

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KEMANGI (*Ocimum sanctum*
L.) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA
IN VITRO**

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

Oleh:
R. ADHISTYA DAMAR NOVICCHAR PUTRA
NIM. 105080501111032



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KEMANGI (*Ocimum sanctum*
L.) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA
IN VITRO**

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

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

**Oleh:
R. ADHISTYA DAMAR NOVICCHAR PUTRA
NIM. 105080501111032**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KEMANGI (*Ocimum sanctum* L.) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA *IN VITRO*

Oleh :

R. ADHISTYA DAMAR NOVICCHAR PUTRA
NIM. 105080501111032

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 17 Juli 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Maftuch, M.Si)
NIP. 19660825 199203 1 001

Tanggal:

Dosen Penguji II

(Qurrota A'yunin, S.Pi, MP, M.Sc)
NIK. 860628 08120317

Tanggal:

Dosen Pembimbing I

(Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS)
NIP. 19590807 198601 1 001

Tanggal:

Dosen Pembimbing II

(Ir. Heny Suprastyani, MS)
NIP. 19620904 198701 2 001

Tanggal:

Mengetahui,
Ketua Jurusan
Manajemen Sumberdaya Perairan

(Dr.Ir. Arning W. Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal:

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

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

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

Malang, 20 Maret 2014

Mahasiswa

R. ADHISTYA DAMAR N. P.

RINGKASAN

R ADHISTYA DAMAR NOVICCHAR PUTRA. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*. Di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS.** dan **Ir. Heny Suprastyani, MS.**

Pembangunan perikanan saat ini mengarahkan pengembangan usaha yang berbasis budidaya. Kendala utama adalah serangan penyakit. Penyakit ikan merupakan salah satu masalah serius yang harus dihadapi dalam pengembangan usaha budidaya ikan. Kematian yang ditimbulkan oleh penyakit ikan sangat tergantung pada jenis penyakit ikan yang menyerang kondisi ikan. Salah satu penyakit yang sering menyerang pada ikan budidaya disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Akibat bakteri ini, ikan mengalami stres. Selama ini pencegahan terhadap serangan bakteri umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia. Pemberian antibiotik berkepanjangan dapat menyebabkan organisme menjadi resisten. Selain itu, residu dari antibiotik dan bahan kimia dapat mencemari lingkungan perairan. Alternatif bahan antibakteri dari tanaman obat. Tumbuhan kemangi (*O. sanctum* L.) mengandung flavonoid yang bersifat antibakteri.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, pada bulan Desember hingga bulan Maret 2014. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap daya hambat dari bakteri *A. hydrophila* secara *In vitro*.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu mengadakan percobaan untuk melihat suatu hasil dan rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), menggunakan 4 perlakuan konsentrasi ekstrak kasar daun kemangi yaitu : dosis (A) 1.200 ppm ; (B) 1.400 ppm ; (C) 1.600 ppm ; (D) 1.800 ppm. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun kemangi memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Dosis maksimal adalah pada 1500 ppm dengan diameter zona hambat 0,899 mm, sedangkan dosis optimal yang didapatkan sebesar 1.220 ppm. Hubungan antara dosis ekstrak kasar daun kemangi (*O. sanctum* L.) dengan diameter hambatan yang terbentuk adalah berpola kuadratik, dimana persamaannya didapatkan $y = -0,993 + 1,177x - 0,183x^2$ dengan nilai koefisien determinasi $R^2 = 0,762$.

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah ekstrak kasar kemangi berpengaruh menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dimana konsentrasi optimum yang dapat menghambat sebesar 1.500 ppm.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi mengenai Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*. Skripsi merupakan salah satu syarat yang diperlukan untuk memperoleh gelar sarjana (S-1) pada Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan meliputi pengujian MIC untuk mengetahui dosis minimal yang digunakan pada uji cakram dan pemberian ekstrak kemangi sebagai faktor pengaruh dari daya hambat bakteri *A. hydrophila* melalui uji cakram.

Penulis menyadari, bahwa pembuatan laporan skripsi ini masih jauh dari sempurna, hal ini disebabkan oleh kekurangan dan keterbatasan pengetahuan yang penulis miliki. Dengan segala kerendahan hati, penulis berharap semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi segenap pihak yang membutuhkan.

Malang, Maret 2014

Penulis

UCAPAN TERIMAKASIH

Atas terselesainya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT yang senantiasa mengiringi dan memberi petunjuk-Nya dalam setiap langkah serta, Nabi besar Muhammad SAW yang menjadi suri tauladan bagi umatnya.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku dosen pembimbing I, terimakasih karena senantiasa dengan sabar dalam membimbing, mengarahkan serta memberikan motivasi semangat dan jangan mudah menyerah kepada penulis.
3. Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen pembimbing II, yang senantiasa memberikan motivasi, gagasan, dukungan serta masukan beliau kepada penulis untuk terus belajar.
4. Ibu Qurrota A'yunin, S.Pi, MP, M.Sc selaku dosen penguji, yang dengan bijak dapat memberikan masukan terhadap hasil laporan ini dan memberikan motivasi penuh bagi penulis.
5. Ibu Titin selaku laboran Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan yang senantiasa selalu memberikan bantuan dengan ikhlas serta arahan dan saran kepada penulis selama kegiatan penelitian berlangsung.
6. Bapak Sacchariawan Iriantha Putra dan Ibu Ika Dyah Maya Rosilowati selaku kedua orang tua, terimakasih atas doa, bimbingan dan dukungannya dari awal hingga akhir terselesainya laporan skripsi ini.
7. Seluruh rekan-rekan mahasiswa Budidaya Perairan 2010 yang telah ikut membantu serta mendukung dalam penyelesaian skripsi ini.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
RINGKASAN	iv
KATA PENGANTAR	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
DAFTAR ISTILAH	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis	5
1.5 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Bakteri <i>A. hydrophila</i>	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	6
2.1.2 Karakteristik.....	6
2.1.3 Habitat dan Penyebaran.....	7
2.1.4 Infeksi dan Tanda Penyerangan.....	7
2.2 Tumbuhan Kemangi (<i>O. sanctum L.</i>)	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	9
2.2.2 Bahan Aktif Kemangi (<i>O. sanctum L.</i>).....	10
2.2.3 Aktivitas Antimikroba	10
2.3 Uji Efektivitas Antibakteri Secara <i>In Vitro</i>	11
2.3.1 Uji Cakram.....	11
2.3.2 Uji MIC	12
3. METODOLOGI PENELITIAN	13
3.1 Materi Penelitian	13
3.1.1 Alat Penelitian	13
3.1.2 Bahan Penelitian	14
3.2 Metode Penelitian	15
3.3 Pengambilan Data	15
3.4 Rancangan Penelitian	15
3.5 Prosedur Penelitian	17
3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	17
3.5.2 Sterilisasi Tempat Perlakuan.....	18
3.5.3 Pembuatan Ekstrak Kasar Kemangi.....	18

3.5.4 Pembuatan Media	19
3.5.5 Pembiakan Bakteri <i>A. hydrophila</i>	19
3.6 Pelaksanaan Penelitian	20
3.6.1 Uji MIC (<i>Minimum Inhibition Concentration</i>).....	20
3.6.2 Uji Cakram.....	21
3.7 Parameter Uji.....	22
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
4.1 Identifikasi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	23
4.2 Daya Anti Bakterial Ekstrak Kasar Kemangi (<i>O. sanctum L.</i>)	27
4.2.1 Uji MIC (<i>Minimum Inhibition Concentration</i>).....	27
4.2.2 Uji Cakram.....	28
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN.....	39
GLOSARIUM.....	57



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>A. hydrophila</i> dengan pembesaran 1000x.....	7
2. Morfologi Kemangi (<i>O. sanctum</i> L.).....	9
3. Denah Penelitian Uji Cakram.....	17
4. Hasil Uji Motilitas.....	24
5. Uji Oksidasi.....	25
6. Uji Fermentatif.....	25
7. Biakan Murni Bakteri <i>A. hydrophila</i>	27
8. Uji Cakram Dosis 1200ppm.....	29
9. Uji Cakram Dosis 1400ppm.....	29
10. Uji Cakram Dosis 1600ppm.....	29
11. Uji Cakram Dosis 1800ppm.....	29
12. Hubungan antara konsentrasi ekstrak kasar kemangi (<i>O. sanctum</i> L.) terhadap diameter zona hambat bakteri <i>A. hydrophila</i>	32
13. Mekanisme Perusakan Membran Sitoplasma oleh Flavonoid.....	34



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat	13
2. Bahan	14
3. Rancangan Perlakuan	16
4. Hasil Uji MIC (<i>Minimum Inhibitor Concentration</i>) pada Perlakuan Dosis Ekstrak yang Berbeda-beda.....	27
5. Data Diameter Zona Hambat Bakteri	29
6. Sidik Ragam Diameter Zona Hambat.....	29
7. Uji BNT Ekstrak Kasar Kemangi (<i>O. sanctum</i> L.) terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri <i>A. hydrophila</i>	29



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Hasil Uji Identifikasi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	39
2. Hasil Uji <i>Minimum Inhibitor Concentration</i> (MIC) Ekstrak Kasar Kemangi (<i>O. sanctum</i> L.) terhadap Daya Hambat bakteri <i>A. hydrophila</i>	40
3. Penentuan Konsentrasi Ekstrak Kemangi (<i>O. sanctum</i> L.) pada uji MIC dan Uji Cakram	42
4. Analisis Data Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Kasar Kemangi (<i>O. sanctum</i> L.) Terhadap Diameter Hambatan (mm) Bakteri <i>A. hydrophila</i>	46
5. Foto Alat Penelitian.....	51
6. Foto Kegiatan Penelitian.....	56



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara kepulauan, dimana wilayahnya dikelilingi oleh lautan yang luas, sangat potensial mengembangkan pada dunia agrobisnis perikanan. Menurut Nontji (2005), Indonesia merupakan negara kepulauan dengan wilayah laut yang lebih luas daripada luas daratannya. Luas seluruh wilayah Indonesia dengan jalur laut 12 mil adalah lima juta km² terdiri dari luas daratan 1,9 juta km², laut teritorial 0,3 juta km², dan perairan kepulauan seluas 2,8 juta km². Artinya seluruh laut Indonesia berjumlah 3,1 juta km² atau sekitar 62 persen dari seluruh wilayah Indonesia. Selain itu, Indonesia juga merupakan negara dengan garis pantai terpanjang di dunia dengan jumlah panjang garis pantainya sekitar 81.000 km. Luas laut yang besar ini menjadikan Indonesia unggul dalam sektor perikanan dan kelautan. Pada tahun 2010 volume produksi yang dihasilkan dari sektor perikanan sebesar 11.662.342 ton dimana 5.384.418 ton dari perikanan tangkap dan 6.277.924 ton dari perikanan budidaya (Zulkarnain, Purwanti dan Indrayani, 2013).

Kemampuan sektor perikanan untuk berproduksi hanya 59% dari hasil ekonomis maksimal tersebut. Informasi tersebut menunjukkan adanya peluang usaha sebanyak 41% atau 2,7 juta ton per tahun yang belum dimanfaatkan (Rusmini, 2002).

Perairan umum merupakan sumberdaya perikanan utama di Indonesia bahkan dunia. Tipe perairan umum yang dikenal yaitu danau alam, danau buatan, sungai dan lebak lebung (rawa banjiran). Lebak lebung dengan sungai-sungainya merupakan tipe perairan umum yang terpenting, dari luas maupun produksinya. Potensi ini sangat mungkin dikembangkan untuk industri budidaya

perikanan. Terus meningkatnya jumlah penduduk telah mendorong peningkatan kebutuhan pangan protein. Sementara dilain pihak sumberdaya ikan sebagai salah satu sumber protein hewani penting, makin terbatas. Hal tersebut menjadikan akuakultur sebagai tumpuan harapan masa depan perikanan (Arsyad, Elok dan Akbar, 2005).

Pembangunan perikanan saat ini mengarahkan pengembangan usaha yang berbasis budidaya, karena berkurangnya hasil tangkapan dari perairan umum, sedangkan permintaan pasar semakin hari semakin meningkat. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk usaha budidaya ikan agar berkesinambungan dapat meningkatkan perekonomian masyarakat pembudidaya ikan sehingga perlunya suatu strategi yang tepat dalam pengembangan usaha budidaya ikan air tawar lebih lanjut (Rahmawati dan Dede, 2012).

Kendala utama adalah serangan penyakit. Penyakit ikan merupakan salah satu masalah serius yang harus dihadapi dalam pengembangan usaha budidaya ikan. Kematian yang ditimbulkan oleh penyakit ikan sangat tergantung pada jenis penyakit ikan yang menyerang, kondisi ikan dan kondisi lingkungan. Apabila kondisi lingkungan menurun maka kematian yang diakibatkan oleh wabah penyakit sangat tinggi. Wabah penyakit yang terjadi pada kondisi ikan sedang sehat tidak akan mengakibatkan kematian yang tinggi, dan sebaliknya akan mengakibatkan kematian yang tinggi apabila kondisi ikan kurang sehat (Fauziah, 2011).

Menurut Prajitno (2005), penyakit ikan adalah segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun tidak langsung. Dengan demikian timbulnya serangan penyakit ikan di kolam merupakan hasil interaksi yang tidak serasi antara ikan, kondisi lingkungan dan organisme penyakit. Interaksi yang tidak sesuai ini dapat menyebabkan ikan

stress, sehingga mekanisme pertahanan diri yang dimilikinya menjadi lemah dan akhirnya mudah terserang penyakit. Serangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri merupakan kendala utama dalam budidaya perikanan. Suatu kegiatan pembudidayaan ikan, pastinya tidak akan terlepas dari adanya berbagai permasalahan yang dapat mempengaruhi dan mengganggu kondisi fisiologis ikan, sehingga ikan jatuh sakit bahkan mati. Salah satu penyakit yang ditakuti oleh para petani ikan adalah penyakit bercak merah atau *Motile Aeromonas Septicaemia* (MAS).

Serangan bakteri *A. hydrophila* bersifat laten (berkepanjangan), sehingga tidak memperlihatkan gejala penyakit meskipun telah dijumpai pada tubuh ikan. Serangan bakteri ini baru terlihat apabila ketahanan tubuh ikan menurun akibat stres yang disebabkan menurunnya kualitas air, kekurangan pakan atau penanganan ikan yang kurang baik (Ayu, Wastu, Zaenal dan Suhendi, 2008).

Selama ini pencegahan terhadap serangan bakteri pada umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia. Pemberian antibiotik secara terus menerus dapat menyebabkan organisme patogen menjadi resisten, sehingga penggunaan antibiotik menjadi tidak efektif. Selain itu, residu dari antibiotik dapat mencemari lingkungan perairan yang mengakibatkan kualitas air menjadi turun. Salah satu alternatif yang digunakan untuk mengatasi permasalahan serangan penyakit adalah mengganti penggunaan antibiotik dengan bahan alami seperti tumbuhan obat yang dapat dijadikan sebagai antibakteri (Rinawati dan Dwi, 2012).

Upaya yang telah dilakukan untuk pengobatan penyakit ini adalah menggunakan antibiotika yang dapat menimbulkan resistensi bakteri patogen dan residu antibiotika pada ikan. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan alternatif bahan antibakteri dari tanaman obat. Tumbuhan kemangi (*O. sanctum* L.) mengandung minyak esensial. Selain minyak esensial, kemangi juga

mengandung flavonoid yang bersifat antibakteri. Flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi sel (Cushnie and Lamb, 2005).

1.2 Perumusan Masalah

Infeksi *A. hydrophila* pada ikan secara umum dikenal sebagai MAS (*Motile A. Septicaemia*) dengan luka yang meluas pada kulit, nekrosis vakuola pada liver dan ginjal, serta pada jaringan lain. Apabila tidak ditangani secara tepat maka dapat menyebabkan kematian masal (Grandiosa, 2010).

Upaya yang telah dilakukan untuk pengobatan penyakit ini adalah menggunakan antibiotika yang dapat menimbulkan resistensi bakteri patogen dan residu antibiotika pada ikan dan manusia. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan alternatif bahan antibakteri dari tanaman obat. Selain minyak esensial, daun kemangi juga mengandung flavonoid yang bersifat antibakteri. Flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi sel (Cushnie dan Lamb, 2005).

Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan sebagai berikut:

- Apakah pemberian ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.) dengan cara uji cakram berpengaruh terhadap daya hambat dari bakteri *A. hydrophila* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap daya hambat dari bakteri *A. hydrophila* secara *In vitro*.

1.4 Hipotesis

H_0 : Diduga pemberian ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.) dengan dosis yang berbeda tidak mempengaruhi daya hambat dari bakteri *A. hydrophila*.

H_1 : Diduga pemberian ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.) dengan dosis yang berbeda dapat mempengaruhi daya hambat dari bakteri *A. hydrophila*.

1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Januari hingga Maret 2014.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Holt (1979), klasifikasi bakteri *A. hydrophila* adalah :

Division	: Protophyta
Class	: Schyzomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Sob Ordo	: Pseudomonadineae
Family	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Species	: <i>A. hydrophila</i>

2.1.2 Karakteristik

A. hydrophila yang disajikan pada Gambar 1 merupakan bakteri *heterotrophic unicellular*, tergolong protista prokariot yang dicirikan dengan adanya membran yang memisahkan inti dengan sitoplasma. Bakteri ini biasanya berukuran 0,7-1,8 x 1,0-1,5 μm dan bergerak menggunakan sebuah polar flagel merupakan penghuni asli lingkungan perairan (Bima dan Fahri, 2009).

Bakteri *A. hydrophila* bersifat fakultatif anaerob yaitu bakteri yang dapat hidup dengan atau tanpa adanya oksigen dan bakteri ini dapat tumbuh pada kisaran suhu 15-30 $^{\circ}\text{C}$ (Kabata, 1985). Bakteri *A. hydrophila* dapat berkembang dengan baik bila pengelolaan air jelek. Keberadaan *A. hydrophila* erat hubungannya dengan jumlah kandungan bahan organik di perairan atau sedimen dasar. Bakteri ini diakui sebagai patogen bagi hewan berdarah dingin (Holmes, Niccols dan Sartory, 1996). Bentuk morfologi bakteri *A. hydrophila* dengan pembesaran 1000x yang didapat dari BKI Juanda Surabaya setelah diwarnai dengan *hematoxylin eosin* disajikan pada Gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. *A. hydrophila* (Dokumentasi Penelitian) dengan pembesaran 1000x

2.1.3 Habitat dan Penyebaran

Genus *Aeromonas* mempunyai habitat di lingkungan di perairan tawar. Bakteri ini diakui sebagai patogen dari akuatik yang berdarah dingin. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* lebih banyak menyerang ikan subtropis dibandingkan dengan daerah dingin (Prajitno, 2007).

Bakteri *A. hydrophila* tidak dapat hidup lama tanpa inangnya, suhu optimal untuk pertumbuhannya 22-28°C, pada suhu 35°C pertumbuhannya terhambat. Bakteri *A. hydrophila* bersifat fakultatif anaerob yaitu bakteri yang dapat hidup dengan atau tanpa adanya oksigen dan akan tumbuh tersebar diseluruh medium jika diinokulasi pada medium cair (Christian, Volk, Creason, Jarosh, Robinson dan Warnes 2001). Sedangkan menurut Holmes, *et al.* (1996), bakteri *A. hydrophila* dapat berkembang dengan baik bila pengelolaan air jelek. Keberadaan *A. hydrophila* erat hubungannya dengan jumlah kandungan bahan organik di perairan atau sedimen dasar, yang artinya bahwa bakteri *A. hydrophila* paling banyak didapati pada perairan yang memiliki kandungan bahan organik tinggi seperti pada waduk dan danau. Bakteri ini diakui sebagai patogen bagi hewan berdarah dingin.

2.1.4 Infeksi dan Tanda Penyerangan

Menurut Ayu *et al.* (2008), bakteri *A. hydrophila* menyerang hampir semua jenis ikan air tawar dan merupakan organisme oportunistik karena penyakit yang disebabkan mewabah pada ikan-ikan yang mengalami stres atau pada pemeliharaan dengan padat tebar tinggi. Serangan bakteri ini bersifat laten (berkepanjangan), sehingga tidak memperlihatkan gejala penyakit meskipun telah dijumpai pada tubuh ikan. Menurut Prajitno (2007), Infeksi bakteri *A. hydrophila* bersifat sekunder yaitu bakteri akan masuk dalam tubuh ikan jika ada kerusakan jaringan yang disebabkan oleh kerusakan fisik atau karena serangan virus atau mikroorganisme lainnya. Serangan bakteri ini baru terlihat apabila ketahanan tubuh ikan menurun akibat stres yang disebabkan menurunnya kualitas air, kekurangan pakan atau penanganan ikan yang kurang baik.

A. hydrophila umumnya menyebabkan infeksi pada seluruh tubuh disertai dengan pendarahan pada organ dalam tubuh ikan. Bakteri ini dapat menyebar secara cepat pada padat penebaran tinggi yang bisa mengakibatkan kematian hingga 90%. Infeksi bakteri *A. hydrophila* bersifat sekunder yaitu bakteri akan masuk dalam tubuh ikan jika ada kerusakan jaringan yang disebabkan oleh kerusakan fisik atau karena serangan virus atau mikroorganisme lainnya (Prajitno, 2007). Beberapa tingkatan serangan bakteri *A. hydrophila* menurut Ayu *et al.* (2008), adalah sebagai berikut :

1. Akut : Septisemia yang fatal, infeksi cepat dengan sedikit tanda-tanda penyakit yang terlihat.
2. Sub Akut : Gejala dropsi, lepuh, abses, pendarahan pada sisik.
3. Kronis : Gejala tukak, bisul, abses yang perkembangannya berlangsung lama.
4. Laten : Tidak memperlihatkan gejala penyakit, namun pada organ dalam terdapat bakteri penyebab penyakit.

2.2 Tumbuhan Kemangi (*O. sanctum* L.)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Oktara (2011), klasifikasi kemangi adalah sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
- Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
- Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
- Sub Kelas : Asteridae
- Ordo : Lamiales
- Famili : Lamiaceae
- Genus : *Ocimum*
- Spesies : *O. sanctum* L.

Tanaman kemangi yang disajikan pada Gambar 2 mempunyai tinggi 60–70cm; batang halus dengan daun pada setiap ruas; daun berwarna hijau muda, bentuk oval. 3-4cm panjang, berambut halus di permukaan bagian bawah; bunganya berwarna putih, kurang menarik, tersusun dalam tandan, bila dibiarkan berbunga, maka pertumbuhan daun lebih sedikit dan tanaman cenderung cepat menua dan mati.



Gambar 2. Morfologi Kemangi (Dokumentasi Penelitian)

2.2.2 Bahan Aktif Daun Kemangi (*O. sanctum* L.)

Tumbuhan kemangi (*O. sanctum* L.) mengandung minyak esensial. Selain minyak esensial, daun kemangi juga mengandung flavonoid yang bersifat antibakteri. Flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi sel (Cushnie and Lamb, 2005).

2.2.3 Aktivitas Antimikroba

Antimikroba adalah suatu zat yang mampu mengganggu pertumbuhan dan aktivitas metabolisme mikroba. Khusus untuk bakteri dinamakan antibakteri. Mekanisme kerja antimikroba antara lain dengan jalan merusak dinding sel mikroorganisme, merusak membran sitoplasma, mendenaturasi protein sel dan menghambat kerja enzim dalam sel (Pelczar dan Chan, 1986). Semua senyawa flavonoid, menurut strukturnya merupakan turunan senyawa induk flavon dan semuanya mempunyai sejumlah sifat yang sama flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air dan berupa senyawa fenol (Harbone, 1987).

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

Menurut Noviana (2004), pada kerusakan membran sitoplasma, ion OH⁻ dari senyawa fenol dan turunannya (flavanoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma

akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian.

Persenyawaan fenol sebagai desinfektan bersifat aktif terhadap sel vegetatif bakteri, tetapi tidak aktif terhadap spora bakteri. Persenyawaan bersifat fungisida dan antivirus. Keaktifannya menurun dengan berbagai senyawa organik lain (Prajitno, 2005).

2.3 Uji Efektivitas Antibakteri Secara *In Vitro*

2.3.1 Uji cakram

Uji cakram merupakan pengujian untuk mengetahui daya hambat dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terjadi di sekitar kertas cakram yang mengandung bahan antibakteri sesuai dengan konsentrasi perlakuan (Pelczar dan Chan, 1986).

Pada uji cakram lempengan agar disemai dengan mikroorganisme yang diuji, cakram yang berisi antibakteri diletakkan diatas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme yang diuji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antibakteri terlihat sebagai wilayah bening sekitar pertumbuhan mikroorganisme. Uji antibakteri dengan cara cakram adalah untuk mengetahui pada konsentrasi berapa yang bersifat bakteriostatik maupun bakteriosidal (Lay, 1994).

Menurut Bonang dan Koeswardono (1982), bahwa pengukuran aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10^5 - 10^8 CFU/ml (Hermawan, Hana dan Wiwiek, 2007). Difusi merupakan salah satu metode yang sering

digunakan, metode difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas. Prinsip metode pengenceran adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair dan parameternya dapat dilihat dari tingkatan kekeruhannya.

Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram.

2.3.2 Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Uji MIC dilakukan untuk mengetahui dosis minimum yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dengan menggunakan filtrat simplisia kemangi (*O. sanctum* L.). Pada uji MIC ini digunakan dosis yakni 150 ppm, 300 ppm, 450 ppm, 600 ppm ppt, 750 ppm, 1.050 ppm dan 1.200 ppm (Grandiosa, 2010). Tabung reaksi menunjukkan bahwa konsentrasi 1.050 ppm dan 1.200 ppm dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sementara pada konsentrasi filtrat simplisia 150 ppm, 300 ppm, 750 ppm dan kontrol positif (dengan bakteri dan tanpa ekstrak kemangi) menunjukkan gejala kekeruhan. Dari hasil pengamatan ini, konsentrasi 1050 ppm menjadi konsentrasi minimal untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. *Minimum inhibitory concentration* (MIC) didefinisikan sebagai nilai terendah dari konsentrasi antimikroba yang akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme setelah inkubasi 24 jam (Andrews, 2001).

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1 sebagai berikut :

Tabel 1. Alat yang digunakan saat penelitian

Alat	Fungsi
Timbangan sartorius	Sebagai alat untuk menimbang berat ekstrak kasar daun kemangi, media TSA dan TSB yang dibutuhkan
<i>Cutton Swap</i>	Sebagai alat untuk menggoreskan bakteri pada media TSA saat hendak uji cakram
<i>Autoclave</i>	Sebagai alat untuk mensterilisasi alat dan bahan yang hendak digunakan
Lemari pendingin	Sebagai wadah penyimpanan bahan penelitian
<i>Hotplate</i>	Sebagai alat untuk memanaskan media TSA sehingga homogen
Cawan petri	Sebagai wadah pengkulturan bakteri
<i>Laminar Air Flow</i>	Sebagai tempat pengkulturan bakteri dalam keadaan steril
Spektrofotometer	Sebagai alat untuk mengetahui nilai absorbansi dari bakteri pada media TSB
Cuvet	Sebagai wadah sampel bakteri yang hendak di spektrofotometri
Inkubator	Sebagai wadah peyimpanan bakteri uji
Toples Kaca	Sebagai wadah perendaman daun kemangi saat proses maserasi
Tabung reaksi	Sebagai wadah dari larutan
Erlenmeyer	Sebagai wadah dari media TSA dan TSB
Gelas ukur	Sebagai alat untuk mengukur volume larutan
Jarum osse	Sebagai alat untuk mengambil dan mengkultur bakteri pada media TSA
Spatula	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan
<i>Sentrifuse</i>	Sebagai alat untuk memisahkan antara endapan dan cairan
<i>Rotary vacum evaporator</i>	Sebagai alat untuk mendapatkan ekstrak kasar daun kemangi
Mikropipet	Sebagai alat untuk mengambil larutan dalam skala mikrometer
Blender	Sebagai alat untuk menggiling daun kemangi kering

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ini disajikan pada Tabel 2 sebagai berikut :

Tabel 2. Bahan yang digunakan saat penelitian

Bahan	Fungsi
Kemangi (<i>O. sanctum</i> L.)	Sebagai bahan yang hendak diuji kemampuan daya hambatnya
Bakteri <i>A. hydrophila</i>	Sebagai bahan uji daya hambat
Alkohol 70%	Sebagai bahan pengkondisian aseptis pada tangan
TSA (<i>Triptycase Soy Agar</i>)	Sebagai bahan tumbuh bakteri dalam bentuk agar
TSB (<i>Triptycase Soy Broth</i>)	Sebagai bahan tumbuh bakteri dalam bentuk cair
Tali kasur	Sebagai bahan untuk mengikat kertas koran pada saat proses sterilisasi
Tissue	Sebagai bahan untuk membersihkan alat yang telah digunakan
DMSO 10%	Sebagai bahan pengencer ekstrak
Kapas	Sebagai bahan untuk menutup tabung reaksi dan <i>erlenmeyer</i> yang hendak disterilkan
Etanol 70%	Sebagai bahan pelarut daun kemangi pada proses perendaman
Kertas Saring	Sebagai bahan untuk menyaring ekstrak basah daun kemangi
Akuades	Sebagai bahan pelarut dalam pengenceran bakteri
Alumunium Foil	Sebagai bahan untuk menutup ujung tabung reaksi dan <i>Erlenmeyer</i> pada saat disterilkan
Spiritus	Sebagai bahan bakar dari bunsen
Kertas cakram 6mm	Sebagai bahan untuk mengetahui besar daya hambat ekstrak kasar daun kemangi
Kertas Koran	Sebagai bahan untuk membungkus alat yang hendak disterilkan
KOH 3%	Sebagai bahan indikator adanya <i>viscous</i> pada saat uji gram
Kertas tetrametil	Sebagai bahan indikator perubahan warna saat uji oksidase
Larutan Pepton Media O/F	Sebagai bahan indikasi kekeruhan pada uji motilitas
Parafin cair	Sebagai bahan untuk pengujian sifat bakteri oksidatif fermentatif
Parafin cair	Sebagai bahan indikasi uji O/F sifat bakteri fermentatif

3.2 Metode Penelitian

Metode eksperimen menurut Nazir (1988), 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.

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung, yaitu dengan cara pengamatan secara langsung terhadap gejala-gejala obyek yang diteliti baik situasi sebenarnya maupun dalam situasi buatan dalam rangka pengujian hipotesis (Surachmad, 1986).

3.3 Pengambilan Data

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung, yaitu menyelidik mengadakan pengamatan terhadap gejala-gejala subjek yang diselidiki baik secara langsung dalam situasi yang sebenarnya maupun dalam situasi buatan atau alat yang sudah ada maupun yang sengaja dibuat untuk keperluan khusus (Surachmad, 1986).

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). RAL digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam sehingga kondisi lingkungan tempat penelitian dalam keadaan sama (Sastrosupadi, 2002).

$$Y = \mu + \tau + \epsilon$$

Keterangan :

μ = nilai rerata harapan (*mean*)

τ = pengaruh faktor perlakuan

ε = pengaruh galat

Penelitian dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.) dengan perlakuan yang diberikan adalah perbedaan konsentrasi ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap bakteri *A. hydrophyla*. Dasar penelitian ini adalah penelitian pendahuluan untuk mengetahui dosis daya hambat yang tepat dalam penggunaan ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.). Dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, sedangkan perlakuan tersebut diperoleh total sampel sebanyak 5 perlakuan. Sehingga tiap perlakuan disajikan pada Tabel 3 sebagai berikut:

Tabel 3. Rancangan Perlakuan.

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A	A ₁	A ₂	A ₃
B	B ₁	B ₂	B ₃
C	C ₁	C ₂	C ₃
D	D ₁	D ₂	D ₃
E	E ₁	E ₂	E ₃

Keterangan:

A : Perlakuan konsentrasi 0 ppm (kontrol)

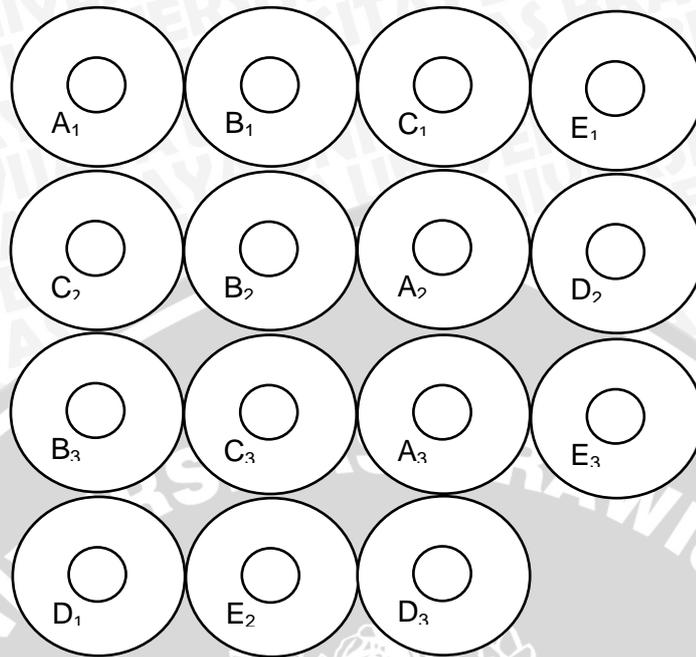
B : Perlakuan konsentrasi 1.200 ppm

C : Perlakuan konsentrasi 1.400 ppm

D : Perlakuan konsentrasi 1.600 ppm

E : Perlakuan konsentrasi 1.800 ppm

Untuk denah penelitian disajikan pada Gambar 3 berikut :



Gambar 3. Denah Penelitian Uji Cakram

Keterangan:

- A : kontrol
B,C,D,E : perlakuan
1,2,3 : ulangan

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan sabun cuci, dikeringkan kemudian dibungkus dengan menggunakan plastik tahan panas dan diikat menggunakan benang.
- Air secukupnya dituang ke dalam *autoclave*, kemudian alat yang telah dibungkus kertas koran dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris.
- Tombol ON dinyalakan, setelah mencapai suhu 121^oC dan tekanan menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit dengan

cara membuka dan atau menutup kran uap yang berada di bagian atas tutup *autoclave*.

- Tombol OFF ditekan, ditunggu beberapa saat sampai suhu menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka kran uap lalu buka penutup *autoclave* dengan cara simetris.
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

3.5.2 Sterilisasi tempat perlakuan

Selain alat dan bahan, tempat dan laboran harus steril guna menghindari kontaminan. Tangan laboran yang bersinggungan, meja dan barang disekitar tempat perlakuan harus selalu dalam kondisi aseptis. Sterilisasi tempat dapat dilakukan dengan cara kimia menggunakan alkohol maupun cara fisika dengan pembakaran langsung maupun dengan penyinaran dengan sinar UV.

3.5.3 Pembuatan Ekstrak Kasar Kemangi

Permulaan proses pembuatan ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.) maka terlebih dahulu disiapkan daun kemangi segar yang kemudian dikeringkan dengan cara di oven selama 2 jam dengan suhu 72°C. Berat awal daun kemangi segar adalah 1kg kemudian di oven dan dihasilkan penyusutan berat sebesar 680 gram dan didiamkan selama 24 jam, tujuannya yakni agar didapatkan hasil pengeringan yang lebih sempurna. Setelah didiamkan selama 24 jam maka langkah selanjutnya yakni dilakukan proses penggilingan dengan menggunakan *blender* hingga didapatkan ukuran kemangi kering yang lebih halus.

Persiapan perendaman (maserasi) dimana Serbuk kemangi sebanyak 200 gram dimaserasi dalam etanol 70% sebanyak 2 liter selama 3 x 24 jam dalam suhu kamar. Larutan yang didapat kemudian disaring dengan kertas

saring lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak daun kemangi sebanyak 16,08 gram dengan nilai rendemen 8,04%.

3.5.4 Pembuatan Media

A. TSA (*Tripton Soya Agar*)

- TSA merk OXOID dengan dosis 40 gram/l.
- Ditimbang 12,8 gram TSA.
- Dimasukkan dalam erlenmeyer berisi 320 ml akuades.
- Diaduk pada kondisi hangat diatas *hotplate* sampai tercampur rata.
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan kertas perkamen / alumunium foil 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.
- Dituang pada cawan petri tunggu dingin dan gunakan atau simpan pada lemari pendingin dengan diberi label.
- Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari pendingin.
- Panaskan lagi apabila akan digunakan kembali.

B. *Tryptitone Soy Broth* (TSB)

- TSB ditimbang 6 gram dilarutkan dalam 200 ml akuades dalam erlenmeyer kemudian diaduk hingga larut sempurna dan berwarna kuning.
- Erlenmeyer ditutup kapas dan alumunium foil lalu dibungkus dengan kertas perkamen dan diikat, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
- Media yang akan digunakan untuk pembiakan bakteri dibiarkan dingin karena bakteri akan mati bila diinokulasi pada media yang masih panas.

3.5.5 Pembiakan Bakteri *A. hydrophila*

- Larutan TSB disiapkan sebanyak 6 gram dalam *erlenmeyer* sebanyak 200 ml.
- Jarum ose dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum ose disentuhkan kebiakan murni *A. hydrophila* kemudian dicelupkan ke TSB.
- Larutan TSB dibiarkan 12-24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C.
- Disiapkan petridisk yang berisi media TSA.
- Setelah TSB menjadi keruh, jarum ose dicelupkan ke TSB dan digoreskan ke permukaan TSA.
- Digoreskan ke dalam media TSA secara zig-zag dengan metode goresan Sinambung, T atau Kuadran.
- Media TSA Inkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 24 jam.

3.6 Pelaksanaan Penelitian

3.6.1 Uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*)

Uji MIC dilakukan untuk mengetahui dosis minimum yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan filtrat simplisa kemangi (*O. sanctum L.*). Sebanyak 1 ml TSB (*Trypticase Soy Broth*) dan 1 ml bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^7 CFU/ml ditambahkan pada setiap tabung uji. CFU (*Colony Forming Unit*) menurut Setiawati, Yuyun, Dedeh, Dwi dan Hari (2010), adalah satuan mikroba yang membentuk sebuah koloni. Sejumlah 1 ml yang disiapkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan yakni 0 ppm, 150 ppm, 300 ppm, 450 ppm, 600 ppm, 750 ppm, 900 ppm, 1050 ppm dan 1200 ppm, serta kontrol positif (dengan bakteri tanpa ekstrak kemangi) dan kontrol negatif (tanpa bakteri dan dengan hanya ekstrak kemangi) (Grandiosa, 2010).

Pengamatan MIC dilakukan dengan pengamatan kualitatif yakni dengan melihat adanya kekeruhan pada media uji yang menandakan bahwa bakteri

tersebut tumbuh dan bila media uji bening berarti menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri.

Perhitungan pengenceran dosis dapat dilakukan dengan langkah membuat stok dosis yakni 2.000 ppm, kemudian selanjutnya dilakukan pengenceran dosis dari 150 ppm hingga 1.200 ppm dengan rumus :

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Contoh menginginkan dosis 150 ppm :

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2000 \text{ ppm} = 2 \text{ ml} \times 150 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 300/2.000$$

$$V_1 = 0,15 \text{ ml}$$

Larutan pengencer yang dibutuhkan :

$$2 \text{ ml} - 0,15 \text{ ml} = 1,85 \text{ ml}$$

Jadi untuk membuat konsentrasi dosis 150 ppm dibutuhkan 0,15 ml dari 2.000 ppm dan 1,85 ml dari larutan pengencer DMSO 10%.

3.6.2 Uji Cakram

Uji cakram merupakan pengujian untuk antibakteri dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terjadi di sekitar kertas cakram yang mengandung bahan antibakteri sesuai dengan konsentrasi perlakuan (Pelczar dan Chan, 1986).

Uji cakram digunakan untuk mengetahui pada konsentrasi tertentu yang dapat menghambat bakteri yang bersifat bakteriostatik (menghambat bakteri) setelah pengamatan 24 jam, maupun bakteriosidal (membunuh bakteri) setelah pengamatan 48 jam. Kertas cakram yang telah direndam dengan zat antibakteri diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme yang diuji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antibakteri terlihat sebagai wilayah yang jernih di sekitar pertumbuhan mikroorganisme.

Prosedur pelaksanaan Uji cakram adalah :

- Disiapkan petridisk yang telah terdapat media TSA .
- Disiapkan konsentrasi ekstrak kasar daun kemangi untuk uji cakram.
- Penanaman bakteri pada media TSA dilakukan dengan cara mengambil biakan bakteri dari media TSB dengan mencelupkan *cutton swap*, kemudian digoreskan pada seluruh permukaan media agar hingga merata.
- Kertas cakram steril ukuran 6 mm direndam ke dalam ekstrak kering daun kemangi selama 30 menit berdasarkan konsentrasi yang telah ditentukan.
- Kertas cakram yang telah direndam dalam Ekstrak kasar daun kemangi (*O. sanctum* L.) ditiriskan dan diletakkan pada permukaan lempeng agar.
- Dibaca hasil setelah diinkubasi pada suhu ruang 37°C selama 24 jam dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong.
- Jarak kertas cakram dengan tepi petridisk tidak boleh kurang dari 15 mm.
- Jika jumlah kertas cakram lebih dari satu, maka jarak antar cakram tidak boleh kurang dari 24 mm.
- Saat meletakkan kertas cakram tidak boleh bergeser, karena mengurangi validasi pengukuran.

3.7 Parameter Uji

Parameter uji terdiri dari parameter utama dan parameter penunjang. Parameter utama yaitu diameter daerah hambatan yang diukur dengan menggunakan kertas cakram yang dinyatakan dengan mm ditambah daerah bening yang ada di sekeliling kertas cakram. Parameter penunjangnya adalah suhu inkubasi yakni sebesar 37°C.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

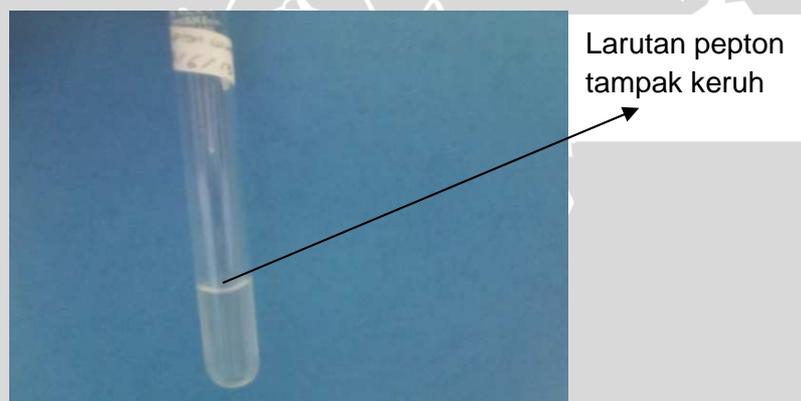
4.1 Identifikasi Bakteri *A. hydrophila*

Proses pengidentifikasian bakteri untuk memastikan bahwa bakteri tersebut adalah *A. hydrophila* dan untuk mengetahui sifat-sifat biokimianya, maka perlu dilakukan beberapa pengujian biokimia yakni antara lain adalah uji gram, uji oksidase, uji motilitas dan uji O/F (Oksidasi/Fermentatif).

Pada uji gram bakteri dilakukan dengan reagen KOH 3%, dimana pada bakteri *A. hydrophila* didapati hasil gram negatif. Dimana prosedur dilakukan dengan cara sampel isolat dari cawan petri di letakkan di atas objek glass yang kemudian di tetesi dengan larutan KOH 3%. Menurut Fahri (2008), Sebanyak satu atau dua tetes larutan suspensi bakteri diteteskan pada gelas objek. Kemudian inokulum bakteri yang berumur 24 jam dengan menggunakan jarum ose diletakkan pada tetesan larutan KOH 3% tersebut. Inokulum diaduk selama 5-10 detik dan kemudian jarum ose diangkat keatas dari tetesan tadi. Bila larutan KOH menjadi kental (*viscous*) dan cairan mengikuti jarum ose sampai 0,5-2 cm, saat jarum ose diangkat, hal ini menunjukkan bakteri yang diperiksa adalah gram negatif.

Pada uji oksidase menggunakan parameter perubahan warna pada kertas tetrametil. Uji ini bertujuan untuk mengetahui bakteri tersebut memiliki enzim oksidase atau tidak. Hasil yang didapati adalah positif dimana artinya menurut Huda, Salni dan Melki (2011), mampu memberikan perubahan warna pada kertas tetrametil dari putih menjadi ungu pada saat isolat bakteri di oleskan pada kertas tersebut. Perubahan warna ini terjadi karena bakteri mensekresikan enzim oksidase sehingga mampu menguraikan zat tetrametil yang ada pada kertas.

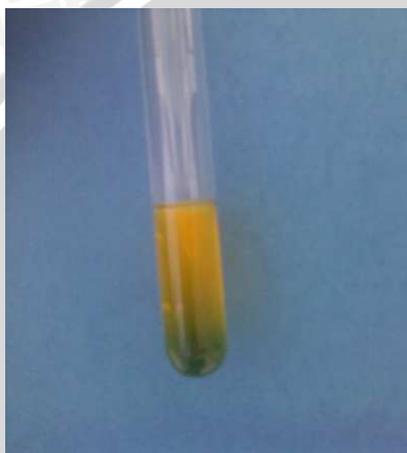
Pada uji motilitas digunakan larutan pepton sebagai indikasi kekeruhan yang menandai bahwa bakteri ini bersifat motil. Menurut Angelia (2009), uji motilitas untuk mengetahui masing-masing isolat bersifat motil atau tidak. Bakteri tersebut bersifat motil (biasanya pada bakteri berbentuk spiral dan sebagian berbentuk basil) dan yang bersifat immotil (bakteri berbentuk coccus). Kemampuan suatu organisme untuk bergerak sendiri disebut motilitas. Hampir semua sel bakteri spiral dan sebagian dari sel bakteri basil bersifat motil, sedangkan bakteri yang berbentuk kokus bersifat immotil. Sifat ini diakibatkan oleh adanya alat motor cambuk yang disebut flagela sehingga sel bakteri dapat berenang di dalam lingkungan air. Hasil uji motilitas disajikan pada Gambar 4.



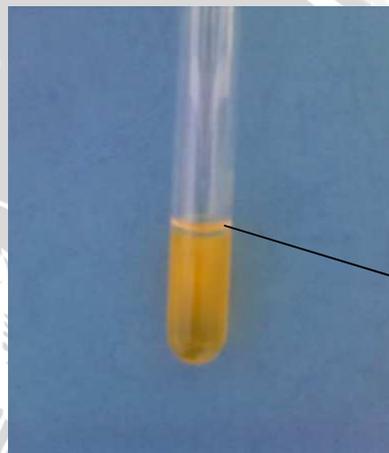
Gambar 4. Hasil Uji Motilitas

Uji oksidasi fermentatif atau uji O/F bertujuan untuk mengetahui bakteri bersifat oksidatif, fermentatif ataukah fermentatif obligat. Media yang digunakan yakni media O/F non parafin untuk pengujian oksidatif dan media O/f parafin untuk pengujian sifat fermentatif, dimana pengujian dilakukan dengan cara memasukkan jarum osse yang sebelumnya telah diambil bakteri uji pada biakan ke dalam media uji O/F. Dasar uji oksidatif yakni bakteri akan mengurai glukosa menjadi asam piruvat tanpa diawali fosforilasi, sedangkan dasar uji fermentatif yakni bakteri menguraikan glukosa melalui proses fosforilasi menjadi asam piruvat. Menurut Setiaji (2009), hasil pengujian reaksi oksidatif bila pada tabung

yang tidak diberi parafin berubah menjadi kuning, sedangkan reaksi fermentatif bila tabung yang diberi parafin berubah warna menjadi kuning atau kedua tabung berubah warna menjadi kuning. Hasil yang didapatkan yakni pada media O/F non parafin dasar media berubah menjadi kuning yang artinya dapat bersifat oksidatif. Pada media uji O/F parafin didapati dasar media uji berubah warna menjadi kuning, dimana artinya bakteri bersifat fermentatif. Hasil uji oksidasi disajikan pada Gambar 5 dan hasil uji fermentatif disajikan pada Gambar 6.



Gambar 5. Uji oksidasi



Gambar 6. uji Fermentatif

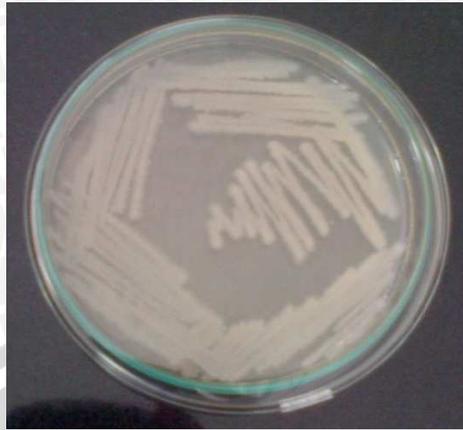
Kemudian didapatkan hasil identifikasi yang dicocokkan dengan buku *Cowan and Steel's* sesuai dengan Prastiwi, Padaga dan Wurangil (2011), dimana pengidentifikasian karakterisasi isolat berpedoman pada SNI 2897: 2008 dan *Cowan dan Steel's Manual for the identification of medical bacteria* adalah bakteri *A. hydrophila*. Untuk hasil identifikasi bakteri *A. hydrophila* disajikan pada Lampiran 1.

Pada penelitian ini digunakan isolat murni bakteri *A. hydrophila* yang didapatkan dari Balai Karantina Ikan Juanda Surabaya. Tahapan berikutnya yang dilakukan dalam pengkulturan ini adalah peremajaan bakteri *A. hydrophila* pada media agar yakni TSA (*Tryptone Soya Agar*) dalam peremajaan metode gores dan pada media cair yakni TSB (*Tryptone Soya Broth*) dimana menurut Pratama, Nairfana dan Rosmawati (2012), media adalah suatu substrat untuk

menumbuhkan bakteri yang menjadi padat dan tetap tembus pandang pada suhu inkubasi. Medium adalah suatu bahan nutrisi tempat menumbuhkan bakteri di laboratorium. Media berfungsi untuk menumbuhkan mikroba, isolasi, memperbanyak jumlah, menguji sifat-sifat fisiologi dan perhitungan jumlah mikroba, dimana dalam proses pembuatannya harus disterilisasi dan menerapkan metode aseptis untuk menghindari kontaminasi pada media.

Dalam penelitian digunakan biakan bakteri dengan kepadatan 10^8 CFU/ml. Untuk mendapatkan kepadatan bakteri ini, dilakukan pembiakan bakteri dengan kepadatan sebesar 1 Mc Farland (1 Mc. Farland = 10^8 bakteri/ml) dengan melakukan penanaman bakteri uji ke dalam media tanam TSA, kemudian diambil dengan menggunakan jarum osse dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi TSB, sampai didapat kekeruhan yang sama dengan standart Mc. Farland 1 setelah 24 jam diinkubasi, selanjutnya dari bakteri dengan kepadatan Mc. Farland 1 tersebut diambil 1 ml menggunakan *micropipet* dan dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril dalam tabung reaksi. Dengan demikian telah didapatkan kepadatan 10^7 bakteri/ml (Jatmikoningtyas, 2001).

Isolat yang didapat kemudian digores pada media kultur dengan metode gores kuadran (*Streak*). Tujuannya yakni untuk mendapatkan koloni tunggal dan murni, dan jika masih didapati koloni yang berbeda bentuknya melalui uji morologi, maka dilakukan proses pemurnian. Metode pembiakan *streak* (gores) dilakukan pada media agar yang diletakkan pada cawan petri dengan cara menggesekkan jarum osse yang telah mengandung bakteri dengan arah gerakan ke kiri dan ke kanan secara sinambung sampai meliputi seluruh permukaan agar sehingga akan diperoleh koloni yang menggerombol hingga mengecil. Bakteri *A. hydrophila* yang dibiakkan pada media TSA (*Tryptone Soya Agar*) membentuk koloni berwarna kuning. Pembiakan dengan metode *streak* disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Biakan Murni Bakteri *A. hydrophila*

4.2 Daya Antibakterial Ekstrak Kasar Kemangi (*O. sanctum* L.)

4.2.1 Uji MIC (*Minimum Inhibitor Concentration*)

Uji MIC dilakukan untuk mengetahui dosis minimum yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dengan menggunakan filtrat simplisia ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.). *Minimum inhibitory concentration* (MIC) didefinisikan sebagai nilai terendah dari konsentrasi antimikroba yang akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme setelah inkubasi 24 jam (Andrews, 2001). Hasil dari uji MIC disajikan pada Tabel 4.

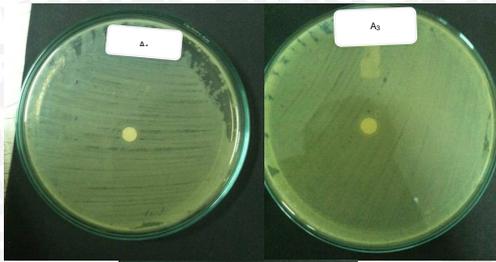
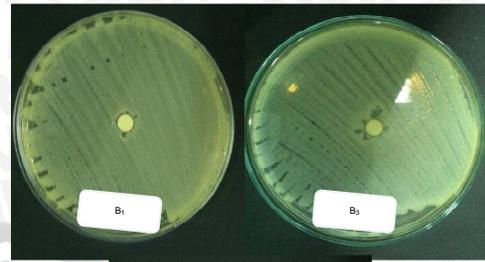
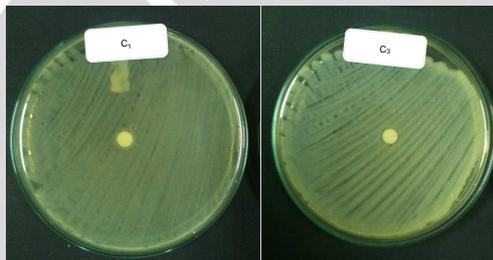
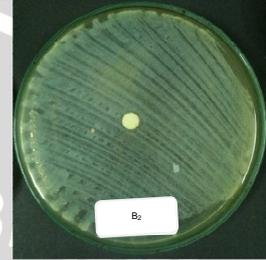
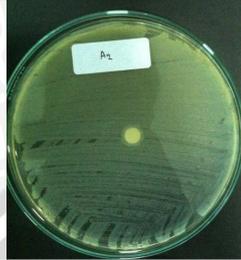
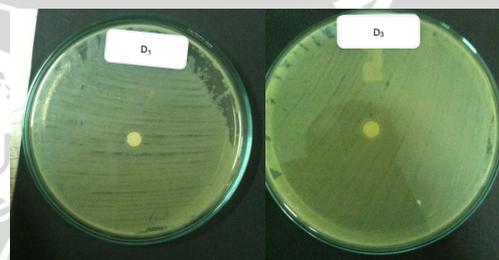
Tabel 4. Hasil Uji MIC (*Minimum Inhibitor Concentration*) pada Perlakuan Dosis Ekstrak yang Berbeda-beda

Dosis	Hasil Spektrofotometri	Keterangan
150 ppm	1,719	Keruh
300 ppm	1,728	Keruh
450 ppm	1,742	Keruh
600 ppm	1,782	Keruh
750 ppm	1,815	Keruh
900 ppm	1,816	Keruh
1050 ppm	1,903	Bening
1200 ppm	1,906	Bening
Kontrol +	0,22	Keruh
Kontrol -	1,957	Bening

Berdasarkan hasil dari penelitian didapati hasil uji MIC pada dosis 1050 ppm menjadi bening pertama kali. Tingkat kejernihan pada larutan uji dipengaruhi karena adanya aktivitas antibakteria dari ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.) yakni flavonoid yang bereaksi membunuh bakteri *A. hydrophila* dengan cara merusak membran sitoplasma bakteri. Karena adanya aktivitas bakteri yang bereaksi dengan dosis perlakuan berbeda, maka akan mempengaruhi nilai absorbansi di tiap tabung perlakuan yang ditandai dengan tingkat kekeruhan. Hal ini seperti dikemukakan oleh Grandiosa (2010), Pengamatan MIC dilakukan dengan pengamatan kualitatif yaitu dengan melihat adanya kekeruhan pada media sebagai indikasi adanya pertumbuhan bakteri setelah 24 jam inkubasi pada suhu 37°C dan bila mediana bening diindikasikan tidak ada pertumbuhan bakteri. Kemudian dilakukan pengamatan dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 550 nm untuk mengetahui hasil absorbansi dari tiap dosis perlakuan yang berbeda, dimana hasil yang didapat yakni nilai absorbansi tertinggi pada dosis 1200 ppm dan untuk hasil gambar pengamatan lebih jelasnya disajikan pada Lampiran 2.

4.2.2 Uji Cakram

Dalam mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.), maka diperlukan uji daya hambat dengan menggunakan kertas cakram. Uji cakram menurut Sommers (1994) ditandai dengan zona hambatan yang terbentuk sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri di sekitar cakram kertas saring, atau dengan kata lain adalah zona bening disekitar kertas cakram. Untuk hasil dari uji cakram disajikan pada Gambar 8 hingga Gambar 11 berikut ini.

**Gambar 8.** Perlakuan A = 1.200 ppm**Gambar 9.** Perlakuan B = 1.400 ppm**Gambar 10.** Perlakuan A = 1600 ppm**Gambar 11.** Perlakuan A = 1.800 ppm

Pada penelitian ini zona hambat (zona bening) didapat tidak adanya pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* di sekitar kertas cakram yang telah direndam dengan perlakuan dosis yang berbeda-beda. Hasil dari penelitian uji cakram disajikan pada Gambar 8 hingga Gambar 11 dan untuk perhitungan diameter zona hambat disajikan pada Lampiran 4. Konsentrasi ekstrak kasar kemangi terkecil yang menghasilkan diameter zona hambat disajikan pada Gambar 11 adalah pada dosis 1.800 ppm yang dimana bakteri telah resisten terhadap ekstrak sehingga flavonoid yang menghasilkan enzim sulfonase akan

dimanfaatkan kembali oleh bakteri sebagai bahan dasar pembentukan dan penebalan dari membran luar sel menjadi fosfolipida yang merupakan salah satu bahan dasar dari membran luar sel bakteri (Ayu *et al.*, 2008). Diameter zona hambat terbesar disajikan pada Gambar 9 adalah pada dosis 1.400 ppm. Untuk mengetahui nilai dari kenormalan data dilakukan uji kenormalan data yang disajikan pada Lampiran 3. Dalam menentukan dosis perlakuan dilakukan perhitungan yang disajikan pada Lampiran 3. Untuk perolehan diameter zona hambat disajikan pada Tabel 5. Sedangkan hasil sidik ragam diameter zona hambat yang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 5. Data Diameter Zona Hambat Bakteri

Perlakuan	R1	R2	R3	Σ perlakuan	Rata-rata (mm)
A (1200) ppm	0,3	0,7	0,7	1,7	0,57
B (1400) ppm	1	1,3	0,9	3,2	1,07
C (1600) ppm	0,5	0,5	0,8	1,8	0,6
D (1800) ppm	0,3	0,3	0,5	1,1	0,37
				7,8	

Pada Tabel 5 didapati hasil penelitian tentang besar diameter zona hambat ekstrak kasar daun kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap bakteri *A. hydrophila*. Hasil rata-rata didapatkan nilai tertinggi yakni pada dosis 1400 ppm dengan nilai sebesar 1,07 mm dan terkecil yakni 0,37 mm pada dosis 1800 ppm.

Tabel 6. Sidik Ragam Diameter Zona Hambat

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,79	0,26	7,52*	4,07	7,59
Acak	8	0,28	0,04			
Total	11	1,07				

Keterangan * : Berbeda Nyata

Pada perhitungan sidik ragam didapati hasil bahwa pengaruh pemberian ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* adalah berbeda nyata. Hal ini dikarenakan hasil dari F Hitung lebih besar dari F Tabel 5% dan lebih kecil dari F Tabel 1 % atau nilai 7,52 lebih besar daripada 4,07 dan 7,52 lebih kecil daripada 7,59. Untuk selanjutnya dalam

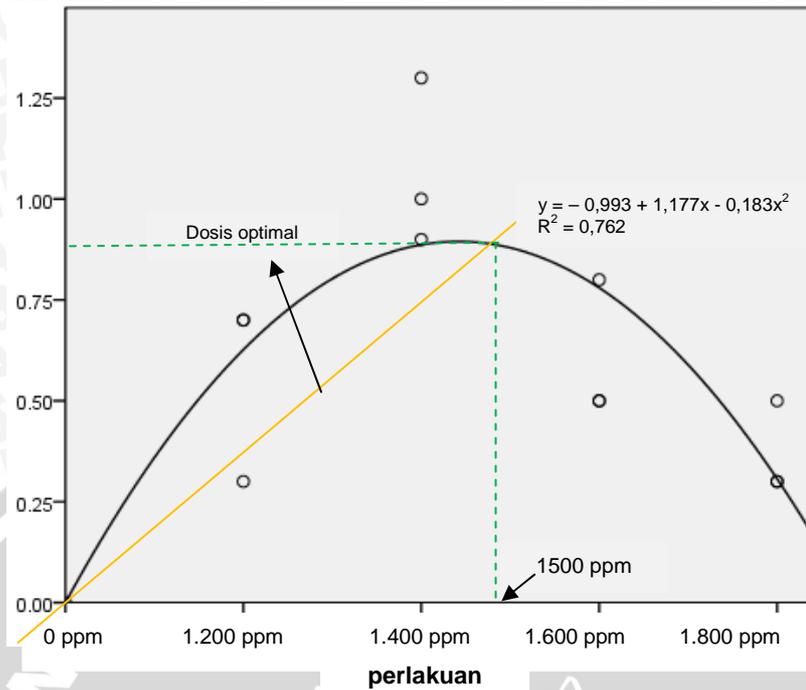
mengetahui perbandingan antar perlakuan maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang disajikan pada Tabel 7 berikut ini.

Tabel 7. Uji Perbandingan Beda Nyata Terkecil Ekstrak Kasar Kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *A. hydrophila*

Rerata Perlakuan	D (0,37)	A (0,57)	C (0,60)	B (1,07)	Notasi
D (0,37)	ns	ns	ns	ns	a
A (0,57)	0,20 ns	ns	ns	ns	a
C (0,60)	0,23ns	0,03ns	ns	ns	a
B (1,07)	0,70**	0,50*	0,47*	ns	b

Data yang disajikan pada Tabel 7 ini didapati bahwa nilai hasil dari perlakuan B memiliki nilai yang berbeda sangat nyata dengan perlakuan D dan berbeda nyata dengan perlakuan A dan C. Perbedaan notasi dikarenakan perlakuan dengan dosis 1400 ppm (perlakuan B) mampu menghambat paling baik daripada perlakuan lainnya yang ditunjukkan pula dengan lebar dari zona hambat bakteri uji. Penghambatan pertumbuhan bakteri dilakukan oleh flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kemangi (*O. sanctum* L.), dimana sebagai anti mikroba menurut Pelczar dan Chan (1986), antara lain dengan jalan merusak dinding sel mikroorganisme, merusak membran sitoplasma, mendenaturasi protein sel dan menghambat kerja enzim dalam sel bakteri.

Untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan uji polinomial orthogonal. Perhitungan polinomial orthogonal dengan menggunakan *software* SPSS disajikan pada Lampiran 4 dan Gambar 12.



Gambar 12. Hubungan antara Konsentrasi Ekstrak Kasar kemangi (*O. sanctum L.*) terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *A. hydrophila*

Hubungan antara Konsentrasi Ekstrak Kasar kemangi (*O. sanctum L.*) terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *A. hydrophila* yang disajikan pada Gambar 8 menunjukkan hubungan antara pengaruh pemberian ekstrak kasar kemangi dengan diameter zona hambat bakteri *A. hydrophila*, nampak bahwa garis perpotongan membentuk grafik kuadratik dengan persamaan $y = -0,993 + 1,177x - 0,183x^2$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,762. Dari hasil persamaan tersebut kemudian dilakukan perhitungan turunan persamaan kuadratik yang disajikan pada Lampiran 4, sehingga didapatkan dosis optimal untuk pemberian ekstrak kasar kemangi sebesar 1.500 ppm yang artinya bahwa dosis pemberian ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum L.*) terbaik yang dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *A. hydrophila* atau paling optimal dalam sistem kerja daya hambatnya. Pada dosis 1200 ppm hingga 1400 ppm grafik nampak masih mengalami kenaikan kurva hingga menuju ke titik puncak, hal ini dikarenakan ekstrak kemangi masih mampu menghambat pertumbuhan dari

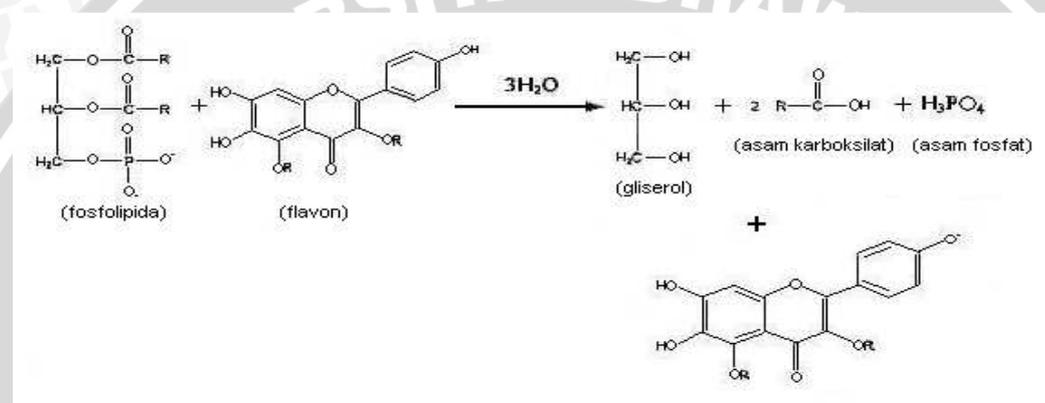
bakteri *A. hydrophila*, dimana menurut Noviana (2004), pada perusakan membran sitoplasma, ion OH⁻ dari senyawa fenol dan turunannya (flavanoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian. Penurunan zona hambat terjadi pada dosis 1600 ppm dan 1800 ppm, hal ini dikarenakan bakteri telah resisten terhadap ekstrak sehingga flavonoid yang menghasilkan enzim sulfonase akan dimanfaatkan kembali oleh bakteri sebagai bahan dasar pembentukan dan penebalan dari membran luar sel menjadi fosfolipida yang merupakan salah satu bahan dasar dari membran luar sel bakteri (Ayu *et al.*, 2008).

Pada ekstrak kemangi (*O. sanctum* L.) mengandung bahan antibakteri yakni berupa flavonoid. Flavonoid merupakan suatu zat turunan dari golongan fenol yang terdapat dalam ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.) serta larut dalam air. Fenol dapat juga berfungsi sebagai zat bakteriosidal. Kadar tinggi akan mengendapkan protein sedangkan kadar rendah mendenaturasi protein tanpa koagulasi sehingga bebas menembus jaringan (Doerge, 1972). Semua senyawa flavonoid, menurut strukturnya merupakan turunan senyawa induk flavon dan semuanya mempunyai sejumlah sifat yang sama flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air dan berupa senyawa fenol (Harbone, 1987).

Antimikroba adalah suatu zat yang mampu mengganggu pertumbuhan dan aktivitas metabolisme mikroba. Khusus untuk bakteri dinamakan antibakteri. Mekanisme kerja antimikroba antara lain dengan jalan merusak dinding sel mikroorganisme, merusak membran sitoplasma, mendenaturasi protein sel dan menghambat kerja enzim dalam sel (Pelczar dan Chan, 1986).

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

Reaksi penguraian pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon menurut Noviana (2004), disajikan pada Gambar 13.



Gambar 13. Mekanisme Perusakan Membran Sitoplasma oleh Flavonoid

Pada Gambar 9 ini nampak pada perusakan membran sitoplasma, ion H⁺ dari senyawa fenol dan turunannya (flavanoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian (Noviana, 2004).

Persenyawaan fenol sebagai desinfektan bersifat aktif terhadap sel vegetatif bakteri, tetapi tidak aktif terhadap spora bakteri. Persenyawaan bersifat fungisida dan antivirus. Keaktifannya menurun dengan berbagai senyawa organik lain (Prajitno, 2005).

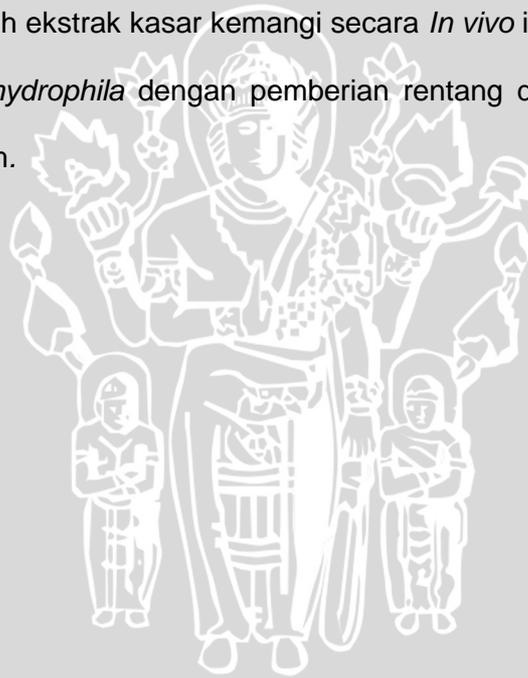
5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian tentang “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* Secara *In Vitro*” diperoleh kesimpulan bahwa dari hasil penelitian didapat dosis optimum yang dapat menghambat dari pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* adalah sebesar 1.500 ppm.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian ini maka disarankan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak kasar kemangi secara *In vivo* ikan air tawar yang terserang bakteri *A. hydrophila* dengan pemberian rentang dosis antara 1.000 ppm hingga 1.600 ppm.



DAFTAR PUSTAKA

- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **48** (1): 5-16.
- Angelia, T. O., 2009. Kajian Metode Deteksi Bakteri Patogen Penyebab Penyakit Asal Pangan Di Pusat Riset Obat Dan Makanan Badan Pom RI. Institut Pertanian Bogor. 42 hlm.
- Arsyad, M. N, Elok I., Akbar S. 2005. Perkembangan Kegiatan Budidaya Ikan di Perairan Umum Sumatera Selatan. *Jurnal Ilmu-ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan* **21** (3) : 63-76.
- Ayu, Wastu, A. Zaenal, dan Suhendi. 2008. Pemanfaatan Kombinasi Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia cattapa*) dan Bawang Putih (*Allium sativum*) Sebagai Antibiotik Alami Untuk Pencegahan dan Pengobatan Serangan *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Patin (*Pangasionodon hypopthalmus*). PKM. Institut Pertanian Bogor. 61 hlm.
- Bima, F. 2009. Characteristic of *Aeromonas hydrophila*. <http://elfahrybima.blogspot.com/2009/10/characteristic-of-aeromonas-hydrophila.html>. Diakses pada Januari 2014.
- Bonang, G. dan E.S. Koeswardono. 1982. Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik. Gramedia . Jakarta. 199 hlm.
- Christian, C., Volk, C., Creason, R., Jarosh, J., Robinson, J., and Warnes, C., 2001. Detection of *hydrophilla* in a Drinking Water Distribution System: a field and pilot study. *Can. J. Microbiol.* **47** (8): 782-786.
- Cushnie, T. P. T. and A. J. Lamb. 2005. Review: Antimicrobial Activity Of Flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **26**(1): 343–356.
- Doerge. 1972. Medisinal untuk Farmakologi. Penerbit Swadaya. Jakarta. 198 hlm.
- Dwijoseputro. 1987. Dasar – dasar Mikrobiologi. Djambatan. Malang. 214 hlm.
- Fahri, N. 2008. Prevalensi Ektoparasit Protozoa *Ichthyophthirius multifiliis* pada Ikan Maskoki (*Carassius auratus*) di Desa Cangu Kecamatan Pare Kabupaten Kediri. Universitas Airlangga. Surabaya. 48 hlm.
- Fauziah, R. 2011. Pengaruh Salinitas Terhadap Prevalensi Ektoparasit pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). Universitas Sumatera Utara. Medan. 23 hlm.
- Grandiosa, R. 2010. Efektivitas Penggunaan Larutan Filtrat Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dengan Konsentrasi Berbed terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *in Vitro* dan Uji Toksisitasnya Terhadap Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjajaran. Bandung. 47 hlm.

- Harbone, J. B. 1987. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terjemahan oleh K. Padmawinata dan Iwang S. Edisi Kedua. ITB. Bandung. 354 hlm.
- Hermawan, A., Hana, W., dan Wiwiek, T. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. Universitas Erlangga. 72 hlm.
- Holmes, P., Niccolls, L., M and Sartory, D.P. 1996. The Ecology of Mesophilic *Aeromonas* in the Aquatic Environment. In the Genus *Aeromonas*, edited by B. Austin, M. Altwegg, P. J. Gosling & S. Joseph. New York. Wiley. 127-252 pp.
- Holt, J.G. 1979. The Sorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The William and Wilkins Company Baltimore. USA. 157 pp.
- Huda, C., Salni, Melki. 2011. Penapisan Aktivitas Antibakteria dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Karang Lunak *Sarcophyton* sp. *Maspari Journal* 4(1): 69-76.
- Jatmikoningtyas, W. 2001. Uji efek anti bakteri dekokta daun jambu biji (*Psidium guava*) terhadap bakteri intestinal (*E. coli*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*) penyebab diare akut. Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya Malang. Malang. 50 hlm.
- Kabata, Z. 1985. Parasites and Diseases of Fish Cultured in the Tropics. Taylor and Francis. London. 254 pp.
- Lay, B.W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 168 hlm.
- Nazir, M. 1988. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta. 162 hlm.
- Nufailah, D., P. J. Wibawa. Wijanarko. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Produk Reduksi Asam Palmitat Dalam Sistem $\text{NaBH}_4/\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Sains* 6(2) : 34-42.
- Nontji, A. 2005. Laut Nusantara. Cetakan Keempat. Djembatan. Jakarta 67 hlm.
- Noviana, L. 2004. Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Propolis Lebah Madu (*Apis mellifera*) dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Fakultas Matematika dan IPA Universitas Brawijaya. Malang. 61 hlm.
- Oktara, B. 2011. Pemanfaatan Penginderaan Jauh dan Sistem Informasi Geografis untuk Manajemen sumber Daya Perikanan Budidaya di Indonesia. *Jurnal Akuakultur*. 3(1): 2-11.
- Parag, S., N. Vijayshree, B. Ranu, and B. R. Patil. 2010. Antibacterial Activity of *Ocimum sanctum* Linn. and its Application in Water Purification. *Res. J. Chem. Environ.*, 14(3): 46-50

- Pelczar, M.J dan E.C.S. Chan. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi I. Universitas Indonesia. Jakarta. 443 hlm.
- Prajitno, A. 2005. Diktat Parasit dan Penyakit Ikan .Fakultas Perikanan.Universitas Brawijaya. Malang. 105 hlm.
- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan dan Udang Bakteri. Universitas Brawijaya. Malang. 113 hlm.
- Prastiwi F. S., M. C. Padaga, D. K. Wurangil. 2011. Isolasi dan Karakterisasi *Salmonella spp.* pada Karkas dan Visera Asal Penjual Ayam di Kota Malang. Universitas Brawijaya. Malang. 12 hlm.
- Pratama, A., I. Nairfana, Rosmawati. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri dari Perairan Tercemar untuk Menunjang Upaya Bioremediasi Badan Air. Universitas Mataram. Mataram. 18 hlm.
- Rahman, M. F. 2008. Potensi Antibakteria Ekstrak Daun Pepaya pada Ikan yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 28 hlm.
- Rahmawati, H., Dede H. 2012. Strategi Pengembangan Usaha Budidaya Ikan Air Tawar. Jurnal Penelitian Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan. Vol. 1 No. 2. Universitas Bengkulu. Bengkulu. 129 hlm.
- Rinawati, N. Dwi. 2012. Daya antibakteri tumbuhan majapahit (*Crescentia cujete L.*) terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*. Skripsi. FMIPA. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya. 63 hlm.
- Rusmini, N. 2002. Strategi Bisnis PT. Perikanan Samodra Besar Cabang Bena-Bali Untuk Mencapai Target Ekspor. Universitas Udayana. Bali. 120 hlm.
- Sastrosupadi, A. 2002. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 276 hlm.
- Setiaji, A., 2009. Efektifitas Ekstrak Daun Pepaya *Carica papaya L.* untuk Pencegahan dan Pengobatan Ikan Lele Dumbo *Clarias sp* yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 41 hlm.
- Sommers, H. M. 1994. Dasar Biologis dan Klinis Penyakit Infeksi. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 594 hlm.
- Surachmad, W. 1986. Dasar dan Teknik Research: Pengantar Metodologi Ilmiah. Tarsito. Bandung. 105 hlm.
- Yuhana, S., A. R. Kusdarwati dan D. K. Meles. 2011. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kemangi (*ocimum sanctum l.*) terhadap Bakteri *Streptococcus iniae* secara *in vitro*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya. 7 hlm.

Zulkarnain, Z., P. Purwanti, E. Indrayani. 2013. Analisis Pengaruh Nilai Produksi Perikanan Budidaya Terhadap Produk Domestik Bruto Sektor Perikanan di Indonesia. *Jurnal ECSOFIM*. 1(1) : 52-72

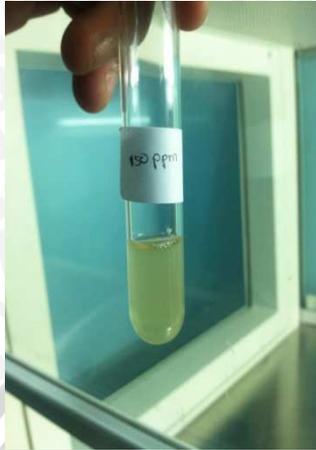


Lampiran 1. Data Hasil Uji Identifikasi Bakteri *A. hydrophila*

No	Uji Biokimia	Hasil Uji
1	Oksidase	+
2	Katalase	+
3	Gram	-
4	TSIA	Slant = - Butt = +
5	Indol	+
6	Motilitas	+
7	MR	-
8	VP	+
9	Simon Citrate	-
10	Urea	+
11	O/F	+
12	Gelatin	+
13	Nitrat	+
14	Malonat	-
15	Kontrol KCN	+
16	KCN	+
17	Lysin Decarboxilase	-
18	Ornythin	-
19	Arginin	+
4	NaCl 4%	-
21	NaCl 6%	-
22	NaCl 8%	-
23	NaCl 10%	-
24	Glukosa	-
25	Laktosa	+
26	Sukrosa	-
27	Manitol	+
28	DNase	+

Lampiran 2. Hasil Uji Cakram dan *Minimum Inhibitor Concentration (MIC)* Ekstrak Kasar Daun Kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap Daya Hambat bakteri *A. hydrophila*

➤ Uji *Minimum Inhibitor Concentration (MIC)*



dosis 150 ppm



dosis 300 ppm



dosis 450 ppm



dosis 600 ppm



dosis 750 ppm



dosis 900 ppm

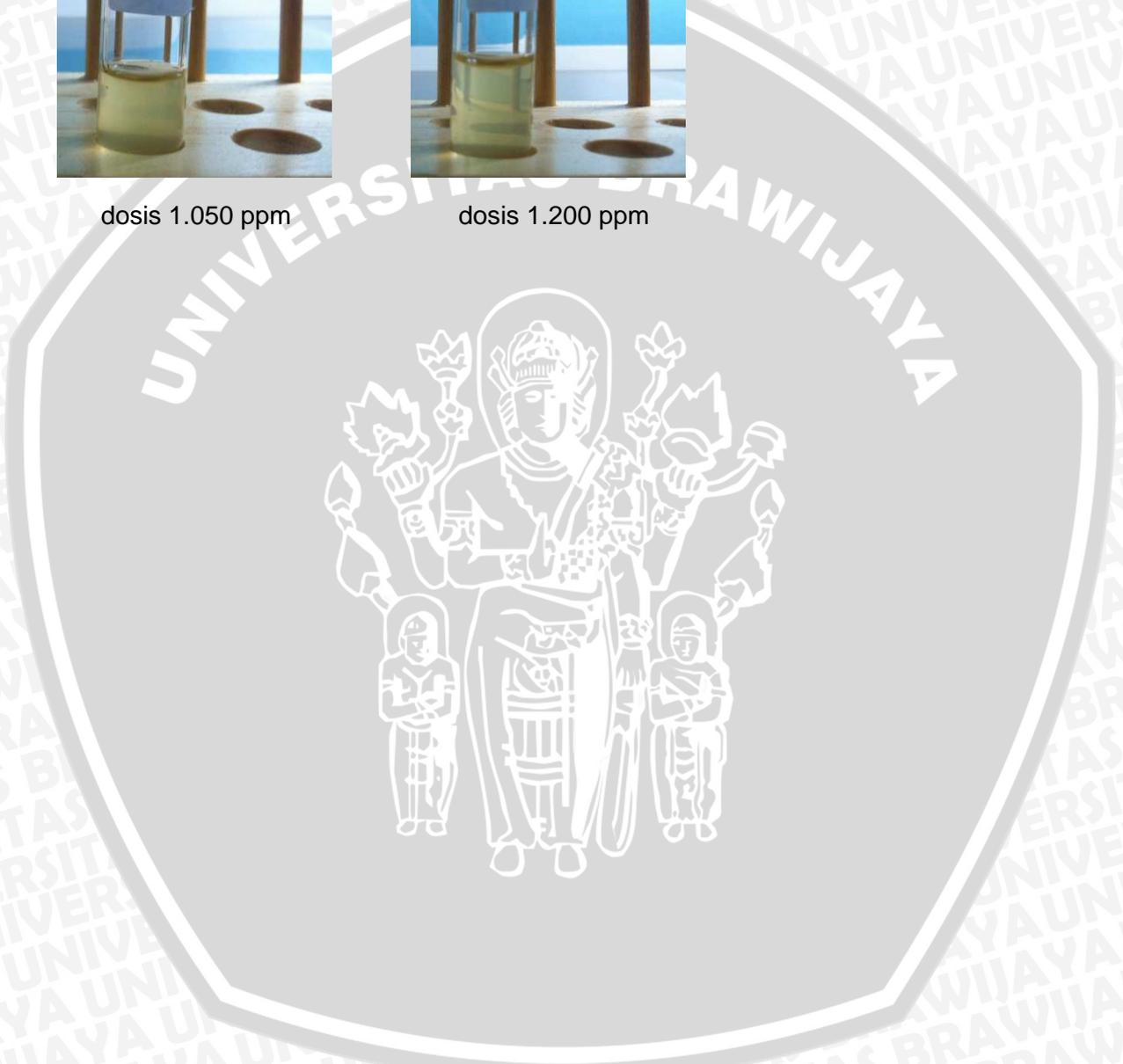
Lampiran 2 (Lanjutan)



dosis 1.050 ppm



dosis 1.200 ppm



Lampiran 3. Penentuan Konsentrasi Ekstrak Kemangi (*O. sanctum L.*) pada uji MIC dan Uji Cakram

Persiapan perendaman (maserasi) dimana Serbuk kemangi sebanyak 200 gram dimaserasi dalam etanol 70% sebanyak 2 liter selama 3 x 24 jam dalam suhu kamar. Larutan yang didapat kemudian disaring dengan kertas saring lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak kemangi sebanyak 16,08 gram, selanjutnya dilakukan pengukuran dosis (ppm) untuk menentukan konsentrasi ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum L.*) dan ditambahkan larutan pengencer DMSO 10% sebanyak 50 ml.

- Dosis stok 2.000 ppm

$$= \frac{2000}{50 \times 1000}$$

= 100 gram ekstrak kasar daun kemangi dilarutkan dalam 50 ml DMSO 10%, maka akan menghasilkan dosis 2.000 ppm

- Uji MIC

- 150 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2.000 = 150 \times 2$$

$$V_1 = 0,15 \text{ ml}$$

0,15 ml dari dosis stok 2000 ppm dilarutkan dalam 1,85 ml DMSO 10% akan menghasilkan dosis konsentrasi 150 ppm

- 300 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2.000 = 300 \times 2$$

$$V_1 = 0,3 \text{ ml}$$

0,3 ml dari dosis stok 2.000 ppm dilarutkan dalam 1,7 ml DMSO 10% akan menghasilkan dosis konsentrasi 300 ppm

Lampiran 3. (Lanjutan)

➤ 450 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2.000 = 450 \times 2$$

$$V_1 = 0,45 \text{ ml}$$

0,45 ml dari dosis stok 2.000 ppm dilarutkan dalam 1,55 ml DMSO 10%

akan menghasilkan dosis konsentrasi 450 ppm

➤ 600 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2.000 = 600 \times 2$$

$$V_1 = 0,6 \text{ ml}$$

0,6 ml dari dosis stok 2.000 ppm dilarutkan dalam 1,2 ml DMSO 10%

akan menghasilkan dosis konsentrasi 600 ppm

➤ 750 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2.000 = 750 \times 2$$

$$V_1 = 0,75 \text{ ml}$$

0,75 ml dari dosis stok 2.000 ppm dilarutkan dalam 1,25 ml DMSO 10%

akan menghasilkan dosis konsentrasi 750 ppm

➤ 900 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2.000 = 900 \times 2$$

$$V_1 = 0,9 \text{ ml}$$

0,9 ml dari dosis stok 2.000 ppm dilarutkan dalam 1,1 ml DMSO 10%

akan menghasilkan dosis konsentrasi 900 ppm

Lampiran 3. (Lanjutan)

➤ 1.050 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2.000 = 1.050 \times 2$$

$$V_1 = 1,05 \text{ ml}$$

1,05 ml dari dosis stok 2.000 ppm dilarutkan dalam 0,95 ml DMSO 10%

akan menghasilkan dosis konsentrasi 1050 ppm

➤ 1.200 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2.000 = 1.200 \times 2$$

$$V_1 = 1,2 \text{ ml}$$

1,2 ml dari dosis stok 2.000 ppm dilarutkan dalam 0,8 ml DMSO 10%

akan menghasilkan dosis konsentrasi 1.200 ppm

➤ Uji Cakram

➤ 1.200 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2.000 = 1200 \times 2$$

$$V_1 = 1,2 \text{ ml}$$

1,2 ml dari dosis stok 2000 ppm dilarutkan dalam 0,8 ml DMSO 10% akan

menghasilkan dosis konsentrasi 1200 ppm

➤ 1.400 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2.000 = 1.400 \times 2$$

$$V_1 = 1,4 \text{ ml}$$

1,4 ml dari dosis stok 2.000 ppm dilarutkan dalam 0,6 ml DMSO 10%

akan menghasilkan dosis konsentrasi 1.400 ppm

Lampiran 3. (Lanjutan)

- 1.600 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2.000 = 1.600 \times 2$$

$$V_1 = 1,6 \text{ ml}$$

1,6 ml dari dosis stok 2.000 ppm dilarutkan dalam 0,4 ml DMSO 10%

akan menghasilkan dosis konsentrasi 1.600 ppm

- 1.800 ppm

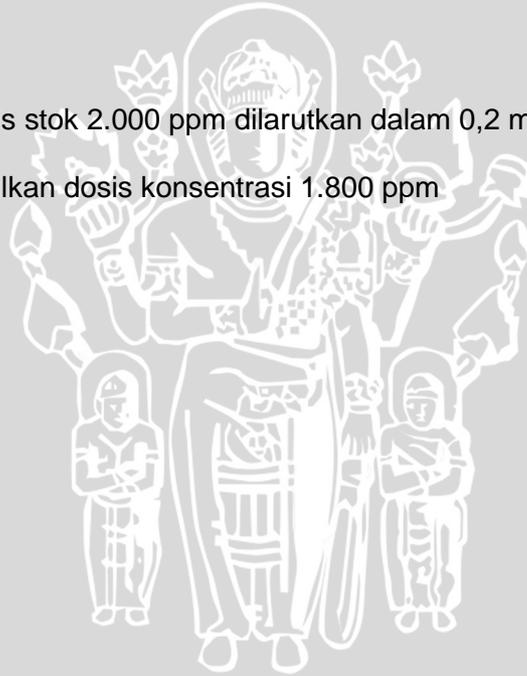
$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 2.000 = 1.800 \times 2$$

$$V_1 = 1,8 \text{ ml}$$

1,8 ml dari dosis stok 2.000 ppm dilarutkan dalam 0,2 ml DMSO 10%

akan menghasilkan dosis konsentrasi 1.800 ppm



Lampiran 4. Analisis Data Pengaruh Daya Antibakteri Ekstrak Kasar Kemangi (*O. sanctum* L.) Terhadap Diameter Hambatan (mm) Bakteri *A. hydrophilla*

➤ Data Diameter Hambatan (mm) Bakteri *A. hydrophilla*

Perlakuan	R1	R2	R3	Σ perlakuan	Rata-rata	$R1^2$	$R2^2$	$R3^2$	ΣR^2
A (1.200) ppm	0,3	0,7	0,7	1,7	0,57	0,09	0,49	0,49	1,07
B (1.400) ppm	1	1,3	0,9	3,2	1,07	1	1,69	0,81	3,5
C (1.600) ppm	0,5	0,5	0,8	1,8	0,6	0,25	0,25	0,64	1,14
D (1.800) ppm	0,3	0,3	0,5	1,1	0,37	0,09	0,09	0,25	0,43
				7,8					6,14

Perhitungan:

$$1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} = \frac{G^2}{N}$$

$$= \frac{(7,80)^2}{12}$$

$$= \frac{60,84}{12}$$

$$= 5,07$$

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

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

$$= (0,3^2 + 0,7^2 + \dots + 0,5^2) - 5,07$$

$$= 1,07$$

$$3. \text{ JK Perlakuan} = \frac{\Sigma(\Sigma xi)^2}{r} - FK$$

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

$$= \frac{1,7^2 + 3,2^2 + 1,80^2 + 1,10^2}{3} - 5,07$$

$$= 0,79$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

$$4. \text{ JK galat} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan}$$

$$= 1,07 - 0,79$$

$$= 0,28$$

$$5. \text{ db Total} = (n \times r) - 1$$

$$= (4 \times 3) - 1$$

$$= 11$$

$$6. \text{ db Perlakuan} = n - 1$$

$$= 4 - 1$$

$$= 3$$

$$7. \text{ db Galat} = \text{db Total} - \text{db Perlakuan}$$

$$= 14 - 3$$

$$= 11$$

- Hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov Test ($p > 0,05$) Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* secara *In vitro*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameter
N		12
Normal Parameters ^a	Mean	0.6500
	Std. Deviation	0.31189
Most Extreme Differences	Absolute	0.185
	Positive	0.185
	Negative	-0.131
Kolmogorov-Smirnov Z		0.640
Asymp. Sig. (2-tailed)		0.807

- a. Test distribution is Normal.
b. Calculated from data

Lampiran 4. (Lanjutan)

Hasil pengujian tersebut menunjukkan probabilitas hitung = 0.807 > level of significance ($\alpha=5\%$). Hal ini berarti residual berdistribusi normal. Dengan demikian asumsi normalitas sudah terpenuhi.

➤ **Sidik Ragam Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* secara *In vitro***

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,79	0,26	7,52*	4,07	7,59
Acak	8	0,28	0,04		4,07	7,59
Total	11	1,07				

Keterangan * : Berbeda Nyata

Post Hoc Test

➤ **Beberapa Perbandingan Dosis Larutan Kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* secara *In vitro***

Uji Tukey

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Perbedaan Rerata (I-J)	Standar eror	Sig.	Nilai kepercayaan 95%	
					Terendah	Tertinggi
1200 ppm	1400 ppm	-0.50000	0.15275	0.045	-0.9892	-0.0108
	1600 ppm	-0.03333	0.15275	0.996	-0.5225	0.4558
	1800 ppm	0.20000	0.15275	0.583	-0.2892	0.6892
1400 ppm	1200 ppm	0.50000	0.15275	0.045	0.0108	0.9892
	1600 ppm	0.46667	0.15275	0.062	-0.0225	0.9558
	1800 ppm	0.70000	0.15275	0.008	0.2108	11.892
1600 ppm	1200 ppm	0.03333	0.15275	0.996	-0.4558	0.5225
	1400 ppm	-0.46667	0.15275	0.062	-0.9558	0.0225
	1800 ppm	0.23333	0.15275	0.466	-0.2558	0.7225
1800 ppm	1200 ppm	-0.20000	0.15275	0.583	-0.6892	0.2892
	1400 ppm	-0.70000	0.15275	0.008	-11.892	-0.2108
	1600 ppm	-0.23333	0.15275	0.466	-0.7225	0.2558

Lampiran 4. (Lanjutan)

➤ Hasil Uji Tukey Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* secara *In vitro*

Rerata Perlakuan	D (0,37)	A (0,57)	C (0,60)	B (1,07)	Notasi
D (0,37)	ns	ns	ns	ns	a
A (0,57)	0,20 ns	ns	ns	ns	a
C (0,60)	0,23ns	0,03ns	ns	ns	a
B (1,07)	0,70**	0,50*	0,47*	ns	b

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{\text{ulangan} (r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,04}{3}} = 0,16$$

$$t \text{ tabel BNT } 5\% = 0,16 \times 2,3125 = 0,37$$

$$t \text{ tabel BNT } 1\% = 0,16 \times 3,375 = 0,54$$

➤ Ringkasan Model Grafik Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* secara *In vitro*

R	R ²	Adjusted R Square
0,873	0,762	0,722

➤ Koefisiensi Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* secara *In vitro*

	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
	B	Std. Error	Beta		
perlakuan	1,177	0,192	4,464	6,133	0,000
perlakuan ** 2	-0,183	0,031	-4,254	-5,844	0,000
(Constant)	-0,993	0,252		-3,946	0,002

Sehingga persamaan hubungan antara dua variabel tersebut berbentuk kuadratik dengan persamaan:

$$y = -0,993 + 1,177x - 0,183x^2$$

$$y' = 1,177 - 2(0,183)x$$

$$y' = 1,177 - 0,366x$$

$$0,366x = 1,177$$

$$x = 3,216$$

$$y = -0,993 + 1,177x - 0,183x^2$$

$$y = -0,993 + 1,177(3,216) - 0,183(3,216)^2$$

$$y = -0,993 + 3,785 - 1,893$$

$$y = 0,899$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

$$x = 3,216$$

$$\frac{1400}{3} = \frac{x}{3,216}$$

$$466,67 = \frac{x}{3,216}$$

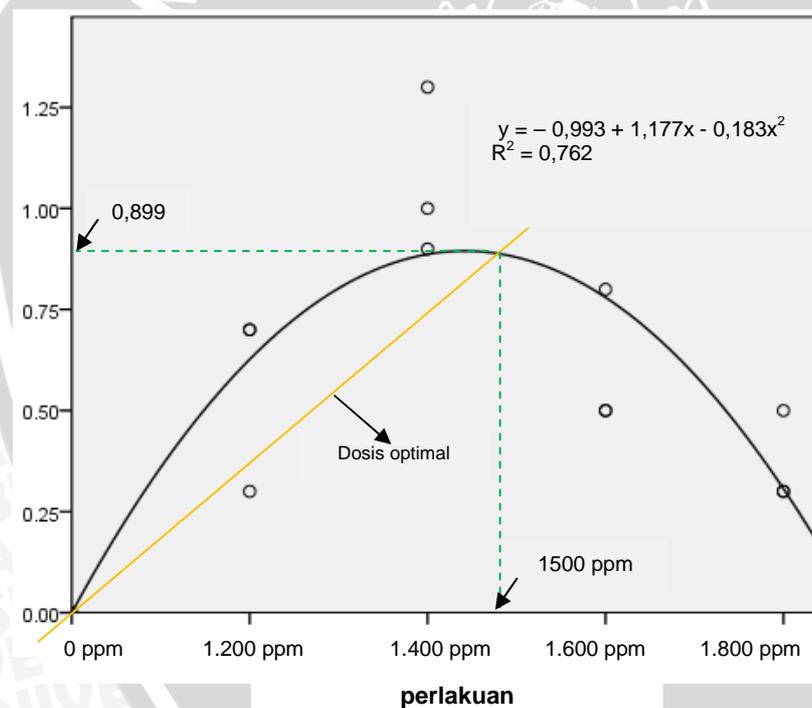
$$x = 1.500 \text{ ppm}$$

Keterangan :

x = dosis optimal = 1.500 ppm

y = diameter zona hambat = 0,899 mm

Sehingga dosis optimal yang dapat menghambat bakteri *A. hydrophila* adalah sebesar 1.500 ppm dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 0,899 mm.



Keterangan :

— = garis perpotongan untuk dosis optimal

- - - = garis menuju angka dosis optimal

Lampiran 5. Foto Alat Penelitian



Autoklaf sterilisasi



Oven



Mikropipet



Autoklaf destruksi

Lampiran 5. (Lanjutan)



Inkubator



Laminar Air Flow (LAF)



Timbangan digital



Timbangan sartorius

Lampiran 5. (Lanjutan)



Erlenmeyer



Beaker glass



Sprayer



Bunsen

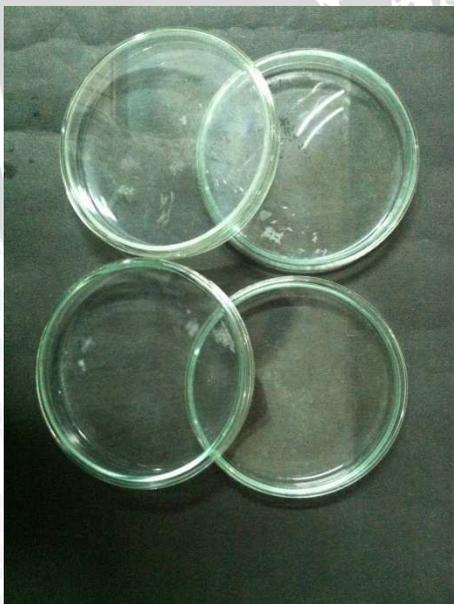
Lampiran 5. (Lanjutan)



Pipet tetes



Jangka sorong



Cawan petri



Tabung reaksi

Lampiran 5. (Lanjutan)



Gelas ukur



Corong kaca



Kulkas



Hot plate

Lampiran 6. Foto Kegiatan Penelitian



Proses penggilingan serbuk halus kemangi (*O. sanctum L.*)



Maserasi ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum L.*)



Penuangan media TSA



Pembuatan media TSA



Glosarium (Daftar Istilah)

- *A. hydrophila* : merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang yang banyak ditemukan di lingkungan air tawar dan air payau atau yang berkandungan bahan organik tinggi.
- Absorbansi : daya tembus cahaya pada suatu cairan tertentu.
- Bakteriosidal : kemampuan ekstrak untuk membunuh bakteri.
- Bakteriostatik : kemampuan ekstrak untuk menghambat pertumbuhan bakteri.
- Denaturasi : pemecahan molekul ke bentuk yang lebih sederhana.
- Dropsi : penggembungan pada perut akibat dari penumpukan cairan dalam tubuh.
- Fakultatif aerob : dapat melakukan metabolisme pada lingkungan ada atau tanpa adanya oksigen.
- Flavonoid : merupakan kelompok senyawa fenol terbesar yang biasanya sebagai antimikroba dan dimiliki oleh tumbuhan hijau kebanyakan kecuali pada alga.
- *Heterotrophic unicellular* : bakteri jenis bersel banyak yang dapat memproduksi bahan metabolismenya sendiri.
- *In vitro* : penelitian pada skala kecil biasanya pada skala laboratorium saja dan semua komponen perlakuan dianggap homogen.
- Inokulasi : penanaman bakteri dengan menggunakan jarum osse.
- *Minimum Concentration Inhibition* : uji untuk mengetahui dosis minimal yang dapat menghambat dari bakteri uji.



- *Motile Aeromonas Septicaemia* : penyakit yang disebabkan oleh infeksi dari bakteri *A. hydrophilla*.
- *Ocimum sanctum* L. : nama latin dari tumbuhan kemangi.
- Patogen : merupakan mikroba yang dapat menyebabkan penyakit dan bersifat merugikan.
- Sterilisasi : merupakan metode untuk membuat alat dan bahan menjadi steril atau tidak adanya mikroorganisme.
- TSA (*Triptycase Soy Agar*) dalam bentuk : merupakan media tumbuh bakteri agar padatan.
- TSB (*Triptycase Soy Broth*) : merupakan media tumbuh bakteri dalam bentuk cair.

