

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK KASAR DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*
Wight.) TERHADAP BAKTERI *Vibrio parahaemolyticus* SECARA IN VITRO**

**LAPORAN SKRIPSI
BUDIDAYA PERAIRAN**

**OLEH :
MARINDHA NUR SABRINA
NIM. 0710850005**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2011**

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK KASAR DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*
Wight.) TERHADAP BAKTERI *Vibrio parahaemolyticus* SECARA IN VITRO**

**Skripsi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan Fakultas Perikanan
dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya**

Oleh:

**MARINDHA NUR SABRINA
NIM. 0710850005**

MENYETUJUI

DOSEN PENGUJI I

DOSEN PEMBIMBING I

**Ir. MAHENO SRIWIDODO, MSi
NIP. 19600425 198503 1 002**

**Prof.Dr. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS
NIP. 19550213 198403 1 001**

Tanggal :

Tanggal :

DOSEN PENGUJI II

DOSEN PEMBIMBING II

**Ir. ARNING WILUJENG E., MS
NIP. 19620805 198603 2 001**

**Ir. ELLANA SANOESI, MP
NIP. 19630924 199803 2 002**

Tanggal :

Tanggal :

MENGETAHUI

KETUA JURUSAN MSP

**Dr.Ir. HAPPY NURSYAM, MS
NIP. 19600322 198601 1 001**

Tanggal :

RINGKASAN

MARINDHA NUR SABRINA. Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara In Vitro. Dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS** dan **Ir. ELLANA SANOESI, MP).**

Penyakit dapat merupakan segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan suatu fungsi atau struktur dari alat tubuh atau sebagian alat tubuh, baik secara langsung maupun tidak langsung. Penyakit yang menyerang tidak datang begitu saja, melainkan melalui proses hubungan antara tiga faktor, yaitu kondisi lingkungan (kondisi dalam air), kondisi inang dan adanya jasad patogen (jasad penyakit).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan ekstrak daun salam (*S. polyanthum* Wight.) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* secara in-vitro. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi dalam pencegahan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *V. parahaemolyticus* dengan menggunakan ekstrak daun salam (*S. polyanthum* Wight.). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, pada tanggal 12 April 2011 sampai dengan 2 Mei 2011.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen, sedangkan rancangan percobaan yang digunakan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang diberikan adalah pemberian ekstrak kasar daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 0% (kontrol), 0,3%, 0,6%, 0,9%, dan 1,2%. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali. Parameter utama dalam penelitian ini adalah diameter daerah hambatan disekitar kertas cakram yang direndam dengan ekstrak kasar daun salam terhadap pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus*, sedangkan parameter penunjang dari penelitian ini adalah suhu inkubator dan pH media.

Ekstrak kasar daun salam (*Syzygium polyanthum*) terbukti berpengaruh terhadap diameter daerah hambatan *V. parahaemolyticus* dan mampu berperan sebagai antibakteri. Pada konsentrasi 0,3%, 0,6%, 0,9%, dan 1,2% bersifat bakteristatik (menghambat pertumbuhan bakteri) pada bakteri *V. parahaemolyticus*. Hasil dari pengujian cakram diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak kasar daun salam maka berpengaruh semakin besar daerah hambatan yang terbentuk. Hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar daun salam dengan diameter daerah hambatan berbentuk linear dengan persamaan garis $y = 5,866 + 2,966x$ dan $R = 0,958$. Sebagai parameter penunjang, yaitu pH media dan suhu inkubator masih berada dalam kisaran normal yaitu untuk pH 7 dan suhu 35°C.

Dari hasil penelitian dapat disarankan bahwa untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* digunakan ekstrak kasar daun salam (*S. polyanthum*) dengan konsentrasi 1,2%, dan perlu diadakan penelitian lanjutan dengan menggunakan konsentrasi yang lebih tinggi untuk mengetahui konsentrasi daya hambat maksimum dari ekstrak kasar daun salam (*S. polyanthum*).

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Allah SWT atas rahmat, hidayah serta petunjuk-Nya karena penulis diberi kesempatan, bimbingan dan kekuatan sehingga dapat menyajikan tulisan skripsi yang berjudul “Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara In Vitro”. Sholawat serta salam semoga selalu tercurah pada junjungan kita Nabi Besar Muhammad SAW sebagai teladan umat manusia.

Laporan ini merupakan suatu hasil dari penelitian skripsi yang telah dilaksanakan pada tanggal 12 April 2011 sampai dengan 2 Mei 2011, bertempat di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Laporan ini juga merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana (S-1) pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan laporan ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu penulis menerima dengan senang hati segala saran yang bersifat membangun. Semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya.

Malang, 23 Mei 2011

Penulis

SURAT PERNYATAAN

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

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



Malang, 23 Mei 2011

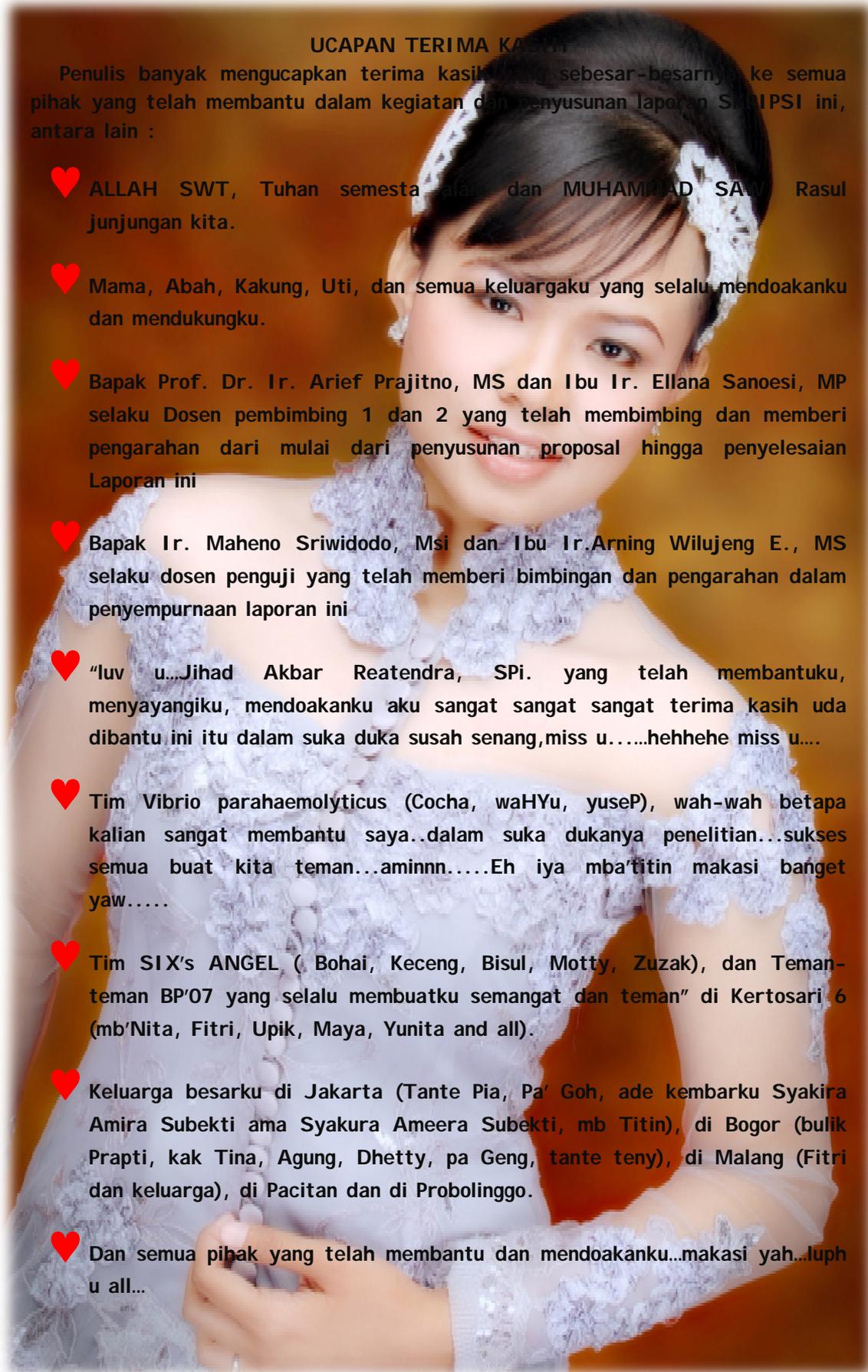
Mahasiswa

Marindha Nur Sabrina
NIM. 0710850005

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis banyak mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya ke semua pihak yang telah membantu dalam kegiatan dan penyusunan laporan S1/PSI ini, antara lain :

- ♥ ALLAH SWT, Tuhan semesta alam dan MUHAMMAD SAW Rasul junjungan kita.
- ♥ Mama, Abah, Kakung, Uti, dan semua keluargaku yang selalu mendoakanku dan mendukungku.
- ♥ Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS dan Ibu Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku Dosen pembimbing 1 dan 2 yang telah membimbing dan memberi pengarahan dari mulai dari penyusunan proposal hingga penyelesaian Laporan ini
- ♥ Bapak Ir. Maheno Sriwidodo, Msi dan Ibu Ir. Arning Wilujeng E., MS selaku dosen penguji yang telah memberi bimbingan dan pengarahan dalam penyempurnaan laporan ini
- ♥ "Iuv u...Jihad Akbar Reatendra, SPi. yang telah membantuku, menyayangiku, mendoakanku aku sangat sangat sangat terima kasih uda dibantu ini itu dalam suka duka susah senang, miss u.....hehhehe miss u....
- ♥ Tim Vibrio parahaemolyticus (Cocha, waHYu, yuseP), wah-wah betapa kalian sangat membantu saya..dalam suka dukanya penelitian...sukses semua buat kita teman...aminnn.....Eh iya mba'titin makasi banget yaw.....
- ♥ Tim SIX's ANGEL (Bohai, Keceng, Bisul, Motty, Zuzak), dan Teman-teman BP'07 yang selalu membuatku semangat dan teman" di Kertosari 6 (mb/Nita, Fitri, Upik, Maya, Yunita and all).
- ♥ Keluarga besarku di Jakarta (Tante Pia, Pa' Goh, ade kembarku Syakira Amira Subekti ama Syakura Ameera Subekti, mb Titin), di Bogor (bulik Prapti, kak Tina, Agung, Dhetty, pa Geng, tante teny), di Malang (Fitri dan keluarga), di Pacitan dan di Probolinggo.
- ♥ Dan semua pihak yang telah membantu dan mendoakanku...makasi yah...luph u all...



DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
UCAPAN TERIMAKASIH	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR TABEL	ix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Kegunaan Penelitian	3
1.5 Hipotesis	3
1.6 Tempat dan Waktu	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	5
2.1.1 Klasifikasi	5
2.1.2 Morfologi	5
2.1.3 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan	6
2.1.4 Penyebaran dan Habitat	7
2.1.5 Patogenis dan Sumber Infeksi	8
2.2 Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	9
2.2.2 Penyebaran dan Habitat Tanaman Salam (<i>S. polyanthum</i>)	10
2.2.3 Manfaat Salam (<i>S. polyanthum</i>)	11
2.2.4 Kandungan Senyawa Aktif Salam (<i>S. polyanthum</i>)	11
2.2.5 Mekanisme Senyawa Antimikroba	12
2.3 Uji Efektivitas Antimikroba In Vitro	13
2.3.1 Metode Pengenceran	14
2.3.2 Metode Cakram	14
BAB 3. MATERI DAN METODE	16

3.1 Materi Penelitian	16
3.1.1 Alat- alat penelitian.....	16
3.1.2 Bahan- bahan Penelitian	16
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian	17
3.2.1 Metode Penelitian	17
3.2.2 Rancangan Penelitian	18
3.3 Prosedur Penelitian	19
3.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	19
3.3.2 Ekstraksi Daun Salam (<i>S. polyanthum</i>).....	20
3.3.3 Pembuatan Media.....	20
3.4.5 Inokulasi Bakteri.....	21
3.4 Pelaksanaan Penelitian	22
3.4.1 Uji MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>).....	22
3.4.2 Uji Cakram	23
3.5 Parameter uji	25
3.5.1 Parameter Utama.....	25
3.5.2 Parameter Penunjang	25
3.6 Analisis Data.....	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Pembiakan Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	26
4.2 Uji MIC Ekstrak Kasar Daun Salam terhadap Bakteri <i>V.parahaemolyticus</i>	28
4.3 Uji Cakram Ekstrak Kasar Daun Salam terhadap Bakteri <i>V.parahaemolyticus</i>	30
4.4 Lingkungan Hidup Bakteri <i>V.parahaemolyticus</i>	36
BAB 5. KESIMPULAN	38
4.5 Kesimpulan	38
4.6 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN.....	43

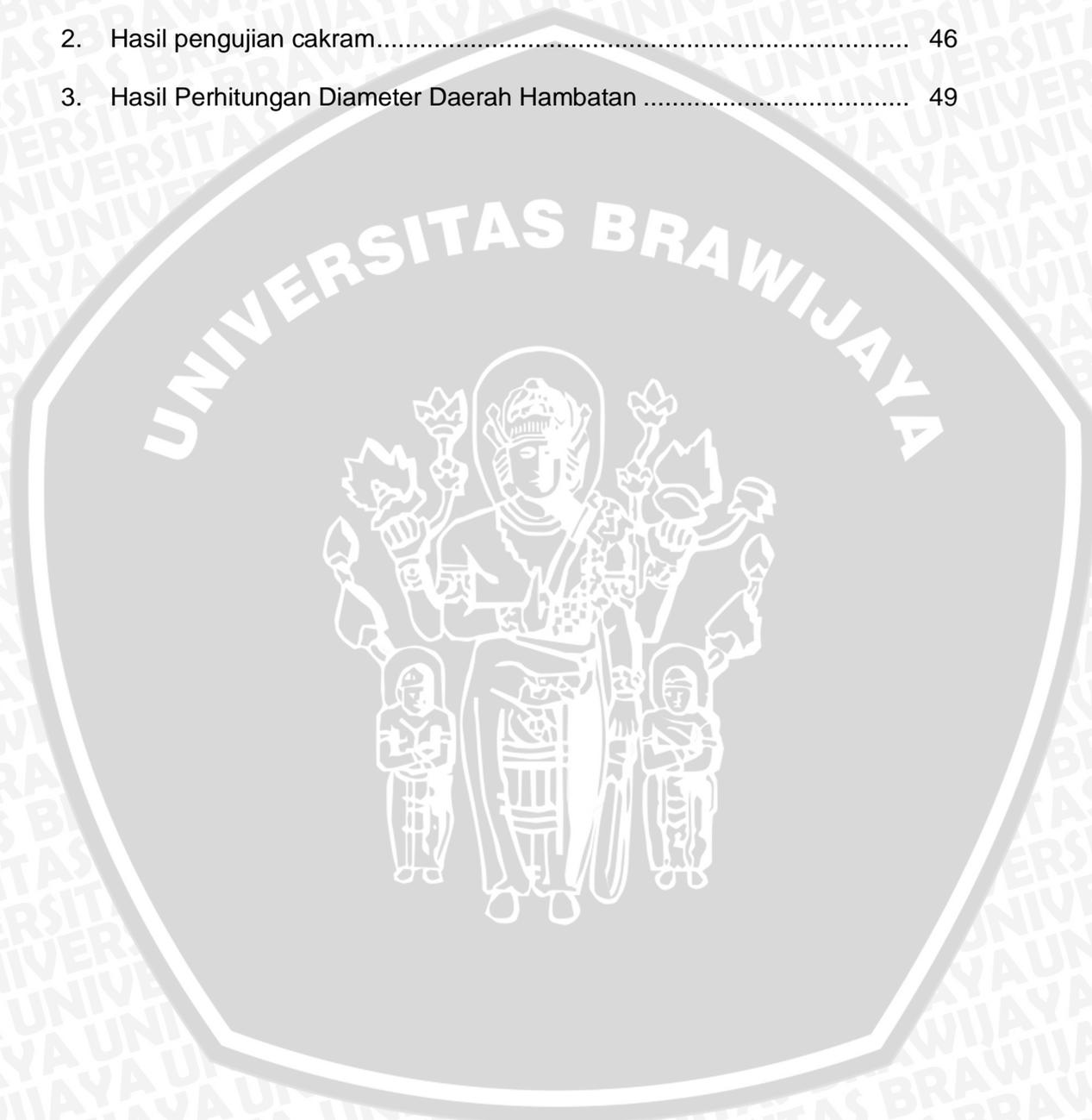
DAFTAR GAMBAR

Gambar.	Halaman
1. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	6
2. Pohon Salam dan Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).....	10
3. Denah Penelitian.....	19
4. Biakan murni bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> pada media TCBSA dengan metode gores.....	27
5. Hasil Uji MIC	30
6. Diagram Batang Hubungan antara Konsentrasi Ekstrak Kasar Daun Salam (<i>S.polyanthum</i>) dengan Diameter Daerah Hambatan Bakteri <i>V.parahaemolyticus</i>	33
7. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar daun Salam terhadap diameter daerah hambatan bakteri <i>V.parahaemolyticus</i>	34



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran.	Halaman
1. Alat dan Bahan yang digunakan pada waktu penelitian	43
2. Hasil pengujian cakram.....	46
3. Hasil Perhitungan Diameter Daerah Hambatan	49



DAFTAR TABEL

Tabel.	Halaman
1. Konsentrasi Ekstrak Daun Salam (<i>S. polyanthum</i>) untuk Uji MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>).....	23
2. Penentuan konsentrasi ekstrak kasar daun salam untuk uji cakram.....	24
3. Hasil Pengujian MIC Ekstrak Kasar Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>) dan Tingkat Kekeruhannya dengan Spektrofotometer	29
4. Data Hasil Pengukuran Diameter Daerah Hambatan (mm) ekstrak kasar Daun Salam (<i>S.polyanthum</i>) terhadap daya hambat bakteri <i>V.parahaemolyticus</i>	31
5. Hasil Analisa Keragaman Diameter Daerah Hambatan.....	33
6. Hasil Uji BNT Diameter Daerah Hambatan	34



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Teknologi perbenihan di Indonesia telah berkembang dan maju dengan pesat namun, teknologi yang telah berkembang tersebut tidak selamanya dapat diaplikasikan pada semua tempat dan semua waktu mengingat bahwa letak geografis yang berbeda membuat cuaca dan kondisi perairan berbeda pula. Ketersediaan sarana dan prasarana yang terbatas membuat penerapan suatu teknologi membutuhkan penyesuaian dan modifikasi sesuai dengan kondisi yang ada pada tempat dilakukannya usaha perbenihan agar teknologi yang digunakan benar-benar cocok dan masyarakat disekitar sehingga menghasilkan produksi yang lebih baik (Ramlan, Marwa, Abdul, dan Suharto, 2008).

Dalam rangka mendukung peningkatan produksi perikanan, akhir-akhir ini budidaya sedang dikembangkan dan mendapat perhatian dari masyarakat. Sejalan dengan berkembangnya usaha budidaya ikan tersebut, terdapat beberapa masalah yang mengganggu, sehingga menghambat perkembangan usaha budidaya, yaitu hama dan penyakit ikan. Apabila keadaan tersebut tidak segera ditanggulangi lebih awal, maka kegiatan budidaya akan terganggu, akibatnya ikan akan menurun karena tingkat kematiannya tinggi. Untuk menghindari hal tersebut perlu diupayakan pencegahan dan pengobatan terhadap hama dan penyakit ikan (Anonymous, 2010).

Penyakit dapat didefinisikan sebagai segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan suatu fungsi atau struktur dari alat tubuh atau sebagian alat tubuh, baik secara langsung maupun tidak langsung (Kordi, 2004). *Vibrio spp.* tersebar luas di lingkungan perairan laut dan sering diisolasi dari ikan, udang-udangan, kerang-kerangan dan makanan laut lainnya (Prajitno, 2007).

Keberhasilan dalam pengendalian penyakit sangat ditentukan oleh ketepatan diagnosis maupun penanggulangannya. Sampai saat ini aplikasi obat-obatan menyebabkan resistensi bakteri sehingga diperlukan alternatif yang lain yang lebih efektif dan aman (Nitimulyo, Alim, Triyanto, Indah, dan Muhammad, 2005). Telah diketahui bahwa, Indonesia kaya akan tanaman berkhasiat obat. Sejak lama manusia menggunakan tumbuhan dan bahan alam lain sebagai obat untuk mengurangi rasa sakit, menyembuhkan dan mencegah penyakit tertentu (Iman, 2010). Secara turun-temurun, daun salam dipercaya memiliki beragam khasiat pengobatan mulai dari penyakit ringan hingga penyakit berat, diantaranya merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme. Namun, hingga kini belum ada penelitian khusus yang tentang khasiat tanaman tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* merupakan bakteri halofilik yaitu dapat tumbuh pada air yang berkadar garam tinggi. Bakteri ini tumbuh pada salinitas 30 ppt (Syamsir, 2010). Hal ini diperkuat dalam pernyataan Violy (2010), spesies *Vibrio* umumnya menyerang larva udang, juvenil ikan, dan kerang-kerangan yaitu pada saat dalam keadaan stress dan lemah, bakteri ini dapat menyerang sistem kekebalan tubuhnya.

Obat tradisional berupa jamu maupun tanaman obat banyak digunakan oleh masyarakat. Bahkan dari masa ke masa obat tradisional mengalami perkembangan yang semakin meningkat, terlebih dengan munculnya isu kembali ke alam (*back to nature*). Obat-obatan alami sendiri mempunyai kelebihan yang tidak akan menimbulkan kerusakan jaringan yang diakibatkan oleh racun yang dikeluarkan bakteri (Katno dan Pramono, 2010).

Salah satu jenis tanaman yang bisa digunakan untuk pengganti pengobatan bahan kimia adalah tanaman Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.).

Daun Salam (*S. polyanthum*) mempunyai banyak khasiat pengobatan, antara lain untuk mengobati kencing manis, hipertensi, kolesterol tinggi, gastritis, diare, asam urat, eksim, kudis, dan gatal-gatal. Hal ini berhubungan dengan berbagai macam komponen yang terdapat di dalam daun salam. Kandungan kimia tumbuhan tersebut adalah minyak atsiri, tannin, dan flavonoid (Fesya, 2009).

Berdasarkan informasi tersebut maka perlu dilakukan penelitian apakah ekstrak daun salam (*S. polyanthum*) dengan konsentrasi yang berbeda dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara in-vitro.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan ekstrak daun salam (*S. polyanthum* Wight.) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* secara in-vitro.

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi dalam pencegahan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *V. parahaemolyticus* dengan menggunakan ekstrak daun salam (*S. polyanthum* Wight.).

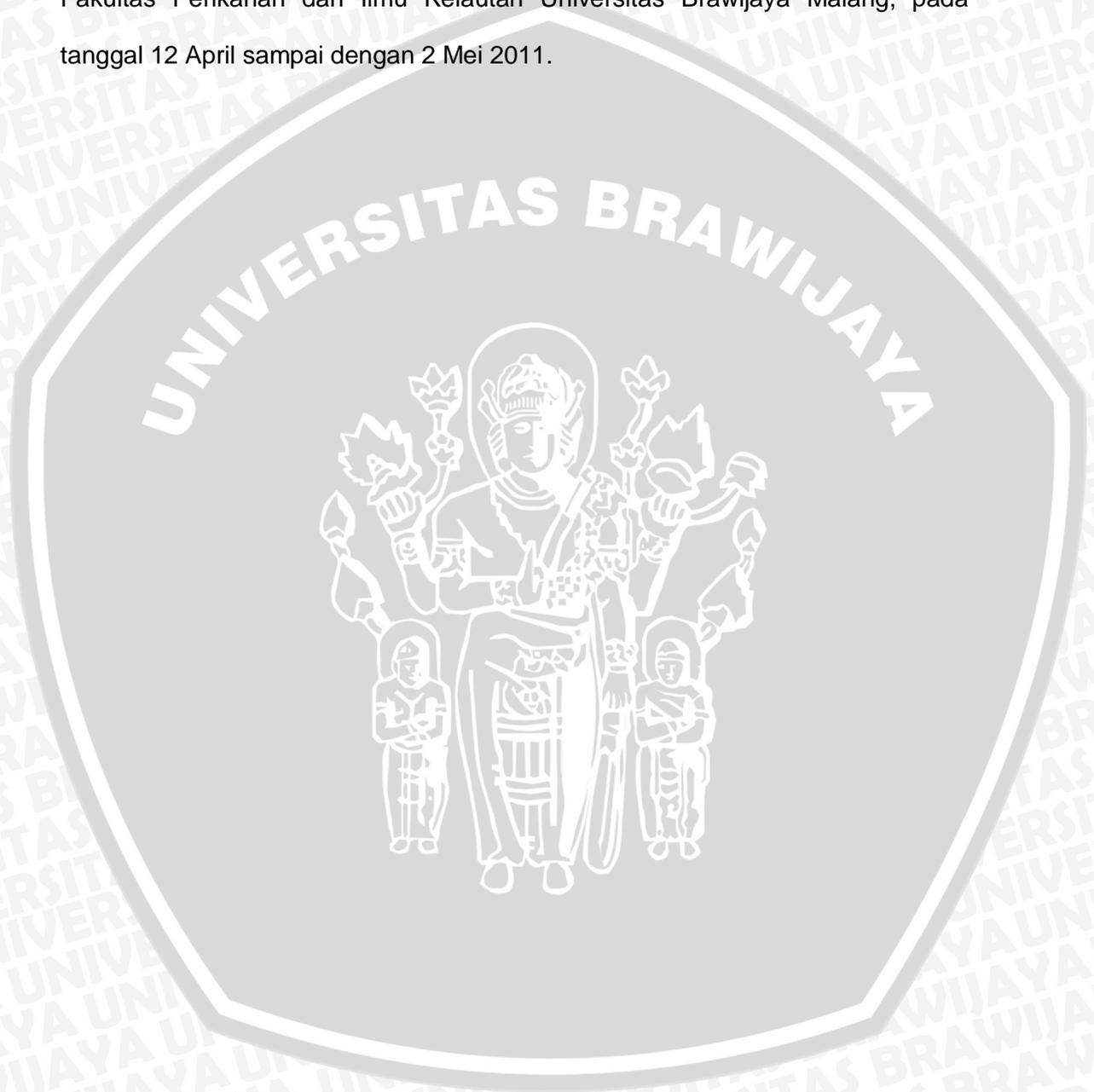
1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga penggunaan ekstrak kasar daun salam (*S. polyanthum* Wight.) dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh terhadap diameter daerah hambatan bakteri *V. parahaemolyticus*

H_1 : Diduga penggunaan ekstrak kasar daun salam (*S. polyanthum* Wight.) dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh terhadap diameter daerah hambatan bakteri *V. parahaemolyticus*

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, pada tanggal 12 April sampai dengan 2 Mei 2011.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

2.1.1 Klasifikasi

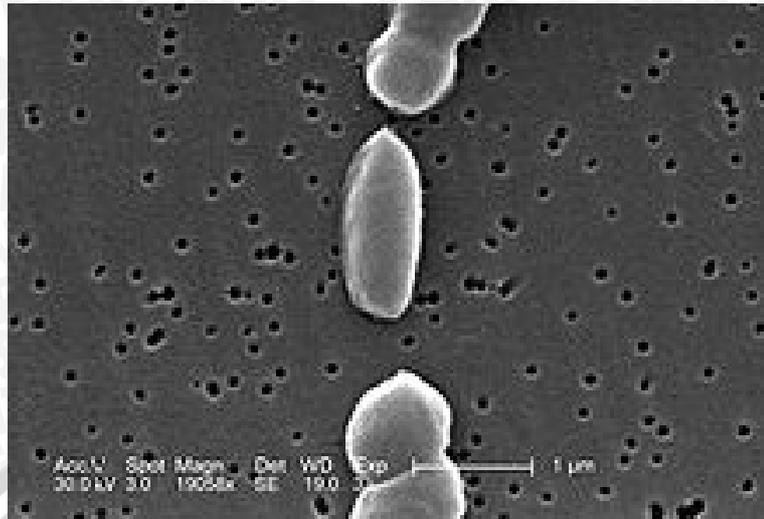
Menurut Santoso (2008), klasifikasi dari bakteri *Vibrio parahaemolyticus* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Vibrionales
Famili	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Species	: <i>Vibrio parahaemolyticus</i>

2.1.2 Morfologi

Dalam Santoso (2008), bakteri *V. parahaemolyticus* (Gambar. 1) merupakan bakteri gram negatif, bersifat motil atau bergerak, berbentuk bengkok atau koma, mampu hidup dalam kondisi ada maupun tidak adanya oksigen dan mempunyai flagell dan tidak dapat membentuk spora.

Sementara itu menurut Santoso (2008), *V. parahaemolyticus* adalah bakteri gram negatif, aerob, bakteri ini dapat bergerak karena mempunyai flagel. Dalam Anonymous (2009), *V. parahaemolyticus* merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek, dan tidak tahan asam. Bakteri ini bersifat anaerobik fakultatif, dapat hidup pada salinitas berkisar antara 20-40 ppt , dengan konsentrasi salinitas optimum 30 ppt.



Gambar 1. *Vibrio parahaemolyticus* (<http://google.com>)

2.1.3 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

Dalam Santoso (2008), bakteri *V. parahaemolyticus* pada terutama hidup di perairan Asia Timur. Bakteri ini tumbuh pada air laut dengan salinitas optimum 30ppt, pada kisaran suhu 5°C - 43°C, pH 4,8 -11. Pertumbuhan berlangsung cepat pada suhu optimum 37°C dengan waktu generasi hanya 9-10 menit. Menurut Prajitno (2007), suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio sp.* berkisar antara 30°C-35°C, sedangkan pada suhu 4°C dan 45°C bakteri tersebut tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55°C akan mati.

Menurut Rahmat (2008), Bakteri *Vibrio sp.* adalah jenis bakteri yang dapat hidup pada salinitas yang relatif tinggi. Sebagian besar bakteri berpendar bersifat halofil yang tumbuh optimal pada air laut bersalinitas 20ppt - 40 ppt, tumbuh pada pH 4 - 9 dan tumbuh optimal pada pH 6,5 - 8,5 atau kondisi basa dengan pH 9,0.

Menurut Dwidjosepoetro (1989), bakteri mempunyai fase perkembangbiakan yaitu :

- Fase adaptasi adalah fase dimana selama 1-2 jam setelah pemindahan belum mengadakan pembiakan.

- Fase pembiakan cepat, dimana pertumbuhan bakteri berlangsung paling cepat.
- Fase pembiakan diperlambat, dimana kecepatan pembiakan bakteri mulai berkurang, pada fase ini tampak sekali adanya penyusutan sel-sel segar, hal ini disebabkan karena faktor-faktor lingkungan seperti perubahan pH, keadaan medium yang memburuk atau menimbulkan zat kotoran.
- Fase konstan, dimana jumlah bakteri yang berbiak sama dengan jumlah bakteri yang mati.
- Fase kematian, pada fase ini jumlah bakteri yang mati semakin banyak dan semakin melebihi jumlah bakteri yang membelah diri.

2.1.4 Penyebaran dan Habitat

Bakteri *Vibrio* merupakan genus yang dominan pada lingkungan air payau. Umumnya bakteri *Vibrio* menyebabkan penyakit pada hewan perairan laut dan payau (Rahmat, 2008). Menurut Santoso (2008), selama musim dingin, organisme ini ditemukan di lumpur laut, sedangkan selama musim panas mereka ditemukan di perairan pantai. Bakteri *V. parahaemolyticus* dapat hidup sebagai koloni pada kerang-kerangan, udang, ikan dan produk makanan laut lainnya. Bakteri *V. parahaemolyticus* hidup pada persekitaran muara sungai (*brackish water* atau *estuaries*), pantai (*coastal waters*) tetapi tidak hidup pada laut dalam (*open sea*).

Menurut Rukyani (1992) dalam Fatimah (2006), penyakit kunang- kunang ternyata hanya dikenal di daerah tropis seperti Filipina, Thailand dan Equador. Penyakit *vibrio* ini telah menyebar diseluruh Indonesia dan kasus serangan dilaporkan terutama terjadi di Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, Sulawesi Selatan, Bali dan Lampung.

2.1.5 Patogenitas dan Sumber Infeksi

Menurut Violy (2010), dalam keadaan alamiah, bakteri *V. parahaemolyticus* hanya patogen terhadap manusia, tetapi secara eksperimen dapat juga menginfeksi hewan. Hewan laut yang telah terinfeksi *Vibrio* khususnya Udang, akan mengalami kondisi tubuh lemah, berenang lambat, nafsu makan hilang. Dalam pernyataan Jayanti, Indah, dan Husnul (2009), bakteri *V. parahaemolyticus* merupakan bakteri patogen penyebab umum keracunan pada *see food*. *V. parahaemolyticus* merupakan agen penyebab penyakit pada udang saat periode larva dan postlarva.

Beberapa tahapan yang terjadi pada infeksi mikroorganisme, yaitu diawali dengan pelekatan adhesi pada permukaan inang yang selanjutnya akan di ikuti dengan pemasukan kedalam sel hospes, kemudian tahap invansi dan penyebaran lokal atau sistemik dalam tubuh inang, multiplikasi kemudian biasanya terjadi kerusakan inang (Yanuhar, Maftuch, Sukoso, dan Sumarno (2004) dalam Sanoesi, 2008)

Adapun sifat pathogenitas bakteri *vibrio* menurut Prajitno (2007) adalah :

- Serangan terjadi secara cepat dan menimbulkan kematian total.
- Udang yang terserang biasanya hancur sehingga bangkainya tidak kelihatan.
- Bakteri ini dapat memusnahkan larva dalam waktu 1-2 hari sejak serangan awal.
- Bakteri ini mudah menular (melalui pakan, air, peralatan maupun aktivitas manusia).
- Dapat menyerang sepanjang tahun tetapi cenderung terjadi saat perubahan iklim atau suhu yang mendadak.

Bakteri *vibrio sp.* bersifat oportunistik dan merupakan bakteri yang sangat ganas dan berbahaya pada budidaya air payau dan laut karena dapat bertindak

sebagai patogen primer dan sekunder. Sebagai patogen primer bakteri masuk ke dalam tubuh ikan melalui kontak langsung, sedangkan sebagai patogen sekunder bakteri menginfeksi ikan yang telah terserang penyakit lain seperti parasit (Prajitno, 2005).

2.2 Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Enda (2009), klasifikasi dari daun Salam (*S. polyanthum*) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Superdivisio	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Myrtales
Familia	: Myrtaceae
Genus	: <i>Syzygium</i>
Spesies	: <i>Syzygium polyanthum</i> (Wight.)

Dalam Enda (2009), pohon Salam (Gambar 2a) mempunyai tinggi sampai 25 m. Batang bercabang-cabang, arah tumbuh batang tegak lurus, berkayu, biasanya keras dan kuat, bentuk batang bulat, permukaan batang beralur. Daun Salam (*S. polyanthum*) (Gambar. 2b) bila diremas berbau harum, berbentuk lonjong, pangkal lancip sedangkan ujung lancip sampai tumpul, panjang 5 cm sampai 15 cm, lebar 35 mm sampai 65 mm.

Menurut Zahara (2006), pohonnya bertajuk rimbun, tinggi mencapai 25 meter, berakar tunggang, batang bulat dan permukaan licin. Daun tunggal yang letaknya berhadapan dengan mempunyai tangkai yang panjang 0,5 cm -1 cm. Helaian daun bentuknya lonjong sampai elips, ujung meruncing, pangkal runcing, tepi rata, panjangnya 5 cm -15 cm, lebar 3 cm-8 cm, pertulangan menyirip,

permukaan atas licin berwarna hijau tua, permukaan bawahnya berwarna hijau muda.



Gambar 2. Pohon Salam (a) dan Daun Salam (*S.polyanthum*) (b)
(<http://google.com>)

2.2.2 Penyebaran dan Habitat Tanaman Salam (*S. polyanthum*)

Salam adalah nama pohon penghasil daun rempah yang dipergunakan dalam masakan nusantara. Tumbuhan ini juga dikenal dengan nama lain seperti ubar serai (Melayu), manting (Jawa), dan gowok (Sunda). Dalam bahasa Inggris dikenal dengan nama *Salam leaf*, sedangkan nama ilmiahnya adalah *S. polyanthum* (Wight.) (Enda, 2009)

Dalam Kurniawati (2010), Salam tumbuh menyebar di Asia Tenggara dan tumbuh liar di hutan-hutan primer dan sekunder, mulai dataran rendah sampai pegunungan dengan ketinggian 1800 meter di atas permukaan laut. Salam juga ditanam di pekarangan sekitar rumah dan lahan pertanian lainnya, untuk diambil daunnya sebagai pelengkap bumbu dapur dan kulit pohonnya sebagai bahan pewarna jala atau anyaman bambu. Tanaman ini berbunga dan hampir berbuah sepanjang tahun dan bisa diperbanyak dengan biji, cangkok, atau stek.

2.2.3 Manfaat Salam (*S. polyanthum*)

Menurut Enda (2009), daun salam digunakan sebagai rempah-rempah pengharum masakan baik untuk masakan ikan, daging, sayur mayur. Dari segi kesehatan daun salam efektif menurunkan kadar gula darah, menurunkan tekanan darah, menurunkan kadar kolesterol darah, menurunkan kadar asam urat. Daun salam juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri- bakteri penyebab penyakit. Karena adanya daya antibakteri ini daun salam berpotensi sebagai obat alam.

Daun salam (*S. polyanthum*) merupakan salah satu obat tradisional yang dapat menyembuhkan penyakit diare. Daun salam mengandung minyak atsiri, saponin, flavonoid, dan yang berguna untuk membunuh bakteri patogen, seperti *Salmonella sp.*, *Bacillus cereus*, *B. Subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* dan *Pseudomonas fluorescens*. Daun salam juga mempunyai efek yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab diare (Hermana, Puspitasari, Wiryawan, Suharti, 2008).

2.2.4 Kandungan Senyawa Aktif Salam (*S. polyanthum*)

Dalam Murtini (2007), kandungan senyawa aktif daun salam adalah minyak atsiri 0.05% (sitral dan eugenol), tannin, flavonoid. Minyak atsiri secara umum berfungsi sebagai antimikroba dan meningkatkan kemampuan fagosit. Minyak atsiri daun salam terdiri dari fenol sederhana, asam fenolat, sekuisterfenoid dan lakton. Flavonoid adalah senyawa polifenol yang sesuai dengan struktur kimianya terdiri dari flavonol, flavon, flavanon, isoflavon, katekin, antosianidin dan kalkon. Tannin berfungsi sebagai antimikroba yang dapat mengendapkan protein.

Dalam Kurniawati (2010), daun salam rasanya kelat dan wangi. Daun salam mengandung minyak asiri 0,17%, sitral, eugenol, tannin, flavonoid. Daun salam adalah sumber serat, vitamin A, vitamin C, kalsium, zat besi dan mangan yang baik. Salam juga merupakan sumber folat yang baik. Menurut Bakri (2007),

kandungan kimia daun dan kulit batang salam banyak mengandung minyak atsiri, saponin dan flavonoid, disamping itu daunnya juga mengandung alkaloid dan polifenol sedangkan kulit batangnya juga mengandung tanin.

Menurut Sumono dan Agustin (2009), bahwa daun salam mempunyai kandungan kimia yaitu tanin, flavonoid, dan minyak asiri 0,05 % yang terdiri dari eugenol dan sitral. Kandungan *S. polyanthum* merupakan bahan aktif yang diduga mempunyai efek farmakologis. Tanin dan flavonoid merupakan bahan aktif yang mempunyai efek anti-inflamasi dan antimikroba.

2.2.5 Mekanisme Senyawa Antimikroba

Bahan antimikrobal diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba (Pelczar dan Chan, 1988). Obat antimikroba mempunyai susunan kimiawi dan cara kerja yang berbeda antara yang satu dengan yang lainnya. Antimikroba mengganggu bagian-bagian mikroba yang peka, yaitu dinding sel, protein, asam nukleat dan metabolit intermediet seperti enzim. Cara kerja zat antimikrobal menurut Pelczar dan Chan (1988), yaitu:

- Kerusakan pada dinding sel : Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk.
- Perubahan permeabilitas sel : Merusak membran yang berfungsi memelihara integritas komponen-komponen seluler sehingga mengakibatkan terhambatnya sel dan matinya sel.
- Perubahan molekul protein dan asam nukleat : Mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi), ireversibel (tidak dapat balik) komponen-komponen selular yang vital.

- Penghambatan kerja enzim : Penghambatan kerja enzim dilakukan dengan mengganggu reaksi biokimia. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme dan matinya sel.
- Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein : Mengganggu pembentukan atau fungsi zat-zat seperti DNA, RNA dan protein sehingga mengakibatkan kerusakan total pada sel.

2.3 Uji Efektivitas Antimikroba In vitro

Zat antimikroba adalah senyawa yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Zat antimikroba dapat bersifat membunuh mikroorganisme (*microbicidal*) atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme (*microbiostatic*). Disinfektan yaitu suatu senyawa kimia yang dapat menekan pertumbuhan mikroorganisme pada permukaan benda mati seperti meja, lantai dan pisau bedah. Adapun antiseptik adalah senyawa kimia yang digunakan untuk menekan pertumbuhan mikroorganisme pada jaringan tubuh, misalnya kulit. Efisiensi dan efektivitas disinfektan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu, konsentrasi, jenis mikroba, kondisi lingkungan: temperatur, pH dan jenis tempat hidup (Pradhika, 2010).

Berdasarkan sifat toksisitas, ada antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai bakteristatik dan ada yang bersifat membunuh bakteri yang dikenal dengan bakterisidal. Kadar minimum yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh bakteri, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat menjadi bakterisidal bila kadar antimukrobanya ditingkatkan melebihi KHM (Ganiswara (1995) dalam Putri, 2010).

Dalam Irianto (2007), untuk memperoleh daerah hambatan dalam konsentrasi terkecil dapat dilakukan dengan menggunakan metode *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC), dan penentuan kesensitifan (*sensitivity test*) dari suatu zat anti mikroba dapat dilakukan dengan metode lempeng medium.

2.3.1 Metode Pengenceran

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (kadar hambat minimum) dan KBM (kadar bunuh minimum) dari bahan antimikroba. Prinsip dari metode dilusi adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi medium cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Selanjutnya masing-masing tabung diisi dengan bahan antimikroba yang telah diencerkan secara serial, kemudian seri tabung diinkubasi pada suhu 35° C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan konsentrasi terendah bahan antimikroba pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri adalah merupakan konsentrasi hambat minimum). Biakan dari semua tabung yang jernih ditumbuhkan pada medium agar padat, diinkubasi selama 24 jam, dan diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan pada medium padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri adalah merupakan konsentrasi bunuh minimum bahan antimikroba terhadap bakteri uji (Tortora (2001) dalam Diniyah, 2010).

2.3.2 Metode Cakram

Prinsip dari metode difusi cakram adalah menempatkan kertas cakram yang sudah mengandung bahan antimikroba tertentu pada medium lempeng padat yang telah dicampur dengan jamur yang akan diuji. Medium ini kemudian diinkubasi pada suhu 37o C selama 18-24 jam, selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih disekitar kertas cakram. Daerah jernih yang tampak di sekeliling kertas cakram menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Jamur yang

sensitif terhadap bahan antimikroba akan ditandai dengan adanya daerah hambatan disekitar cakram, sedangkan jamur yang resisten terlihat tetap tumbuh pada tepi kertas cakram (Tortora (2001) dalam Diniyah, 2010).



BAB 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi penelitian ini meliputi alat-alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian.

3.1.1 Alat- alat penelitian yaitu :

- Autoklaf
- Lemari Pendingin
- Timbangan Analitik
- Hotplate
- Vortek
- Blender
- Cawan petri
- Beaker Glass
- Tabung Reaksi
- Rak tabung reaksi
- Corong
- Pipet Tetes
- Mikropipet
- Bola hisap
- Bunsen
- Jarum ose
- Triangle
- Spatula
- Pinset
- Sprayer
- Thermometer
- Jangka Sorong
- Erlenmeyer
- Gelas Ukur
- Pipet Volume
- Gunting
- Saringan

3.1.2 Bahan- bahan penelitian yaitu:

- Daun salam (*S. polyanthum*)
- Biakan murni *V. parahaemolyticus* yang didapat dari Laboratorium Parasit dan Penyakit di Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau Jepara
- TCBSA (*Thiosulfate Citrat Bile Salt Sucrose Agar*)
- NB (*Nutrient Broth*)

- Aquades
- Alkohol 70%
- Spirtus
- Tali
- Kain saring
- Kertas saring
- Kertas alumunium foil
- Kertas label
- Kapas
- Tissue
- Kain lap

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Natzir (1998) penelitian eksperimental adalah penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap obyek penelitian serta adanya kontrol. Tujuan penelitian eksperimental adalah untuk menyelidiki kemungkinan saling hubungan sebab-akibat dengan cara mengenakan kepada satu atau lebih kelompok eksperimental satu atau lebih kondisi perlakuan dan membandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan (Suryabrata, 2006)

Data pada penelitian ini diperoleh dengan cara mengukur garis tengah (diameter) hambatan, yaitu daerah jernih di sekitar kertas cakram yang tidak ditumbuhi bakteri.

3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana setiap perlakuan dilakukan sebagai satuan tersendiri, tidak ada hubungan pengelompokan. Rumus dari model RAL (Yitnosumarto, 1991) adalah sebagai berikut :

$$Y = \mu + T + \varepsilon$$

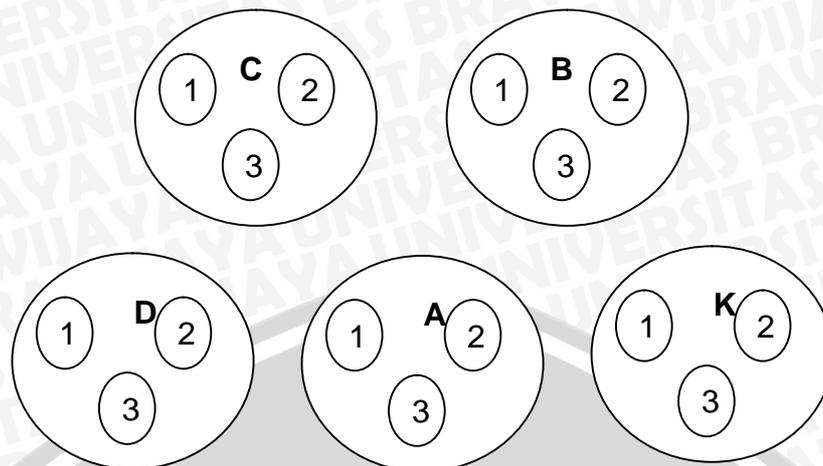
Keterangan:

- Y : Nilai pengamatan
 μ : Nilai rata-rata harapan
 T : Pengaruh perlakuan
 ε : Galat

Penelitian terdiri dari 4 perlakuan, 3 kali ulangan dan 1 kontrol. Sebagai perlakuan adalah pemberian ekstrak Daun salam (*S. polyanthum*) dengan konsentrasi yang berbeda dengan dilakukan penelitian pendahuluan untuk mengetahui konsentrasi minimum daya hambat bakteri ,yaitu :

A = Konsentrasi ekstrak daun salam	0,3%
B = Konsentrasi ekstrak daun salam	0,6%
C = Konsentrasi ekstrak daun salam	0,9%
D = Konsentrasi ekstrak daun salam	1,2%
K = Kontrol (tanpa perlakuan)	0%

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga jumlah sampel yang diamati adalah sebanyak 15. Penempatan perlakuan dilakukan secara acak dengan denah percobaan disajikan pada Gambar 5 berikut ini:



Gambar 3. Denah Penelitian

Keterangan:

A,B,C,D : Perlakuan

1,2,3 : Ulangan

K : Kontrol

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan detergen, dikeringkan kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas perkamen dan diikat menggunakan benang
- Air secukupnya dituang ke dalam *autoclave*, kemudian alat yang telah dibungkus kertas perkamen dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris.
- Kompor pemanas dinyalakan, setelah mencapai suhu 121°C dan manometer menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15-20 menit dengan cara membuka dan atau menutup kran uap yang berada di bagian atas tutup *autoclave*

- Kompor dimatikan. Tunggu beberapa saat sampai termometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka kran uap lalu buka penutup *autoclave* dengan cara simetris.
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

3.3.2 Ekstraksi Daun Salam (*S. polyanthum*)

Prosedur ekstraksi daun salam (Fatimah,2006) yaitu :

- Daun salam segar dicuci dengan air tawar sampai bersih kemudian dikeringkan.
- Daun salam yang telah kering diblender hingga halus
- Ditimbang sebanyak 10 gr dan dimasukkan ke dalam beakerglas
- Ditambahkan aquades sebanyak 100 ml.
- Dipanaskan di atas pemangas air (hotplate) selama 15 menit terhitung suhu mulai mencapai 90°C – 98°C sambil sesekali diaduk.
- Kemudian disaring dengan kain saring
- Ekstrak yang tidak langsung digunakan dapat disimpan di lemari pendingin

3.3.4 Pembuatan Media

A. TCBSA (*Thiosulfate Citrat Bilesalt Sukrose Agar*)

- TCBSA sejumlah 8,8 gram, KCl 0,075 gram, MgSO₄ 0,694 gram, NaCl 1,34 gram dilarutkan dalam 100 ml air aquadest steril dalam erlenmeyer steril.
- Dipanaskan di atas hotplate hingga mendidih dan homogen
- Larutan tidak disterilkan dalam autoklaf
- Setelah itu, dalam keadaan panas dituang dalam cawan petri steril

- Media dibiarkan memadat
- Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari pendingin.
Cawan petri diletakkan terbalik yaitu bagian tutup berada di bawah untuk menghindari tetesan air kondensasi dalam tutup.

B. NB (Nutrient Broth)

- NB sejumlah 1,3 gram, KCl 0,075 gram, MgSO₄ 0,694 gram, NaCl 1,34 gram dilarutkan dalam 100 ml air aquadest steril dalam erlenmeyer steril.
- Dipanaskan di atas hotplate hingga mendidih dan homogen
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan kertas perkamen kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- Media yang akan dipakai dibiarkan dingin hingga mencapai suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.
- Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari pendingin

3.3.5 Inokulasi Bakteri

A. Media Padat

- Disiapkan petridisk yang berisi media TCBSA
- Biakan murni *V. parahaemolyticus* diambil sebanyak 1 ose, hasil Laboratorium Parasit dan Penyakit BBPAP Jepara
- Digoreskan ke dalam media TCBSA secara zig-zag.
- Media TCBSA Inkubasi di dalam inkubator dengan suhu 35 °C selama 24 jam.

B. Media Cair.

- Disiapkan 5 ml media NB dalam tabung reaksi yang telah disterilkan dengan *autoclave*.

- Sebanyak 5 ose *V. parahaemolyticus* dari biakan murni dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml media NB tersebut
- Media yang telah mengandung *V. parahaemolyticus* ditutup dengan kapas steril dan aluminium foil dan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 18-24 jam.
- Hasil biakan disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 4 °C.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Kerentanan suatu mikroorganisme terhadap zat antibiotik dan zat kemoterapeutik lain dapat ditentukan dengan teknik “pengenceran tabung (*tube dilution*)” atau teknik cawan “piringan kertas (*paper disk plate*)”. Teknik pengenceran tabung menetapkan jumlah terkecil zat kemoterapeutik yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan organisme *in vitro*. Jumlah tersebut sebagai KHM (konsentrasi hambat minimum atau *Minimum Inhibition Concentration*) (Pelczar dan Chan, 1988).

Lay (1994) dalam Fatimah (2006) menambahkan bahwa MIC (*Minimum Inhibition Concentration*) dapat pula ditentukan dengan penggunaan satu konsentrasi antibiotik dan membandingkannya dengan kecepatan pertumbuhan mikroorganisme dalam tabung kontrol dan tabung yang berisi antibiotik.

Penentuan MIC dilakukan sebagai berikut:

- 5 inokulum biakan murni bakteri *Vibrio parahaemolyticus* ditanam dalam 5 ml media cair (*Nutrient Broth*) dan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 3 jam sehingga terbentuk kekeruhan yang sama dengan larutan Standart *Mc Farland* (10^8 sel/ml)

- Membuat stok larutan broth yang diinokulasi bakteri dengan cara mengambil 0,5 ml biakan bakteri dalam NB dan dimasukkan dalam 100 ml NB yang sudah disterilkan. Jumlah suspensi bakteri (stok larutan broth) adalah 10^8 sel/ml.
- Penentuan konsentrasi perlakuan ekstrak daun salam (*S. polyanthum*) dengan metode pengenceran.
- Masing-masing perlakuan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C .
- Diamati pertumbuhan bakteri pada masing-masing perlakuan dengan melihat tingkat kekeruhannya dan dibandingkan dengan kontrol. Apabila medium tampak keruh menandakan bahwa bakteri dapat tumbuh, hal ini berarti bahwa dosis yang digunakan tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan sebaliknya.

Tabel 1. Konsentrasi Ekstrak Daun Salam (*S. polyanthum*) untuk Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Konsentrasi (%)	Larutan stok Ekstrak Salam (<i>S. Polyanthum</i>) (ml)	Larutan stok broth yang diinokulasi bakteri (ml)
0	0,00	5,00
0,1	0,05	4,95
0,2	0,10	4,90
0,3	0,15	4,85
0,4	0,20	4,80
0,5	0,25	4,75
1,0	0,50	4,50
1,5	0,75	4,25
2,0	1,00	4,00
2,5	1,25	3,75
5,0	2,50	2,50

3.4.2 Uji Cakram

Prosedur pelaksanaannya adalah sebagai berikut:

- 5 inokulum biakan murni bakteri *V. parahaemolyticus* ditanam dalam 4 ml media cair (NB) dan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 3 jam sehingga terbentuk kekeruhan yang sama dengan larutan Standart *Mc Farland* (10^8 sel/ml)
- Disiapkan tabung reaksi steril untuk perlakuan konsentrasi ekstrak daun salam. Konsentrasi minimum didapatkan berdasarkan hasil uji MIC.
- Penentuan konsentrasi ekstrak daun salam untuk uji cakram dapat dilihat setelah dilakukan uji MIC
- Konsentrasi ekstrak daun salam pada uji cakram dapat dilihat adalah 0,3%, 0,6%, 0,9% dan 1,2%

Tabel 2. Penentuan konsentrasi ekstrak kasar daun salam untuk uji cakram

No	Perlakuan	Ekstrak kasar daun salam (ml)	Akuades (ml)	Konsentrasi (%)
1	K	-	5	0
2	A	0,15	4,85	0,3
3	B	0,30	4,7	0,6
4	C	0,45	4,55	0,9
5	D	0,60	4,4	1,2

- kertas cakram steril direndam ke dalam ekstrak daun salam selama 30 menit berdasarkan konsentrasi yang telah ditentukan.
- Diambil 0,05 ml bakteri (10^8 sel/ml) dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media agar dengan ketebalan \pm 6 mm. Bakteri diratakan dengan triangle
- kertas cakram yang telah ditiriskan dan diletakkan pada permukaan lempeng agar

- Dibaca hasil setelah diinkubasi pada suhu (35°C) selama 24 jam dengan mengukur daerah hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram
- diameter zona hambat diukur dengan menggunakan jangka sorong
- Untuk mengetahui sifat dari setiap konsentrasi yang dilakukan, maka setelah pengukuran diameter zona hambat dilakukan inkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 35°C. Apabila pada daerah bening terlihat adanya pertumbuhan bakteri, ini berarti dosis tersebut bersifat bakteristatis; tetapi apabila sebaliknya, berarti dosis tersebut bersifat bakteriosidal.

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama menggunakan parameter kuantitatif, yaitu data yang diperoleh dari hasil pengukuran daerah hambatan ekstrak daun salam terhadap pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* pada setiap perlakuan yang terlihat di sekitar kertas cakram.

3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang pada penelitian ini adalah suhu inkubator dan pH media, yang keduanya merupakan faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Anonymous (2003^a), menjelaskan suhu terendah dimana bakteri dapat tumbuh disebut *minimum growth temperature*. Sedangkan, suhu tertinggi dimana bakteri dapat tumbuh dengan baik disebut *maximum growth temperature*. Suhu dimana bakteri dapat tumbuh dengan sempurna di antara kedua suhu tersebut disebut suhu optimum. Untuk pertumbuhannya, bakteri juga memerlukan pH tertentu, namun pada umumnya bakteri memiliki jarak pH yang sempit sekitar pH 6,5-7,5 atau pada pH netral.

3.6 Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan, berupa pemberian ekstrak salam (*S. polyanthum*) terhadap respon parameter yang diukur, berupa luas daerah hambatan, maka dilakukan analisis keragaman atau uji F dan apabila berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji BNT untuk menentukan perlakuan mana yang memberikan respon terbaik pada perlakuan 0,3%, 0,6%, 0,9%, 1,2% pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%). Sedangkan Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil yang dipengaruhi, dilakukan perhitungan analisis regresi yang tujuannya untuk mengetahui sifat dan fungsi regresi yang memberikan keterangan tentang pengaruh perlakuan yang terbaik pada respon.



BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembiakan Bakteri *V. parahaemolyticus*

Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Selanjutnya dilakukan peremajaan kembali terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* tersebut. Peremajaan bakteri ini bertujuan untuk memperbanyak stok bakteri. Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri *V. parahaemolyticus* selama penelitian ada dua macam yaitu media TCBSA (*Thiosulphate Citrate Bilesalt Sucrose Agar*) sebagai media padat dan media NB (*Nutrient Broth*) sebagai media cair (Lampiran 1).

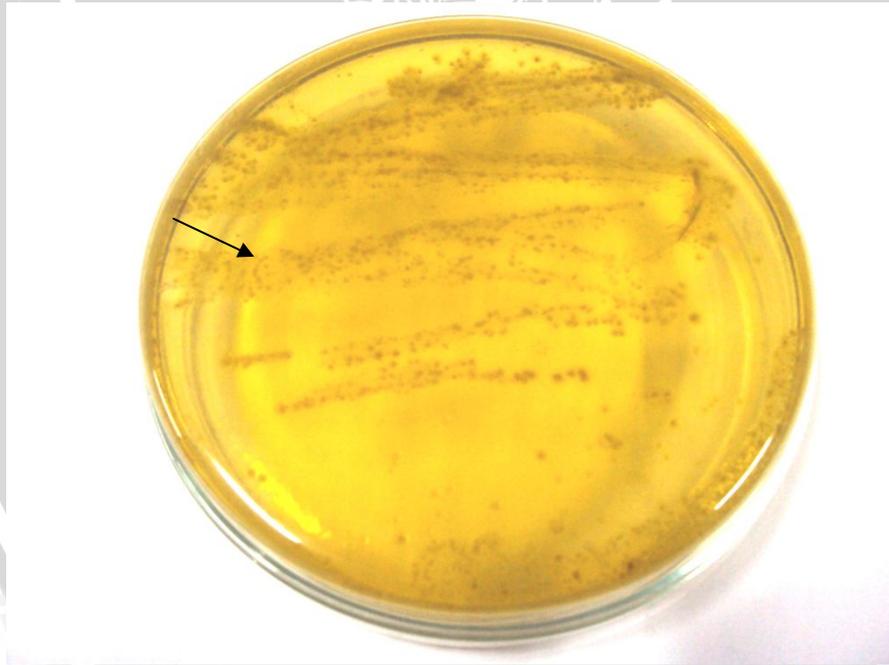
Bakteri *V. parahaemolyticus* kemudian diremajakan dengan melakukan penanaman bakteri dari biakan murni bakteri kemudian diinokulasikan kedalam media tumbuh (TCBSA) secara aseptis untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Media TCBSA yang digunakan dalam penelitian ini adalah MERCK. Karena TCBSA adalah media padat maka pembiakan dilakukan dengan metode gores (strik). Menurut Dwidjosepoetro (1989), metode yang paling efektif dalam pembiakan mikroorganisme adalah metode gores (strik) dan metode tuang, karena kedua metode ini membutuhkan waktu yang singkat dan mudah untuk mendapatkan biakan.

Spesies *vibrio*, membutuhkan perbenihan selektif, minimal membutuhkan salinitas 30 ppt. Biasanya tidak tahan asam. Tumbuh baik pada medium, yang mengandung garam mineral dan asparagin sebagai sumber karbon dan nitrogen yaitu Agar *Thiosulfate Citrate Bilesalt Sucrose* (TCBS) (Ahyari, 2008).

Untuk mencegah terjadinya kontaminasi baik alat maupun bahan dilakukan sterilisasi. Sterilisasi yang digunakan adalah sterilisasi basah yang menggunakan

autoclave dengan tekanan mencapai 1 atm pada suhu 121°C selama 15 menit. Menurut Waluyo (2008), sterilisasi yaitu proses baik fisika maupun kimia yang membunuh semua bentuk hidup terutama mikroorganisme.

Bakteri yang telah ditanam pada media TCBSA selanjutnya di inkubasi pada suhu 35°C selama 12-24 jam. Berdasarkan hasil penelitian bakteri *Vibrio* sp. yang tumbuh pada media TCBSA secara visual membentuk koloni dengan warna kuning. Menurut Anonymous (2003), pada media TCBSA sangat khas berwarna kuning karena bakteri ini dapat memecah sukrosa menghasilkan asam dan yang tidak mampu menguraikan sukrosa maka koloninya berwarna hijau pada media TCBSA. Biakan murni bakteri *V. parahaemolyticus* pada media TCBSA dengan metode tuang disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Biakan murni bakteri *V. parahaemolyticus* pada media TCBSA dengan metode gores

Media cair yang digunakan untuk pembiakan bakteri yang digunakan untuk uji cakram dan uji MIC yaitu larutan *Nutrient Broth* (NB) dan agar bakteri yang di inokulasi pada media dapat tumbuh secara merata karena untuk pengujian cakram dan pengujian MIC menggunakan media cair. Untuk membuat biakan

pada media cair, diambil 5 ose bakteri dari media padat, kemudian diinokulasikan pada 5 ml NB. Dari inokulasi tersebut, kepadatan yang tumbuh disetarakan dengan menggunakan metode *Mc Farland* dan alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini seperti Timbangan analitik yang digunakan untuk menimbang bahan-bahan dari penelitian ini, autoklaf yang digunakan untuk inkubasi bakteri dan alat dan bahan lainnya terdapat pada Lampiran 1. Penggunaan metode *Mc Farland* yaitu dengan menyetarakan kekeruhan inokulasi dengan kekeruhan larutan *Mc Farland* dengan kepadatan 10^8 sel/ml. Apabila kekeruhan inokulasi sudah sama dengan kekeruhan larutan *Mc Farland*, maka sudah dapat dituangkan pada NB cair untuk pengujian MIC dan TCBSA untuk pengujian cakram. Dari nilai kekeruhan bakteri *V. parahaemolyticus* yaitu kepadatannya 6×10^8 sel/ml. Hasil biakan dari bakteri ini akan digunakan untuk pengujian MIC dan pengujian cakram.

4.2 Uji MIC Ekstrak Kasar Daun Salam terhadap Bakteri *V. parahaemolyticus*

Minimum Inhibiting Concentration (MIC) merupakan konsentrasi minimum yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus*. Berdasarkan hasil uji MIC didapatkan konsentrasi minimum ekstrak kasar daun salam yaitu 0,3%. Nilai konsentrasi ini didapat dari hasil pengenceran berseri yang telah diinokulasi bakteri, kemudian di inkubasi selama ± 24 jam. Dalam penelitian ini pengukuran kekeruhan dilakukan secara kuantitatif, dimana sampel diukur kekeruhannya dengan menggunakan spektrofotometer. Setelah dilakukan pengukuran dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif adalah media standart uji MIC yang berisi media NB yang telah diinokulasi bakteri *V. parahaemolyticus*, sedangkan kontrol negatif adalah media standart uji MIC yang berisi NB dengan ekstrak kasar daun salam. Nilai kekeruhan yang

mendekati kontrol positif dijadikan sebagai dasar konsentrasi terendah untuk uji cakram. Hasil dari pengujian MIC disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengujian MIC Ekstrak Kasar Daun Salam (*S. polyanthum*) dan Tingkat Kekeruhannya dengan Spektrofotometer

Konsentrasi (%)	Nilai Kekeruhannya
0,1	215
0,2	238
0,3	258
0,4	266
0,5	278
1,0	339
1,5	380
2,0	404
2,5	461
5,0	461
K (-) NB + ekstrak kasar daun salam	461
K (+) NB + inokulan <i>V.parahaemolyticus</i>	254

Dari hasil penelitian untuk mengetahui konsentrasi terendah atau minimal ekstrak kasar daun salam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan membandingkan hasil nilai kekeruhan setiap perlakuan dengan kontrol positif yaitu bakteri *V.parahaemolyticus*. Nilai kekeruhan terendah yaitu pada konsentrasi 0,1% tetapi nilai kekeruhannya masih dibawah nilai kontrol positif dari bakteri *V.parahaemolyticus*. Untuk konsentrasi terendah ekstrak kasar daun salam dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 0,3% dengan nilai kekeruhan 258 dimana nilai tersebut lebih dari nilai kontrol positif *V.parahaemolyticus* yaitu nilai kekeruhannya 254. Maka untuk menentukan konsentrasi terendah dalam penelitian ini didapat yaitu konsentrasi 0,3% dan nilai kekeruhan dengan konsentrasi semakin tinggi hasilnya semakin meningkat.

Antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai bakteriostatik dan ada yang bersifat membunuh bakteri yang dikenal dengan bakterisidal. Kadar minimum yang diperlukan untuk menghambat atau

membunuh bakteri, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat menjadi bakterisidal bila kadar antimukrobanya ditingkatkan melebihi KHM (Ganiswara (1995) dalam Putri, 2010).

Menurut Ajizah (2004), kemampuan suatu bahan antimikroba dalam meniadakan kemampuan hidup mikroorganisme tergantung pada konsentrasi bahan antimikroba itu. Dalam penelitian ini kekeruhan yang terdapat pada pengujian MIC yaitu kepekatan konsentrasi dari bakteri tersebut dan jenis ekstrak yang digunakan sebagai anti mikroba. Ekstrak yang digunakan masih berupa ekstrak kasar sehingga kemungkinan adanya endapan yang ikut tercampur pada pengenceran tersebut. Hasil pengujian MIC dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil Uji MIC

Keterangan : a) konsentrasi 5,0%, b) konsentrasi 2,5%,c) konsentrasi 2,0%, d) konsentrasi 1,5%, e) konsentrasi 1,0%,f) konsentrasi 0,5%, g) konsentrasi 0,4%, h) konsentrasi 0,3%, i) konsentrasi 0,2%, j) konsentrasi 0,1%, k) kontrol negatif (Daun salam+ NB), l) kontrol positif (Bakteri+NB)

Dari hasil pengujian MIC diketahui bahwa semakin tinggi ekstrak yang diberikan maka kekeruhannya semakin pekat. Perlakuan j merupakan perlakuan

dengan konsentrasi terkecil yaitu 0,1% dengan nilai kekeruhannya 215. Kemudian ke kiri ke perlakuan i konsentrasi 0,2%, perlakuan h konsentrasi 0,3%, berurutan sampai dengan perlakuan a dengan konsentrasi 5,0% nilai kekeruhannya 461. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka nilai kekeruhannya semakin tinggi. Dan nilai kekeruhan kontrol negatif dari ekstrak kasar daun salam tersebut 461.

4.3 Uji Cakram Ekstrak Kasar Daun Salam (*S.polyanthum*) terhadap Bakteri

V.parahaemolyticus

Hasil dari pengujian zona hambat yang terdapat disekitar kertas cakram (Lampiran 2) yaitu pada konsentrasi 0% kertas caktam tidak terdapat zona bening sedangkan untuk konsentrasi 0,3%,0,6%,0,9%, dan 1,2% terlihat adanya zona bening tersebut. Data diameter daerah hambatan yang terbentuk dari konsentrasi ekstrak kasar daun salam terhadap daya hambat bakteri *V.parahaemolyticus* disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Data Hasil Pengukuran Diameter Daerah Hambatan (mm) ekstrak kasar Daun Salam (*S.polyanthum*) terhadap daya hambat bakteri *V.parahaemolyticus*

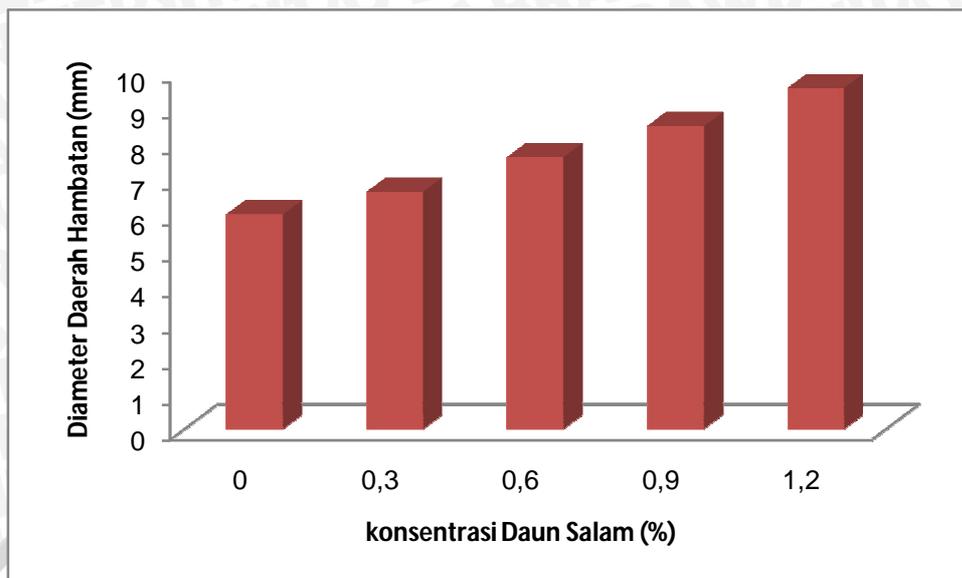
Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-Rata
	1	2	3		
K (0%)	6	6	6	18,00	6,00
A (0,3%)	6,8	6,4	6,7	19,90	6,63
B (0,6%)	7,4	7,9	7,5	22,80	7,60
C (0,9%)	8	8,5	8,9	25,40	8,47
D (1,2%)	10	9,1	9,5	28,60	9,53
Total				114,70	

Tabel 4 menunjukkan bahwa rata-rata diameter daerah hambatan untuk masing-masing perlakuan yaitu perlakuan K (0%) yang merupakan perlakuan kontrol (kertas cakram yang diberikan tanpa ada perlakuan obat) menghasilkan

rata-rata daerah hambatan 6 mm; di ikuti perlakuan A (0,3%) dimana kertas cakram yang digunakan sudah direndam pada konsentrasi yang diketahui menghasilkan rata-rata diameter daerah hambatan 6,63 mm; perlakuan B (0,6%) menghasilkan rata-rata diameter hambatan sebesar 7,60 mm; perlakuan C (0,9%) menghasilkan rata-rata sebesar 8,47 mm; perlakuan D (1,2%) menghasilkan rata-rata daerah hambatan sebesar 9,53 mm.

Menurut Volk dan Wheeler (1993) dalam Fatimah (2006), untuk membandingkan kekuatan disinfektan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat digunakan uji cakram. Kertas cakram yang telah berisi konsentrasi ekstrak kasar daun salam yang sesuai dengan perlakuan diletakkan diatas lempengan agar yang telah ditanam bakteri *V.parahaemolyticus*. Pengambilan data penelitian ini yaitu diameter daerah hambatan pada uji cakram setelah di inkubasi $\pm 18-30$ jam.

Dari hasil data tersebut terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun salam yang diberikan, maka diameter daerah hambat yang terbentuk juga akan semakin besar. Hal ini juga berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri yaitu semakin besar konsentrasi yang diberikan dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Untuk memperjelas perbedaan diameter daerah hambatan yang dihasilkan dari tiap konsentrasi dapat digambarkan pada diagram batang (Gambar 6).



Gambar 6. Diagram Batang Hubungan antara Konsentrasi Ekstrak Kasar Daun Salam (*S.polyanthum*) dengan Diameter Daerah Hambatan Bakteri *V.parahaemolyticus*

Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak kasar daun salam terhadap pertumbuhan bakteri *V.parahaemolyticus*, maka dilakukan analisa keragaman (Lampiran 3). Berdasarkan hasil analisa keragaman, ekstrak kasar daun salam berpengaruh sangat nyata (*highly significant*) terhadap diameter daerah hambatan yang berarti menerima H_1 dan menolak H_0 (Tabel 5).

Tabel 5. Hasil Analisa Keragaman Diameter Daerah Hambatan

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Uji F		
				F Hitung	F Tabel 5%	F Tabel 1%
Perlakuan	4	23,917	5,979	57,494**	3,48	5,99
Acak	10	1,040	0,104			
Total	14	24,957				

** = Berbeda sangat nyata

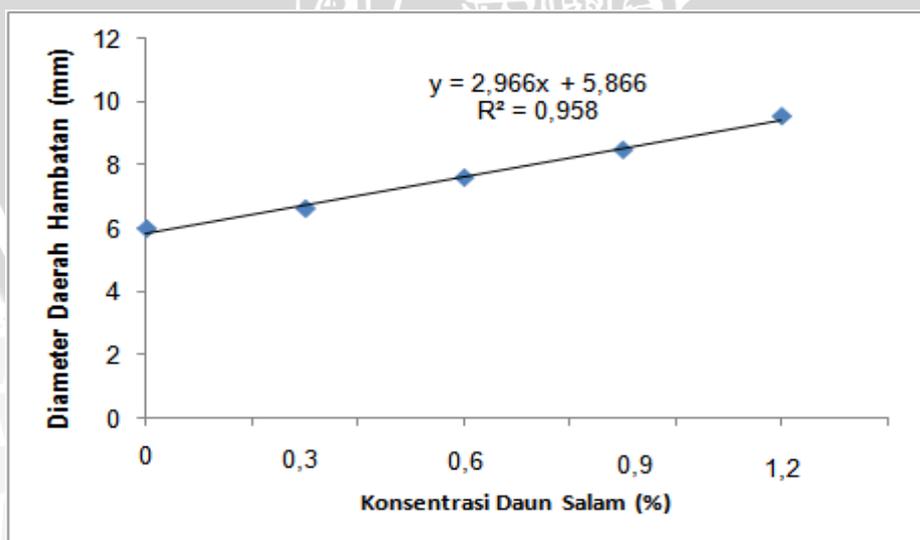
Selanjutnya untuk mengetahui konsentrasi terbaik dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan nilai BNT 5% dan BNT 1% (Tabel 6).

Tabel 6. Hasil Uji BNT Diameter Daerah Hambatan

Rata-rata perlakuan	K (6)	A (6,63)	B (7,6)	C (8,47)	D (9,53)	Notasi
K (6)	-	-	-	-	-	A
A (6,63)	0,63*	-	-	-	-	B
B (7,60)	1,6**	0,97**	-	-	-	C
C (8,47)	2,47**	1,84**	0,87**	-	-	D
D (9,53)	3,53**	2,9**	1,93**	1,06**	-	E

Dari hasil uji BNT dapat dilihat bahwa perlakuan terbaik adalah perlakuan D(1,2%) dengan notasi e, diikuti perlakuan C(0,9%) dengan notasi d, perlakuan B(0,6%) dengan notasi c, kemudian perlakuan A(0,3%) dengan notasi b, dan perlakuan K atau kontrol (0%) dengan notasi a merupakan daerah hambat terendah.

Untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar daun salam dengan diameter daerah hambatan bakteri *V. parahaemolyticus* (Gambar 7) dilakukan analisa polinomial orthogonal dan didapatkan bentuk regresi linear yaitu $y = 5,866 - 2,966x$ dan nilai $R^2 = 0,958$.



Gambar 7. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar daun Salam terhadap diameter daerah hambatan bakteri *V.parahaemolyticus*

Grafik di atas menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun salam memiliki hubungan positif terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* pada uji cakram. Pada konsentrasi terendah (0,3%) diperoleh daerah hambatan paling rendah yaitu dengan nilai rata-rata 6,63 mm. Hal tersebut dikarenakan konsentrasi bahan antibakteri sedikit sehingga berpengaruh pada diameter hambatan yang dihasilkan. Untuk konsentrasi tertinggi (1,2%) dengan diameter hambatan dengan nilai rata-rata 9,53 mm. Menurut Bonang dan Koeswardono (1982) dalam Fatimah (2006), lebar daerah hambatan yang terbentuk pada daya serap obat kedalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut. Perhitungan analisis data disajikan pada Lampiran 3.

Untuk obat-obatan yang berasal dari alam seperti daun salam belum memiliki standart daya hambat yang dibakukan, sehingga pada penelitian ini belum dapat dilakukan penggolongan tingkat sensitifitas dan resistensi bakteri *V. parahaemolyticus* terhadap ekstrak kasar daun salam (*S.polyanthum*). Namun dari hasil penelitian ini dapat memberikan informasi bahwa konsentrasi ekstrak kasar daun salam yang berbeda mempengaruhi diameter daerah hambatan yang terbentuk.

Daun salam mengandung beberapa senyawa aktif yang berperan sebagai anti bakteri. Senyawa tersebut diantaranya flavonoid. Flavonoid tersebut berperan dalam kerusakan sel pada bakteri sehingga mengakibatkan dinding sel dari bakteri tersebut rusak sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Dalam Prajitno (2007), kerja antimikroba yaitu merusak dinding sel dengan cara menghambat pembentukan sel tersebut, merubah permeabilitas sel yaitu merusak membran yang mengakibatkan terhambatnya sel dan matinya sel, juga merubah molekul protein dan asam nukleat sehingga mengalami denaturasi dan

dapat merusak sel tanpa bisa memperbaikinya kembali, menghambat kerja enzim sehingga terganggunya proses metabolismenya.

Salah satu komponen aktif yang terkandung didalam daun salam (*S.polyanthum*) adalah flavonoid, tannin. Tannin bersifat sebagai antiseptik pada luka permukaan, bekerja sebagai bakterostatik yang biasanya digunakan untuk infeksi pada kulit, mukosa dan melawan infeksi pada luka. Flavonoid selain berfungsi sebagai bakterostatik juga berfungsi sebagai anti inflamasi (Hermawan,Hana dan Wiwiek, 2007).

Husna (2006) menyatakan bahwa flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol . Senyawa fenol mempunyai sifat efektif terhadap virus, bakteri dan fungi. Senyawa-senyawa flavonoid umumnya bersifat antioksidan dan banyak yang telah digunakan sebagai salah satu komponen bahan baku obat-obatan. Dalam Ummah (2010), tannin juga merupakan turunan dari fenol yang dapat mengendapkan protein di dalam tubuh, dapat dimanfaatkan untuk melancarkan saluran pencernaan sirkulasi darah.

Kemampuan zat antibakteri dari ekstrak kasar daun salam apakah dapat bersifat bakteriosidal atau bakterostatik maka perlu dilakukan pengujian yaitu masa inkubasi selama ± 48 jam pada suhu 35°C . Jika daerah hambatan masih nampak bening pada sekitar kertas cakram maka ekstrak tersebut bersifat bakteriosidal, dan jika pada daerah sekitar kertas cakram ditumbuhi bakteri maka ekstrak tersebut bersifat bakterostatik. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan yaitu menginkubasi selama ± 48 jam pada konsentrasi 0,3%, 0,6%, 0,9%, dan 1,2% bersifat bakterostatik(menghambat pertumbuhan bakteri).

4.4 Lingkungan Hidup Bakteri *V.parahaemolyticus*

Media yang digunakan dalam menginokulasi bakteri *V. parahaemolyticus* yaitu media *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar* (TCBSA) dan *Nutrient Broth* (NB). pH media dapat diketahui dari pH media itu sendiri yaitu 7,4. Pada

kondisi tersebut baik untuk pertumbuhan bakteri seperti dalam Prajitno (2007), bakteri *Vibrio spp.* dapat tumbuh dengan baik pada kondisi alkali yaitu pH optimum berkisar antara 7,5-8,5.

Selain media faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah suhu. Suhu dapat mempengaruhi tumbuh dan berkembangnya bakteri untuk mempertahankan hidupnya. Menurut Prajitno(2007), suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio spp.* berkisar antara 30°C-35°C, sedangkan pada suhu 4°C dan 45°C bakteri tersebut tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55°C bakteri akan mati.

Menurut Wati (2011), *V. parahaemolyticus* bersifat *aerob* atau *anaerob fakultatif* yaitu dapat hidup baik dengan atau tanpa oksigen. Bakteri ini juga bersifat halofik dan dapat tumbuh optimal pada air laut bersalinitas 20ppt-40ppt tetapi tidak tahan asam sehingga bakteri vibrio dapat optimal pada pH 6,5-8,5. Dalam Anonymous (2009), *V. parahaemolyticus* merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek, lurus atau agak melengkung, dan tidak tahan asam. Bakteri ini bersifat an aerobik fakultatif, dapat hidup pada salinitas berkisar antara 20 ppt-40 ppt, dengan konsentrasi optimum 30 ppt.

BAB 5. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat diambil beberapa kesimpulan yaitu :

- Ekstrak kasar daun salam (*Syzygium polyanthum*) terbukti berpengaruh terhadap diameter daerah hambatan *V.parahaemolyticus* dan mampu berperan sebagai antibakteri. Pada konsentrasi 0,3%, 0,6%, 0,9%, dan 1,2% bersifat bakteriostatik(menghambat pertumbuhan bakteri) pada bakteri *V.parahaemolyticus*.
- Hasil dari pengujian cakram diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak kasar daun salam maka semakin besar daerah hambatan yang terbentuk. Hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar daun salam dengan diameter daerah hambatan berbentuk linear dengan persamaan garis $y = 5,866 + 2,966x$ dan $R^2 = 0,958$
- Sebagai parameter penunjang, yaitu pH media dan suhu inkubator masih berada dalam kisaran normal yaitu untuk pH 7 dan suhu 35°C

5.2 Saran

Dari hasil penelitian dapat disarankan bahwa untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* digunakan ekstrak kasar daun salam (*S.polyanthum*) dengan konsentrasi 1,2%, dan perlu diadakan penelitian lanjutan dengan menggunakan konsentrasi yang lebih tinggi untuk mengetahui konsentrasi daya hambat maksimum dari ekstrak kasar daun salam (*S.polyanthum*).

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2003^a. **Teknik pembenihan**. <http://restifishy.weebly.com>. Diakses pada tanggal 11 November 2009.
- _____. 2003^b. **Bakteriologi Medik**. Tim mikrobiologi. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Bayumedia Publishing. Malang. 373 hal
- _____. 2009. **Ikan rucah**. <http://www.morfologivibrioparahaemolyticus.co.id>. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 29 hal.
- _____. 2010. **Pedoman teknis penanggulangan penyakit ikan budidaya laut**. <http://www.iptek.net.id/ind>. Diakses tanggal 29 Desember 2010.
- Ahyari. 2008. **Gram Negatif Berbentuk Batang**. <http://blogkita.info/gram-negatif-berbentuk-batang/>. Diakses pada tanggal 26 April 2011.
- Ajizah, A. 2004. **Sensitivitas salmonella typhimurium terhadap ekstrak daun psidium guajava L.** Bioscientiae 1 (1) : 31-37hal.
- Bakri.2007. **Pengaruh pemberian ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan dosis terhadap hitung jumlah koloni kuman *Salmonella typhimurium* pada hepar mencit balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium***. Skripsi. Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.Semarang.
- Diniyah.2010. **Potensi isolat bakteri endofit sebagai penghambat pertumbuhan bakteri (*Ralstonia solanacearum*) dan jamur (*Fusarium sp.* dan *Phytophthora infestans*) penyebab penyakit layu pada tanaman**. Skripsi. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Malang (UIN), Maulana malik Ibrahim Malang
- Dwidjosepoetro. 1989. **Dasar- Dasar Mikrobiologi**. Djambatan. Jakarta. 215 hal.
- Enda, W. 2009. **Uji efek ekstrak etanol kulit batang salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) terhadap mencit jantan**. Skripsi Fakultas Farmasi universitas Sumatera Utara. Medan
- Fatimah, A. 2006. **Pengaruh penggunaan ekstrak kasar daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap daya hambat bakteri vibrio harvey secara in vitro**. Skripsi. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. (Tidak diterbitkan)
- Fesya. 2009. **Khasiat daun salam**. <http://masenchipz.com/khasiat-daun-salam>. Diakses tanggal 29 Desember 2010.

- Hermana,W. Puspitasari, I. Wiryaman, G. Suharti. S. 2008. **Pemberian Tepung Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) dalam Ransum sebagai Bahan Antibakteri *Escherichia coli* terhadap Organ dalam Ayam Broiler.** Media Peternakan Vol. 31 (2) ; 138-145 hal.
- Hermawan,Hana dan Wiwiek. 2007. **Pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi disk** Artikel Ilmiah. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 1-7 page.
- Husna. 2006. **Pengaruh Pemberian ekstrak tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginos*.** Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Malang. Malang. 65 hal.
- Irianto,Koes. 2007. **Mikrobiologi.** Yrama Widya.Bandung. 256 hal.
- Iman, E. 2010. **Khasiat tanaman obat binahong.** <http://herbahusada.blog.com/>. Diakses pada tanggal 15 Juli 2011
- Jayanti, Indah, Husnul. 2009. **Distribusi bakteri heteritrofik, coliform, patogen, *vibrio parahaemolyticus* dan total sel bakteri dan kaitannya dengan kimia hara perairan pulau bawean.** Universitas Gajahmada. Jogjakarta. 7 hal.
- Katno dan Pramono. 2010. **Tingkat manfaat dan keamanan tanaman obat dan obat tradisional.** Balai Penelitian Obat Tawangmangu. Jawa Tengah. 14 hal.
- Kordi, M.G.H. 2004. **Penanggulangan Hama Dan Penyakit Ikan.** PT Rineka Cipta. Jakarta. 190 hal.
- Kurniawati. 2010. **Khasiat Bumbu Dapur.** Mizan Media Utama. Bandung. 89 hal.
- Murtini. 2007. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan dosis 540 mg terhadap hitung jumlah koloni kuman *Salmonella typhimurium* pada hepar mencit balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*.** Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang. 14 hal.
- Natzir, M. 1998. **Metode Penelitian.** Ghalia Indonesia. Jakarta. 212 hal.
- Nitimulyo,Kamiso H,. Alim I,. Triyanto, Indah, Muhamad M,. 2005. **Isolation, identification and characterization of pathogenic *Vibrio spp.* causative agentsnof vibriosis in grouper at brackiswater**

- aquaculture development center situbondo.** J Fish. Sci VII (2) : 80-94 page.
- Pelczar, M. J. Dan E. C. S. Chan. 1986 . **Dasar – Dasar Mikrobiologi 1.** UI-press. Jakarta. 443 hal.
- Pradhika. 2010. **Mikrobiologi dasar.** <http://ekmonsaurus.blogspot.com/2008/.html>. Diakses pada tanggal 5 Juli 2011.
- Prajitno, A. 2005. **Diktat Kuliah Parasit dan Penyakit Ikan.** Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 104 hal.
- _____. 2007. **Penyakit Ikan-Udang: Bakteri.** Universitas Negeri Malang. Malang. 115 hal.
- Putri,Zenda. 2010. **Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus aureus* multiresisten.** Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta. 20 hal.
- Rahmat. 2008. **Bakteri *Vibrio sp.*** [http:// www.rahmatsoft.web.ugm.ac.id](http://www.rahmatsoft.web.ugm.ac.id). Di akses pada tanggal 5 Januari 2011
- Ramlan, Marwa, Abdul, dan Suharto. 2008. **Peningkatan produksi benih kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) Melalui modifikasi manajemen perbenihan.** Balai Budidaya Laut Ambon ; Indoaqua di Yogyakarta. 14 hal.
- Sanoesi,E. 2008. **Penggunaan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* Linn) terhadap jumlah sel makrofag pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.** Jurnal Penelitian Perikanan II (2): 139-144 hal
- Santoso, Gatot. 2008. ***Vibrio parahaemolyticus* sebagai agen penyebab foodborne disease.** <http://www.blogger.com/profile/>. Diakses pada tanggal 5 Juli 2011
- Sumono,A., dan Agustin, W. 2009. **Capability of boiling water of bay Leaf (*Eugenia polyantha* W) for reducing *Streptococcus sp.* colony.** Dental Jurnal 41 (3) : 147-150 page.
- Suryabrata, S. 2006. **Metodologi Penelitian.** PT Raja Garfindo Persada. Jakarta. 165 hal.
- Syamsir. 2010. **Kasus *Vibrio parahaemolyticus* di dalam Seafood.** <http://www.google.co.id/>. Diakses pada tanggal 5 Januari 2011
- Ummah,Masithah. **Ekstraksi dan pengujian aktivitas antibakteri senyawa tanin pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).** Skripsi.

Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang. 19hal. (Tidak diterbitkan)

Waluyo. 2008. **Teknik Metode Dasar dalam Mikrobiologi**. UMM Press. Malang. 23 hal.

Wati. 2011. **Bakteri *Vibrio***. <http://laporantugas.vibrio.com>. Diakses pada tanggal 16 Maret 2011

Violy. 2010. **Artikel pendidikan**. <http://bloggerbekasi.com/2010/06/09/bakteri-vibrio.html/>. Diakses pada tanggal 5 Januari 2011

Yitnosumarto, S. 1991. **Percobaan: Perancangan, Analisis dan Interpretasinya**. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 299 hal.

Zahara. 2006. **The effect of *Syzygium polyanthum* on nitric oxide production from macrophage in balb/c mice inoculated with *Salmonella typhimurium***. Medical Faculty, Diponegoro University. Semarang. 11 hal.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan yang digunakan pada waktu penelitian



a) Bakteri untuk uji cakram



b) Ekstrak kasar daun salam



c) TCBSA

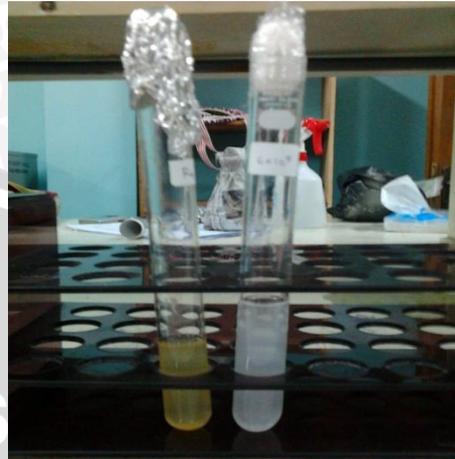


d) Nutrient Broth

Lampiran 1 (Lanjutan)



e) *Mc farland* (10^8 sel/ml)



f) Bakteri dan *Mc farland* (10^8 sel/ml)



g) Hot plate



h) Timbangan Analitik



i) Mixer mix



j) Inkubator

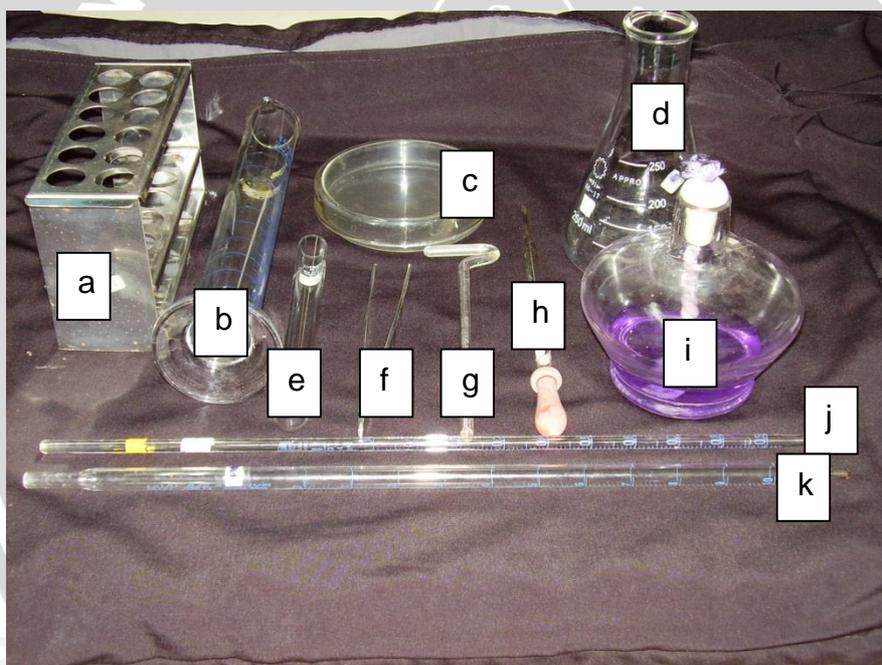
Lampiran 1(Lanjutan)



k) Spektrofotometer DR 2000



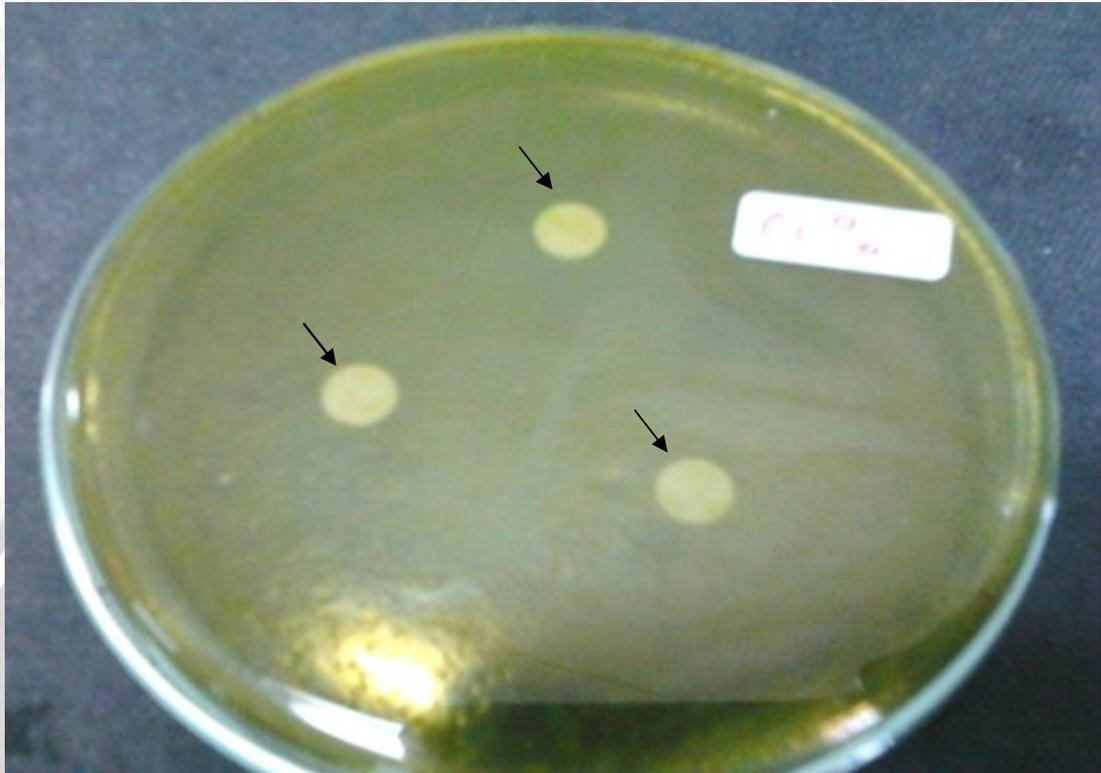
l) Autoklaf



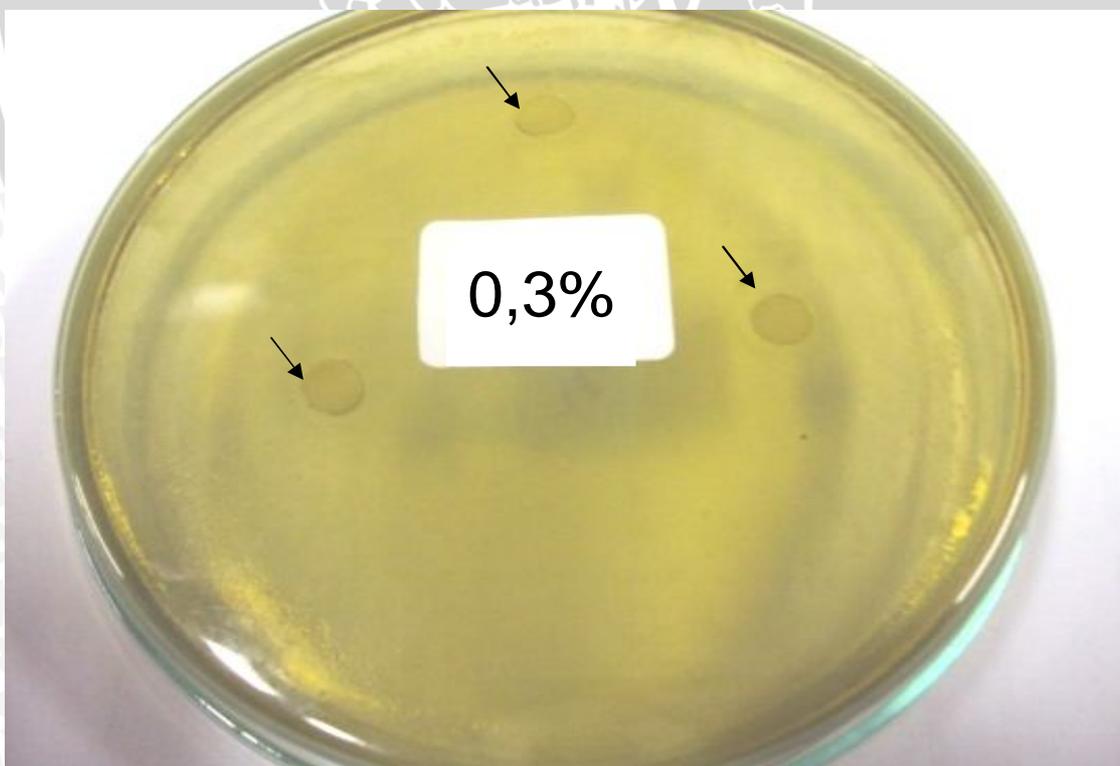
Keterangan

- | | | | |
|---|---------------------|---|----------------------|
| A | : Rak tabung reaksi | G | : Triangle |
| B | : Gelas ukur | H | : Pipet tetes |
| C | : Cawan petri | I | : Bunsen |
| D | : Erlenmeyer | J | : Pipet volume 1 ml |
| E | : Tabung reaksi | K | : Pipet volume 10 ml |
| F | : Pinset | | |

Lampiran 2. Hasil pengujian cakram

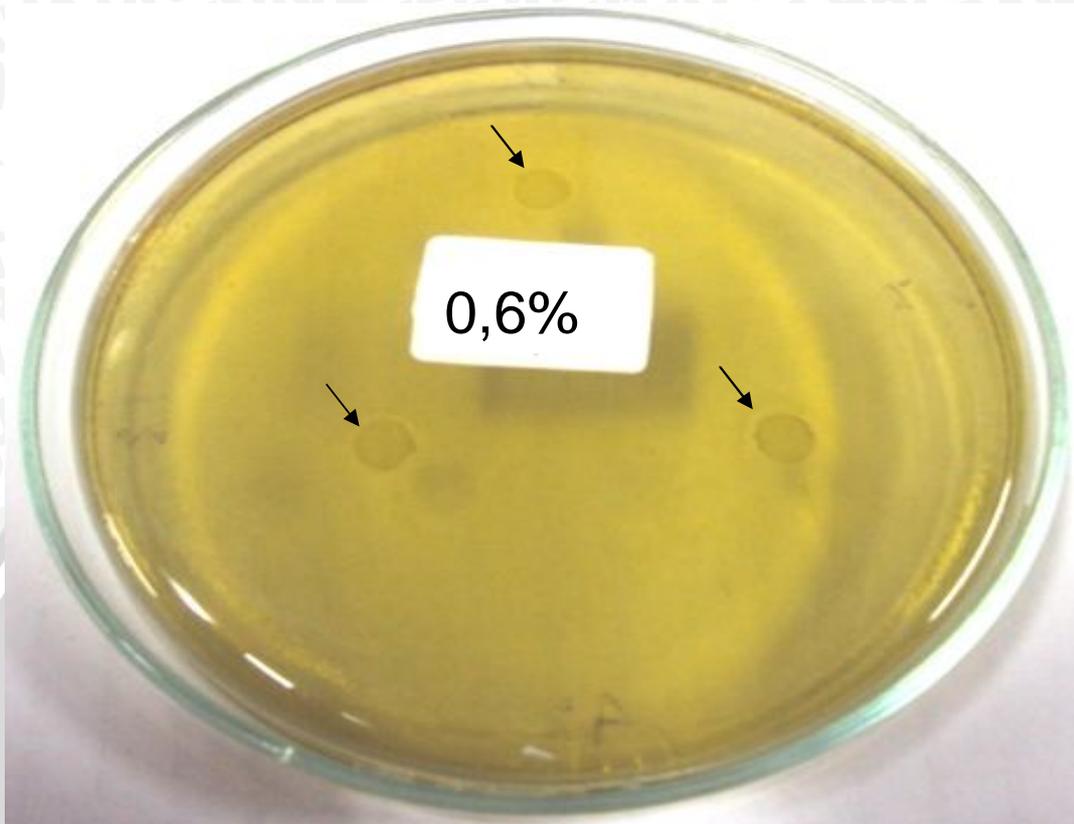


Kontrol 0%

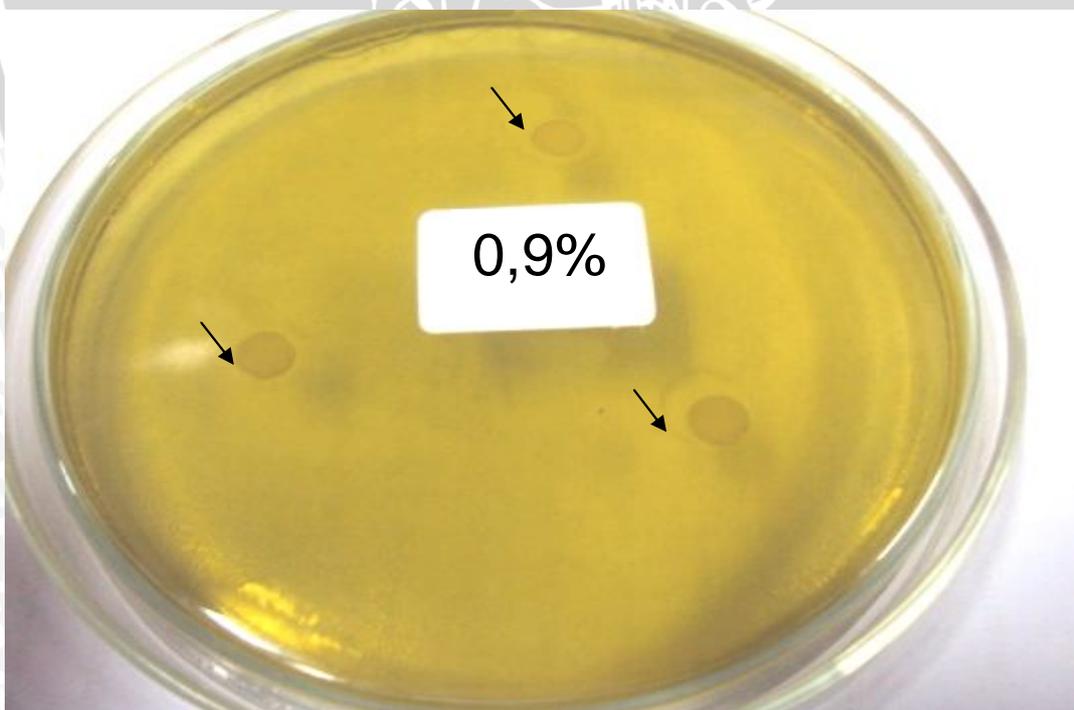


Uji cakram 0,3%

Lampiran 2 (Lanjutan)

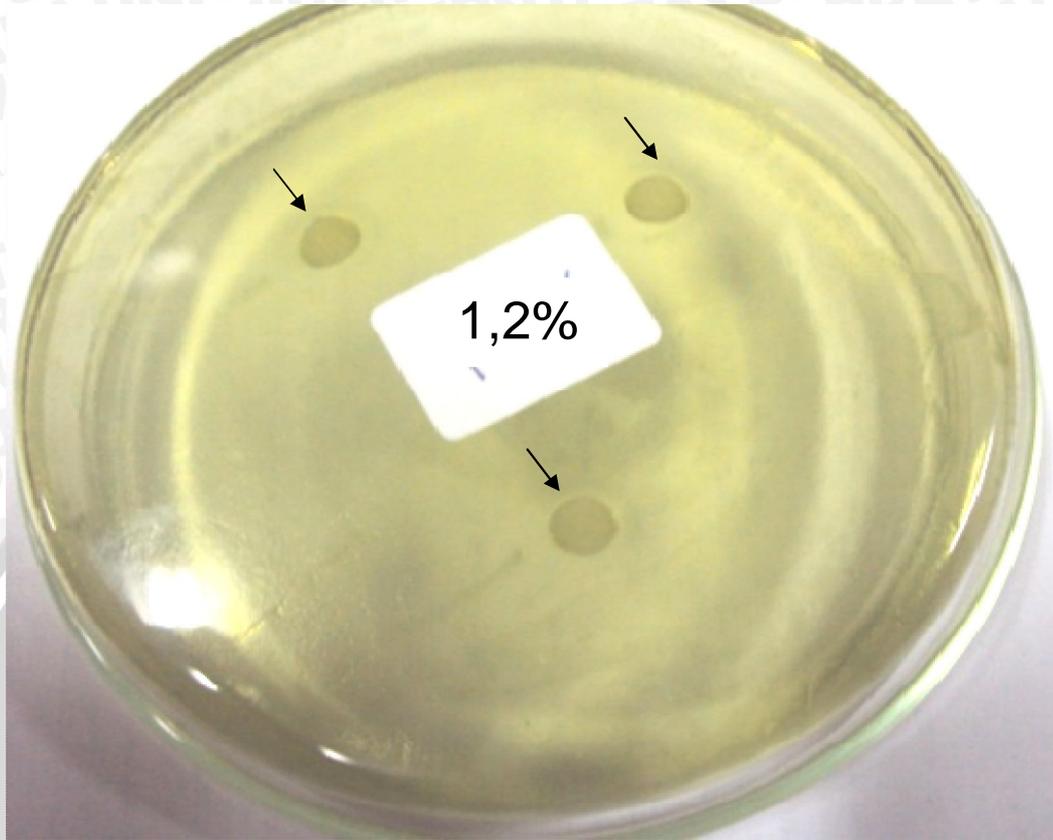


Pengujian cakram 0,6%



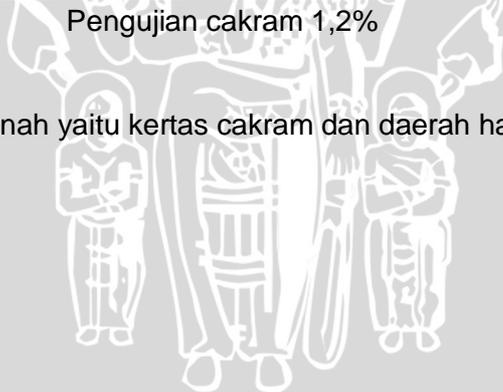
Pengujian cakram 0,9%

Lampiran 2 (Lanjutan)



Pengujian cakram 1,2%

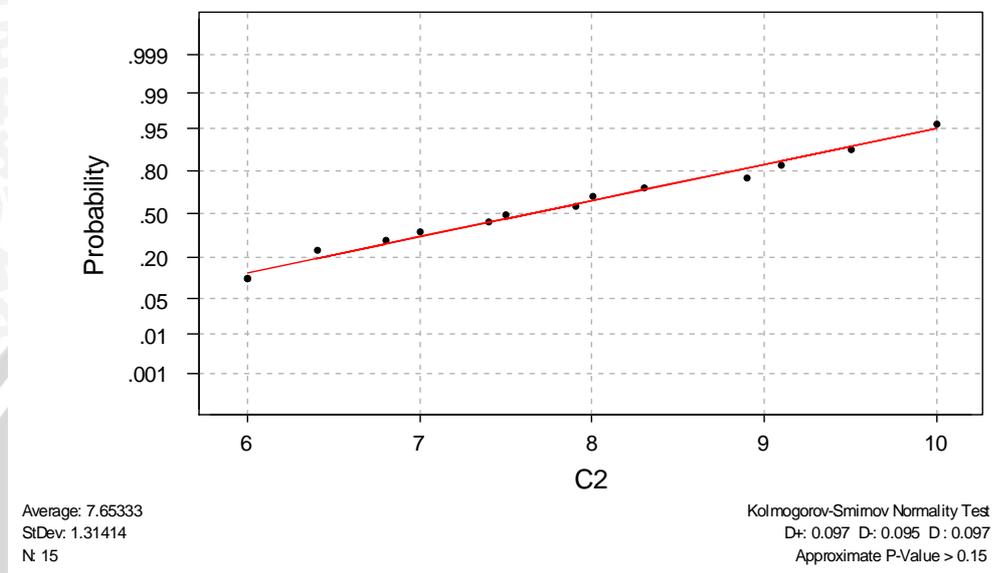
Keterangan : Tanda panah yaitu kertas cakram dan daerah hambatnya



Lampiran 3. Hasil Perhitungan Diameter Daerah Hambatan

Normalitas data diameter daerah hambatan

UJI CAKRAM



Data diameter daerah hambatan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
K	6	6	6	18,00	6,00
A	6,8	6,4	6,7	19,90	6,63
B	7,4	7,9	7,5	22,80	7,60
C	8	8,5	8,9	25,40	8,47
D	10	9,1	9,5	28,60	9,53
	Total			114,70	

• Faktor Koreksi (FK) = $\frac{G^2}{n} = \frac{114,70^2}{15} = 877,07$



Lampiran 3 (Lanjutan)

- JK Total = $K_1^2 + K_2^2 + K_3^2 + \dots + D_3^2 - FK$
 $= 6^2 + 6^2 + 6^2 + \dots + 9,5^2 - 877,07$
 $= 24,957$

- JK Perlakuan = $\frac{(\sum K)^2}{r} + \frac{(\sum A)^2}{r} + \frac{(\sum B)^2}{r} + \frac{(\sum C)^2}{r} + \frac{(\sum D)^2}{r} - FK$
 $= \frac{(18)^2}{3} + \frac{(19,90)^2}{3} + \frac{(22,80)^2}{3} + \frac{(25,40)^2}{3} + \frac{(26,60)^2}{3} - 877,07$
 $= 23,917$

- JK Acak = JK Total - JK Perlakuan
 $= 24,957 - 23,917$
 $= 1,040$

📊 Tabel analisa keragaman

Sbr Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	23,917	5,979	57,494**	3,48	5,99
Acak	10	1,040	0,104			
Total	14	24,957				

Keterangan : (**) Berbeda sangat nyata

- Menghitung Beda Nyata Terkecil (BNT) :

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{\frac{2KT_{\text{Acak}}}{3}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \times 0,104}{3}} \\ &= 0,263 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 2,228 \times 0,263 \\ &= 0,586 \end{aligned}$$

Lampiran 3 (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{SED} \\ &= 3,169 \times 0,263 \\ &= 0,833 \end{aligned}$$

- Tabel Uji Beda Nyata (BNT)

Rata-rata perlakuan	K (6)	A (6,63)	B (7,6)	C (8,47)	D (9,53)	Notasi
K (6)	-	-	-	-	-	a
A (6,63)	0,63*	-	-	-	-	b
B (7,60)	1,6**	0,97**	-	-	-	c
C (8,47)	2,47**	1,84**	0,87**	-	-	d
D (9,53)	3,53**	2,9**	1,93**	1,06**	-	e

Keterangan : (*) = Berbeda nyata
(**) = Berbeda sangat nyata

Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil yang mempengaruhi, dengan menggunakan perhitungan analisa regresi yang bertujuan untuk menentukan sifat dan fungsi regresi yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan yang terbaik dalam respon.

- Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)			
		Regresi linear	Regresi kuadratik	Regresi kubik	Regresi Kuartik
K	18	-2	2	-1	1
A	19,9	-1	-1	2	-4
B	22,8	0	-2	0	6
C	25,4	1	-1	-2	-4
D	28,6	2	2	1	1
$Q = \sum CiTi$		26,7	2,3	-0,4	2,2
$Kr = \sum (Ci^2)r$		30	42	30	210
JK		23,76	0,13	0,01	0,02

Lampiran 3 (Lanjutan)

- Tabel analisa regresi

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F tabel 5%	F tabel 1%
Perlakuan	4	23,92	5,98			
- Linear	1	23,76	23,76	228,490**		
- Kuadratik	1	0,13	0,13	1,211 ^{ns}	4,96	10,04
- Kubik	1	0,01	0,01	0,05128 ^{ns}		
- Kuartik	1	0,02	0,02	0,222 ^{ns}		
Acak	10	1,04	0,10			
Total	14					

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

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linear} &= \frac{JK_{\text{Linear}}}{JK_{\text{Linear}} + JK_{\text{Acak}}} \\
 &= \frac{23,76}{23,76 + 1,04} \\
 R^2 &= 0,958
 \end{aligned}$$

- Tabel regresi linear

Perlakuan (X)	Rata-rata (Y)	XY	X ²
0	6,00	0	0
0,3	6,63	1,989	0,09
0,6	7,60	4,56	0,36
0,9	8,47	7,623	0,81
1,2	9,53	11,436	1,44
$\sum x = 3$	$\sum y = 38,23$	$\sum xy = 25,608$	$\sum x^2 = 2,7$



Lampiran 3 (Lanjutan)

Bila regresi linear benar maka $y = b_0 + b_1x$

$$b_1 = \frac{\sum XY - \sum X \cdot \sum Y/n}{\sum X^2 - (\sum X)^2/n}$$

$$= \frac{25,608 - (3 \times 38,23)/5}{2,7 - (3)^2/5}$$

$$= \frac{2,67}{0,9}$$

$$b_1 = 2,966$$

$$b_0 = y - b_1x$$

$$= 7,646 - (2,966) \times 0,6$$

$$= 5,866$$

Persamaan Linear : $y = b_0 + b_1x$

$$y = 5,866 + 2,966x$$

Untuk :

$$\blacksquare x = 0 \longrightarrow y = 5,866 + 2,966(0)$$

$$= 5,866$$

$$\blacksquare x = 0,3 \longrightarrow y = 5,866 + 2,966(0,3)$$

$$= 6,766$$

$$\blacksquare x = 0,6 \longrightarrow y = 5,866 + 2,966(0,6)$$

$$= 7,666$$

$$\blacksquare x = 0,9 \longrightarrow y = 5,866 + 2,966(0,9)$$

$$= 8,566$$

$$\blacksquare x = 1,2 \longrightarrow y = 5,866 + 2,966(1,2)$$

$$= 9,466$$