

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

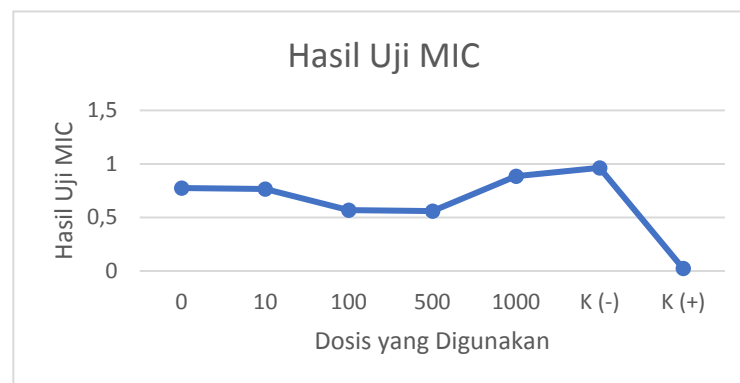
4.1. Hasil Uji MIC

Berdasarkan hasil uji MIC dengan dosis 0 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm di dapatkan data yang disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 5.

Tabel 3. Data Hasil Uji MIC

No	Dosis (ppm)	Hasil Uji MIC
1	0	0,774
2	10	0,767
3	100	0,569
4	500	0,561
5	1000	0,887
6	K (-)	0,964
7	K (+)	0,024

Dari data Tabel 3 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 10 ppm-100 ppm terlihat warna media bakteri dalam tabung reaksi warnanya keruh, 1000 ppm warna media bakteri kuning kehijauan. Sedangkan pada konsentrasi 500 ppm warna media bakteri terlihat jernih mendekati K+. Selanjutnya Berdasarkan hasil uji MIC menunjukkan bahwa dosis penghambat minimal dan dosis terendah ekstrak antibakteri yang mampu membunuh bakteri pada dosis 500 ppm dengan hasil optical dencity sebesar 0,561, hal ini dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil Uji MIC

Berdasarkan Gambar 5 terlihat bahwa hasil terendah yang mendekati kontrol positif (K+) yaitu dengan perlakuan yang menggunakan antibiotik

chloramphenicol. Setelah diketahui dosis terendah dari ekstrak tanaman Suruhan maka dapat ditentukan dosis yang digunakan dalam uji lanjutan yaitu Uji LD₅₀ dengan range 500 ppm, 600 ppm, 700 ppm, dan 800 ppm. Hal ini di dukung oleh pernyataan Benson (1990), antibakteri dikategorikan sebagai bakteristatik jika pada konsentrasi tersebut bakteri tidak mengalami kematian, namun juga tidak tumbuh. Antibakteri dikategorikan sebagai bakteriosidal juga pada konsentrasi tersebut bakteri mengalami kematian. Soelama *et al.* (2015), menjelaskan bahwa senyawa antibakteri hanya bersifat bakteristatik karena hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Suatu antimikroba bersifat bakteristatik jika senyawa antimikroba tersebut hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri ketika pemberian senyawa terus dilakukan namun jika dihentikan atau habis, maka pertumbuhan bakteri akan kembali meningkat yang ditandai dengan masih adanya pertumbuhan koloni bakteri. Sebaliknya bersifat bakteriosid jika kejernihan meningkat pada masa inkubasi berikutnya, hal ini dikarenakan senyawa tersebut mampu membunuh dan menghentikan aktivitas fisiologis dari bakteri, meskipun pemberian senyawa tersebut dihentikan. Selanjutnya dilakukan uji LD₅₀ untuk mengetahui tingkat toksisitas dari tanaman suruhan terhadap ikan koi.

4.2. Hasil Uji LD₅₀

LD₅₀ merupakan tingkat toksisitas dari ekstrak tanaman suruhan pada kematian ikan uji yang mencapai 50% dari total ikan disetiap dosis pada waktu beberapa jam (Mulia dan Cahyono, 2007). Berdasarkan hasil uji LD₅₀ dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji LD₅₀.

No	Dosis (ppm)	Prosentase LD ₅₀	Keterangan
1	500	100%	Ikan sehat
2	600	100%	Ikan sehat
3	700	80%	Ikan mati pada jam ke 28
4	800	50%	Ikan mati pada jam ke 48

Berdasarkan hasil LD₅₀ pada Tabel 4 menunjukkan bahwa dosis 800 ppm ikan mengalami kematian sebesar 50% pada jam ke 48. Sehingga penentuan dosis yang digunakan yaitu dosis 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, dan 700 ppm. Dosis tersebut dijadikan acuan karena selama LD₅₀ ikan tidak mengalami kematian sebanyak 50%. Menurut Assagaf *et al.* (2013), uji toksisitas akut dirancang untuk menentukan *Lethal Dose* atau disingkat dengan LD₅₀ suatu zat. LD₅₀ didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diperkirakan akan membunuh 50% hewan percobaan.

Ekstrak suruhan *P. pellucida L* tidak bersifat racun bagi ikan bila diberikan dibawah dosis 800 ppm, sehingga bila diaplikasikan pada ikan diperlukan pembatasan dosis larutan yang tidak bersifat racun tetapi dapat meningkatkan daya tahan tubuh ikan terhadap serangan bakteri. Toksisitas ikan dimulai pada saat mekanisme pertahanan sudah habis atau jalur detoksifikasi (biokimia) mengalami kejenuhan sehingga ikan stres, ikan yang tidak tahan mengalami kematian (Lukistyowati, 2012).

4.3. Kelimpahan Bakteri *A. hydrophilla*

Hasil pengamatan selama penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak tanaman suruhan (*P. pellucida L*) dengan dosis yang berbeda terhadap kelimpahan bakteri *A. hydrophilla* pada media pemeliharaan ikan koi menunjukkan bahwa kelimpahan koloni bakteri yang diamati pada cawan petri sebelum perlakuan (H-0), sampel air hari ke 8 pemeliharaan (H-8), sampel air pada pemeliharaan hari ke 9 (H-9), sampel air pada media pemeliharaan hari ke 10 (H-10) dengan perlakuan dosis ekstrak tanaman suruhan (*P. pellucida L*) yang berbeda yaitu perlakuan A; 400 ppm, perlakuan B; 500 ppm; perlakuan C; 600 ppm, dan perlakuan D; 700 ppm, dapat dilihat pada Tabel 5 dan Lampiran 5 sebagai berikut:

Tabel 5. Data Kelimpahan Bakteri *A. hydrophila* (CFU/ml)

Padat tebar	ulangan	Masa pemeliharaan			
		H-0	H-8	H-9	H-10
A	1	305 x 10 ⁴	339 x 10 ¹⁸	290 x 10 ¹⁶	330 x 10 ¹⁴
	2	305 x 10 ⁴	350 x 10 ¹⁸	303 x 10 ¹⁶	312 x 10 ¹⁴
	3	305 x 10 ⁴	349 x 10 ¹⁸	327 x 10 ¹⁶	314 x 10 ¹⁴
B	1	302 x 10 ⁴	300 x 10 ¹⁸	257 x 10 ¹⁶	334 x 10 ¹⁴
	2	302 x 10 ⁴	337 x 10 ¹⁸	347 x 10 ¹⁶	336 x 10 ¹⁴
	3	302 x 10 ⁴	184 x 10 ¹⁸	176 x 10 ¹⁶	158 x 10 ¹⁴
C	1	241 x 10 ⁴	204 x 10 ¹⁸	314 x 10 ¹⁶	343 x 10 ¹⁴
	2	241 x 10 ⁴	342 x 10 ¹⁸	291 x 10 ¹⁶	335 x 10 ¹⁴
	3	241 x 10 ⁴	351 x 10 ¹⁸	311 x 10 ¹⁶	350 x 10 ¹⁴
D	1	182 x 10 ⁴	194 x 10 ¹⁸	350 x 10 ¹⁶	337 x 10 ¹⁴
	2	182 x 10 ⁴	351 x 10 ¹⁸	330 x 10 ¹⁶	329 x 10 ¹⁴
	3	182 x 10 ⁴	206 x 10 ¹⁸	299 x 10 ¹⁶	315 x 10 ¹⁴

Berdasarkan hasil Tabel 5 dapat diketahui bahwa hasil perhitungan total kelimpahan bakteri yang ada di dalam media hidup ikan koi pada tiap-tiap perlakuan telah mengalami penurunan jumlah kepadatannya, hal ini juga di karenakan jumlah dosis yang di berikan pada setiap perlakuan yaitu 400 ppm, 500 pm, 600 ppm dan 700 ppm. Semakin tinggi dosis yang di berikan pada media hidup ikan koi, jumlah kelimpahan bakteri semakin menurun, hal ini di dukung oleh pernyataan Schleigel (1994), kemampuan suatu mikroorganisme sangat tergantung dari dosis bahan bakteri itu, selain faktor dosis, jenis bahan antimikroba juga menentukan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri. Lebih lanjutnya dikatakan oleh Ajizah (2004), bahwa semakin kecil dosis maka semakin sedikit jumlah zat aktif yang terkandung di dalamnya, sehingga semakin rendah kemampuan dalam menghambat pertumbuhan suatu bakteri.

Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh pemberian dosis yang berbeda terhadap kelimpahan bakteri *A. hydrophila* dilakukan Uji Sidik Ragam (Tabel 6), untuk perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 5

Tabel 6. Uji Sidik Ragam Kelimpahan Bakteri *A. hydrophila*

SK	DB	JK	KT	F.hit	F5%	F1%
Perlakuan	3	0,11	0,04	39,81**	4,07	7,59
Acak	8	0,01	0,00	-	-	-
Total	11	0,12	-	-	-	-

Keterangan **: Berpengaruh sangat nyata

Berdasarkan dari uji Sidik Ragam pada Tabel 6 diperoleh F hitung sebesar 39,81 lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1% yang berarti bahwa penggunaan ekstrak tanaman suruhan (*P. pellucida* L) dengan dosis yang berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap kelimpahan bakteri *A. hydrophila* yang berada pada media hidup ikan koi (*C. carpio* L).

Data hasil Uji Sidik Ragam yang berpengaruh sangat nyata maka perlu dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT), yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan total kelimpahan bakteri antar perlakuan. Hasil dari Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dapat dilihat pada Tabel 7 dan perhitungan lengkap Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dapat dilihat pada Lampiran 5

Tabel 7. Data Uji BNT Kelimpahan Bakteri *A. hydrophila* Selama Penelitian

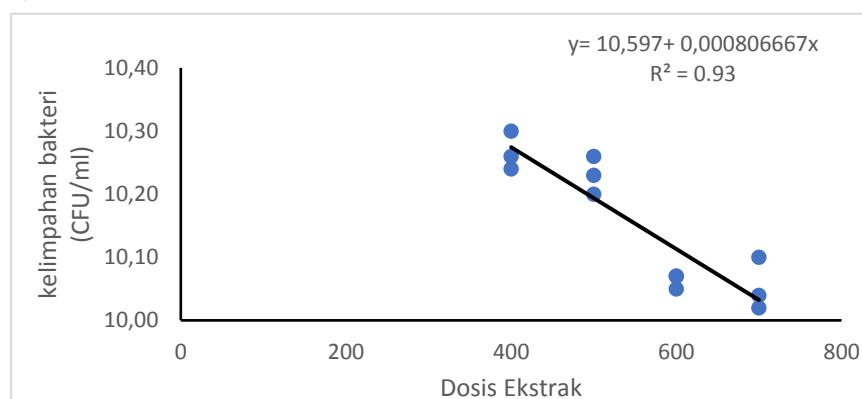
PERLAKUAN					NOTASI
	A	B	C	D	
	10,27	10,23	10,06	10,05	
A	10,27	-	-	-	a
B	10,23	0,04 ^{ns}	-	-	a
C	10,06	0,21 ^{**}	0,17 ^{**}	-	b
D	10,05	0,22 ^{**}	0,18 ^{**}	0,01 ^{ns}	b/c

Keterangan :

* : Berbeda Nyata

** : Berbeda Sangat Nyata

Selanjutnya untuk mengetahui regresi atau bentuk hubungan antara perlakuan dengan ulangan dapat dilakukan perhitungan polinomial orthogonal yang didapatkan grafik pada Gambar 6 serta perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 5.



Gambar 6. Grafik Hubungan Antara Dosis Ekstrak Tanaman Suruhan (*P. pellucida* L) dengan Kelimpahan Bakteri *A. hydrophila* (CFU/ml).

Grafik pada Gambar 6 menunjukkan pola persamaan linier negatif dengan persamaan $y = 10,597 + 0,000806667x$ dengan koefisien $R^2 = 0,93$. Nilai R^2 sebesar 0,93 artinya perbedaan jumlah dosis ekstrak tanaman suruhan (*P. pellucida L*) berpengaruh sebesar 0,93 terhadap total kepadatan bakteri yang berada pada media hidup ikan koi (*C. carpio L*). Perhitungan lengkap uji polinomial orthogonal dan penentuan persamaan regresi linier dapat dilihat pada Lampiran 5. Menurut Gambar 6 menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan kepada ikan maka jumlah kelimpahan bakteri yang berada di media hidup ikan koi semakin menurun. Hal ini diperkuat dengan pernyataan dari Jawetz *et al.*, (2001), bahwa suatu zat antimikroba menjadi efektif apabila dipengaruhi oleh konsentrasi zat tersebut. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak menyebabkan kandungan bahan aktif yang berfungsi sebagai bahan antimikroba semakin meningkat, sehingga kemampuan dalam menghambat pertumbuhan mikroba juga semakin besar. Ekstrak dari Tanaman suruhan mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan saponin dengan kadarnya yang standart. Senyawa ini diduga bekerja bersama-sama saling menguatkan, diantara senyawa-senyawa tersebut saponin merupakan senyawa yang paling banyak ditemukan, sedangkan alkaloid hanya pada satu pereaksi dinyatakan positif terkandung dalam ekstrak. Senyawa alkaloid yang berjumlah sedikit juga berperan sebagai antimikroba melalui mekanisme kerjanya yang berhubungan dengan kemampuan untuk berinteraksi dengan DNA bakteri (Effa dan Nona, 2015). Sedangkan menurut Kurnianingtyas (2013), saponin dalam jumlah yang sesuai berperan sebagai immunostimulator, sedangkan dalam jumlah yang berlebih saponin akan berperan sebagai immunosupressor (zat yang menekan atau menurunkan sistem imun).

Secara umum pertumbuhan bakteri di perairan dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya adalah suhu, pH, substrat, salinitas. Hal ini didukung oleh Crhismanuel *et al.* (2012), ada beberapa faktor yang dapat menunjang

pertumbuhan bakteri yang berada pada suatu perairan yaitu ion anorganik, oksigen, karbon dioksida, potensial reduksi-oksidasi, temperatur, konsentrasi ion hidrogen dan kondisi osmotik.

4.2. Pengamatan Gejala Klinis Ikan Koi (*C. carpio* L.)

Pengamatan gejala klinis ikan Koi (*C. carpio* L.) dilakukan selama 3 hari pemeliharaan setelah di uji tantang bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan bakteri yaitu 10^7 . Hasil pengamatan gejala klinis dapat dilihat pada Lampiran 8. Berdasarkan Lampiran 8, pengamatan gejala klinis menunjukkan bahwa ikan Koi (*C. carpio* L.) kontrol positif selama pemeliharaan masih terlihat sehat dilihat dari warna tubuh, pergerakan ikan. Sedangkan kontrol negatif dan perlakuan A, B, C dan D menunjukkan adanya gejala klinis akibat di uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* terlihat dari warna tubuh, pergerakan ikan yang tidak normal. Hal ini didukung oleh pernyataan dari Nurjanah *et al.*, 2014 gejala klinis pada ikan tersebut mengindikasikan terinfeksi bakteri *A. hydrophila* yaitu borok atau luka pada tubuh ikan, kembung, mata menonjol (*exophthalmia*), warna tubuh menjadi gelap, timbul pendarahan, gerak lamban, sirip geripis, warna tubuh pucat, insang dan permukaan tubuh luka, produksi lendir berlebih dan sisik lepas dan kasar serta diikuti dengan pendarahan dibagian dalam.

4.3. Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio* L)

Hasil penelitian pemberian ekstrak tanaman suruhan (*P. pellucida* L) kedalam masing-masing akuarium dengan dosis yang berbeda terhadap ikan koi (*C. carpio* L) dengan ukuran 8-13 cm yang terinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* pada masing-masing perlakuan menghasilkan 100% kelulushidupan selama 10 hari masa pemeliharaan. Seperti yang terlihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Nilai Rata-rata Kelulushidupan

perlakuan	ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
A (400 ppm)	100	100	100	100
B(500 ppm)	100	100	100	100
C(600 ppm)	100	100	100	100
D(700 ppm)	100	100	100	100
K+	100	100	100	100
K-	100	100	100	100

Dari Tabel 8 dapat dilihat hasil perhitungan data kelulushidupan ikan koi (*C. carpio* L) pada seluruh perlakuan yaitu perlakuan A (400 ppm), B (500 ppm), C (600 ppm), D (700 ppm), K+ dan K- di dapatkan hasil kelulushidupan dengan rata-rata 100%. Perendaman ekstrak tanaman suruhan (*P. pellucida* L) dapat meningkatkan sistem imunitas pada ikan koi *C. carpio* L sehingga kelulushidupan dapat mencapai 100%. Mekanisme kerja tannin terhadap *A. hydrophilla* dalam tubuh ikan menurut Rahmaningsih (2012) bereaksi dengan cara sel membran bakteri inaktivasi enzim-enzim esensial bakteri dan destruksi atau inaktivasi fungsi dari material genetik bakteri. Tanin merupakan senyawa polifenol dengan bobot molekul tinggi. Senyawa fenol bekerja dengan mendenaturasi protein sel bakteri, dan kerusakan tersebut sifatnya irrevesible.

4.4. Kualitas Air Media Pemeliharaan Ikan Koi (*Cyprinus carpio* L)

Beberapa parameter yang diamati dalam penentuan kualitas air dalam penelitian adalah pH, suhu dan oksigen terlarut. Pengukuran kualitas air dilakukan setiap hari pada pagi dan sore hari. Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian dapat di lihat pada Tabel 8 dan data kualitas air yang lengkap dapat dilihat pada Lampiran 7

Tabel 8 Data Pengamatan Kualitas Air Selama Penelitian

No	Parameter Kualitas Air	Kisaran Parameter Kualitas Air	Menurut Pustaka
1	Suhu	25-26 ⁰ C	25-30 ⁰ C (Susana,2009)
2	pH	7,1-7,6	6,7-8,3 (Bolorunduro dan Abdullah (1996)
3	Oksigen terlarut	1,96-3,00 ppm	5-7 ppm (Harsono,2010)

4.4.1. Suhu

Hasil pengukuran suhu yang dilakukan selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 8 diketahui rata-rata pengukuran suhu terbesar 25-26⁰C nilai tersebut masih berada pada kisaran normal suhu untuk media hidup ikan koi (*C. carpio* L). Hal ini sesuai dengan pendapat Effendi,2003 *dalam* Rudiyaniti 2009, ikan dapat tumbuh dengan baik pada kisaran suhu antara 20-30⁰C. Menurut Bolorunduro dan Abdullah (1996), suhu perairan pada kisaran 25-32⁰C sangat baik untuk kegiatan budiaya.

4.4.2. pH

Hasil pengukuran pH yang dilakukan selama penelitian dapat di lihat pada data Tabel 10 diketahui nilai rata-rata pengukuran pH sebesar 7,1-7,6. Nilai tersebut masih termasuk dalam kisaran normal, sesuai dengan pernyataan Susana (2009), sebagian besar binatang akuatik sangat sensitif dalam perubahan pH, maka nilai yang optimal untuk mendukung kehidupan biota perairan berkisar antara 7-8,5. Menurut Rudiyaniti (2009), nilai kisaran pH yang baik untuk budidaya yaitu 6,5-8,4.

4.4.3. Kandungan Oksigen Terlarut

Hasil pengukuran kandungan oksigen terlarut yang dilakukan selama penelitian, dari data pada Tabel 10 dapat diketahui nilai rata-rata pengukuran oksigen terlarut sebesar 1,96-3.00 ppm. Nilai tersebut masih dalam kisaran yang normal. Menurut Harsono (2010), kisaran kandungan oksigen terlarut minimum yang dapat diterima sebagian besar spesies ikan untuk hidup dengan baik adalah 5 ppm-7 ppm. Menurut Susana (2009), kualitas air merupakan salah satu aspek penting untuk mendukung kelangsungan hidup semua komponen yang ada di dalam perairan. Salah satu parameter kualitas air adalah DO. Kisaran DO yang tepat untuk kelangsungan hidup ikan yaitu berkisar antara 3,5 - 4,5 ppm.