

**UJI DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas hydrophila*
SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR
DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) SECARA IN VITRO**

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

Oleh :
HILMY GUFRON
NIM. 125080509111010



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

UJI DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas hydrophila*
SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR
DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) 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 :
HILMY GUFRON
NIM. 125080509111010



PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014

**UJI DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas hydrophila*
SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR
DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) SECARA IN VITRO**

Oleh :
HILMY GUFRON
NIM. 125080509111010

Telah dipertahankan didepan penguji
Pada tanggal 21 Agustus 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
SK Dekan No. :
Tanggal :

DOSEN PENGUJI I

**MENYETUJUI,
DOSEN PEMBIMBING I**

(Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D)
NIP. 19460320 197303 1 001

(Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS)
NIP. 19611106 198602 2 001

Tanggal: _____

Tanggal: _____

DOSEN PENGUJI II

DOSEN PEMBIMBING II

(Fani Fariedah, S.Pi, MP)
NIK. 82030808120397

(Ir. Ellana Sanoesi, MP)
NIP. 19630924 199803 2 002

Tanggal: _____

Tanggal: _____

**MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP**

(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal: _____

PERNYATAAN ORISINALITAS

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 penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, Agustus 2014

Mahasiswa

HILMY GUFRON



UCAPAN TERIMA KASIH

Pembuatan laporan skripsi ini tidak luput dari bantuan banyak pihak untuk itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah S,W,T yang telah memberikan kelancaran dan berbagai kemudahan pada penulis dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
2. Ibu, Ayah, A Heru, Teteh, De Iki, Ua dan semua keluarga yang tidak bosan-bosannya mendoakan penulis dan telah memberikan dukungan baik dari segi moril dan materil kepada penulis.
3. Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS sebagai ketua Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan yang telah mengizinkan penulis melakukan penelitian di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan.
4. Ir. Darius, M. Biotech yang telah mengizinkan penulis untuk melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi Perairan.
5. Ibu Titin Yuniastutik dan Ibu Heni yang telah membantu penulis dalam melakukan penelitian di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan.
6. Ibu Iwin Zunairoh yang telah membantu penulis dalam melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi Perairan.
7. Ragil Kosmawati sebagai teman spesial yang tidak bosan-bosannya mendukung, membantu, memotivasi dan mendoakan penulis dalam penyusunan laporan.
8. Teman-teman ALJER'S yang telah banyak membantu penulis selama menimba ilmu di kampus tercinta Universitas Brwajaya.
9. Teman-teman Budidaya Perairan dan teman-teman Teknologi Hasil Perikanan yang namanya tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis pada saat penyusunan laporan.

10. Teman-teman Teknologi Hasil Perikanan yaitu Seto dan Hosna Geng's, dan teman-teman yang lainnya yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis pada saat pelaksanaan penelitian.
11. Andri Ilmu Kelautan 2010 yang telah bareng-bareng melaksanakan penelitian siang malam di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan.
12. Jo Peternakan 2012 yang telah membantu penulis dalam penyusunan laporan.
13. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis selama penelitian dan pembuatan laporan skripsi ini.

Malang, Agustus 2014

Penulis



RINGKASAN

HILMY GUFRON. Uji Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.)DC.) Secara In Vitro. di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. SRI ANDAYANI, MS** dan **Ir. ELLANA SANOESI, MP.**

Saat ini sebagian besar kegiatan budidaya perikanan khususnya ikan air tawar dilakukan dengan menggunakan sistem budidaya intensif. Sistem ini dilakukan untuk memperoleh hasil produksi yang maksimal dengan luas lahan yang minimal. Sistem budidaya intensif yang menerapkan padat penebaran tinggi menyebabkan ikan lebih rentan terserang penyakit yang salah satunya ditimbulkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Timbulnya penyakit dapat disebabkan karena kondisi perairan yang kurang baik, kualitas pakan yang kurang, maupun kualitas induk yang kurang baik. Selain itu, penggunaan teknik budidaya yang kurang tepat dan kontaminasi dari alat-alat budidaya maupun pekerjaannya juga dapat menimbulkan penyakit pada ikan. Namun biasanya pencegahan atau pengobatan penyakit tersebut dilakukan dengan menggunakan bahan kimia yang akan berdampak buruk bagi lingkungan ataupun bagi konsumen. Penggunaan bahan herbal sebagai obat sudah banyak digunakan karena merupakan bahan alami yang ramah lingkungan. Salah satu bahan obat yang digunakan yaitu tanaman sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* secara in vitro. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, FPIK UB dari tanggal 5 Mei sampai tanggal 20 Juni 2014 dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian dilakukan empat perlakuan dan tiga kali ulangan yaitu dengan menggunakan dosis yaitu 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dan 300 ppm. Parameter utama dalam penelitian ini adalah melihat atau mengukur diameter zona bening yang dihasilkan di sekitar kertas cakram yang dihasilkan dari berbagai dosis yang digunakan. Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah lama waktu perendaman yang dilakukan.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah diameter zona bening tertinggi terdapat pada perlakuan dengan dosis 300 ppm dengan diameter rata-rata zona bening yaitu $7,85 \pm 0,69$ mm, perlakuan C dengan dosis 250 ppm dengan diameter zona bening rata-rata $7,18 \pm 0,24$ mm, pada perlakuan B dengan dosis 200 ppm didapatkan rata-rata diameter zona bening yaitu $5,57 \pm 0,51$ mm dan pada perlakuan A dengan dosis 150 ppm didapatkan hasil rata-rata zona bening yaitu $4,63 \pm 0,64$ mm. Hasil tersebut setelah dilakukan uji statistik berbeda sangat nyata dan semakin tinggi dosis yang digunakan memberikan pengaruh terhadap diameter zona bening yang dihasilkan. Grafik yang dihasil berupa grafik linier dengan persamaan $y=0,022x + 1,203$ dengan tingkat kepercayaan $R^2=0,974$.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah S,W,T yang telah senantiasa melimpahkan rahmat dan karunianya, sehingga laporan skripsi dengan judul **“Uji Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.)DC.) Secara In Vitro”** dapat terselesaikan.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS selaku dosen pembimbing 1 yang telah sabar memberikan bimbingan dan motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan laporan skripsi ini.
2. Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku dosen pembimbing 2 yang telah sabar dan tidak bosan-bosannya memberikan bimbingan kepada penulis dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
3. Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D selaku dosen penguji 1 yang telah memberikan kelancaran dan kemudahan pada saat pelaksanaan ujian skripsi.
4. Fani Fariedah, S.Pi, MP selaku dosen penguji 2 yang telah meluangkan waktunya untuk hadir pada saat ujian skripsi.

Penulis menyadari bahwa laporan skripsi ini masih jauh dari sempurna dan banyak kekurangan karena keterbatasan penulis sebagai manusia biasa yang tidak pernah luput dari kesalahan. Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak. Semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umunya bagi pembaca.

Malang, Agustus 2014

Penulis

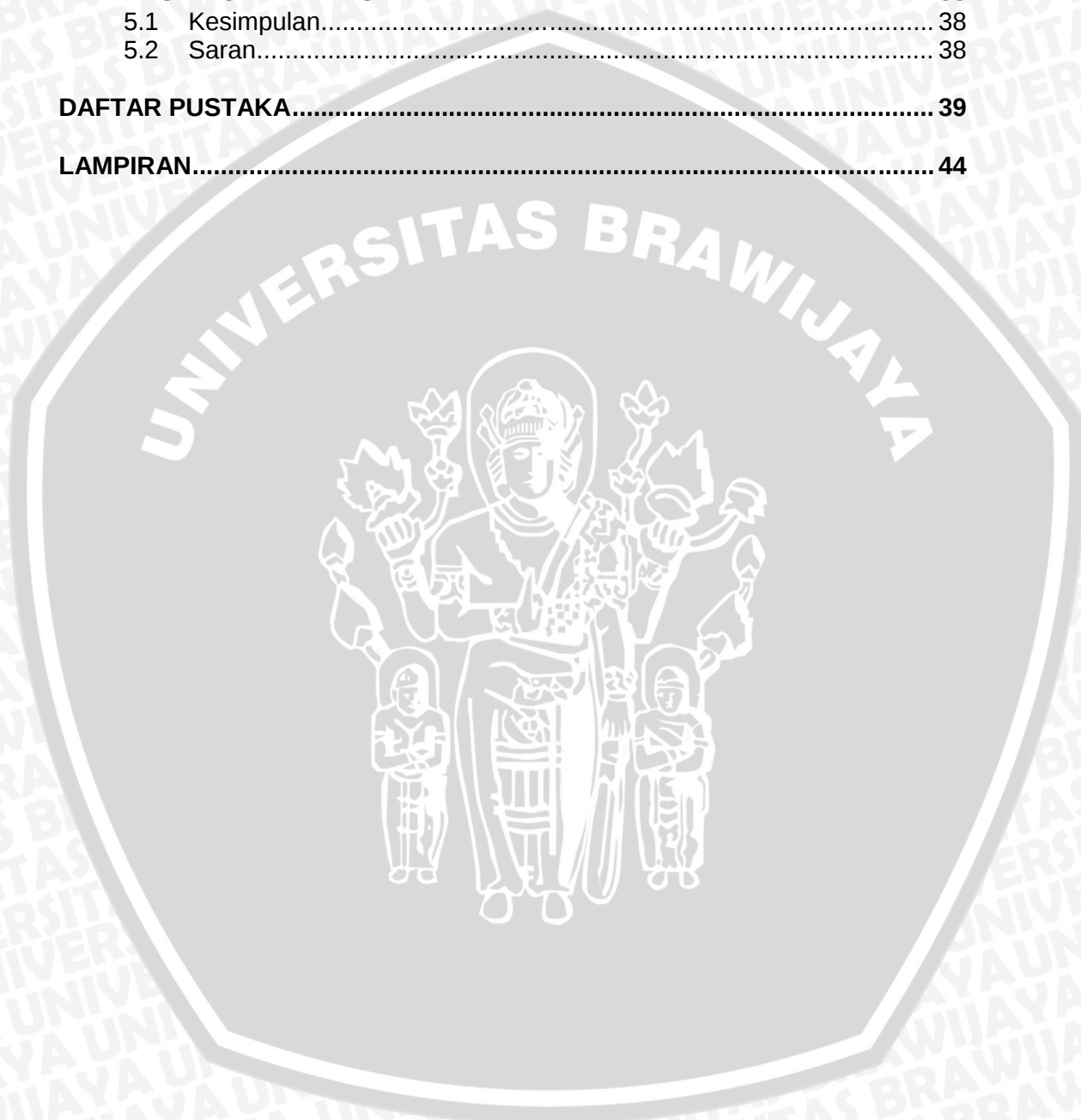
DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN.....	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Kegunaan Penelitian	5
1.6 Waktu dan Tempat	5
II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tanaman Sembung (<i>Blumea balsamifera</i> (L.) DC.)	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	6
2.1.2 Habitat dan Penyebaran.....	7
2.1.3 Manfaat dan Kegunaan	8
2.1.4 Bahan Aktif	9
2.2 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	10
2.2.1 Klasifikasi dan Morfolgi.....	10
2.2.2 Habitat dan Perkembangbiakan.....	11
2.2.3 Media Biakan Bakteri.....	12
2.3 Uji Aktivitas Antimikroba	14
2.3.1 Uji MIC (<i>Minimum Inhibiting Concentration</i>).....	14
2.3.2 Uji Cakram	15
2.4 Ekstraksi.....	15
2.5 Antibakteri	18
III METODE PENELITIAN	19
3.1 Materi Penelitian.....	19
3.1.1 Peralatan Penelitian	19
3.1.2 Bahan Penelitian	20
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian	20
3.2.1 Metode Penelitian.....	20
3.2.2 Rancangan Penelitian	21
3.3 Prosedur Penelitian	23
3.3.1 Persiapan Penelitian.....	23
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian	26
3.4 Parameter Uji	28
3.5 Analisis Data	28

Halaman

IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1	Uji MIC (<i>Minimum Inhibiting Concentration</i>).....	29
4.2	Uji Cakram.....	31
V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
5.1	Kesimpulan.....	38
5.2	Saran.....	38
	DAFTAR PUSTAKA.....	39
	LAMPIRAN.....	44



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Peralatan Penelitian.....	19
2. Bahan-Bahan Penelitian	20
3. Hasil Pengamatan Uji MIC Menggunakan Spektrofotometer.....	29
4. Klasifikasi Respon Hambatan	32
5. Hasil Rata-Rata Pengamatan Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (<i>B. balsamifera</i> (L.) DC.) Terhadap Bakteri <i>A. hydrophila</i>	33
6. Hasil Analisa Sidik Ragam Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (<i>B. balsamifera</i> (L.) DC.)	33
7. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (<i>B. balsamifera</i> (L.) DC.)	34



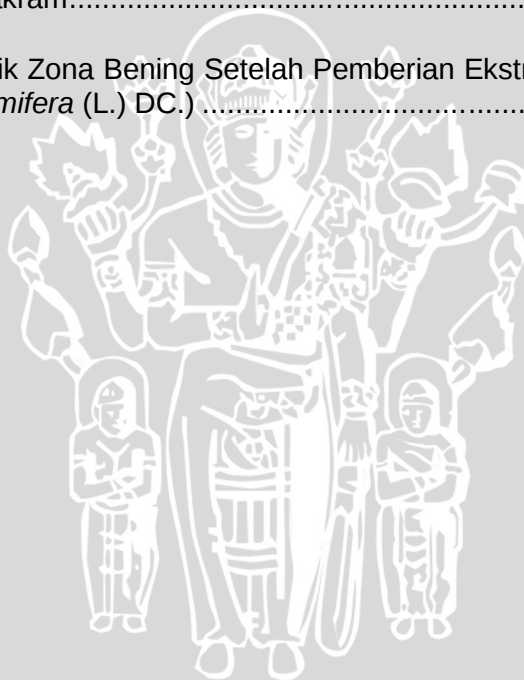
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Sembung (<i>B. balsamifera</i> (L.) DC.)	7
2. <i>A. hydrophila</i>	11
3. Denah (Lay Out) Rancangan Penelitian.....	22
4. Hasil Uji MIC (<i>Minimum Inhibiting Concentration</i>) dari Dosis Tertinggi pada Tabung Nomor 1 sampai dosis Terendah pada Tabung Nomor 10 kemudian Tabung Nomor 11 sebagai Kontrol Negatif dan Tabung Nomor 12 sebagai Kontrol positif	30
5. Hasil Uji Daya Hambat Bakteri <i>A. hydrophila</i> Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (<i>B. balsamifera</i> (L) DC).....	31
6. Hubungan Pengaruh Dosis Ekstrak Kasar Daun Sembung (<i>B. balsamifera</i> (L.) DC.) pada Tiap Perlakuan dengan Diameter Zona Hambat	35



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Peralatan Penelitian.....	45
2. Proses Ekstraksi Daun Sembung (<i>Blumea balsamifera</i> (L.)DC.).....	46
3. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>A. hydrophila</i> dari BBPBAP Jepara.....	47
4. Gambar Isolat Murni dan Hasil Peremajaan Bakteri <i>A. hydrophila</i> pada Media Agar Miring.	48
5. Gambar Hasil Penggenceran Berseri secara berurutan (1) Isolat bakteri, (2) Standar Mc Farlan 10^8 , (3) Hasil Penggenceran 10^7	48
6. Skema Kerja Uji MIC (<i>Minimum Inibiting Concentration</i>).....	49
7. Skema Kerja Uji Cakram.....	50
8. Perhitungan Statistik Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (<i>B. balsamifera</i> (L.) DC.)	51



I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan masyarakat dunia saat ini menunjukkan kecenderungan adanya perubahan pola konsumsi. Perubahan tersebut antara lain disebabkan kebutuhan makanan yang sehat dan bernilai gizi tinggi. Bahan pangan yang memiliki nilai gizi tinggi dan menjadi favorit saat ini salah satunya yaitu ikan. Ikan menjadi komoditas strategis yang dibutuhkan oleh masyarakat dunia sehingga permintaan pasar terhadap produk ini semakin tinggi (Sukadi, 2002).

Pemenuhan kebutuhan terhadap produk perikanan yang cukup tinggi dan sejalan dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi maka kegiatan budidaya mulai beralih dari kegiatan sistem budidaya tradisional ke sistem budidaya intensif. Budidaya perikanan intensif menggunakan padat tebar dan jumlah pakan yang tinggi yang dapat mengakibatkan menurunnya kualitas air budidaya karena tingginya buangan metabolit sehingga akan menimbulkan berbagai macam penyakit (Sidik, Sarwono dan Agustin, 2002; Mariyono dan Sundana, 2002).

Salah satu penyakit yang timbul akibat menurunnya kualitas perairan tersebut yaitu penyakit bakterial yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri ini merupakan bakteri Gram negatif yang pada umumnya hidup di perairan tawar yang mengandung bahan organik tinggi. Gejala yang timbul pada ikan akibat infeksi bakteri *A. hydrophila* yaitu pada permukaan tubuhnya terdapat warna merah darah (pendarahan) terutama pada bagian dada, pangkal sirip dan perut, selaput lendir berkurang sehingga tidak licin, di beberapa bagian terdapat kulit yang terlihat melepuh, sirip rusak dan pecah-pecah, insang rusak dan berwarna keputih-putihan sampai kebiru-biruan dan bahkan serangan penyakit yang lebih parah dapat menyebabkan pendarahan pada organ dalam

ikan seperti ginjal atau limpa sehingga dapat menyebabkan kematian massal pada saat kegiatan budidaya (Djauhari, 2006; Mahyuddin, 2010; Firnanda, Sugito, Fakhurrazi dan Ambarwati, 2013; Wintoko *et al.*, 2013; Yulianto, Wardiyanto dan Agus, 2013).

Metode pengobatan yang banyak dilakukan untuk menanggulangi penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri *A. hydrophila* yaitu dengan melakukan pergantian air, pemberian garam dapur sampai pengobatan dengan menggunakan bahan kimia atau antibiotik. Penggunaan antibiotik sangat beresiko karena dapat menimbulkan resistensi terhadap bakteri, memerlukan biaya yang cukup mahal serta dapat mencemari lingkungan. Antibiotik biasanya diberikan melalui pakan, perendaman, atau penyuntikan, sehingga residu antibiotik dapat terakumulasi pada tubuh ikan (Mariyono dan Sundanan, 2002; Sukenda, Jamal, Wahjuningrum dan Hasan, 2008). Oleh karena itu, diperlukan langkah-langkah pengobatan yang lebih aman dan tidak mencemari lingkungan.

Tanaman herbal telah diketahui bersama merupakan salah satu sumberdaya alam yang sangat penting dalam upaya pengobatan dan upaya mempertahankan kesehatan baik untuk manusia ataupun makhluk hidup lainnya seperti ikan (Radji, 2005). Tanaman sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) merupakan tanaman herbal yang sering digunakan sebagai bahan obat oleh masyarakat pedesaan (Bhuiyan, Chowdhury dan Begum, 2009). Bagian daun merupakan bagian yang sering digunakan sebagai bahan obat. Daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dapat digunakan sebagai obat nyeri haid, flu, demam, asma, sariawan, diabetes, batuk, bronchitis, diare (Katno, Haryanti dan Triyono, 2009). Selain daripada itu masyarakat pedesaan juga menggunakan daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) sebagai obat rematik, hipertensi, dan sebagai obat masuk angin (Sakee, Maneerat, Cushnie dan De-eknampukul, 2011).

Beberapa ahli menyebutkan bahwa daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) mengandung bahan aktif seperti minyak atsiri (Bhuiyan *et al.*, 2009), mengandung tannin dan saponin (Mounika, Kumar, Soumya, Rajaram dan Kumar, 2013), dan juga mengandung flavonoid (Nessa *et al.*, 2004). Bahkan menurut Katno *et al.*, (2009) dan Pednekar, Vakil, Sane dan Datar (2013), daun sembung (*B. balsamifera* (L.) juga dapat digunakan sebagai anti bakteri. Oleh karena itu, diharapkan dengan keberadaan bahan aktif tersebut, ekstrak kasar daun sembung dapat menggantikan peranan bahan kimia sebagai bahan obat yang aman dan ramah lingkungan sehingga dapat mengatasi permasalahan penyakit bakterial yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* pada kegiatan budidaya perikanan.

1.2 Perumusan Masalah

Saat ini sebagian besar kegiatan budidaya ikan khususnya ikan air tawar dilakukan dengan menggunakan sistem budidaya intensif. Sistem ini dilakukan untuk memperoleh hasil produksi yang maksimal dengan luas lahan yang minimal. Sistem budidaya intensif yang menerapkan padat penebaran tinggi menyebabkan ikan lebih rentan terserang penyakit yang salah satunya ditimbulkan oleh bakteri *A. hydrophila* (Kamaludin, 2011; Reskika, 2011; Ibrahim, Adiputra, Setyawan dan Hudaidah, 2013).

Timbulnya penyakit dapat disebabkan karena kondisi perairan yang kurang baik, kualitas pakan yang kurang, maupun kualitas induk yang kurang baik. Selain itu, penggunaan teknik budidaya yang kurang tepat dan kontaminasi dari alat-alat budidaya maupun pekerjaanya juga dapat menimbulkan penyakit pada ikan (Hatmanti, 2003).

Pencegahan dan pengobatan penyakit ikan selama ini menggunakan bahan kimia dan antibiotik. Penggunaan antibiotik dan bahan kimia secara terus

menerus dapat menimbulkan efek samping baik terhadap lingkungan maupun manusia sebagai konsumen (Mariyono dan Sundana, 2002; Sukenda *et al.*, 2008; Syawal, Syafriadiman dan Hidayah, 2008).

Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) merupakan tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional yang mengandung flavonoid (Nessa *et al.*, 2004). Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) juga mengandung tannin, saponin, minyak atsiri (Mounika *et al.*, 2013). Berdasarkan informasi tersebut maka diperlukan penelitian mengenai pemanfaatan ekstrak kasar daun sembung (*B. blasamifera* (L.)DC.) dalam menghambat bakteri *A. hydrophila*. Berhubungan dengan hal tersebut, maka didapatkan rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

- Apakah pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) berpengaruh terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* secara in vitro?

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* secara in vitro

1.4 Hipotesis

H_0 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) tidak berpengaruh terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* secara in vitro

H_1 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) dapat berpengaruh terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* secara in vitro

1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pemanfaatan bahan herbal yaitu ekstrak kasar daun sembung (*B. blasamifera* (L.) DC.) sebagai anti bakteri untuk membunuh bakteri *A. hydrophila* yang dapat digunakan untuk membantu pada proses pencegahan atau pengobatan penyakit ikan pada kegiatan budidaya.

1.6 Waktu dan Tempat

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 5 Mei 2014 sampai dengan tanggal 20 Juni 2014, meliputi persiapan alat dan bahan hingga pelaksanaan penelitian. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan dan di Laboratorium Mikrobiologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

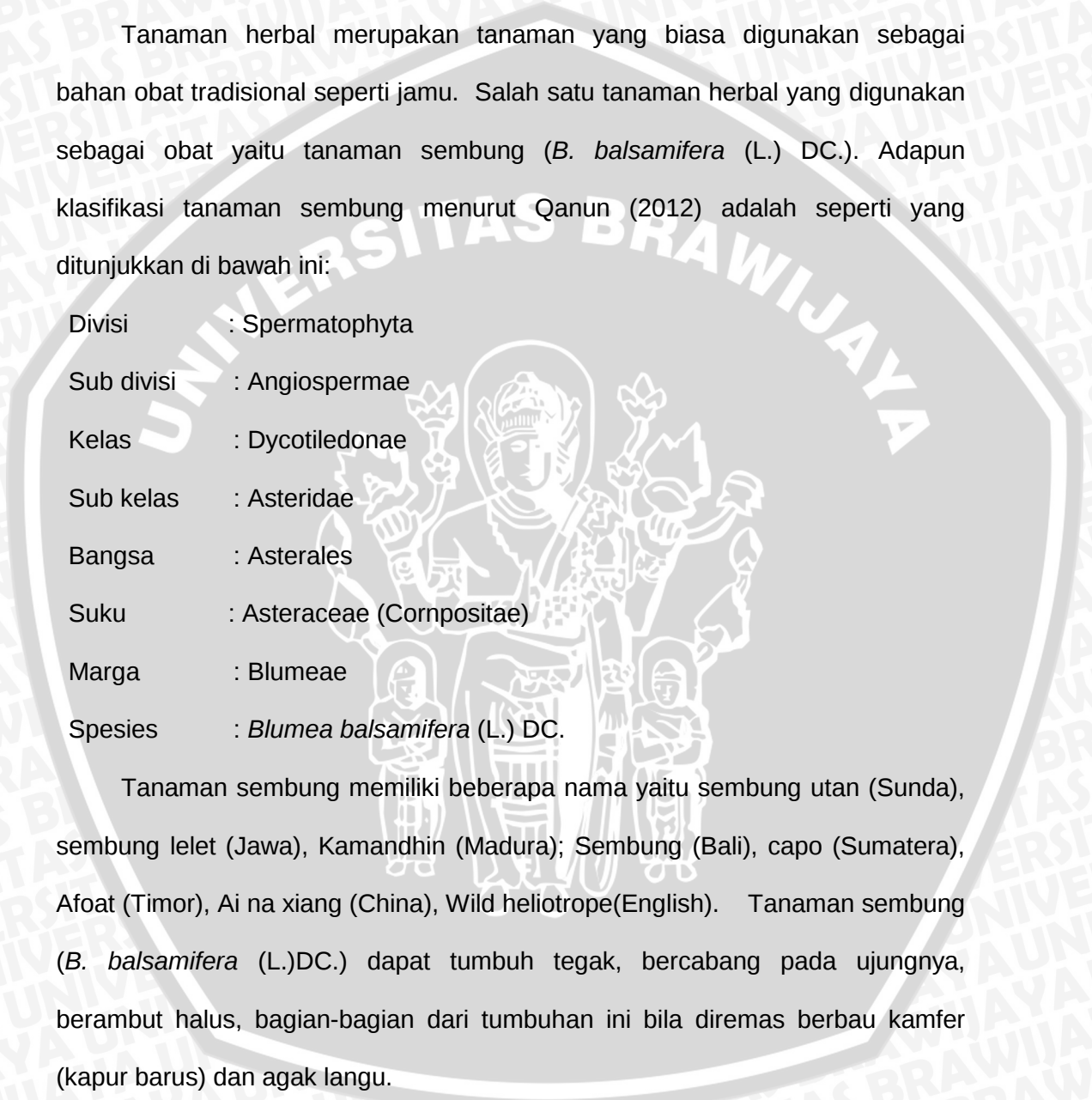


II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Tanaman herbal merupakan tanaman yang biasa digunakan sebagai bahan obat tradisional seperti jamu. Salah satu tanaman herbal yang digunakan sebagai obat yaitu tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.). Adapun klasifikasi tanaman sembung menurut Qanun (2012) adalah seperti yang ditunjukkan di bawah ini:



Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dycotyledonae
Sub kelas	: Asteridae
Bangsa	: Asterales
Suku	: Asteraceae (Cornpositae)
Marga	: Blumeae
Spesies	: <i>Blumea balsamifera</i> (L.) DC.

Tanaman sembung memiliki beberapa nama yaitu sembung utan (Sunda), sembung lelet (Jawa), Kamandhin (Madura); Sembung (Bali), capo (Sumatera), Afoat (Timor), Ai na xiang (China), Wild heliotrope(English). Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) dapat tumbuh tegak, bercabang pada ujungnya, berambut halus, bagian-bagian dari tumbuhan ini bila diremas berbau kamfer (kapur barus) dan agak langu.

Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) berdaun tunggal, di bagian bawah bertangkai, bagian atas merupakan daun duduk, letak berseling, terdapat 2-3 daun tambahan pada tangkai daunnya. Helaihan daun bundar sampai lonjong, pangkal dan ujung runcing, tepi bergerigi atau bergigi, permukaan daun bagian

atas berambut agak kasar sedang bagian berambut rapat dan halus seperti beludru. Pertulangan daun menyirip, panjang 8-40 cm, lebar 2-20 cm. Bunganya bergerombol pada ujung batang dan berwarna kuning. Buahnya sedikit melengkung dengan panjang 1 mm. Buah kotak bentuk silindris, beriga 8 - 10, panjang 1 mm, berambut. Perbungaan majemuk bentuk malai, keluar di ujung tangkai, warnanya kuning. Perbanyakkan dengan biji atau pemisahan tunas akar (Anonymous, 2012^a; Sarma dan Borah, 2012; Hut, 2012; Anonymous, 2014^a). Bentuk tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tanaman Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) (Qanun, 2012)

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) merupakan tanaman herbal yang memiliki kecenderungan tumbuh liar dan dapat ditemukan di berbagai habitat yang tidak penting, misalnya pinggir jalan dan tanah lapang, kemudian terdapat di dataran rendah dan wilayah pegunungan. Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) umumnya senang tumbuh di daerah yang lembab walaupun

diantara batu-batu, namun tanaman ini dapat ditemukan juga di daerah yang bermusim kering ringan sampai berat. Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) toleran terhadap kebakaran, dan mudah berkecambah kembali dari dalam tanah. Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) juga dapat hidup di tempat terbuka dan agak terlindung seperti di tepi sungai dan lahan pertanian. Tanaman ini juga dapat tumbuh di tanah berpasir atau tanah yang agak basah pada ketinggian sampai 2.200 m dpl (Hut, 2012).

Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) diduga berasal dari Asia tropis, Nepal, Cina hingga wilayah Malaysia dan meluas hingga ke barat di Afrika, Australia selatan dan Pasifik bagian timur Hawaii. Di Indonesia sendiri tanaman sembung dapat ditemukan di seluruh kepulauan (Anonymous, 2014^b).

2.1.3 Manfaat dan Kegunaan

Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) merupakan tanaman yang memiliki 80 spesies yang tumbuh di daerah tropis, subtropis dan oseania. Tanaman ini merupakan tanaman yang sangat bermanfaat bagi pengobatan tradisional. Bagian daun merupakan bagian yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan obat.

Ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) digunakan sebagai obat kanker paru-paru dan kanker rongga mulut, ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) bisa digunakan sebagai antioksidan yaitu dari flavonoid yang terkandung di dalamnya (Nessa *et al.*, 2004). Selain daripada itu, ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) bisa digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroba, menghambat pertumbuhan bakteri baik bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Katno *et al.*, 2009; Pednekar *et al.*, 2013).

Ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) juga bisa digunakan sebagai pengobatan luka, infeksi pernafasan dan sakit perut (Sakee *et al.*, 2011).

Bahkan masyarakat biasa menggunakan daun ini sebagai obat rematik, hipertensi, anti fungi, obat masuk angin (Merina *et al.*, 2012). Daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) juga digunakan sebagai obat diare, haid tidak teratur, nyeri haid, perut kembung, rematik sendi, demam dan kurang nafsu makan (Choirunnisa, 2013). Obat kencing batu dan asma (Tandug, Lanting, Paulinho dan Lantican, 2010).

2.1.4 Bahan Aktif

Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) merupakan salah satu tanaman herbal yang digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat pedesaan, tanaman sembung dapat digunakan sebagai pestisida nabati jenis moluskisida untuk memberantas hama keong mas. Bagian tanaman yang biasa digunakan sebagai bahan obat adalah bagian daun dan akar. Namun, dari tanaman sembung tersebut, daun merupakan salah satu bagian yang sering digunakan sebagai obat tradisional di bandingkan bagian akarnya, karena daunnya mengandung minyak atsiri, alkaloid, tannin, saponin dan phenolik, flavonoid dan pytosterol (Nessa *et al.*, 2004; Lense, 2011; Mounika *et al.*, 2013).

Bahan aktif dalam daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) yang paling berpengaruh sebagai anti bakteri adalah Flavonoid. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam, flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa polifenolik yang biasa ditemukan secara luas dalam buah-buahan dan sayur-sayuran dari hampir semua tumbuhan dari bangsa alga. Senyawa ini terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, bunga, dan biji (Sastrohamidjojo, 1996). Flavonoid memberikan kontribusi dan kesemarakkan pada buah-buahan di alam. Flavonoid pada tumbuhan berfungsi dalam pengaturan tubuh, pengaturan fotosintesis, kerja antimikroba dan antivirus dan kerja terhadap serangga (Robinson, 1995).

2.2 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfolgi

Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan spesies yang paling terkenal dari enam spesies dari genus *Aeromonas*. Strain *A. hydrophila* mampu menyebabkan penyakit pada ikan dan amfibi. *Aeromonas* telah ditempatkan dalam keluarga Vibrionaceae, namun terdapat usulan untuk menempatkannya dalam keluarga sendiri yaitu Aeromonadaceae (Colwell *et al.*, 1996 dalam Anonymous, 2002).

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



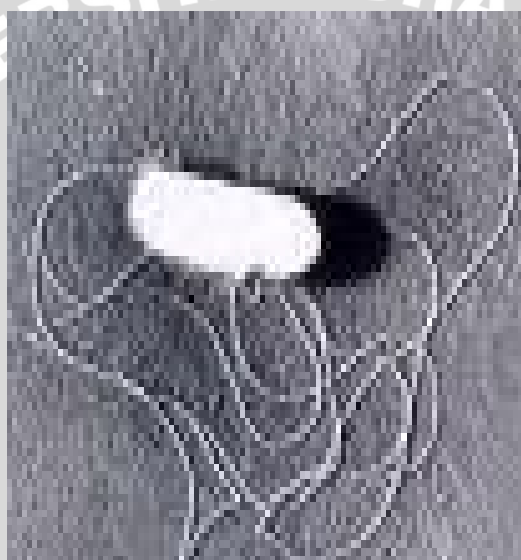
Domain	: Bacteria
Kingdom	: Proteobacteria
Filum	: Gammaproteobacteria
Kelas	: Aeromonadales
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Spesies	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

Bakteri ini juga termasuk bakteri anaerob yang mediami lingkungan perairan dan dapat hidup pada saluran pencernaan (Rey *et al.*, 2009). Bakteri ini termasuk bakteri anaerob Gram negatif yang memiliki flagella polar dan memiliki diameter 1,0-3,5 mikrometer.

Kordi (2011), menyatakan bahwa bakteri ini memiliki ciri-ciri berbentuk seperti batang, ukurannya 1-4,4 x 0,4-1 mikron. Bersifat Gram negatif, fakultatif aerobik (dapat hidup dengan atau tanpa oksigen), tidak berspora, bersifat motil (bergerak aktif) karena mempunyai flagel (*monotrichous flagella*) yang keluar dari salah satu kutubnya. Hayes (2000) dalam Tarigan (2014), juga berpendapat bahwa bakteri *A. hydrophila* adalah jenis bakteri yang bersifat metropolitan, oksidasif, anaerobik fakultatif, dapat memfermentasi gula, Gram negatif, tidak

membentuk spora, bentuk akar, dan merupakan penghuni asli lingkungan perairan.

Pewarnaan Gram merupakan teknik identifikasi bakteri untuk melihat dan mengamati bentuk sel bakteri dengan menggunakan cairan atau pewarna sel bakteri sehingga sel dapat terlihat jelas dan mudah diamati, selain daripada itu pewarnaan Gram bertujuan untuk melihat bakteri bersifat Gram positif atau Gram negatif (Lestari, 2013). Bentuk dari bakteri *A. hydrophyla* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. *A. hydrophyla* (Aberoum dan Jooyandeh, 2010)

2.2.2 Habitat dan Perkembangbiakan

Penyakit bercak merah yang biasa terjadi pada ikan merupakan salah satu penyebab dari infeksi bakteri *A. hydrophyla*. Penularan bakteri ini dapat berlangsung melalui air, kontak badan, kontak dengan peralatan yang telah tercemar atau karena pemindahan ikan yang telah terserang bakteri ini dari satu tempat ke tempat lain (Kordi, 2011). Bakteri ini dapat ditemukan di semua lingkungan perairan tawar dan payau yang berbahan organik tinggi (Martin, 2004). Bakteri *A. hydrophyla* dapat bertahan hidup pada lingkungan aerob

maupun anaerob kemudian mampu mencerna material-material seperti gelatin dan hemoglobin. *A. hydrophila* resisten terhadap chlorine serta suhu yang dingin (faktanya jenis *A. hydrophila* dapat bertahan dalam temperatur rendah $\pm 4^{\circ}\text{C}$), tetapi setidaknya hanya dalam waktu 1 bulan (Krieg dan Holt 1984 dalam Haryani, Grandiosa, Buwono dan Santika, 2012).

Sebagian besar isolat *A. hydrophila* mampu tumbuh dan berkembangbiak pada suhu 37°C dan tetap motil pada suhu tersebut. Disamping itu, bakteri *A. hydrophila* mampu tumbuh pada kisaran pH 4,7-11,0 (Fauci, 2001 dalam Haryani et al., 2012). Apabila suatu bakteri diinokulasi dalam suatu media kultur yang sesuai dengan media hidupnya maka akan terjadi penambahan jumlah yang amat banyak dalam kurun waktu yang relatif pendek. Pembelahan bakteri terjadi secara aseksual. Proses reproduksi paling umum di dalam daur pertumbuhan yang biasa pada populasi bakteri ialah pembelahan *biner melintang*. Pembelahan ini merupakan suatu proses reproduksi aseksual setelah pembentukan dinding sel melintang maka satu sel tunggal membelah menjadi dua sel dan disebut sel anak. Pembagian sel dengan cara membelah umum terjadi pada semua sel yang sedang tumbuh dan aktif (Michael et al., 2010).

2.2.3 Media Biakan Bakteri

Dwidjoseputro (2010), media dan dasar makanan yang baik bagi pemeliharaan bakteri ialah media yang mengandung zat-zat organik seperti rebusan daging, sayur-sayuran, sisa makanan atau ramuan-ramuan yang dibuat oleh manusia. Medium buatan yang banyak digunakan dalam pekerjaan rutin di laboratorium ialah kaldu cair dan kaldu agar. Medium buatan manusia itu dapat berupa :

a. Medium Cair

Medium cair yang biasa dipakai ialah kaldu yang disiapkan sebagai berikut. Satu liter air murni ditambahkan 3 g kaldu daging lembu dan 5 g pepton. Pepton ini adalah protein yang terdapat pada daging, air susu, kedelai dan putih telur. Pepton banyak mengandung N_2 , sedang kaldu berisi garam-garam mineral dan lain-lainnya lagi. Medium itu kemudian ditentukan pHnya 6,8 sampai 7 jadi sedikit asam atau netral. Setelah itu disaring dengan menggunakan kertas saring, setelah tabung atau botol berisi medium kaldu tersebut disumbat dengan kapas, dan hasil saringan yang di dapat disimpan ke dalam alat pesteril (Autoklaf).

b. Medium Kental (Padat)

Suatu penemuan yang bagus ialah dengan medium dari kaldu yang dicampur dengan sedikit agar-agar. Setelah medium itu disterilisasikan dan kemudian dibiarkan mendingin, maka akan menjadi medium padat. Gelatin dapat juga dipakai sebagai bahan pengental dan akan mencair pada suhu 95°C , sedangkan gelatin sudah mencair pada suhu 23°C oleh karena itu medium yang mengandung gelatin harus disimpan ditempat yang lebih dingin dari temperatur kamar.

c. Medium Diperkaya

Kebanyakan bakteri biasa hidup pada dasar makanan seperti yang sudah diterangkan diatas. Namun apabila bakteri-bakteri yang membutuhkan nilai gizi yang tinggi maka diperlukan pengkayaan media. Zat makanan yang biasa ditambahkan yaitu fibrinogen. Fibrinogen adalah zat yang menyebabkan darah menjadi kental apabila keluar. Serum atau darah itu dicampurkan ke dalam medium yang sudah di sterilkan.

d. Medium Kering

Perkerjajaan laboratorium sekarang ini banyak dipermudah dengan adanya bermacam-macam medium yang tersedia dalam bentuk serbuk kering. Untuk menyiapkan medium tersebut cukup dengan mengambil sekian gram serbuk kering tersebut untuk dilarutkan dalam sekian liter air dan kemudian larutan disterilkan.

e. Medium Sintetik

Medium sintetik berupa ramuan-ramuan zat organik yang tertentu yang mengandung zat karbon dan nitrogen. Bakteri autotrof dapat hidup dalam medium ini. Bakteri saprofit dapat dipelihara di dalam medium ini asalkan ditambahkan natrium sitrat dan natrium ammonium fosfat.

2.3 Uji Aktivitas Antimikroba

2.3.1 Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*)

Metode pengujian MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*) adalah merupakan salah satu metode yang bertujuan untuk menguji aktivitas zat antimikroba secara in vitro. Cara menentukan konsentrasi terendah dari zat tersebut yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan dari mikroorganisme yang diuji.

Terdapat 2 metode yang digunakan dalam pengujian MIC yaitu teknik tabung pengenceran (*tube dilution technique*) dan metode difusi agar (*agar diffusion method*). Teknik tabung pengenceran disiapkan beberapa seri tabung yang berisi medium kultur yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang akan diujikan dan diberi zat antimikroba dengan konsentrasi berbeda-beda. Adanya aktivitas zat antimikroba ditentukan dengan kekeruhan yang terlihat pada tabung tersebut. MIC dipengaruhi oleh jenis organisme, ukuran, inokulan, komponen media kultur, waktu inkubasi, serta kondisi inkubasi berupa suhu, pH,

atau aerasi. Metode tabung pengenceran ini tidak dapat digunakan untuk menentukan zat tersebut bersifat sidal, statis atau litik (Schegel and Schmidt, 1994 dalam Gunawan, 2007).

Hasil dari uji MIC (*Minimum Inibiting Concentration*) menurut Wardani, Tjahjaningsih dan Rahardja (2012), menyatakan bahwa dosis yang digunakan berbanding terbalik dengan nilai absorbansi yang dihasilkan atau semakin tinggi dosis yang digunakan maka nilai absorbansi semakin rendah. Namun Putri, Tjahjaningsih dan Handijanto (2008), menyatakan bahwa nilai absorbansi yang berbanding lurus dengan dosis yang digunakan disebabkan karena spektrofotometer tidak mampu membedakan kekeruhan warna ekstrak dengan kekeruhan bakteri oleh karena itu pengamatan bisa dibantu dengan melihat warna dan membandingkan dengan kontrol.

2.3.2 Uji Cakram

Metode difusi dilakukan dengan metode Kirby-Bauer yang dikenal dengan sebutan metode cakram kertas. Tiap-tiap cakram kertas kosong sebelumnya dipanaskan dalam oven pada suhu 70°C selama 15 menit, kemudian kertas cakram dicelupkan ke dalam larutan uji. Cakram yang telah berisi ekstrak, kemudian didiamkan selama 15 menit sebelum diletakkan pada media uji. Kemudian secara aseptik, setelah kertas cakram menyerap ekstrak tersebut, masing-masing diletakkan pada permukaan medium yang telah berisi mikroba uji dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 18-24 jam, dilakukan pengukuran diameter zona hambat, yaitu zona bening yang terbentuk di sekitar cakram, dengan menggunakan penggaris millimeter (Noverita, Fitria dan Sinaga, 2009).

2.4 Ekstraksi

Adapun prinsip dasar ekstraksi yaitu penyaringan zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan yang sesuai pada

temperatur kamar, terlindung dari cahaya. Pelarut yang digunakan akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan larutan di dalam sel (Houghton dan Raman, 1998)

Proses ekstraksi terdiri dari tiga langkah besar, yaitu proses pencampuran, proses pembentukan fase setimbang dan proses pemisahan fase setimbang. Proses ekstraksi dapat berjalan dengan baik bila pelarut ideal harus memenuhi syarat-syarat yaitu selektivitasnya tinggi, memiliki perbedaan titik didih dengan solute cukup besar, perbedaan density cukup besar, tidak beracun, tidak bereaksi secara kimia dengan solute maupun diluen, viskositasnya kecil, tidak bersifat korosif, tidak mudah terbakar, murah dan mudah didapat, beberapa faktor yang berpengaruh dalam proses ekstraksi adalah temperatur, waktu kontak, perbandingan solute, faktor ukuran partikel, pengadukan dan waktu dekantasi (Yasita dan Rachmawati, 2009).

Menurut Simanjuntak (2008), ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyari tertentu. Ada beberapa metode ekstraksi, yaitu :

1) Cara Dingin

- a. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserasi pertama, dan seterusnya.

- b. Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyaringan sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat).

2) Cara Panas

- a. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan dalam jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.
- b. Digesti adalah maserasi dengan pengadukan kontinyu pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar yaitu pada suhu 40-50°C.
- c. Infus adalah ekstraksi menggunakan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 90°C) selama 15 menit.
- d. Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90°C selama 30 menit.
- e. Sokletasi adalah metode ekstraksi untuk bahan yang tahan pemanasan dengan cara meletakkan bahan yang akan diekstraksi dalam sebuah kantong ekstraksi (kertas saring) di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinyu.

Faktor-faktor yang berpengaruh dalam ekstraksi antara lain ukuran bahan, waktu kontak antara bahan dengan pelarut dan suhu ekstraksi. Faktor lain yang menentukan hasil ekstraksi adalah perbandingan antara sampel terhadap cairan pengestraksi (jumlah bahan pengestraksi) dan jangka waktu di mana sampel kontak dengan cairan pengestraksi (waktu ekstraksi). Apabila bahan yang digunakan pada proses ekstraksi menggunakan bahan dari dedaunan maka bahan tersebut harus cukup tua, hal tersebut sesuai dengan pernyataan Katno

(2009), daun yang digunakan adalah daun yang sudah cukup tua tetapi belum menguning.

Bahan dedaunan yang dipersiapkan harus dikeringkan dengan cara diangin-anginkan untuk meminimalisir hilangnya bahan aktif yang terdapat pada bahan yang digunakan. Hernani dan Nurdjana (2009), menyatakan pengeringan di tempat teduh biasanya digunakan untuk bahan yang berasal dari bunga dan daun, karena dapat melindungi aroma dan warna asli bahan. Suatu penelitian terhadap daun jambu biji yang dikeringkan di tempat teduh dan langsung dengan sinar matahari menunjukkan perbedaan terhadap kadar taninnya. Untuk pengeringan di tempat teduh kadar taninnya lebih tinggi (13,72%) dibandingkan pengeringan di bawah sinar matahari langsung yaitu 11,56%.

2.5 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan, mikroorganisme dapat dihambat atau dibunuh dengan proses fisik atau bahan kimia. (Anonymous, 2014^c).

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa kerusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain (Pelczar & Chan 1986 dalam Kusmiati dan Agustini, 2007).

III METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1, beberapa gambar peralatan yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 1.

Tabel 1. Peralatan Penelitian

No	Alat	Kegunaan
1	Autoclave	Sebagai alat untuk mensterilisasi peralatan yang akan digunakan.
2	Kulkas	Sebagai tempat penyimpanan bahan
3	Petridisc	Sebagai tempat untuk uji cakram
4	Erlenmeyer 500 ml	Sebagai tempat pembuatan media
5	Beaker glass 1000 ml	Sebagai tempat pengambilan bahan
6	Toples	Sebagai tempat maserasi
7	Gelas ukur 100 ml	Sebagai alat untuk mengukur kebutuhan akuades
8	Bunsen	Untuk mencegah terjadinya kontaminasi pada saat perlakuan
9	Tabung Reaksi	Sebagai tempat untuk peremajaan bakteri dan uji MIC (<i>Minimum Inhibiting Concentration</i>)
10	Hot Plate	Sebagai alat pemanas media
11	Timbangan Digital	Sebagai alat untuk menimbang bahan
12	Timbangan Sartorius	Sebagai alat untuk menimbang bahan
13	Vortex	Sebagai alat untuk mixing ekstrak
14	Curigen 5 Liter	Tempat penyimpanan akuades
15	Mikropipet 10-100 μ l Mikropipet 100-1000 μ l	Sebagai alat untuk mengambil bahan yang berbentuk cairan
16	Nampan	Sebagai tempat menyimpan alat
17	Spektrofotometer	Sebagai alat untuk mengukur kekeruhan
18	Washing bottle	Sebagai tempat menyimpan akuades
19	Sprayer	Sebagai tempat menyimpan alcohol untuk sterilisasi
20	Masker	Untuk menutup bagian muka (mulut dan hidung) agar tidak terjadi kontaminasi pada saat perlakuan
21	Sarung Tangan	Sebagai alat untuk mencegah kontaminasi
22	Botol Sampel $\pm$ 25 ml	Sebagai tempat penyimpanan sampel
23	LAF	Sebagai tempat dilakukannya perlakuan
24	Kain Saring	Sebagai alat untuk menyaring bahan setelah maserasi
25	Inkubator	Sebagai alat untuk menginkubasi
26	Sendok Bahan	Sebagai alat untuk mengambil sampel

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada

Tabel 2 dibawah ini :

Tabel 2. Bahan-Bahan Penelitian

No	Bahan	Kegunaan
1	Daun sembung (<i>B. balsamifera</i> (L.)DC.)	Sebagai bahan yang akan digunakan
2	Aquades	Sebagai bahan pelarut
3	Etanol	Sebagai bahan pelarut
4	Tisu	Sebagai bahan pembersih
5	Alumunium Foil	Sebagai bahan untuk menutupi seluruh bagian toples pada saat maserasi
6	Alkohol 70%	Sebagai bahan sterilisasi
7	Kapas	Sebagai bahan untuk menutupi alat pada saat sterilisasi
8	Kertas Label	Sebagai bahan penanda
9	Bakteri <i>A. hydrophila</i>	Sebagai bakteri yang digunakan pada saat perlakuan
10	TSA (<i>Tryptone Soya Agar</i>)	Sebagai media agar
11	TSB (<i>Tryptone Soya Broth</i>)	Sebagai sebagai media cair
12	Plastik 2 Kg	Sebagai bahan untuk menyimpan petri pada saat diinkubator
13	Kertas Koran	Sebagai bahan untuk membungkus peralatan yang akan di sterilisasi
14	Blank disc	Sebagai bahan untuk mengetahui besar zona bening dari ekstrak kasar yang digunakan
15	Tali Kasur	Sebagai bahan untuk mengikat perlatan yang akan di sterilisasi
16	DMSO 10%	Sebagai sebagai pelarut ekstrak
17	NaCl	Sebagai bahan pembuatan NaFisiologis
18	Spirtus	Sebagai bahan bakar untuk Bunsen
19	Plastik Wrap	Sebagai pembungkus botol sampel

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Metode penelitian adalah metode eksperimen. Penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan terhadap variabel yang data-datanya belum ada sehingga perlu dilakukan proses manipulasi melalui pemberian treatment/perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian yang kemudian diamati/diukur dampaknya (data yang akan datang) (Jaedun, 2011).

3.2.2 Rancangan Penelitian

Design research atau rancangan penelitian merupakan gambaran umum penelitian yang akan dilaksanakan oleh peneliti untuk mencapai tujuan tertentu. Rancangan penelitian disajikan dalam satu kesatuan naskah yang ringkas dan utuh. Rancangan penelitian menunjukkan adanya format penulisan yang disusun secara sistematis dan operasional meliputi langkah-langkah dan tahapan yang harus dijalani oleh peneliti. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Hanafiah (2013), Rancangan Acak Lengkap (RAL) merupakan rancangan yang paling sederhana jika dibandingkan dengan rancangan-rancangan lainnya. Dalam rancangan ini tidak terdapat lokal kontrol, sehingga sumber keragaman yang diamati hanya perlakuan dengan galat. Oleh karena itu RAL umumnya cocok digunakan untuk kondisi lingkungan, alat, bahan dan media yang homogeni. Kondisi ini hanya dicapai di ruangan-ruangan terkontrol seperti di laboratorium dan rumah kaca (*green-house*). Adapun model rancangan acak lengkap yang secara umum dinyatakan dalam model matematika adalah sebagai berikut :

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

Keterangan :

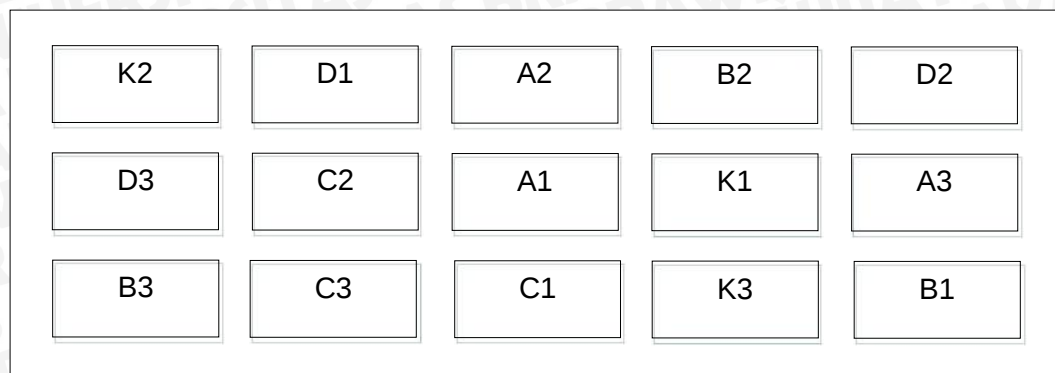
Y_{ij} = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = Nilai tengah umum

T_i = Pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} = Pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Rancangan Percobaan yang digunakan yaitu menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 1 kontrol yang masing-masing dilakukan 3 kali ulangan. Denah penelitian yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Denah (Lay Out) Rancangan Penelitian

Keterangan :

Kontrol : Bakteri *A. hydrophila* ditanam pada media tanpa diberi ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.).

Perlakuan A : Bakteri *A. hydrophila* ditanam pada media diberi ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) dengan dosis 150 ppm.

Perlakuan B : Bakteri *A. hydrophila* ditanam pada media diberi ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) dengan dosis 200 ppm.

Perlakuan C : Bakteri *A. hydrophila* ditanam pada media diberi ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) dengan dosis 250 ppm.

Perlakuan D : Bakteri *A. hydrophila* ditanam pada media diberi ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) dengan dosis 300 ppm.

1,2 dan 3 = Sebagai ulangan

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Penelitian

A. Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Sembung

Ekstraksi sampel daun sembung yang diperlukan diperoleh dengan metode sebagai berikut :

a. Maserasi

Menurut Sakee *et al* (2011), menyatakan bahwa proses maserasi daun sembung meliputi persiapan daun sembung. Daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) yang sudah dipersiapkan kemudian dijemur dengan cara diangin-anginkan selama 10 hari pada suhu ruang. Apabila daun sudah kering, daun dihaluskan dengan cara digiling menggunakan alat penggilingan dan hasil dari penggilingan tersebut berupa daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) ditimbang sebanyak 300 gram. Serbuk daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) yang sudah ditimbang kemudian dimasukkan pada wadah tertutup untuk dilakukan maserasi, serbuk daun tersebut dicampurkan dengan etanol 800 ml dan diaduk rata sampai pelarut dan sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) tercampur, pada saat maserasi semua bagian wadah yang digunakan ditutup dengan alumunium foil dan didiamkan selama 48 jam. Setelah didiamkan selama 48 jam kemudian diambil cairan yang terdapat dari hasil maserasi dengan cara menyaringnya dengan menggunakan menggunakan kertas saring dan disimpan pada Erlenmeyer.

b. Proses evaporasi

Menurut Anggraeni (2014), proses evaporasi dengan menggunakan vaccum rotary evaporator yaitu cairan dari hasil maserasi dimasukkan ke dalam labu evaporator. Sebelumnya waterbath diisi dengan menggunakan air sampai penuh kemudian semua rangkaian alat termasuk rotary evaporator dan disambungkan dengan aliran listrik dan dilakukan ekstraksi dengan menggunakan dengan suhu 40°C.

Dibiarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu evaporasi dan tunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung ($\pm 1,5$ sampai 2 jam untuk 1 labu ± 900 mL) setelah ekstraksi selesai, hasil ekstraksi kemudian diambil dengan menggunakan alat. Hasil yang diperoleh dari bahan kering 300 gr didapatkan hasil ekstraksi sebanyak 8,26 mg ekstrak, kemudian hasil ekstraksi tersebut dimasukkan ke dalam botol kaca yang sudah dipersiapkan dan disimpan dalam kulkas. Proses ekstraksi daun sembung (*B. balsamifera* (L)DC.) dapat dilihat pada Lampiran 2.

B. Pembuatan Media *Tryptic Soya Agar* (TSA)

Menurut Firdausi (2013), langkah-langkah pembuatan media dengan bahan TSA yaitu dipersiapkan media TSA kemudian ditimbang TSA dengan menggunakan timbangan digital sebanyak 7,2 gr (jumlah TSA yang digunakan disesuaikan dengan jumlah cawan petri yang akan digunakan pula) dan dimasukkan ke dalam erlemeyer. Setelah itu campurkan akuades sebanyak 180 ml kedalam erlenmeyer dan dipanaskan dengan menggunakan hotplate sambil diaduk sampai rata. Erlenmeyer di tutup dengan kapas dan alumunium foil kemudian di sterilisasikan dalam autoclave selama 15 menit.

C. Pembuatan Media *Tryptone Soya Broth* (TSB)

Melki *et al.*, (2014), menyatakan bahwa langkah-langkah pembuatan media dengan bahan TSB ditimbang TSB sebanyak 3,6 gram dengan menggunakan timbangan digital kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dicampurkan akuades 120 ml kemudian di panaskan sambil TSB larut dan di aduk rata sampai larut sempurna dan berwarna kuning dengan cara digoyang-goyangkan. Apabila sudah larut, Erlenmeyer ditutup kapas dan alumunium foil lalu dibungkus dengan kertas perkamen dan diikat, kemudian di sterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang digunakan untuk pembiakan bakteri

dibiarkan dingin karena bakteri akan mati bila diinokulasi pada media yang masih panas.

D. Peremajaan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Langkah-langkah peremajaan bakteri yaitu Isolat bakteri *A. hydrophila* didapatkan dari Balai Besar Budidaya Air Payau (BBBAP) Jepara pada tanggal 5 April 2014. Isolat bakteri tersebut dilakukan peremajaan berkala pada media agar yaitu media TSA (*Trypto Soy Agar*). Isolat bakteri tersebut diremajakan pada tabung reaksi yang berisi media agar TSA atau biasa disebut dengan media agar miring. Bakteri yang terdapat dalam tabung reaksi (media agar miring) terlebih dahulu sudah dilakukan uji biokimia terlebih dahulu seperti yang ditunjukkan pada Lampiran 3.

Disiapkan tabung reaksi yang sudah berisi media agar TSA agar miring yang sudah di buat sebelumnya sebanyak lima buah tabung. Diambil bakteri dengan menggunakan jarum ose. Digoreskan bakteri yang terdapat pada jarum ose ke dalam media TSA agar miring dengan metode gores. TSA diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu 30°C selama 24 jam. Peremajaan dilakukan pada media agar miring yang bertujuan untuk meminimalisir kontaminan. Hasil dari peremajaan bakteri dapat dilihat pada Lampiran 4.

E. Kultur Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* yang sudah diremajakan kemudian di kultur pada media TSB. Langkah – langkah pengkulturan yaitu media TSB yang sudah di buat sebelumnya kemudian dipersiapkan. Diambil biakan bakteri yang sudah diremajakan pada media TSA dengan menggunakan jarum ose sebanyak 1 gores. Ose dicelupkan pada media TSB yang sudah di persiapkan kemudian di simpan pada incubator dengan suhu 30°C selama 24 jam. Semua kegiatan pengkulturan dilakukan secara steril. Setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam,

media diamati dengan cara melihat kondisi media yang berubah menjadi warna keruh pekat.

F. Cara memperoleh bakteri *Aeromonas hydrophila* 10^7 sel/ml

Prosedur untuk memperoleh bakteri *A. hydrophila* yang diinginkan dengan kepadatan 10^7 yaitu dengan metode pengenceran berseri. Langkah-langkah pengenceran berseri yaitu dipersiapkan kultur murni bakteri dari media agar miring, diambil bakteri dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi NaFisiologis 10 ml dan di vortex. Kekeruhan bakteri disamakan dengan kekeruhan Mc Farlan yang diinginkan yaitu 10^7 . Hasil kekeruhan bakteri dengan Mc Farlan sama dengan 10^8 sel/ml maka disiapkan tabung reaksi yang berisi NaFisiologis dengan volume 9 ml. Diambil 1 ml bakteri dari kekeruhan bakteri 10^8 kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan volume 9 ml dan didapatkan kekeruhan bakteri 10^7 . Gambar hasil pengenceran berseri dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

A. Sterilisasi Alat dan Bahan

Peralatan yang akan digunakan sebelumnya di sterilisasi terlebih dahulu, proses sterilisasi alat menggunakan autoclave yaitu dengan cara membungkus semua peralatan yang akan di sterilisasi dengan menggunakan kertas koran. Akuades dituang secukupnya ke dalam autoclave sampai merendam bagian dasar autoclave atau elemen pemanas. Keranjang yang berisi peralatan yang akan di sterilisasi kemudian dimasukkan ke dalam autoclave lalu ditutup. Dinyalakan power dan klep tetap terbuka, diatur suhu sampai batas maksimal. Ditutup klep setelah keluar uap air dan ditunggu hingga suhu mencapai 121°C , kemudian diturunkan suhu hingga lampu berwarna kuning dan diatur waktu 15 menit, apabila alarm berbunyi, matikan power dan klep dibuka perlahan hingga

jarum menunjukkan angka 0. Autoklave dibuka secara perlahan dan peralatan dikeluarkan dari autoklaf siap digunakan.

B. Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*)

Menurut Wardani, Tjahjaningsih dan Rahardja (2012), proses dari uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*) yaitu disiapkan 12 buah tabung reaksi (10 perlakuan dan 2 kontrol positif dan negatif) yang sudah disterilkan terlebih dahulu. Setiap tabung diisi dengan larutan DMSO 10% atau NaFisiologis sebanyak 5 ml kecuali tabung nomor 1. Tabung nomor 1 dan 2 diisi dengan larutan ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L) DC.) divortex agar homogen. Selanjutnya dilakukan pengenceran dari tabung nomor 2 sampai nomor 10 sehingga didapatkan dosis 10000 ppm, 5000 ppm, 2500 ppm, 1250 ppm, 625 ppm, 312,5 ppm, 156,25 ppm, 78,12 ppm, 39,06 ppm, dan 19,53 ppm yang kemudian diberi media TSB yang sudah berisi bakteri *A. hydrophila*. Dua buah tabung reaksi dipersiapkan sebagai kontrol positif yang ditambahkan dengan antibakteri konvensional dan tabung yang ke dua sebagai kontrol negatif dimana hanya diberi media TSB yang sudah ditumbuhi bakteri. Semua tabung diinkubasi selama 24 jam dan setelah itu dilakukan pengamatan kekeruhan visual dan dilakukan pengamatan kekeruhan dengan menggunakan spektrofotometer. Skema kerja uji MIC dapat dilihat pada Lampiran 6.

C. Uji Cakram

Menurut Bijaksana (2013), proses pelaksanaan dari uji cakram yaitu disiapkan media TSA steril dan cawan petri steril. TSA yang akan digunakan diambil sesuai dosis yang diperlukan dan dimasukkan ke dalam enlenmeyer kemudian dipanaskan pada hotplate. Apabila sudah mendidih/panas TSA didiamkan sebentar dan dimasukkan ke cawan petri yang sudah dipersiapkan terlebih dahulu. TSA yang dituangkan ke dalam cawan petri ditunggu sampai TSA tersebut dingin. TSA yang sudah dipersiapkan kemudian ditanamkan bakteri

dengan kepadatan 10^7 dan diratakan diseluruh permukaan media TSA dengan menggunakan cotton swab, kemudain siapkan kertas cakram dan di rendam di dalam ekstrak daun sembung selama ± 15 menit dan diinkubasi selama 24 jam yang bertujuan untuk menumbuhkan bakteri dan melihat zona bening. Diamati zona hambat disekitar kertas cakram dan diameternya dengan menggunakan jangka sorong yang bertujuan untuk meningkatkan ketelitian ukuran. Skema kerja uji cakram dapat dilihat pada Lampiran 7.

3.4 Parameter Uji

Parameter utama yang diperoleh dari hasil pengamatan yaitu hasil uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*) dan zona bening yang terlihat di sekitar kertas cakram yang sudah ditumbuhi oleh bakteri *A. hydrophila* dan parameter penunjang pada penelitian ini yaitu lama waktu perendaman kertas cakram pada media yang sudah ditumbuhi oleh bakteri *A. hydrophila*.

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dilakukan pengujian statistik sesuai dengan metode yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL). Jika data sidik ragam memperlihatkan pengaruh berbeda nyata maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT).

IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*)

Uji MIC (*Minimum Inibiting Concentration*) yang dilakukan menggunakan berbagai macam dosis ekstrak kasar daun sembung yang bertujuan untuk mengetahui dosis terkecil dalam menghambat atau membunuh bakteri *A. hydriphila*. Hasil uji MIC menunjukkan adanya perbedaan setiap perlakuan setelah dilakukan pengamatan dengan menggunakan spektrofotometer seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3 dibawah ini.

Tabel 3. Hasil Pengamatan Uji MIC Menggunakan Spektrofotometer

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1.	10000	(*)
2.	5000	2,938
3.	2500	1,718
4.	1250	1,230
5.	625	0,992
6.	312,5	0,753
7.	156,25	0,728
8.	78.125	0,897
9.	39,0625	0,992
10.	19,53125	0,963
11.	Kontrol (-)	0,893
12.	Kontrol (+)	0,672

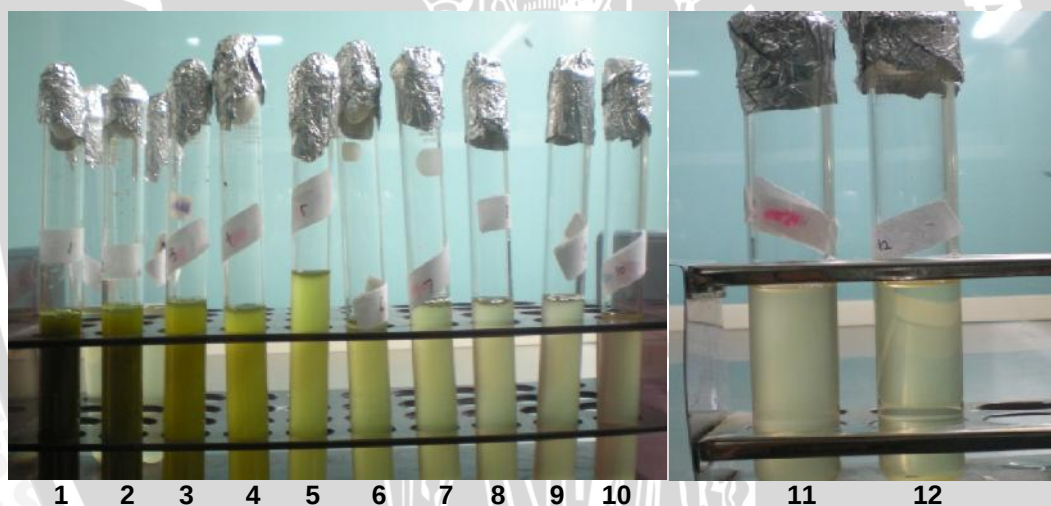
Keterangan:

- (*) = Sampel Terlalu Pekat
- Tabung No 7 = Konsentrasi terendah (156,25 ppm) yang digunakan pada uji cakram dan dibulatkan menjadi 150 ppm
- Kontrol (-) = Perlakuan tidak ditambahkan antibakteri
- Kontrol (+) = Perlakuan ditambahkan antibakteri konvensional (Amoxicillin)

Hasil diatas menunjukkan bahwa dosis yang tertinggi menghasilkan nilai absorbansi yang tertinggi namun hasil tersebut tidak sesuai dengan pernyataan menurut Wardani *et al.*, (2012), menyatakan bahwa dosis yang digunakan berbanding terbalik dengan nilai absorbansi yang dihasilkan atau semakin tinggi dosis yang digunakan maka nilai absorbansi semakin rendah. Pada hasil uji MIC yang telah dilakukan tidak sesuai dengan pernyataan tersebut dikarenakan warna ekstrak yang berwarna hijau dapat mempengaruhi pembacaan

spektrofotometer terhadap perlakuan yang dilakukan. Putri *et al.*, (2008), menyatakan bahwa nilai absorbansi yang berbanding lurus dengan dosis yang digunakan disebabkan karena spektrofotometer tidak mampu membedakan kekeruhan warna ekstrak dengan kekeruhan bakteri oleh karena itu pengamatan bisa dibantu dengan melihat warna dan membandingkan dengan kontrol.

Hasil spektrofotometer pada tabung nomor tujuh menghasilkan nilai absorbansi di bawah kontrol negatif atau mendekati kontrol positif karena pada dosis ini ekstrak tidak terlalu pekat sehingga tidak terlalu mempengaruhi pembacaan spektrofotometer dan juga pada saat pengamatan warna, perlakuan pada tabung tujuh menunjukkan perubahan warna bening pertama kali. Hasil uji MIC dapat dilihat pada Gambar 4 di bawah ini:



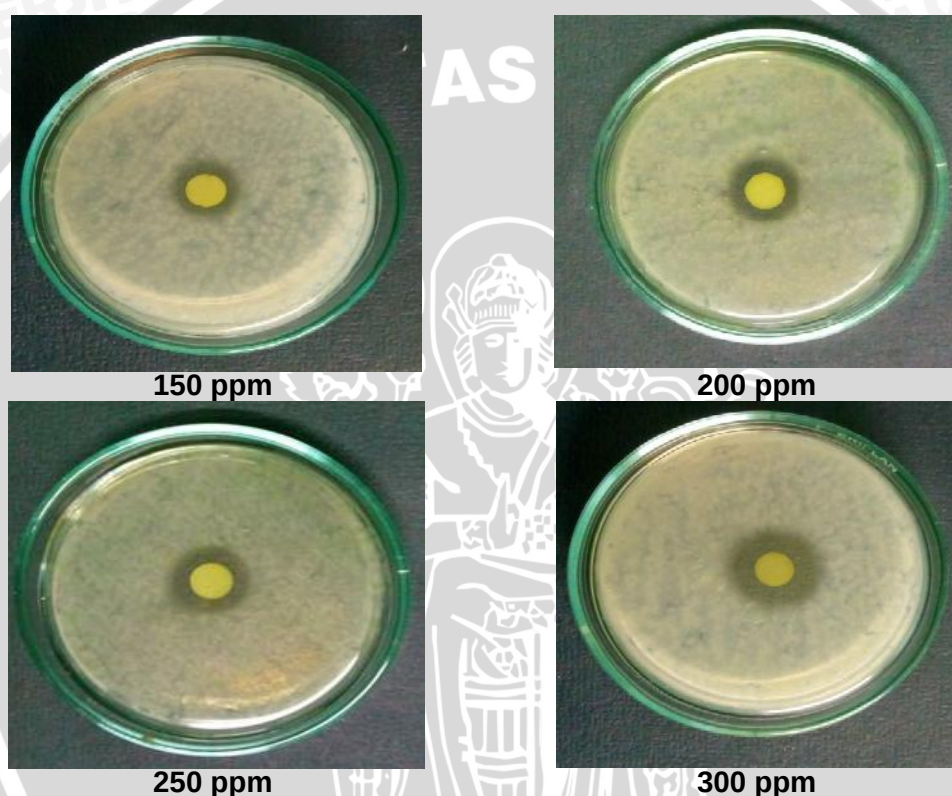
Gambar 4. Hasil Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*) dari Dosis Tertinggi pada Tabung Nomor 1 sampai dosis Terendah pada Tabung Nomor 10 kemudian Tabung Nomor 11 sebagai Kontrol Negatif dan Tabung Nomor 12 sebagai Kontrol positif

Hasil uji MIC dengan cara pengamatan perubahan warna bening pertama kali dan pengukuran dengan spektrofotometer untuk menentukan nilai *optical density* pertama kali dan memiliki nilai OD mendekati kontrol positif atau di bawah nilai kontrol negatif yaitu terdapat pada dosis 156,25 ppm sehingga untuk

mempermudah pada saat implementasinya, dosis tersebut dibulatkan menjadi 150 ppm dan dijadikan dosis awal pada uji cakram.

4.2 Uji Cakram

Berdasarkan hasil pengamatan diameter zona bening selama penelitian didapatkan gambar zona bening tiap perlakuan seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5 dibawah ini.



Gambar 5. Hasil Uji Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.)

Diameter zona bening hasil penelitian dipengaruhi oleh jumlah dosis yang digunakan, semakin besar dosis yang digunakan maka diameter zona bening yang dihasilkan semakin besar karena dengan dosis tinggi bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak akan lebih banyak meresap ke dalam kertas cakram yang digunakan dibandingkan dengan dosis yang lebih kecil. Pernyataan tersebut sesuai dengan pendapat Katno (2009), menyatakan bahwa

kecenderungan zona bening atau zona hambatan pertumbuhan bakteri uji yang dihasilkan oleh suatu ekstrak seiring atau berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi ekstrak yang digunakan karena perbedaan besarnya daerah zona hambatan masing-masing konsentrasi akibat perbedaan besarnya kandungan senyawa aktif, kemudian faktor-faktor yang mendukung terhadap panjang atau tidaknya hambatan dari suatu ekstrak ditentukan oleh konsentrasi senyawa aktif, kepekaan pertumbuhan mikroba uji, ketebalan dan viskositas medium serta reaksi antara zat aktif dengan medium dan suhu inkubasi.

Suryawiria (1978) dalam Eveline dan Fonny (2014), menyatakan bahwa respon hambat dari suatu bahan aktif dapat diklasifikasikan pada empat respon seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Klasifikasi Respon Hambatan (Suryawiria, 1978 dalam Eveline dan Fonny 2014)

No	Diameter Zona Bening (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
1.	<5	Lemah
2.	5-10	Sedang
3.	10-19	Kuat
4.	>20	Sangat Kuat

Berdasarkan Tabel 4 mengenai respon hambat suatu bahan aktif terhadap bakteri dengan uji cakram dapat ditentukan bahwa respon hambatan ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap bakteri *A. hydrophila* dengan dosis 150 ppm , 200 ppm, 250 ppm dan 300 ppm dikatakan sedang karena ukuran diameter zona bening yang dihasilkan berada pada jarak antara 5-10 mm.

Hasil uji cakram dari ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dengan empat perlakuan dosis dan tiga kali ulangan yang dilakukan yaitu dengan dosis 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dan 300 ppm didapatkan diameter zona bening setelah dilakukan pengamatan 24 jam dan pengamatan 48 jam seperti yang ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Rata-Rata Pengamatan Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Bakteri *A. hydrophila*

Perlakuan	Ulangan			Total (mm)	Rerata ± Standar Deviasi (mm)
	1 (mm)	2 (mm)	3 (mm)		
A	4,1	4,45	5,35	13,9	4.63 ± 0,64
B	5,3	5,15	6,1	16,55	5.57 ± 0,51
C	7,1	7	7,45	21,55	7.18 ± 0,24
D	7,1	8,45	8	23,55	7.85 ± 0,69
	75,55				

Data rata – rata diameter zona bening tertinggi terdapat pada perlakuan D (300 ppm) dengan nilai zona bening rata-rata $7.85 \pm 0,69$ mm dan hasil zona bening dengan nilai terendah yaitu perlakuan A (150 ppm) didapatkan rata-rata nilai $4.63 \pm 0,64$ mm. Kemudian dilakukan analisa sidik ragam untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan, berikut merupakan tabel sidik ragam zona bening yang dihasilkan dari beberapa perlakuan ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) yang berbeda seperti yang ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Analisa Sidik Ragam Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	19.72	6.57	21.82	4.07	7.59
Acak	8	2.41	0.30	**		
Total	11					

Keterangan: ** = Berbeda sangat nyata

Tabel sidik ragam menunjukkan bahwa dosis ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila*. Perbedaan dosis perlakuan pada penelitian ini menghasilkan zona daya hambat yang berbeda pula. Perbedaan masing-masing perlakuan terhadap zona daya hambat bakteri didukung dengan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf $p > 5\%$ (kepercayaan 95 %) maupun taraf nyata 1% (kepercayaan 99%). Hasil Uji Beda Nyata Terkecil

(BNT) didapatkan untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan seperti dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.)

		A (150 ppm)	B (200 ppm)	C (250 ppm)	D (300 ppm)	Notasi
Rerata		4.63	5.57	7.18	7.85	
A (150 ppm)	4.63	-	-	-	-	a
B (200 ppm)	5.57	0.88 ^{ns}	-	-	-	a
C (250 ppm)	7.18	2.55**	1.67**	-	-	b
D (300 ppm)	7.85	3.27**	2.33**	0.67 ^{ns}	-	b

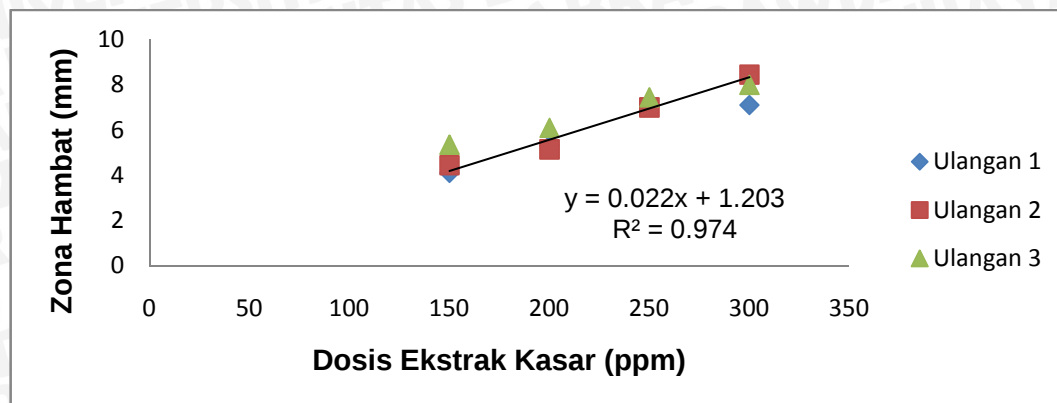
Keterangan :

ns : Tidak berbeda nyata

* : Berbeda nyata

** : Sangat berbeda nyata

Pada Tabel 7 menunjukkan bahwa perlakuan A (150 ppm) tidak memberikan nilai yang signifikan antar perlakuan dan diberi notasi a. Perlakuan B (200 ppm) terhadap perlakuan A (150 ppm) tidak memberikan pengaruh nyata sehingga diberi notasi a. Perlakuan C (250 ppm) memberi pengaruh nyata terhadap perlakuan A (150 ppm) dan memiliki pengaruh nyata terhadap perlakuan B (200 ppm) sehingga diberi notasi b. Pada perlakuan A (150 ppm) dan B (200 ppm) memberikan pengaruh namun pada perlakuan C (250 ppm) tidak memberikan pengaruh sehingga diberi notasi b, kemudian berdasarkan hasil penelitian didapatkan grafik regresi diameter zona bening yang dihasilkan dengan perlakuan yang berbeda seperti pada Gambar 6.



Gambar 6. Hubungan Pengaruh Dosis Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) pada Tiap Perlakuan dengan Diameter Zona Hambat

Berdasarkan Gambar 6 terlihat hubungan antara penambahan dosis perlakuan ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) terhadap diameter zona bening menunjukkan pola linier dengan persamaan $y = 0,002x + 1,203$ dan koefisien $R^2 = 0.974$. Hubungan antara pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) dalam menghambat bakteri *A. hydrophila* dengan rata – rata diameter zona bening yang dihasilkan menunjukkan respon yang meningkat seiring dengan bertambahnya dosis ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) dari dosis 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dan 300 ppm. Hasil perhitungan uji statistik dapat dilihat pada Lampiran 8.

Hasil penelitian Uji Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) menghasilkan sifat bakteriosidal terhadap bakteri *A. hydrophila*. Aktivitas bakteri dapat dikendalikan dengan cara penghambatan secara kimia. Penghambatan secara kimia dapat dilakukan dengan cara pemberian anti bakteri yang berguna untuk mengganggu aktivitas bakteri. Dilihat dari cara kerjanya antibakteri dibagi menjadi dua yaitu anti bakteri yang bersifat bakteriostatik dan bakteriosidal. Bakteriostatik adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri sedangkan bakteriosidal adalah

zat yang dapat membunuh bakteri (Chomnawang *et al.*, 2005 dalam Silvikasari, 2011).

Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*) dan uji cakram yang telah didapatkan bahwa ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) mampu menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *A. hydrophila* hal tersebut dilihat dari panjangnya zona hambat yang tidak terjadi perubahan ukuran. Bahan aktif yang diduga berperan sangat penting dalam menghambat atau membunuh bakteri *A. hydrophila* adalah flavonoid.

Sasaran utama flavonoid sebagai antibakteri yang terkandung dalam ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) adalah dinding sel. Haryani *et al.*, (2012), Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Flavonoid dan flavonol disintesis tanaman dalam responnya dalam infeksi mikroba. Bahan aktif ini merupakan bahan aktif antimikroba karena mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut serta dinding sel mikroba.

Mekanisme senyawa flavonoid dalam mengganggu aktifitas bakteri adalah dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membrane sitoplasma, hal tersebut didukung dengan pernyataan Brooks *et al.*, (1996) dalam Ibrahim, Adiputra, Setyawan dan Hudaidah (2013), bahwa flavonoid efektif bekerja sebagai bakteriostatik dan bakteriosidal karena diduga dapat menghambat dan merusak dinding sel atau membran sel bakteri yang terdiri dari lapisan protein, mekanisme kerja senyawa-senyawa fenol termasuk flavonoid sebagai antibakteri adalah dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel. Penghambatan dan perusakan dinding dan membran sel ini dapat dilakukan dengan terbentuknya ikatan-ikatan hidrogen dan kovalen antara bahan aktifnya yang bersifat hidrofobik sehingga mengganggu integrasi dinding dan membran sel bakteri.

Rahman (2008) dalam Roslizawati, Ramadani, Fakrurrazi dan Herrialfian, 2013), menyatakan bahwa flavonoid juga merupakan antimikrob karena kemampuannya membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut serta dinding sel mikroba. Flavonoid yang bersifat lipofilik akan merusak membran mikroba.

Parameter penunjang dari penelitian ini yaitu lama waktu perendaman kertas cakram pada perlakuan ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L)DC) dengan dosis yang berbeda. Hasil penelitian yang sudah dilakukan, lama perendaman kertas cakram memberikan pengaruh terhadap resapan bahan aktif ke dalam kertas cakram karena semakin lama perendaman maka bahan aktif yang meresap pada kertas cakram akan semakin banyak. Perendaman dilakukan selama ± 15 menit. Lama waktu perendaman tersebut dilakukan agar bahan aktif dapat meresap ke dalam kertas cakram dan mencegah rusaknya kertas cakram akibat terlalu lama dilakukan perendaman. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Wiyanto (2010), menyatakan bahwa perendaman kertas cakram dilakukan selama 15 menit agar bahan aktif ekstrak yang digunakan dapat meresap ke dalam kertas cakram yang digunakan sehingga mampu menghambat bakteri pada saat perlakuan.

V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) mampu menghambat bakteri *A. hydrophila* dilihat dari diameter zona bening yang dihasilkan dari semua perlakuan yang sudah ditentukan selama penelitian. Diameter zona bening yang dihasilkan semakin meningkat seiring dengan semakin tinggi dosis perlakuan yang digunakan. Perlakuan dengan dosis 300 ppm memiliki ukuran diameter rata-rata zona bening paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya yaitu dengan rata-rata diameter zona bening $7.85 \pm 0,69$.mm.

5.2 Saran

- Hasil penelitian menunjukkan daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) dapat dimanfaatkan untuk menghambat atau membunuh bakteri *A. hydrophila* dengan dosis 300 ppm (dosis paling tinggi), namun belum didapatkan dosis optimal, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mendapatkan dosis optimalnya tersebut.
- Ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L)DC.) dapat diaplikasikan sebagai bahan obat namun sebelumnya harus dilakukan uji in vivo terlebih dahulu untuk membuktikan keefektifan bahan tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraeni, R.A. 2014. **Pengaruh perbedaan dosis perendaman dengan ekstrak daun papaya (*Carrasius papaya*) terhadap daya tetas telur ikan Patin Siam (*Pangasianodon hypophthalmus*)**. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang. Tidak dipublikasikan.
- Anonymous. 2002. **Guidelines for drinking-water quality. Adendum microbial agents in drinking water**. Artikel. World Health Organization Geneva. Halaman 1.
- Anonymous. 2012^a. ***Aeromonas hydrophila***. <http://en.wikipedia.org>. Diakses 1 Februari 2014.
- _____. 2012^b. **Autoclave alat sterilisasi alat dan medium dalam kultur jaringan tumbuhan**. <http://tissuecultureandorchidologi.blogspot.com>. Diakses 30 Januari 2014.
- Anonymous. 2014^a. **Tanaman obat Indonesia**. <http://www.iptek.net.id>. Diakses 30 Januari 2014.
- _____. 2014^b. ***Blumea balsamifera* DC**. <https://www.google.com>. Diakses 1 Februari 2014.
- Bhuiyan, M.N.I, JD Chowdhury, J Begum. 2009. **Chemical components in volatile oil from *blumea balsamifera* (L.) DC**. *J. BOT*. 38(1): 107-108.
- Bijaksana, I. 2013. **Pengaruh ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas fluoresceens* secara in vitro**. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang. Halaman 28-29. Tidak dipublikasikan.
- Choirunnisa, A.R. 2013. **Botani farmasi-Manfaat dan klasifikasi tanaman obat**. <http://blogs.itb.ac.id>. Diakses 1 Februari 2014.
- Djauhary, R. 2006. **Identifikasi potensi bakteri patogen pada budidaya ikan betook (*Anabas testudeneus* Bloch)**. *Journal of Tropical Fisheries*. 1(1) : 71-79
- Dwidjoseputro, D. 2010. **Dasar – dasar mikrobiologi**. Penerbit Djambatan. Jakarta. 214 halaman.
- Eveline, H dan F, Yuliana. 2014. **The influence of Sweet Soy Sauce or Honey Addition Toward Antibacterial Activity of Lime (*Citrus auratifolia* Swingle) Juice**. *International Journal of Tropical Medicine*. 9(1) : 15-20.
- Firdausi, N.P. 2013. **Pengaruh ekstrak kasar biji mahoni (*Swistenia macrophyta*) terhadap daya hambat *Aeromonas hydrophila* secara In Vitro**. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang. Halaman 15-16. Tidak dipublikasikan.

- Firnanda, R., Sugito., Fakhurrazi dan D.V.S. Ambarwati. 2013. **Isolasi *Aeromonas hydrophila* pada sisik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi tepung daun jalloh (*Salix tetrasperma* Roxb).** *Jurnal Medika Vetrinaria*. 7(1) : 22-24
- Gunawan, I. 2007. **Penapisan awal ekstraksi senyawa bioaktif sebagai antibakteri serta uji toksisitas dan uji minimum inhibitory (MIC) dari karang lunak asal perairan pulau panggang, kepulauan seribu.** Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Halaman 18-19. Tidak dipublikasikan.
- Hanafiah, K. A. **Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi Edisi 3.** PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. 259 halaman.
- Haryani, A., R, Grandiosa., I,D, Buwono dan A, Santika. 2012. **Uji efektivitas daun papaya (*Carica papaya*) untuk pengobatan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas koki (*Carrasius auratus*).** *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 3(3): 213-220
- Hatmanti, A. 2003. **Penyakit bacterial pada budidaya krustasea serta cara penanganannya.** *Jurnal Oceanografi*. 28(3) : 1-10.
- Hernani dan R, Nurdjanah. 2009. **Aspek pengeringan dalam mempertahankan kandungan skunder pada tanaman obat.** *Perkembangan Teknologi Tro*. 21(2):33-39.
- Hut, C.F. 2012. **Daun sembung.** <http://ciuniankfhe919.wordpress.com>. Diakses 30 Januari 2014.
- Ibrahim, A., Y.T. Adiputra., A. Setyawan dan S. Hudaidah. 2013. **Potensi ekstrak kulit buah dan biji rambutan (*Neiphelium lappaceum*) sebagai senyawa anti bakteri pathogen pada ikan.** *E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 1(2) : 135-144.
- Jaedun, A. 2011. **Metodologi Penelitian Eksperimen.** Artikel. Fakultas Teknik UNY. Yogyakarta. Tidak dipublikasikan.
- Kamaludin, I. 2011. **Efektifitas ekstrak lidah buaya *Aloe vera* untuk pengobatan infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo *Clarias* sp. Melalui pakan.** Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Halaman 1. Tidak dipublikasikan.
- Katno, S. Haryanti dan A. Triyono. 2009. **Uji daya hambat ekstrak etanol daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) terhadap pertumbuhan mikroba *E. Coli*, *S. aureus* dan *C. albicans*.** *Jurnal Tanaman Obat Tradisional*. 2(1): 33-36.
- Kordi, M.G.K.H. 2011. **Marikultur prinsip dan praktik budidaya laut.** Lily Publisher. Yoyakarta. 618 halaman.
- Kusmiyati., N,W,S, Agustini. 2006. **Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*.** *Biodiversitas*. 8(1) : 48-53.

- Kusumawardani, I.R., R. Kusdarwati dan D. Handijatno. 2008. **Daya Anti Bakteri Ekstrak Jahe Merah Secara In Vitro**. Berkala Ilmiah Perikanan. 3(1): 75-82.
- Lense, O. 2011. **Biological screening of selected traditional medicinal plants species utilized by local people of Manokwari, West Papua Province**. *Journal Of Biological Sciece* 3(3): 145-150.
- Lestari, R. 2013. **Pewarnaan Sederhana, Negatif, Kapsul dan Gram**. Tidak dipublikasikan. Artikel. 15 Halaman
- Machmud, M. 2001. **Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba**. Buletin AgriBio 4(1): 24-32.
- Mahyuddin, K. 2010. **Panduan lengkap agribisnis Patin**. Penebar Swadaya. Jakarta. 212 halaman.
- Mariyono dan A. Sundana. 2002. **Teknik pencegahan ppengobatan penyakit bercak merah pada ikan air tawar yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila***. *Buletin Teknik Pertanian*. 7(1): 33-36.
- Martin, J. 2004. ***Aeromonas hidrophyla***. <http://web.mst.edu> . Diakses 2 Januari 2014.
- Merina, N., K.J. Chandra, dan K. Jibon. 2012. **Medical plants with potential anticancer activities: A Riview**. *International Research Journal Of Pharmacy*. 3(6): 26-27.
- Melki., W. Ayu., Kurniati. 2011. **Uji antibakteri ekstrak *Gracilaria* sp (Rumput Laut) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus***. Artikel. 6 Halaman.
- Michael J, J dan S, L, Abbot. 2010. **The Genus *Aeromonas* : Taxonomy, Pathogenicity, and Infection**. *Clinical Microbiology Reviews*. Hal 35-73.
- Mounika, C.P., K.A. Kumar., M. Soumya., C. Rajaram, dan S.N. Kumar. 2013. **Antidiarrheal activity of ethanolic extract of *Blumea balsamifera* in experimental animal models**. *International Journal of Novel aspects in Pharmaceutical Research*. 1(1): 14-19
- Nessa, F., Z. Ismail., N. Mohamed, M.R.H.M. Haris. 2004. **Free radical-scavenging activity of organic extracts and of pure flavonoids of *Blumea balsamifera* DC leaves**. *Journal Food Chemistry*. 88(2004): 243-252.
- Noverita., D. Fitria., dan E. Sinaga. 2009. **Isolasi dan uji aktivitas antibakteri Jamur endofit dari daun dan rimpang *Zingiber ottensii* val**. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 4(4): 173-174.
- Pednekar, P.P., B.V. Vakil., R.T. Sane., dan A.G. Datar. 2013. **Phytochemical profile and antioxidant activity of the essential oil from *Blumea eriantha* DC**. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(1): 404-413.

- Putri, R.W., W, Tjajaningsih dan D, Handijatno. 2008. **Daya antibakteri pigmen pyocyanin dari isolate Pseudomonas aeruginosa terhadap Aeromonas hydrophila secara in vitro.** Jurnal berkala ilmiah perikanan. 3(1): 65-73
- Qanun, A. 2012. **Daun Sembung.** <http://www.bekamsteriljakarta.com>. Diakses 18 Februari 2014.
- Reskika, A. 2011. **Evaluasi potensi rumput laut coklat (phaeophyceae) dan rumput laut hijau (chlorophyceae) asal perairan akalar sebagai antibakteri vibrio spp.** Skripsi. Universitas Hasanudin. Makasar. Halaman 2. Tidak dipublikasikan.
- Rey, a., N. Verjan., W. Ferguson., dan C. Iregui. 2009. **Pathogenesis of Aeromonas hydrophila strain KJ99 infection and its extracellular products in two species of fish.** Paper. *Veterinary Record*. 7 halaman.
- Robinson, T., 1991. **The Organic Constituen of HigherPlants.** 6th Edition. Department of Biochemistry. University of Massachusetts
- Roslizawati., N,Y, Ramadani., Fakhurrrazi dan Herrialfian. **Aktifitas Antibakterial Ekstrak Etanol dan Rebusan Sarang Semut (Myrmecodia sp.) Teradap Bakteri Escheria coli.** Jurnal Medika Veterinaria. 7(2):91-94.
- Sakee. U., S. Maneerat., T.P.T. Cushnie., dan W.D. Eknamkul. 2011. **Antimicrobial activity of Blumea balsamifera (Lin.) DC. extracts and essential oil.** *Journal Natural Product Research*. 25(19): 1849-1850.
- Sarma, G.C., dan R.L. Borah. 2012. **Systematic survey of asteraceae of dibrugarh district Of assam india.** *Indian Journal of Plant Sciences* issn.1(2): 44 – 59.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. **Sintesis Bahan Alami.** Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Sidik, A.S., Sarwono., dan Agustina. 2002. **Pengaruh padat penebaran terhadap laju nitrifikasi dalam budidaya ikan sistem resirkulasi tertutup.** *Jurnal akuakultur Indonesia*. 1(2): 47-51.
- Simanjuntak, M. 2008. **Ekstraksi dan fraksinasi komponen ekstrak daun tumbuhan senduduk (Melastoma malabathricum. L) serta pengujian efek sediaan krim terhadap penyembuhan luka bakar.** Skripsi. Universitas Sumatra Utara. Medan. Halaman 7. Tidak dipublikasikan.
- Sukadi, M.F. 2002. **Peningkatan teknologi budidaya perikanan.** *Jurnal Ikhtiologi Indonesia*. 2(2):61-66.
- Sukenda, L., Jamal., D. Wahjuningrum., dan A. Hasan. 2008. **Pengaruh penggunaan Kitosan untuk pencegahan infeksi Aeromonas hydrophila pada ikan lele dumbo Clarias sp.** *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 7(2): 159-160.

- Syawal, H., Syafridiiman., dan S. Hidayah. 2008. **Pemberian ekstrak kayu siwak (*Salvadora persica* L.) untuk meningkatkan kekebalan ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) yang dipelihara dalam keramba.** *Jurnal Biodiversitas*. 9(1): 44-47.
- Tandung, L.M., M.V. Jr Lanting., P.A.Jr Umali., dan N.L.M. Lantican. 2010. **Allometry of aboveground biomass and carbon content of forest tree species.** Artikel. Canopy International. 16 halaman.
- Tarigan, R.R. 2014. **Pengaruh pemberian larutan daun pepaya (*carica papaya* L.) Terhadap ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* ditinjau dari hematologi.** Skripsi. Halaman 10. Tidak dipublikasikan.
- Wardani, R,K., W, Tjahjaningsih dan B, S, Raharjda. 2012. **Uji Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Rocatum*) Terhadap Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Secara *In Vitro*.** *Jurnal perikanan dan Kelautan*.4(1): 59-64.
- Wintoko, F., A. Setyawan., S. Hudaidah., dan M. Ali. 2013. **Imunogenisitas *heat killed* vaksin inaktif.** *E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 2(1): 205-206.
- Wiyanto,D,B. 2010. **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Kappaphycus Alvarezii* dan *Eucheuma Denticullatum* Terhadap Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Dan *Vibrio harveyii*.** *Jurnal Kelautan*. 3(1): 1-17.
- Yulianto. R., Y.T. Adiputra., Wardiyanto., dan A. Setiawan. 2013. **Perubahan jaringan organ ikan komet (*Carrasius auratus*) yang diinfeksi dengan *Aeromonas hydrophila*.** *E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 2(1) : 197-204.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Peralatan Penelitian



Autoclav



Timbangan Digital



Hot Plate



Vortex



Kulkas



Inkubator



Timbangan
Sartorius



LAF



Mikro pipet



Spektrofotometer



Jarum Ose



Jangka Sorong

Lampiran 2. Proses Ekstraksi Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.)DC.)

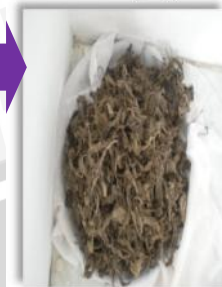
Persiapan Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.)DC.)



Persiapan Daun Sembung



Daun Sembung Dipotong



Daun Sembung Dikeringkan



Daun Sembung Dihaluskan

Maserasi



Daun Sembung Ditimbang



Serbuk Daun Sembung Dimasukkan dalam Wadah, Dicampurkan Etanol dan Wadah Ditutup dengan Alumunium Foil (Didiamkan 48 jam)



Hasil Maserasi Disaring

Pemisahan Larutan dengan Ekstrak



Hasil dari Maserasi Dimasukkan Kedalam Labu Vaccum Rotary Evaporator



Dilakukan Pemisahan Pelarut dengan Vaccum Rotary Evaporator



HASIL

Lampiran 3. Hasil Uji Biokimia Bakteri *A. hydrophila* dari BBPBAP Jepara

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

Alamat surat : PO Box 1 Jepara , Kantor : Jl. Cik Lanang-Bulu Jepara 59418
Telp. : (0291) 591125, Faximile : (0291) 591724

HASIL UJI BIOKIMIA *Aeromonas hydrophilla*

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

Lab. Mikrobiologi BBPBAP Jepara

Penyelia



Sri Murni Astuti, SP.

NP. 19651186 199103 2001

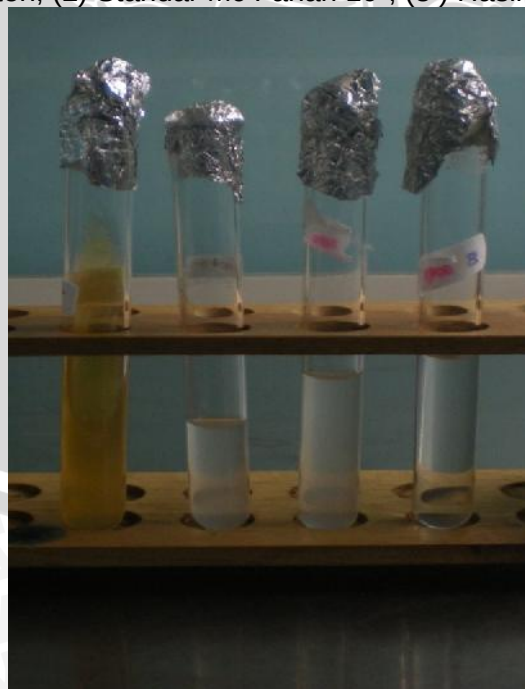
Lampiran 4. Gambar Isolat Murni dan Hasil Peremajaan Bakteri *A. hydrophila* pada Media Agar Miring.



Isolat Murni

Hasil Peremajaan

Lampiran 5. Gambar Hasil Penggenceran Berseri secara berurutan (1) Isolat bakteri, (2) Standar Mc Farlan 10^8 , (3) Hasil Penggenceran 10^7



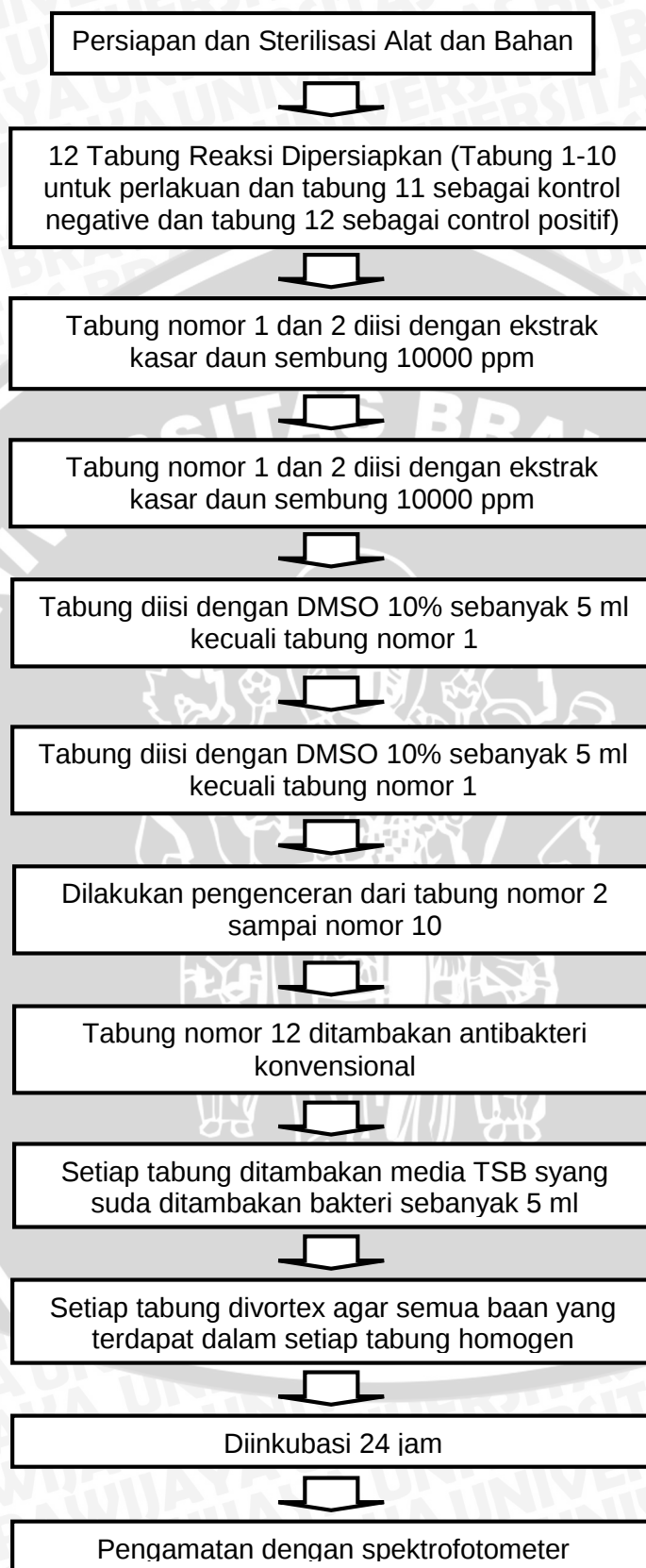
(1)

(2)

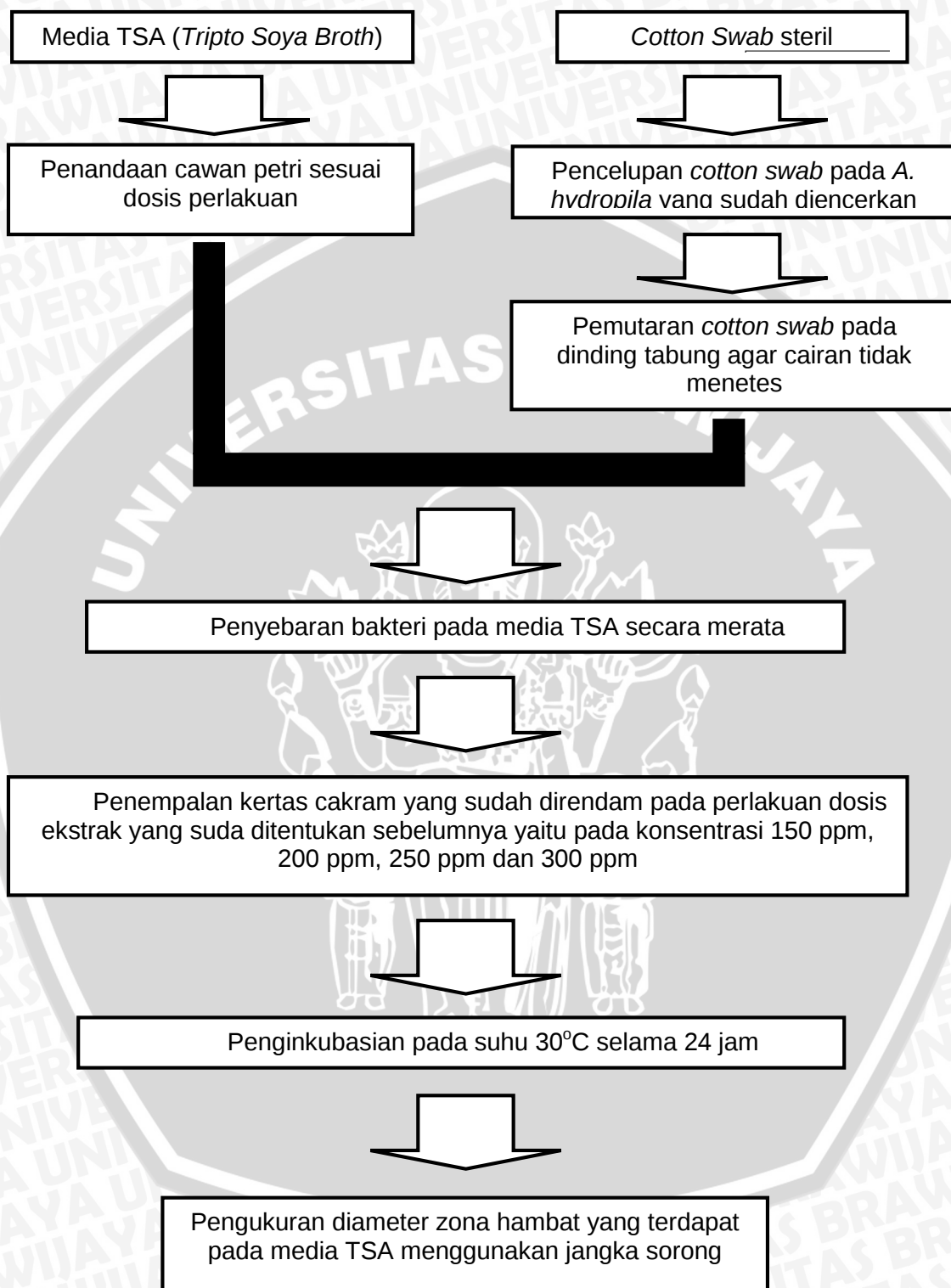
(3)

(4)

Lampiran 6. Skema Kerja Uji MIC (*Minimum Inibiting Concentration*)



Lampiran 7. Skema Kerja Uji Cakram



Lampiran 8. Perhitungan Statistik Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± Standar Deviasi
	1	2	3		
A	4,1	4,45	5,35	13,9	4.63 ± 0,64
B	5,3	5,15	6,1	16,55	5.57 ± 0,51
C	7,1	7	7,45	21,55	7.18 ± 0,24
D	7,1	8,45	8	23,55	7.85 ± 0,69
				75,55	

➤ **Perhitungan**

FK	$\frac{75,55^2}{4 \times 3}$	475, 65
JK Total	$(A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK$	22,13
JK Perlakuan	$\frac{(\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2)}{3} - FK$	19,72
JK Acak	JK Total – JK Perlakuan	2,41
KT	JK/db	

➤ **Analisa Keragaman**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F. Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	19.72	6.57	21.82	4.07	7.59
Acak	8	2.41	0.30	**		
Total	11					

F 5% < F.hitung > F 1% = berbeda sangat nyata

Keterangan :

** : berbeda sangat nyata

➤ **Uji BNT**

SED	$\sqrt{\frac{2 \times KT}{3}}$	0.45
BNT 5%	t tabel 5 % (db acak) x SED	1,03
BNT 1 %	t tabel 1 % (db acak) x SED	1,50

Lampiran 8. (Lanjutan)

➤ Tabel uji BNT Bobot Pemeliharaan

	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		4.63	5.57	7.18	7.85	
A	4.63	-	-	-	-	a
B	5.57	0.89 ^{ns}	-	-	-	a
C	7.18	2.55**	1.67**	-	-	b
D	7.85	3.27**	2.33**	0.67 ^{ns}	-	b

Keterangan :

ns : tidak berbeda nyata

* : berbeda nyata

** : sangat berbeda nyata

➤ Uji polinomial orthogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	13.9	-3	1	-1
B	16.55	-1	-1	3
C	21.55	1	-1	-3
D	23.55	3	1	1
Q= $\sum ci \cdot Ti$		33.95	-0.65	-5.35
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= $(\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK= Q^2 / Kr		19.21004	0.035208	0.477041667

JK Regresi 19.72229

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	19.70			4.07	7.59
Linier	1	19.21	19.21	63.77	**	
Kuadratik	1	0.03	0.03	0.11	ns	
Kubik	1	0.48	0.48	1.59	ns	
Acak	8	2.41	0.30			
Total	11					

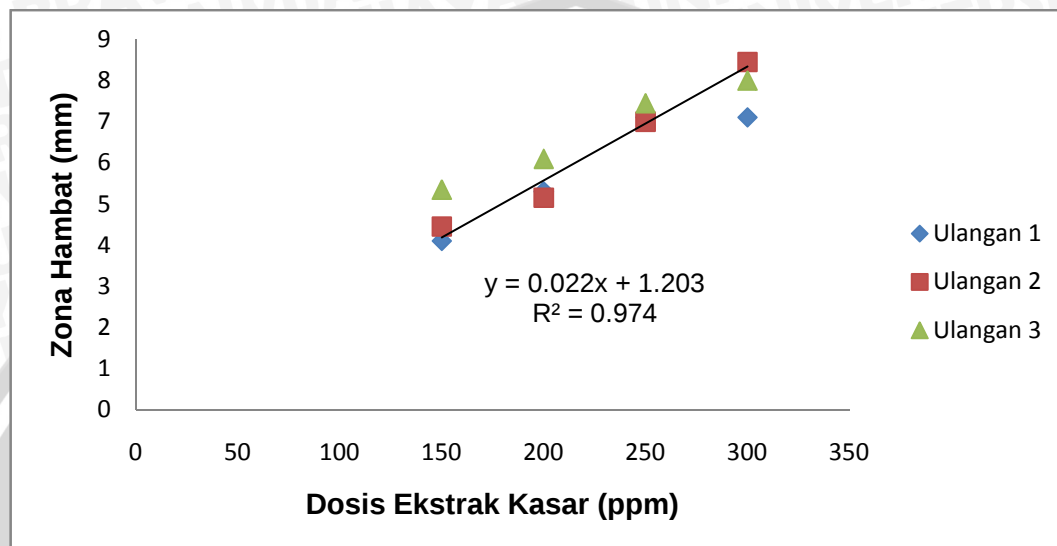
$$R^2 \text{ Linier} = \text{JK Linier} / (\text{JK Linier} + \text{JK Acak}) = 0,888529$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \text{JK Kuadratik} / (\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak}) = 0,014399$$

Lampiran 8. (Lanjutan)

$$R^2 \text{ Kubik} = \text{JK Kubik} / (\text{JK Kubik} + \text{JK Acak}) = 0,165235$$

Nilai regresi linier lebih besar dari nilai regresi kuadratik, dan kubik sehingga grafik yang dibuat adalah grafik linier.



Keterangan :

X = Konsentrasi Ekstrak (ppm)

Y = Zona Hambat (mm)