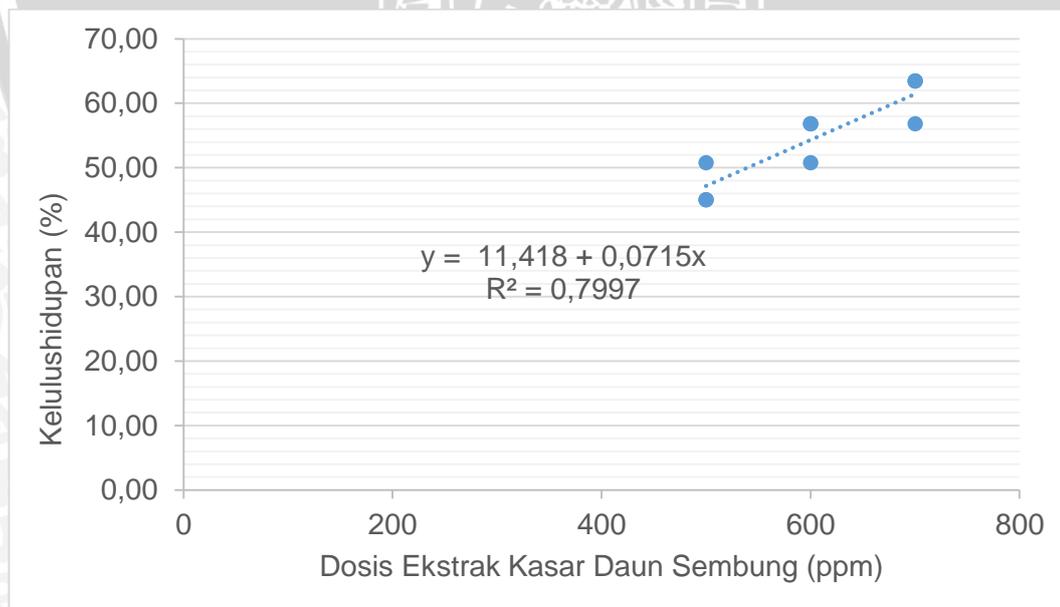
Tabel 8. Hasil uji BNT Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

	Rata-rata perlakuan	A	B	C	Notasi
		46,92	54,78	61,22	
A	46,92	-			a
B	54,78	7,86*	-		ab
C	61,22	14,30**	6,44 ^{ns}	-	b

(*) : Berbeda nyata
 (**) : Berbeda sangat nyata
 (ns) : Tidak berbeda nyata

Berdasarkan hasil uji BNT pada Tabel 8 menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun sembung dengan dosis A (500 ppm) tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap hasil, perlakuan B (600 ppm) memberikan pengaruh yang nyata terhadap hasil, sedangkan perlakuan C (700 ppm) tidak memberikan perbedaan pengaruh terhadap perlakuan B (600 ppm).

Setelah diketahui hasil BNT maka dilanjutkan dengan perhitungan polynomial orthogonal untuk mendapatkan kurva regresi (Gambar 6) dan mengetahui bagaimana bentuk hubungan ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap jumlah kepadatan bakteri pada insang ikan nila.



Gambar 6. Grafik Hubungan Konsentrasi Dosis Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*) (%)

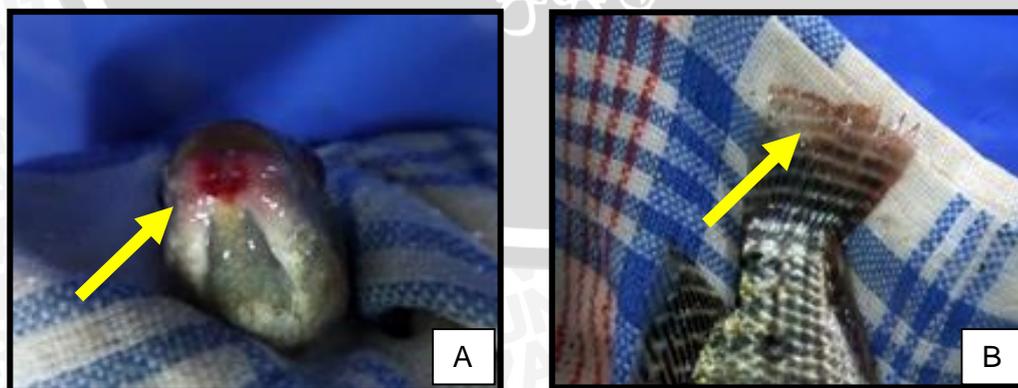
Berdasarkan Gambar 6 dapat dilihat bahwa hubungan antara pemberian ekstrak kasar daun sembung terhadap kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) memiliki bentuk pola linear dengan persamaan regresi $y = 11,418 + 0,0715x$ dengan nilai R^2 sebesar 0,7997. Hubungan tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun sembung yang semakin tinggi dosisnya menyebabkan jumlah kelulushidupan mengalami peningkatan. Hubungan tersebut masih linear karena dosis yang digunakan adalah 700 ppm berada dibawah LD50 yang menghasilkan dosis tertinggi 800 ppm dengan waktu 26 jam, selain itu juga karena waktu perendaman dilakukan separuh dari LD50 yaitu 13 jam. Daun Sembung memiliki kandungan senyawa minyak atsiri, tannin, saponin dan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri (Rumihat, 2015). Menurut Pelczar dan Chan (2008), mekanisme kerja dari zat antibakterial adalah penghambatan terhadap sintesis dinding sel, fungsi membran sel, sintesis protein dan sintesis asam nukleat.

Menurut Rumihat (2015), Tanin mampu menghambat sintesis dinding sel dan sintesis protein sel bakteri, tanin yang terdapat dalam infusum daun sembung dengan membran sel bakteri, kemudian menginaktivasi enzim dan fungsi materi genetik sel bakteri. mineral. Senyawa saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis, jadi mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida. Dengan penggunaan ekstrak kasar daun sembung tersebut menghasilkan adanya daya hambat bagi pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* sehingga meningkatkan kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*).

4.3 Gejala Klinis

Pengamatan dilakukan secara visual untuk mengetahui perbedaan tingkah laku dan perubahan morfologi ikan nila (*O. niloticus*) sebelum dan setelah pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC). Pengamatan sebelum pemberian obat dilakukan pada saat setelah penginfeksi bakteri *A. hydrophila*, sedangkan pengamatan setelah pemberian obat dilakukan pada saat akhir pemeliharaan. Berdasarkan hasil yang didapatkan pada saat perendaman bakteri ikan nila terlihat gelisah dan berenang tidak beraturan, sedangkan setelah perendaman dengan ekstrak ikan terlihat lebih tenang. Pada saat dilakukan pembedahan insang terlihat memucat dan pada akhir penelitian terdapat luka memar pada bagian bawah mulut di beberapa ikan (Gambar 7).

Menurut Austin (1993), ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* memperlihatkan gejala seperti kehilangan nafsu makan, luka-luka pada permukaan tubuh, pendarahan pada insang, perut membesar berisi cairan, sisik lepas, jika dilakukan pembedahan akan terlihat pembengkakan dan kerusakan pada jaringan hati, ginjal dan limfa. Menurut Strohmeier (2013), Ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* menunjukkan tanda-tanda klinis yang berbeda, mulai dari hilangnya nafsu makan gerakan yang tidak normal ketika berenang, insang yang memucat dan luka memar pada beberapa bagian tubuh sampai kematian massal yang tiba-tiba.



Gambar 7. Gejala Klinis (A) Luka Dibawah Mulut Setelah infeksi *A. hydrophila*, (B) Luka Pada Ekor setelah Infeksi *A. hydrophila*

4.4 Kualitas Air

a. Suhu

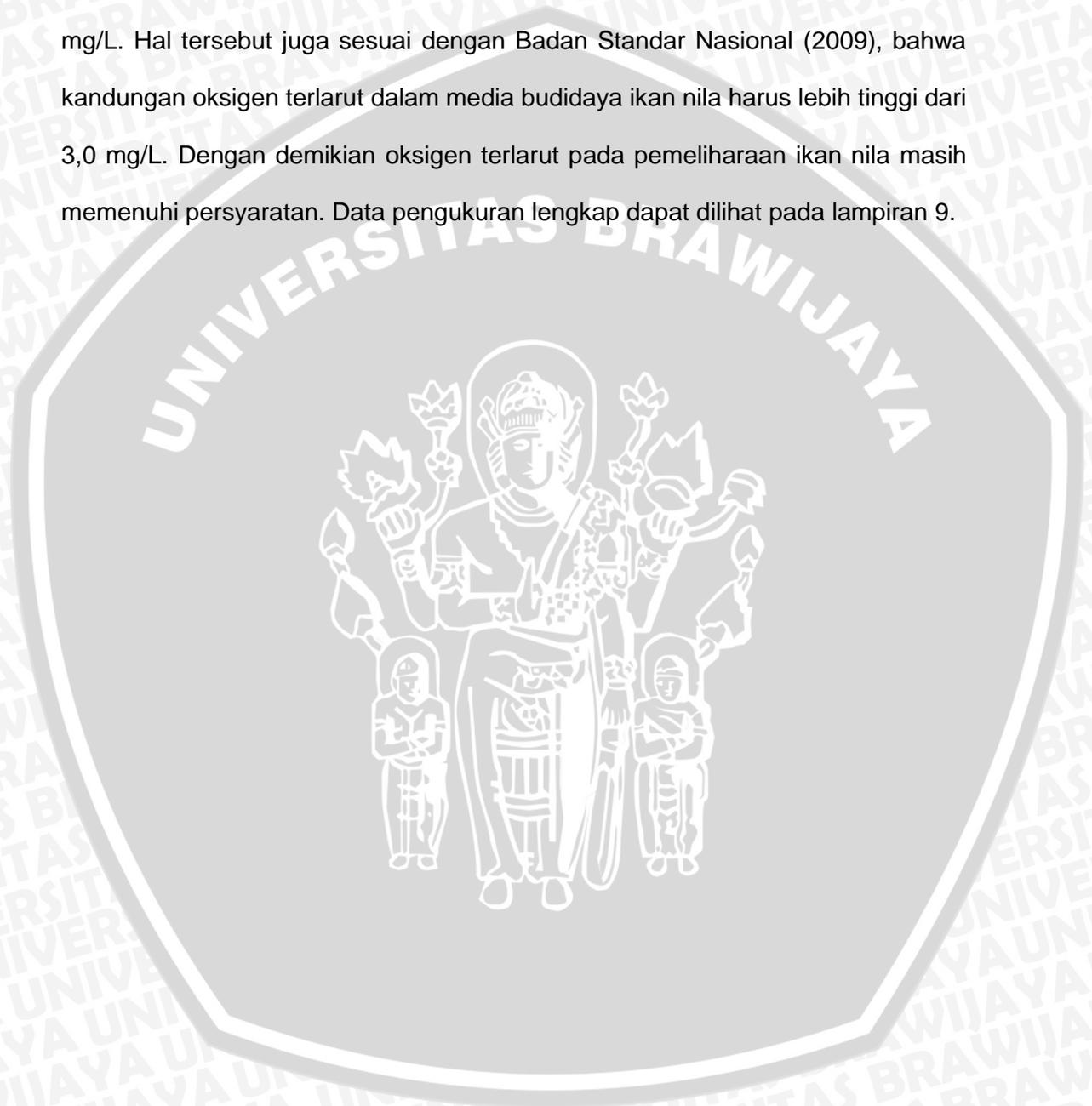
Suhu adalah faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap kecepatan metabolisme tubuh ikan. Menurut Kinne dalam Sikong (1982), suhu tinggi dapat menyebabkan kekeringan sel akibat penguapan, kekentalan protoplasma meningkat, membran sel lebih permeable. Perubahan suhu lingkungan menyebabkan perubahan energi untuk pertumbuhan, laju respirasi dan laju konsumsi oksigen. Selama penelitian didapatkan nilai suhu pada media pemeliharaan ikan nila (*O. niloticus*) yaitu berkisar antara 26,4-29,4°C. Hal ini sesuai dengan Khairuman dan Amri (2003), yang menyatakan suhu air optimal untuk ikan nila yaitu 25-30°C. Hal tersebut juga didukung Badan Standar Nasional (2009), bahwa suhu air yang optimal untuk ikan nila yaitu berkisar 25-32°C. Data pengukuran lengkap suhu dapat dilihat pada lampiran 9.

b. pH (Derajat Keasaman)

Nilai pH suatu perairan dapat mempengaruhi pertumbuhan bagi biota didalamnya, bahkan dapat menyebabkan kematian. Arie (1998), menyatakan keasaman (pH) yang tidak optimal dapat menyebabkan ikan stres, mudah terserang penyakit, produktivitas dan pertumbuhan rendah. Ikan nila dapat tumbuh dengan baik pada kisaran pH 6.5-9. Hal tersebut didukung oleh pendapat Effendi (2003), yang menyatakan bahwa sebagian besar biota akuatik menyukai pH sekitar 7-8,5 dan pada nilai pH kurang dari 4 maka sebagian besar biota akuatik mati karena tidak dapat bertoleransi terhadap pH rendah. Selama penelitian didapatkan nilai pH pada media pemeliharaan ikan nila (*O. niloticus*) yaitu berkisar antara 6,7-8,1. Hal ini sesuai dengan pernyataan Khairuman dan Amri (2003), bahwa kisaran pH yang diperlukan oleh ikan nila yaitu 6-9. Data pengukuran lengkap pH dapat dilihat pada lampiran 9.

c. Kandungan Oksigen (DO)

Kandungan oksigen terlarut selama pemeliharaan berada dalam batas toleransi. Oksigen terlarut selama penelitian adalah 4,9-8,7 mg/L. Menurut Khairuman dan Amri (2003), oksigen terlarut yang dibutuhkan ikan yaitu minimal 3 mg/L. Hal tersebut juga sesuai dengan Badan Standar Nasional (2009), bahwa kandungan oksigen terlarut dalam media budidaya ikan nila harus lebih tinggi dari 3,0 mg/L. Dengan demikian oksigen terlarut pada pemeliharaan ikan nila masih memenuhi persyaratan. Data pengukuran lengkap dapat dilihat pada lampiran 9.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang berjudul Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Jumlah Bakteri Pada Insang Ikan Nila (*O. niloticus*) yang Diinfeksi *A. hydrophila* didapatkan kesimpulan bahwa:

- Pemberian ekstrak kasar daun sembung berpengaruh terhadap jumlah kepadatan bakteri *A. hydrophila* pada insang ikan nila membentuk hubungan linear, dengan persamaan regresi $y = 205,89 - 0,2267x$ dengan nilai R^2 sebesar 0,7814. Jumlah bakteri terkecil terdapat pada perlakuan dosis paling tinggi yaitu 700 ppm dan berpengaruh terhadap kelulushidupan ikan nila. Hubungan antar perlakuan tersebut menunjukkan hubungan linear dengan persamaan regresi $y = 11,418 + 0,0715x$ dengan nilai R^2 sebesar 0,7997. Hasil SR tertinggi terdapat pada perlakuan dosis paling tinggi yaitu 700 ppm.
- Semakin tinggi dosis yang diberikan dapat menurunkan jumlah kepadatan bakteri pada insang dan meningkatkan kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil didapatkan hasil dosis ekstrak paling efisien yaitu 600 ppm, dosis tersebut hanya berlaku pada ikan nila (*O. niloticus*), maka perlu dilakukan penelitian lanjutan pada ikan lain untuk mengetahui bagaimana pengaruhnya dan dosis optimalnya

DAFTAR PUSTAKA

- Afianto, E. dan E. Liviawaty. 1992. Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan. Penerbit Kanisius, Jakarta. 89 hlm.
- _____. 1999. Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan. Kanisius, Yogyakarta. 91 hlm.
- Arie, U. 1998. Pembenihan dan Pembesaran Nila Gift. Penebar Swadaya, Jakarta. 128 hlm.
- Aristianti. 2007. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstak Daun Tanaman Ketapang (Terminalia catappa L.) dan Daun Tanaman Jambu Biji (Psidium guajava L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri Aeromonas hydrophila*. Skripsi. Universitas Nusa Cendana, Kupang. Nusa Tenggara Timur.
- Austin, B. 1993. Bacterial Fish Pathogens. In Disease in Farmed and Wild Fish. Ellis Horwood Ltd, Publisher, Chichester, England. 457p.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap ekstrak daun *Psidium guajava* L. *Jurnal Bioscientie*. 1(1): 31-38.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2008. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan Pertama. Departemen Kesehatan RI, Jakarta. 3-5, 10-11 hlm.
- Badan Standardisasi Nasional. 2006. Cara Uji Mikrobiologi – Bagian 1 : Penentuan *Coliform* dan *Escherichia coli* Pada Produk Perikanan. Badan Standardisasi Nasional, Jakarta. 23 hlm
- _____. 2006. Cara uji mikrobiologi-Bagian 3: Penentuan angka lempeng total (ALT) pada produk perikanan http://sisni.bsn.go.id/index.php/sni_main/sni/detail_sni/7476. SNI 01-2332.3-2006. Diakses tanggal 12 April 2016.
- _____. 2009. Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan (Standar Nasional Indonesia). Badan Standardisasi Nasional, Jakarta. 15 hlm
- _____. 2009. Produksi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* *Bleeker*). Kelas Pembesaran di Kolam Air Tenang. SNI (Standar Nasional Indonesia). SNI 7550:2009. 12 hlm.
- Bambang, A. G., Fatimawali, dan N. S. Kojong. 2014. Analisis cemaran bakteri coliform dan identifikasi *Escherichia Coli* pada air isi ulang dari depot di Kota Manado. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. 3(3): 325-334.
- Bullock. 1971. *Aeromonas hydrophila* and *Motile Aeromonand Septicemias of Fish*. Disease Leaflet 68. Washingron DC. 20 hlm
- Cahyono, B. 2000. Budidaya Ikan Air Tawar. Kanisius, Yogyakarta. 113 hlm.

- Dewi, F. dan Kusuma. 2010. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda citrifolia, Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar*. Skripsi. Universitas Sebelas Maret.
- Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air: Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta. 91 hlm.
- Feliatra. 1999. Identifikasi bakteri patogen (*Vibrio* sp.) di Perairan Nongsa Batam Propinsi Riau. *Jurnal Nature*. **2**(1): 28 - 33.
- Hanafiah, K. 2013. *Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi Edisi 3*. PT Raja Grafindo Prasada, Jakarta. 31 hlm.
- Haryani, A., R. Grandiosa, I., D., Buwono, dan A. Santika. 2012. Uji efektivitas daun pepaya (*Carica papaya*) untuk pengobatan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas koki (*Carassius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **3**(3): 213-220.
- Herliana, E. 2013. *Diabetes Kandas Berkat Herbal*. Fmedia (Imprint Agromedia Pustaka), Jakarta Selatan. 106 hlm
- Maryani, H dan L. Kristiana. 2004. *Tanaman Obat untuk Influenza*. Surabaya. 55 hlm
- Irianto, A. 2005. *Patologi Ikan Teleostei*. Gadjahmada University Press, Yogyakarta. 256 hlm
- Isnawati, A., M., Raini, dan S., Alegantina. 2006. *Standarisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sembung (Blumea balsamifera (L.) DC.) Dari Tiga Tempat Tumbuh*. Media Litbang Kesehatan XVII
- Istiqomah. 2013. *Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar piperin buah cabe jawa (Piper retrofracti fructus)*. Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah. 58 hlm.
- Kabata, Z. 1985. *Oarasites and Disease of Fish Cultured in the Tropics*. Taylor and Fancis Press, London and Philadelphia. 343 pp.
- Kamiso dan Triyanto. 1993. *Vaksinasi Aeromonas hydrophila untuk menanggulangi penyakit MAS pada lele dumbo. (Abstrak)*. Simposium Perikanan Indonesia I, Jakarta. 1 hlm.
- Khairuman dan K. Amri. 2003. *Membuat Pakan Ikan Konsumsi*. Agromedia Pustaka, Depok. 83 hlm.
- _____. 2008. *Buku Pintar Budidaya 15 Ikan Konsumsi*. Agromedia Pustaka, Jakarta Selatan. 359 hlm
- _____. 2011. *2,5 Bulan Panen Ikan Nila*. Agromedia Pustaka, Jakarta Selatan. 202 hlm
- _____. 2012. *Pembesaran Nila di Kolam Air Deras*. Agromedia, Jakarta Selatan. 92 hlm
- Kordi, M. G. K. 2013. *Budidaya Nila Unggul*. Agromedia Pustaka, Jakarta. 148 hlm

- Krieg, N. R. and J. G. Holt. 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Edisi ke-1. United States of America Baltimore: Williams and Wilkins Company.
- Lukistyowati, I. dan Kurniasih. 2012. Pelacakan gen aerolysin dari *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas yang diberi pakan ekstrak bawang putih. *Jurnal Veteriner*. **13**(1): 43-50.
- Manoppo, H. 1995. Parasit dan Penyakit Ikan. Fakultas Perikanan, Unsrat-Manado. 54-61 hlm.
- Martin, J. 2004. *Aeromonas hydrophila*. <http://web.mst.edu>. Diakses 20 November 2015 pukul 18.37 WIB.
- Nursal. 1998. *Pengaruh ekstrak akar Acanthus ilicifolius terhadap pertumbuhan bakteri Vibrio sp.* Prosiding Seminar Nasional VI Ekosistem Mangrove. Pekanbaru 15-18 September 1998. 273-277.
- Odara, S. S., J. C. Watung., H. J. Sinjal. 2015. Maskulinisasi larva ikan nila (*Oreochromis niloticus*) melalui penggunaan madu dengan konsentrasi berbeda. *Jurnal Budidaya Perairan*. **3**(2): 1-6.
- Padua. L. S., N. Bunyaphatsara dan R. H. M. J. Lemmens. 1999. PROSEA (Plants Resources of South-East Asia). **12** (1): 155.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 1*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Putra, I., D. D. Setiyanto., D. Wahyuningrum. 2011. Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Ikan Nila *Oreochromis niloticus* dalam Sistem Resirkulasi. *Jurnal Perikanan dan kelautan*. **16**(1): 56-63.
- Rosmalawati, N. 2008. *Pengaruh penggunaan tepung daun sembung (Blumea balsamifera) dalam ransum terhadap propil darah ayam broiler periode finisher*. Skripsi. Istitut Pertanian Bogor, Bogor. 60 hlm.
- Rumihat, U. 2015. Daya hambat infusum daun sembung (*Blumea balsamifera*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. (13): 142-148.
- Samsundari, S. 2006. Pengujian ekstrak temulawak dan kunyit terhadap resistensi bakteri *Aeromonas hydrophilla* yang menyerang ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Gamma*. **2**(1): 71-83.
- Saanin. H. 1968. *Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan*, Jilid I, Binatjipta, Bandung. 256 hlm.
- Sakee. U., S. Maneerat., T.P.T. Cushnie dan W.D. Eknamkul. 2011. Antimicrobial activity of *Blumea balsamifera* (Lin.) DC. Extracts and essential oil. *Journal Natural Product Research*. **25** (19): 1849-1850.
- Sastrosupadi, A. 2007. *Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian*. Kanisius, Yogyakarta. 76 hlm.
- Senja, R. Y., E. Issusilaningtyas, A. K. Nugroho, dan E. P. Setyowati. 2014. Perbandingan metode ekstraksi dan variasi pelarut terhadap rendemen

dan aktivitas antioksidan ekstrak kubis ungu (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra*). *Traditional Medicine Journal*. **19**(1): 43-48.

Sikong, M. 1982. *Beberapa faktor lingkungan yang mempengaruhi biomassa udang (Penaeus Monodon)*. Desertasi Doktor. Fakultas pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.

Strohmeier, C. 2013. An Outbreak of Acute Gastroenteritis Due to *Aeromonas sobria* in Benghazi, Libyan Arab Jamahiriya. *Eastern Mediterranean Health Journal*. **6** (2): 497-499.

Sudirman, T. A. 2014. *Uji efektivitas ekstrak daun salam (Eugenia polyantha) terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus secara in vitro*. Skripsi. Universitas Hasanuddin, Makassar. 133 hlm.

Sutjiati. 2004. *Pengaruh Vaksin Debris Sel Aeromonas hydrophila Dengan Kombinasi Cara Vaksinasi dan Booster Terhadap Respons Imun dan Tingkat Perlindungan Relatif Pada Lele Dumbo (Clarias gariepinus Burchell)*. Tesis. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta

Suyanto, S. R. 2010. *Pembenihan dan Pembesaran Nila*. Penebar Swadaya. 124 hlm

Vatria, B. 2010. *Pengolahan ikan bandeng (Chanos chanos) tanpa duri*. *Jurnal Ilmu Pengetahuan dan Rekayasa*. **3** (2): 46-48.

Yin, G., L. Ardo, K. D. Thompson, A. Adam, Z. Jeney, and G. Jeney. 2010. Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Ganoderma lucidum*) enhance immune respons of carps, *Cyprinus carpio* and protection against *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*. **26**(1): 140 -145.

Yogananth, N., R. Bhakyaraj, A. Chanthuru, Anbalagan, and T. Nila. 2009. Detection of virulence gene in *Aeromonas hydrophila* isolates from fish samples using PCR thecnique. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*. **4**(1): 51-53.

Zulnaidi. 2007. *Metode Penelitian*. USU Repository. Medan. 19 hlm.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat Penelitian yang Digunakan



Tabung Reaksi



Jarum Ose



Erlenmeyer 250 ml



Gelas Ukur



Oven



Autoclave



Kulkas



Mikropipet 100-1000 μ l



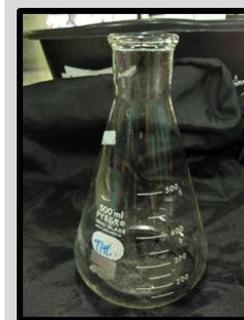
Timbangan Digital



Timbangan Analitik



Inkubator



Erlenmeyer 500 ml



Hotplate



Vortex mixer



Laminary Air Flow



Bunsen

Lampiran 1. (Lanjutan)



Cawan Petri



Aerator



Heater



pH meter



DO meter



Spatula



Sprayer



Seser



Rak Tabung Reaksi



Mortar dan Alu

Lampiran 2. Bahan Penelitian yang Digunakan



Ikan Nila



Daun Sembung



A. hydrophila



Plate Count Agar



Nutrient Broth



NaCl PA



Alumunium foil



Spirtus



Plastik wrap



Sarung Tangan



Masker



Kertas Label



Alkohol 70%



Aquades



Alkohol 96%



Benang kasur dan kapas

Lampiran 3. Proses Ekstraksi Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.)



Penyaringan Daun Sembung

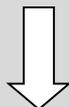


Daun Sembung di Maserasi selama 48 jam dengan etanol 96% dengan perbandingan 1 : 3 (daun sembung : etanol)



Proses Evaporasi

Proses evaporasi dilakukan dengan suhu 50°C dan kecepatan 90 rpm dengan *Vaccum Rotary Evaporator*



Ekstrak Kasar Daun Sembung



Lampiran 4. Perhitungan Media

Media yang digunakan pada penelitian ini adalah PCA (*Plate Count Agar*) dan NB (*Nutrien Broth*)

1. Untuk perhitungan PCA (*Plate Count Agar*) adalah sebagai berikut:

Ketentuan 17,5 gram/1000 mL aquades

Contoh:

$$17,5 \text{ gram}/1000 \text{ mL} = X/100 \text{ mL}$$

$$X \cdot 1000 = 300 \cdot 17,5$$

$$X = 1,26 \text{ gram}$$

Jadi, untuk membuat media dengan volume 100 mL maka dibutuhkan 1,25 gram

PCA

2. Untuk perhitungan NB (*Nutrien Broth*) adalah sebagai berikut:

Ketentuan 30 gram/1000 mL aquades

Contoh:

$$30 \text{ gram}/1000 \text{ mL} = X/200 \text{ mL}$$

$$X \cdot 1000 = 200 \cdot 30$$

$$X = 6 \text{ gram}$$

Jadi, untuk membuat media dengan volume 200 mL maka dibutuhkan 6 gram

NB



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

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

HASIL UJI BIOKIMIA

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

Lab Mikrobiologi BBPBAP Jepara



Sri Muti Astuti, SP.



Lampiran 6. Pengenceran Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri yang diinginkan pada saat penelitian adalah 10^7

Maka dilakukan perhitungan bakteri dengan cara sebagai berikut:

Rumus: $V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$

Keterangan :

N_1 : kepadatan bakteri awal (sel/ml)

V_1 : volume bakteri yang tersuspensi

N_2 : kepadatan bakteri yang dikehendaki (sel/ml)

V_2 : volume bakteri yang diinginkan

Contoh perhitungan:

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times (6 \times 10^8) &= 20.000 \times 10^7 \\ V_1 &= \frac{20.000 \times 10^7}{6 \times 10^8} \\ &= 333,3 \text{ ml} \end{aligned}$$

Jadi untuk membentuk bakteri dengan kepadatan 10^7 sel/ml dalam 20.000

L air dibutuhkan 333,3 ml volume bakteri yang diinginkan.

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian



Bakteri dikultur pada media NB



Media NB+bakteri dimasukkan inkubator shaker selama 24 jam



NB yang tercampur dengan bakteri dituang pada akuarium



Ikan diinfeksi selama 24 jam



Pengobatan selama 12 jam



Pengambilan sampel insang



Sampel Digerus



Dilakukan Pengenceran



Sampel ditanam

Lampiran 8. Perhitungan Data Hasil Penelitian

1. Perhitungan Jumlah Total Kepadatan bakteri pada insang

a. Rata-rata Jumlah Kepadatan Bakteri Pada Insang Ikan Nilu

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± Stdev	total ²
	1	2	3			
A (500ppm)	82	99	101	282	94,00 ± 10,44	79524
B (600ppm)	76	52	73	201	67,00 ± 13,08	40401
C (700ppm)	49	37	60	146	48,67 ± 11,50	21316
Total				629		141241

FK = $(629)^2 / 9$
 = 43.960,11

JK Total = $(A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + C3^2) - FK$
 = $(82)^2 + (99)^2 + (101)^2 + (76)^2 + (52)^2 + (73)^2 + (49)^2 + (37)^2 + (60)^2 - 43.960,11$
 = 3.944,89

JK Perlakuan = $(\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2) - FK$

$$= \frac{(79524 + 40401 + 21316)}{3} - 43.960,11$$

 = 3,120,22

JK Acak = JK Total – JK Perlakuan
 = 3.944,89 - 3,120,22
 = 824,67

b. Data Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	FH	F5%	F1%
Perlakuan	2	3120,22	1560,11	11,35	5,14	10,92
Acak	6	824,67	137,44	**		
Total	8	3944,89				

Keterangan :

KT = JK/db

FH = KT perlakuan/KT acak

Berdasarkan hasil perhitungan diatas dapat diketahui bahwa ekstrak kasar daun sembung berpengaruh terhadap jumlah kepadatan bakteri *A. hydrophila*. Hal ini dilihat dari nilai F hitung yang lebih besar dibandingkan dengan F 5% dan F1%



yaitu 11,35. Sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar daun sembung berpengaruh sangat nyata terhadap hasil.

Selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan.

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2xKT \text{ acak}}{3}}$$

$$= 9,57$$

$$\text{BNT 5\%} = T \text{ tabel 5\%} \times \text{SED}$$

$$= 2,447 \times 9,57$$

$$= 23,42$$

$$\text{BNT 1\%} = T \text{ tabel 1\%} \times \text{SED}$$

$$= 3,707 \times 9,57$$

$$= 35,48$$

c. Tabel Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	Notasi
		94,00	67,00	48,67	
A	94,00	—			a
B	67,00	27,00*	—		ab
C	48,67	45,33**	18,33 ^{ns}	—	b

*) : berbeda nyata

***) : berbeda sangat nyata

Ns : tidak berbeda nyata

Berdasarkan hasil uji BNT pada menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun sembung dengan dosis A (500 ppm) tidak memberikan pengaruh yang nyata, perlakuan B (600 ppm) memberikan pengaruh yang nyata, sedangkan perlakuan C (700 ppm) tidak memberikan perbedaan pengaruh terhadap perlakuan B (700 ppm).

Selanjutnya dilakukan perhitungan polynomial orthogonal untuk mengetahui bagaimana bentuk hubungan ekstrak kasar daun sembung terhadap jumlah kepadatan bakteri *A. hydrophila* pada insang ikan nila.

d. Tabel Uji Polinomial Othogonal

Perlakuan	TOTAL	Perbandingan Ci	
		Linier	Kuadratik
A	282	-1	1
B	201	0	-2
C	146	1	1
Q		-136	26
Hasil Kuadrat Ci		2	6
KR		6	18
JK Regresi		3082.67	37.56
Total JK Regresi		3120.22	

Tabel sidik ragam polynomial orthogonal kelulushidupan ikan nila

SK	Db	JK	KT	FH	f5%	f1%
Perlakuan	2				5,14	10,92
Linier	1	3082,67	3082,67	22,43		
Kuadratik	1	37,56	37,56	0,27		
Acak	6	824,67	137,44			
Total	8					

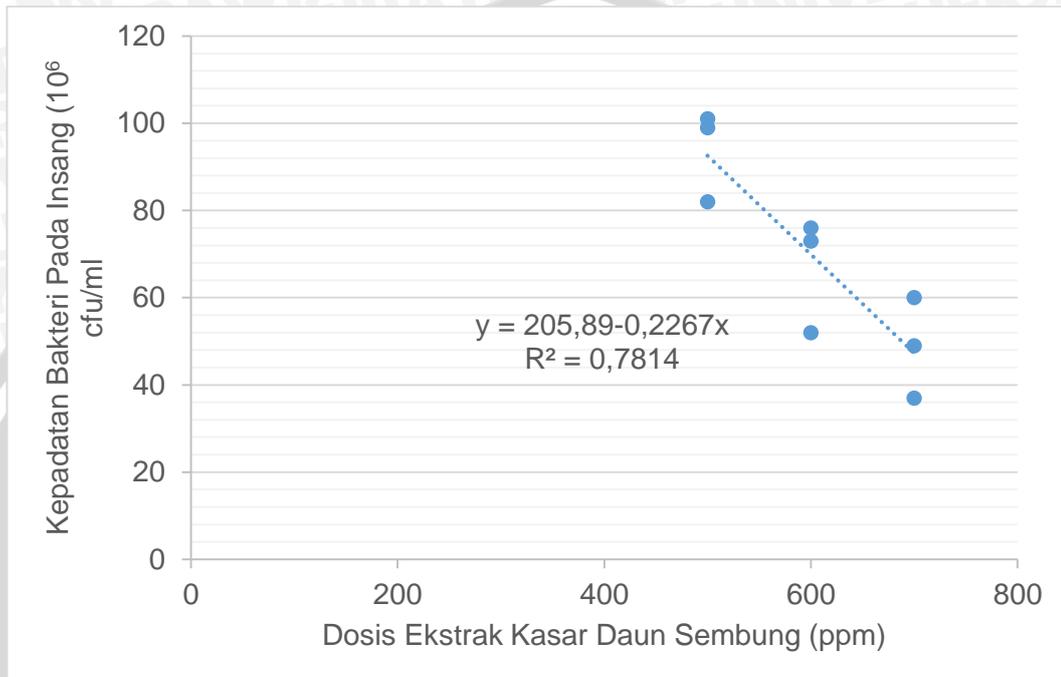
$R^2 \text{ Linear} = \text{JK Linear} / (\text{JK Linear} + \text{JK Acak})$
 $= 3082,67 / (3082,67 + 824,67)$
 $= 0,789$

$R^2 \text{ Kuadratik} = \text{JK Kuadratik} / (\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak})$
 $= 37,56 / (37,56 + 824,67)$
 $= 0,044$

	x	Y	xy	X ²
	500	82,00	41000,00	250000,00
	500	99,00	49500,00	250000,00
	500	101,00	50500,00	250000,00
	600	76,00	45600,00	360000,00
	600	52,00	31200,00	360000,00
	600	73,00	43800,00	360000,00
	700	49,00	34300,00	490000,00
	700	37,00	25900,00	490000,00
	700	60,00	42000,00	490000,00
total	5400	629,00	363800,00	3300000,00
rata2	600	69,89		



x	y	Bi	-0,226666667
500	92,55555556	Bo	205,8888889
600	69,88888889		
700	47,22222222		



Berdasarkan hasil sidik ragam polynomial orthogonal kepadatan bakteri pada insang ikan nila, diketahui bahwa F hitung linear lebih besar dibandingkan F 1% dan F5%, serta F hitung kuadratik lebih kecil dibandingkan dengan F1% dan F5%. Kemudian nilai regresi linear lebih besar dibanding regresi kuadratik maka kurva yang digunakan adalah kurva linear dengan persamaan $y = 205,89 - 0,2267x$ dengan nilai R^2 sebesar 0,7814. Sehingga didapatkan hubungan antara pemberian ekstrak kasar daun sembung dengan jumlah kepadatan membentuk kurva linear. Sumbu X menunjukkan jumlah konsentrasi dosis, sedangkan sumbu Y menunjukkan jumlah kepadatan bakteri. Berdasarkan garis tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan maka jumlah kepadatan bakteri yang ada semakin berkurang.

2. Perhitungan Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

a. Rata-rata Kelulushidupan Ikan Nila (%)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± Stdev
	1	2	3		
A (500ppm)	50	50	60	160	53,33 ± 5,77
B (600ppm)	60	70	70	200	66,67 ± 5,77
C (700ppm)	70	80	80	230	76,67 ± 5,77
Total				590	

Data diatas merupakan rata-rata asli dari SR ikan nila, selanjutnya data tersebut ditransformasi menggunakan transformasi jenis Arcsin yang bertujuan untuk membuat data asli memenuhi asumsi-asumsi analisis ragam.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± Stdev	total ²
	1	2	3			
A (500ppm)	45,00	45,00	50,77	140,77	46,92 ± 3,33	19816
B (600ppm)	50,77	56,79	56,79	164,35	54,78 ± 3,47	27010
C (700ppm)	56,79	63,43	63,43	183,66	61,22 ± 3,83	33731
Total				488,77		80556

$$\begin{aligned} \text{FK} &= (488,77)^2 / 9 \\ &= 26544,46 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Total} &= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + C3^2) - \text{FK} \\ &= (45,00)^2 + (45,00)^2 + (50,77)^2 + (50,77)^2 + (56,79)^2 + (56,79)^2 + \\ &\quad (56,79)^2 + (63,43)^2 + (63,43)^2 - 26544,46 \\ &= 383,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{(\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2) - \text{FK}}{3} \\ &= \frac{(19816 + 27010 + 33731) - 26544,46}{3} \\ &= 307,61 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 383,40 - 307,61 \\ &= 75,79 \end{aligned}$$

b. Data Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	FH	F5%	F1%
Perlakuan	2	307,61	153,81	12,18**	5,14	10,92
Acak	6	75,79	12,63			
Total	8	383,40				

Keterangan :

KT = JK/db

FH = KT perlakuan/KT acak

Berdasarkan hasil perhitungan diatas dapat diketahui bahwa ekstrak kasar daun sembung berpengaruh terhadap jumlah kepadatan bakteri *A. hydrophila*. Hal ini dilihat dari nilai F hitung yang lebih besar dibandingkan dengan F 5% dan F1% yaitu 12,18. Sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar daun sembung berpengaruh sangat nyata terhadap hasil.

Selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan.

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{3}}$$

$$= 2,90$$

$$BNT \ 5\% = T \text{ tabel } 5\% \times SED$$

$$= 2,447 \times 2,90$$

$$= 7,10$$

$$BNT \ 1\% = T \text{ tabel } 1\% \times SED$$

$$= 3,707 \times 2,90$$

$$= 10,76$$

c. Tabel Uji BNT

Rata-rata perlakuan	A	B	C	Notasi
A	46,92	54,78	61,22	
A	46,92	-		a
B	54,78	7,86*	-	ab
C	61,22	14,30**	6,44 ^{ns}	-
				b

Berdasarkan hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun sembung dengan dosis A (500 ppm) tidak memberikan pengaruh yang nyata, perlakuan B (600 ppm) memberikan pengaruh yang nyata, sedangkan perlakuan C (700 ppm) tidak memberikan perbedaan pengaruh terhadap perlakuan B (700 ppm).

d. Tabel Uji Polinomial Othogonal

Perlakuan	TOTAL	Perbandingan Ci	
		Linier	Kuadratik
A	140,77	-1	1
B	164,35	0	-2
C	183,66	1	1
Q		42,89	-4,27
Hasil Kuadrat Ci		2	6
KR		6	18
JKRegresi		306,60	1,01
Total JK Regresi		307,61	

e. Tabel sidik ragam polynomial orthogonal kelulushidupan ikan nila

SK	Db	JK	KT	FH	f5%	f1%
Perlakuan	2					
Linier	1	306,60	306,60	24,27	5,14	10,92
Kuadratik	1	1,01	1,01	0,08		
Acak	6	75,79	12,63			
Total	8					

$$R^2 \text{ Linear} = \text{JK Linear} / (\text{JK Linear} + \text{JK Acak})$$

$$= 306,60 / (306,60 + 75,79)$$

$$= 0,7997$$

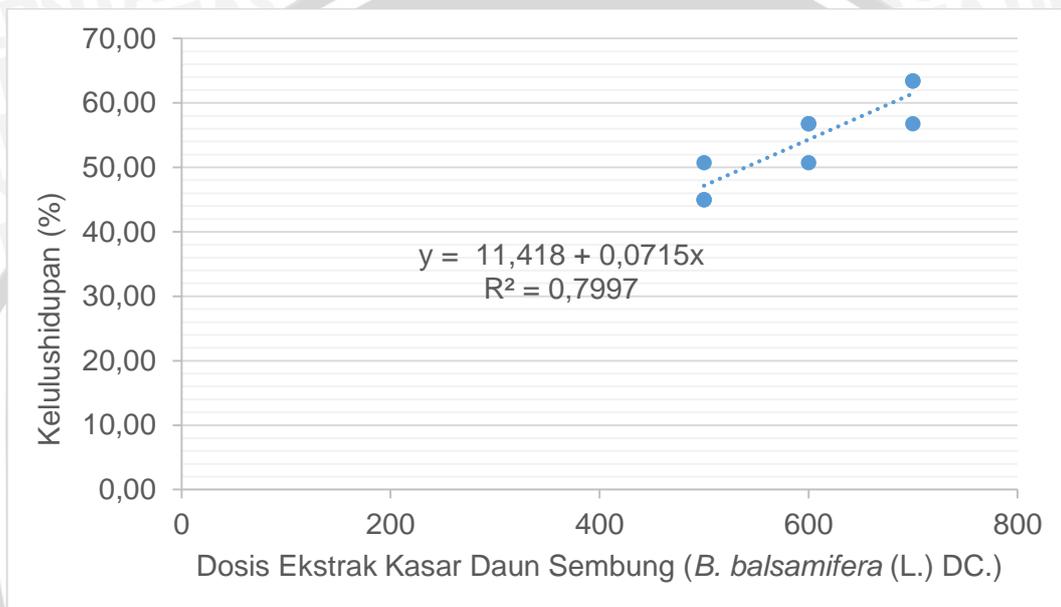
$$R^2 \text{ Kuadratik} = \text{JK Kuadratik} / (\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak})$$

$$= 1,01 / (1,01 + 75,79)$$

$$= 0,013$$

	x	y	xy	X ²
	500	45,00	22500,00	250000,00
	500	45,00	22500,00	250000,00
	500	50,77	25384,24	250000,00
	600	50,77	30461,09	360000,00
	600	56,79	34073,45	360000,00
	600	56,79	34073,45	360000,00
	700	56,79	39752,36	490000,00
	700	63,43	44404,46	490000,00
	700	63,43	44404,46	490000,00
total	5400	488,77	297553,53	3300000,00
rata2	600	54,31		

x	y	bi	0,071484179
500	47,15981815	bo	11,41772868
600	54,30823604		
700	61,45665394		



Berdasarkan hasil sidik ragam polynomial orthogonal kelulushidupan ikan nila, diketahui bahwa F hitung linear lebih besar dari F1% dan F5%, serta F hitung kuadratik lebih kecil dibandingkan dengan F1% dan F5%. Kemudian nilai regresi linear lebih besar dibanding regresi kuadratik maka kurva yang digunakan adalah kurva linear dengan persamaan $y = 11,418 + 0,0715x$ dengan nilai R^2 sebesar 0,7997. Sehingga didapatkan hubungan antara pemberian ekstrak kasar daun sembung dengan kelulushidupan didapatkan kurva linear. Sumbu X menunjukkan jumlah konsentrasi dosis, sedangkan sumbu Y menunjukkan kelulushidupan ikan nila. Berdasarkan garis tersebut dapat ditarik kesimpulan dari dosis 500-700 ppm didapatkan nilai kelulushidupan yang semakin meningkat karena bakteri yang tumbuh jumlahnya semakin sedikit akibat pemberian ekstrak kasar daun sembung.

Lampiran 9. Data Kualitas Air

A. Suhu

Akuarium	Rabu		Kamis		Jumat		Sabtu		Minggu		Senin	
	Pagi	Sore										
C1	26,4	27,4	26,3	27,6	26,5	27,9	26,5	28,4	26,3	28,5	27,1	28,5
C2	26,8	27,8	26,7	27,9	26,6	28,3	26,7	28,3	26,4	28,2	27,2	28,4
C3	26,4	27,4	26,7	27,9	26,8	28,8	26,8	28,3	26,5	28,4	26,9	28,4
Rata-rata	26,4	27,5	26,6	27,8	26,6	28,3	26,7	28,3	26,4	28,4	27,1	28,4
B1	26,6	28,3	26,4	27,4	26,3	28,3	26,3	28,4	26,4	28,5	27,3	29,3
B2	26,5	27,9	26,3	27,9	26,7	27,8	26,7	28,7	26,8	28,9	26,4	28,7
B3	26,9	27,3	26,6	27,3	27,1	28,4	27,4	28,4	27,3	28,6	27,4	28,4
Rata-rata	26,7	27,8	26,4	27,5	26,7	28,2	26,8	28,5	26,8	28,7	27,0	28,8
A1	26,4	27,5	26,6	27,5	27,2	29,3	27,2	29,3	26,9	28,2	27,4	28,9
A2	26,9	28,5	26,6	27,6	26,8	28,5	26,7	28,5	27,1	28,7	26,3	27,9
A3	26,9	28,3	26,7	28,5	26,9	28,4	26,9	28,4	27,2	28,5	26,4	28,3
Rata-rata	26,7	28,1	26,6	27,9	27,0	28,7	26,9	28,7	27,1	28,5	26,7	28,4
K-(1)	26,7	27,5	26,9	27,5	26,9	28,3	26,6	28,4	26,9	28,1	26,5	28,8
K-(2)	26,3	27,8	27,1	27,8	27,1	29,1	27,1	29,4	27,3	29,1	26,4	28,3
K-(3)	26,9	27,6	26,7	27,6	26,4	28,7	26,3	28,7	26,4	28,1	26,8	27,8
Rata-rata	26,6	27,6	26,9	27,6	26,8	28,7	26,7	28,8	26,9	28,4	26,6	28,3
K+(1)	26,3	28,7	27,2	28,3	26,8	28,3	27,1	28,4	27,4	28,3	27,3	28,4
K+(2)	26,8	28,3	26,8	28,4	26,4	28,4	27,3	28,9	27,4	28,9	26,9	28,3
K+(3)	26,9	28,4	26,6	28,9	26,8	28,5	27,4	28,5	27,2	28,8	27,2	28,8
Rata2	26,7	28,5	26,9	28,5	26,7	28,4	27,3	28,6	27,3	28,7	27,1	28,5

- Kisaran 26,4-29,4°C

B. pH

Akuarium	Rabu		Kamis		Jumat		Sabtu		Minggu		Senin	
	Pagi	Sore										
C1	7,3	7,6	7,7	7,7	7,6	7,7	8,0	7,9	8,1	7,9	8,0	8,1
C2	7,6	7,9	8,0	8,1	8,0	8,1	8,1	8,1	8,1	8,0	8,1	8,1
C3	7,9	8,1	7,8	8,0	7,9	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1
Rata-rata	7,6	7,8	7,8	7,9	7,8	7,9	8,1	8,0	8,1	8,0	8,1	8,1
B1	7,5	7,6	7,4	7,4	7,4	7,5	7,7	7,6	8,0	7,7	7,9	8,2
B2	7,3	7,4	7,4	7,4	7,3	7,6	7,6	7,4	7,6	7,4	7,5	7,6
B3	7,5	7,8	7,9	8,0	7,9	7,9	8,2	7,9	8,1	7,7	7,9	8,0
Rata-rata	7,4	7,6	7,5	7,6	7,5	7,6	7,8	7,7	7,9	7,6	7,8	8,0
A1	7,8	7,9	8,0	8,1	8,1	8,2	8,1	7,3	7,1	6,7	6,8	6,9
A2	7,6	7,8	8,1	8,0	8,0	8,1	8,0	7,9	8,1	8,1	8,0	8,0
A3	7,3	7,5	7,4	7,4	7,2	7,6	7,5	7,3	7,7	7,4	7,2	7,2
Rata-rata	7,6	7,7	7,8	7,8	7,8	8,0	7,9	7,5	7,6	7,4	7,3	7,3
K-(1)	7,4	7,6	7,2	7,2	7,5	7,4	7,8	7,5	7,5	7,7	7,9	7,9
K-(2)	7,5	7,6	7,4	7,5	7,5	7,5	7,7	7,8	7,7	7,8	8,0	7,8
K-(3)	7,7	7,9	7,8	7,8	7,8	7,8	8,1	7,9	8,0	7,8	7,9	8,0
Rata-rata	7,5	7,7	7,5	7,5	7,6	7,6	7,8	7,7	7,7	7,8	7,9	7,9
K+(1)	7,6	7,9	7,9	7,8	7,9	7,9	7,8	7,8	8,1	7,5	7,6	7,7
K+(2)	7,4	7,7	7,9	7,8	7,8	7,8	8,1	7,8	7,9	7,5	7,6	7,6
K+(3)	7,0	7,2	8,0	8,0	7,8	7,9	7,8	7,7	8,0	7,8	7,7	7,8
Rata-rata	7,4	7,6	7,9	7,9	7,8	7,8	7,9	7,8	8,0	7,6	7,6	7,7

- Kisaran 6,7-8,1

C. DO

Akuarium	Rabu		Kamis		Jumat		Sabtu		Minggu		Senin	
	Pagi	Sore										
C1	7,1	6,2	7,3	6,8	7,1	7,1	7,3	7,2	6,8	7,4	7,7	7,6
C2	7,4	7,4	7,9	7,5	7,6	7,6	7,6	7,9	7,8	7,9	7,9	7,8
C3	6,9	7,0	7,5	7,2	7,3	7,2	7,4	7,6	7,6	7,9	8,0	7,8
Rata-rata	7,1	6,9	7,6	7,2	7,3	7,3	7,4	7,6	7,4	7,7	7,9	7,7
B1	7,2	7,4	6,2	6,3	7,5	7,3	6,8	6,6	7,6	7,7	8,0	8,0
B2	6,2	5,6	7,7	6,1	7,0	5,9	6,7	5,6	5,8	6,6	7,8	6,9
B3	7,4	7,0	7,3	6,9	7,3	7,6	7,4	7,3	7,1	7,4	7,7	7,8
Rata-rata	6,9	6,7	7,1	6,4	7,3	6,9	7,0	6,5	6,9	7,2	7,8	7,6
A1	7,7	7,6	7,7	7,4	7,3	8,0	7,8	7,0	5,0	4,9	8,1	7,9
A2	7,3	7,2	7,4	6,9	7,9	8,5	8,3	7,9	8,1	8,0	8,4	8,4
A3	6,9	6,2	7,1	5,7	6,5	7,2	6,4	7,3	5,9	6,7	7,3	7,8
Rata-rata	7,3	7,0	7,4	6,6	7,3	7,9	7,5	7,4	6,3	6,5	7,9	8,1
K-(1)	7,3	6,8	6,8	6,8	6,5	7,1	6,4	5,8	5,8	7,3	7,8	7,8
K-(2)	6,9	5,5	6,4	6,1	6,3	6,8	6,2	6,1	6,9	7,5	8,0	7,4
K-(3)	7,3	7,0	7,2	7,4	7,4	7,2	7,2	7,5	7,4	7,6	7,8	7,9
Rata-rata	7,2	6,4	6,8	6,8	6,7	7,0	6,6	6,5	6,7	7,4	7,9	7,7
K+(1)	7,8	7,3	8,0	7,5	7,9	8,5	7,5	7,9	7,9	7,3	8,0	8,1
K+(2)	7,9	7,6	7,8	7,1	7,5	7,8	7,4	7,2	6,9	7,1	7,6	7,5
K+(3)	6,9	6,5	8,2	7,5	7,9	8,7	8,3	7,4	7,8	7,8	7,8	7,8
Rata-rata	7,5	7,1	8,0	7,4	7,7	8,3	7,7	7,5	7,5	7,4	7,8	7,8

- Kisaran 4,9-8,7 mg/L