

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas
hydrophila* SECARA *IN VITRO***

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

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Oleh :

**NUR WASILAH
NIM. 115080500111051**



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

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* 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 :
**NUR WASILAH
NIM. 115080500111051**



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

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas
hydrophila* SECARA IN VITRO**

Oleh :

NUR WASILAH

NIM. 115080500111051

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal 4 Juni 2015
Dan dinyatakan memenuhi syarat

DOSEN PENGUJI I

Dr. Ir. Maftuch, M.Si

NIP. 19660825 199203 1 001

Tanggal :

MENYETUJUI,

DOSEN PEMBIMBING I

Prof.Dr.Ir. Arief Prajitno, MS

NIP. 19550213 198403 1 001

Tanggal :

DOSEN PEMBIMBING II

Ir. Ellana Sanoesi., MP

NIP. 19630924 199803 2 002

Tanggal :

MENGETAHUI,

KETUA JURUSAN MSP

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS

NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal :

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis 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, Juni 2015

Mahasiswa

Nur Wasilah



UCAPAN TERIMA KASIH

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

1. Allah SWT yang telah memberikan kelancaran dan berbagai kemudahan pada penulis dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
2. Mama dan Baba yang selalu memberikan doa yang terbaik dan keluarga saya yang telah memberikan dukungan moril maupun materil hingga laporan skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Laboran lab penyakit dan kesehatan ikan mbak Titin Yuniastutik, S.TP dan mbak Henny Purwitasari, S.Pi yang selalu membantu dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini.
4. Keluarga spirilli (Yayuk Mughiroh, Ani Nadhiroh, Dwi Yuli Sri Asih, Nikita Happy M. A, Yeti Mayantari, Kadi Mey Ismail, Farida Ayu W. K, Gabri Digdayaning Irianti, Randy Adhi Kamula) yang selalu memberikan semangat dan selalu menemani penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Teman-teman Aquatic Spartans BP 2011, yang telah ikut serta mendukung penyelesaian skripsi ini dan telah banyak mengukir cerita selama penulis menuntut ilmu.
6. Ucapan terima kasih secara khusus yang saya sampaikan kepada teman terdekat saya Badriyah Rosyidah, Nurrin Zakiyah, Eka Agustina, Faiqoturrohimah, dan teman-teman SPAGETI yang telah memberikan support dan semangat untuk menyelesaikan laporan ini.
7. Seluruh pihak yang sudah membantu penulis selama penelitian

Malang, Juni 2015

Penulis

RINGKASAN

NUR WASILAH. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*. Di Bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS** dan **Ir. ELLANA SANOESI., MP.**

Dalam kegiatan budidaya ikan sering ditemukan banyak kendala dalam pemeliharaan ikan, salah satunya adalah serangan penyakit. Penyakit biasanya disebabkan oleh virus, bakteri, parasit, jamur, faktor lingkungan yang tidak mendukung, serta zat-zat kimia yang dapat mencemari lingkungan. Penyakit bakterial merupakan penyakit yang banyak menyebabkan kegagalan panen terutama jika disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Untuk menanggulangi penyakit para pembudidaya ikan sering kali menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik secara terus menerus akan menyebabkan organisme patogen bersifat resisten, dapat mencemari lingkungan, dan dapat membahayakan manusia yang mengkonsumsi ikan tersebut. Oleh karena itu perlu adanya alternatif antibakteri alami yang aman seperti menggunakan daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, FPIK UB pada bulan Maret 2015 dengan metode rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan, konsentrasi yang digunakan yaitu 20% (perlakuan A), 40% (perlakuan B), 60% (perlakuan C), dan 80% (Perlakuan D). Parameter uji dalam penelitian ini ada dua yaitu parameter utama dan penunjang, parameter utama dalam penelitian ini adalah mengukur diameter zona bening yang dihasilkan di sekitar kertas cakram dan parameter penunjang dalam penelitian ini adalah lama waktu perendaman dan suhu inkubator selama inkubasi.

Hasil dari penelitian ini adalah pada perlakuan A (20%) rata-rata zona hambat yang dihasilkan sebesar 6,46 mm, perlakuan B (40%) rata-rata zona hambat yang dihasilkan sebesar 7,41 mm, lalu pada perlakuan C (60%) rata-rata zona hambat yang dihasilkan sebesar 8,51 mm, sedangkan pada perlakuan D (80%) rata-rata zona hambat yang dihasilkan sebesar 11,62 mm. Hubungan pengaruh konsentrasi ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) terhadap diameter zona hambat bakteri *A. hydrophila* berbentuk linear dengan persamaan $y = 0,083x + 4,35$ dan koefisien $R^2 = 0,910$, dimana semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin besar zona hambat yang di hasilkan. Lama waktu perendaman kertas cakram adalah 15 menit dan suhu inkubator selama inkubasi 30°C. Kesimpulannya bahwa pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila* berpengaruh dengan perbedaan yang sangat nyata dan bersifat bakteriosidal (membunuh bakteri).

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, yang mana telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, serta shalawat serta salam tetap tercurahkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*”. Skripsi ini 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 kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr.Ir. Arief Prajitno, MS selaku pembimbing I, yang selalu sabar dalam membimbing dan memberi motivasi kepada penulis dan Ir. Ellana Sanoesi., MP selaku pembimbing II, yang senantiasa selalu memberi saran, motivasi dan dukungan kepada penulis.

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 mengharap semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi segenap pihak yang membutuhkan.

Malang, Juni 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Hipotesis	5
1.6 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Biologi <i>Aeromonas hydrophila</i>	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	6
2.1.2 Habitat dan Penyebaran <i>A. hydrophila</i>	7
2.1.3 Pertumbuhan Bakteri <i>A. hydrophila</i>	8
2.2 Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i> dan Gejalanya	8
2.3 Biologi Belimbing Wuluh (<i>A. bilimbi</i> L.)	9
2.3.1 klasifikasi dan Morfologi Daun Belimbing Wuluh (<i>A. bilimbi</i> L.)	9
2.3.2 Habitat dan Penyebarannya	10
2.4 Bahan Aktif Daun Belimbing Wuluh (<i>A. bilimbi</i> L.)	11
2.5 Aktivitas Anti mikroba	12
2.6 Uji Cakram	12
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	14
3.1.1 Alat Penelitian	14
3.1.2 Bahan Penelitian	15
3.2 Metode Penelitian	15
3.3 Rancangan Penelitian	16
3.4 Prosedur Penelitian	17
3.4.1 Persiapan Penelitian	17
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian	21
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Daya Antibakterial Ekstrak Kasar Daun Belimbing Wuluh (<i>A. bilimbi</i> L.) Dengan Uji Cakram (<i>In vitro</i>)	24
4.2 Lama Perendaman Kertas Cakram dan Suhu Inkubator Selama Inkubasi pada Uji Cakram Secara <i>In vitro</i>	30

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	31
5.2 Saran.....	31

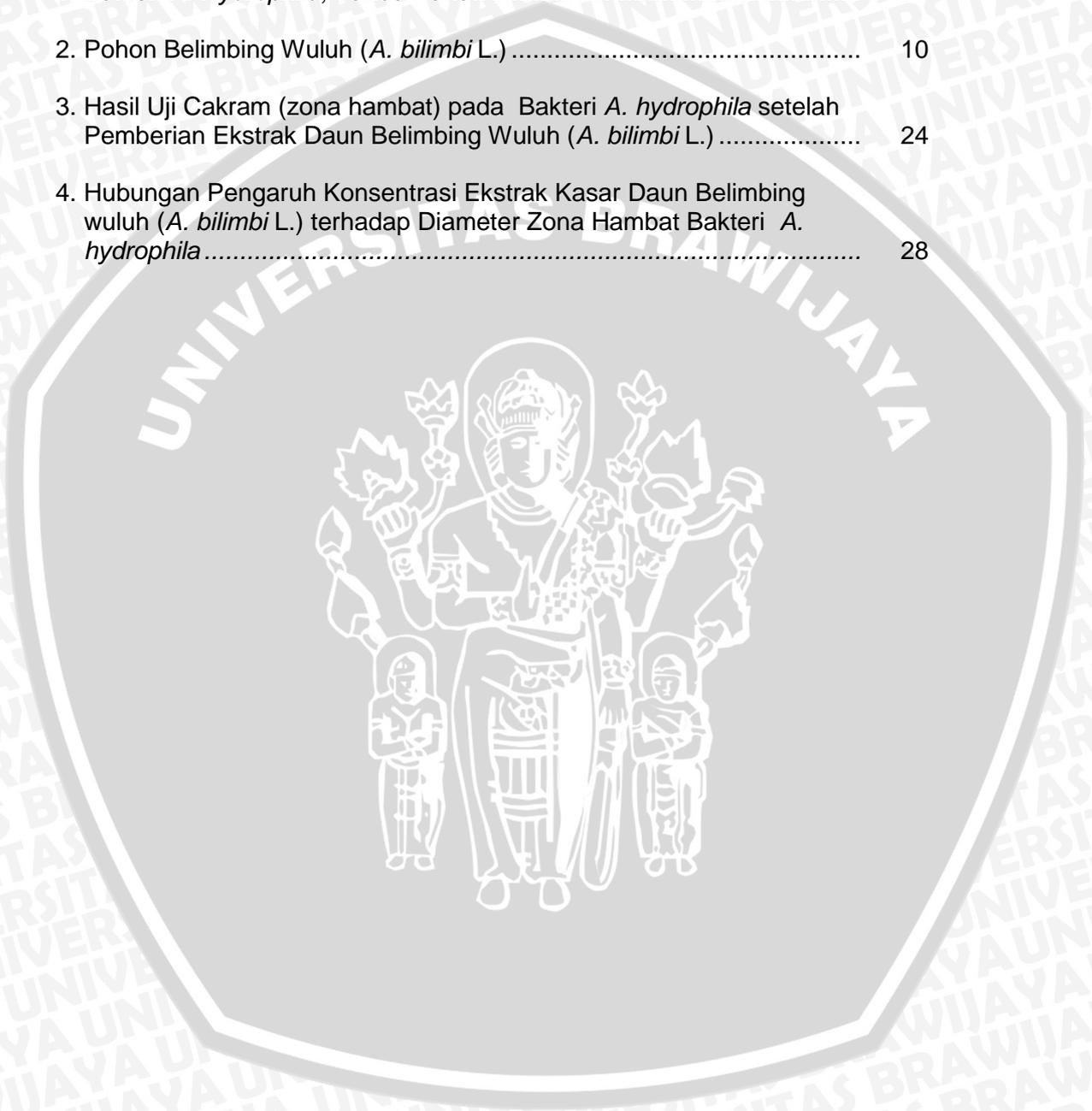
DAFTAR PUSTAKA.....	32
----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	36
----------------------	-----------



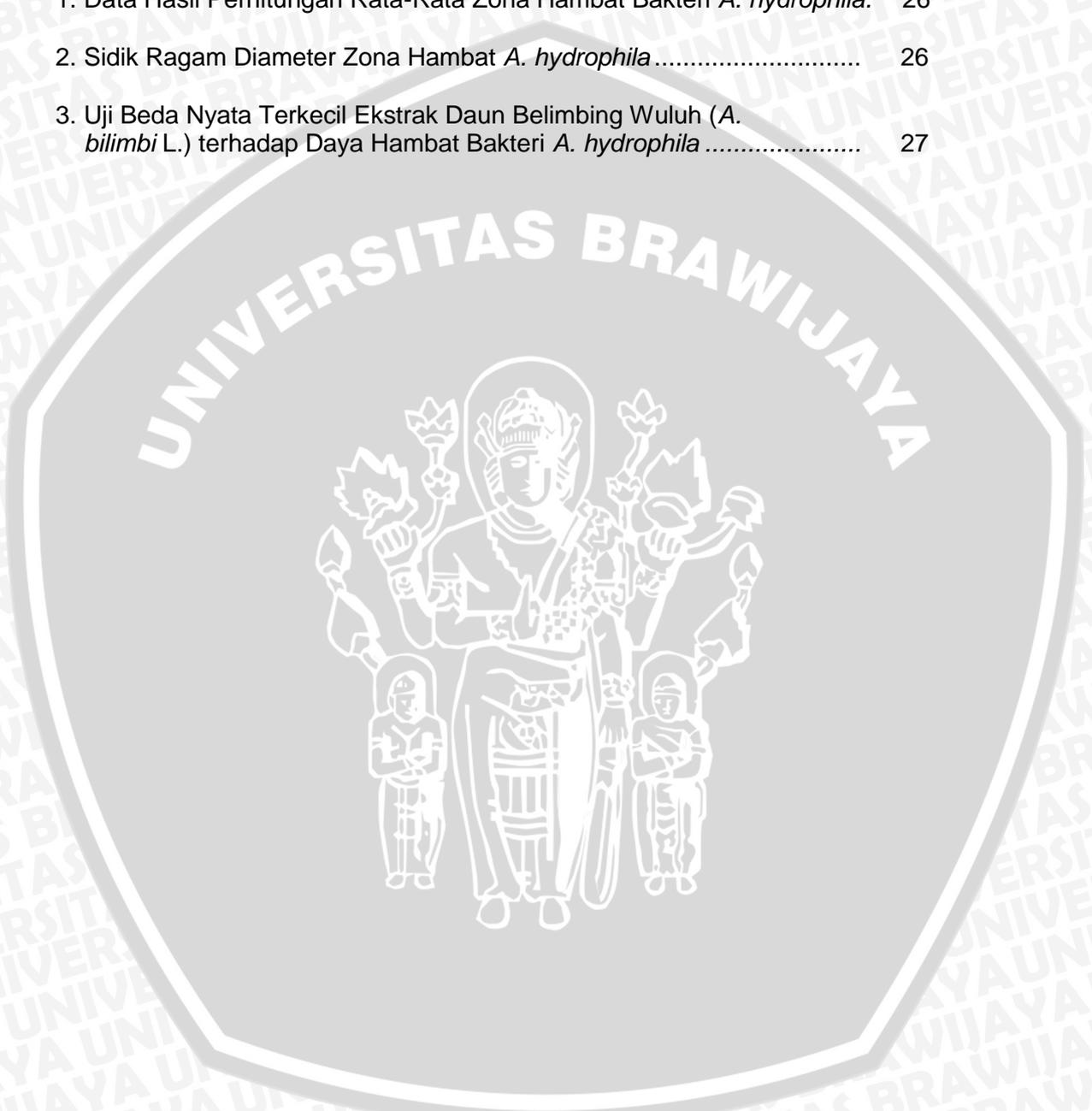
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bakteri <i>A. Hydrophila</i> , Tanda Panah	7
2. Pohon Belimbing Wuluh (<i>A. bilimbi</i> L.)	10
3. Hasil Uji Cakram (zona hambat) pada Bakteri <i>A. hydrophila</i> setelah Pemberian Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (<i>A. bilimbi</i> L.)	24
4. Hubungan Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kasar Daun Belimbing wuluh (<i>A. bilimbi</i> L.) terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri <i>A. hydrophila</i>	28



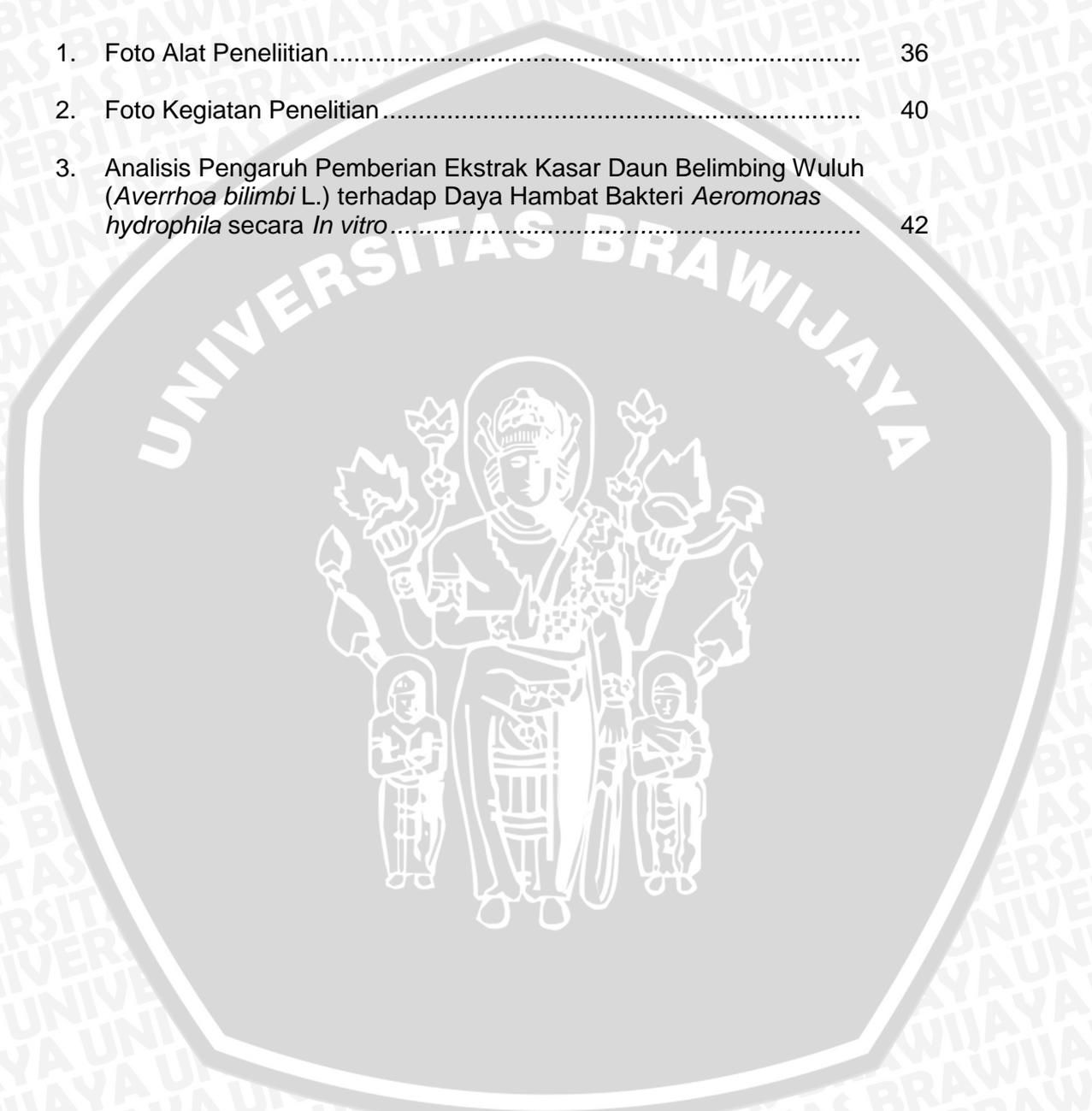
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data Hasil Perhitungan Rata-Rata Zona Hambat Bakteri <i>A. hydrophila</i> .	26
2. Sidik Ragam Diameter Zona Hambat <i>A. hydrophila</i>	26
3. Uji Beda Nyata Terkecil Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (<i>A. bilimbi</i> L.) terhadap Daya Hambat Bakteri <i>A. hydrophila</i>	27



DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	Halaman
1. Foto Alat Penelitian	36
2. Foto Kegiatan Penelitian	40
3. Analisis Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) terhadap Daya Hambat Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> secara <i>In vitro</i>	42



PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Jumlah dan populasi penduduk Indonesia saat ini semakin meningkat yang menyebabkan peningkatan jumlah kebutuhan pangan. Seperti halnya kebutuhan bahan pangan sumber protein hewani seperti ikan yang banyak diminati masyarakat. Salah satu usaha perikanan yang dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan protein hewani tersebut adalah budidaya ikan. usaha perikanan terutama pada bidang budidaya telah berkembang pesat dan diusahakan secara intensif dengan ciri padat penebaran yang tinggi dan lingkungan yang terkontrol. Hal ini memerlukan manajemen yang baik agar hasil yang didapatkan juga berkualitas baik (Santoso, 1993).

Menurut Afrianto dan Liviawaty (1992), dalam pemeliharaan budidaya sering kali terdapat kendala yang dapat menghambat kelancaran usaha budidaya, salah satu kendala tersebut adalah adanya penyakit yang berpengaruh negatif terhadap produktif komoditas budidaya. Penyakit merupakan salah satu hambatan dalam proses budidaya ikan, selain faktor lingkungan dan manajemen. Sementara itu menurut Kordi dan Ghufran (2004), penyakit ikan dapat didefinisikan sebagai segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan suatu fungsi organ tubuh baik secara langsung maupun tidak langsung. Penyakit menyerang ikan melalui proses hubungan antara tiga faktor, yaitu kondisi lingkungan (kondisi di dalam air), kondisi inang (ikan), dan adanya patogen.

Adapun faktor – faktor ikan mudah terserang penyakit meliputi faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal adalah sesuatu yang berhubungan dengan ikan itu sendiri, seperti umur dan sifat genetik ikan yang meliputi keturunan, jenis kelamin, kemampuan memanfaatkan makanan dan ketahanan

terhadap penyakit. Sedangkan faktor eksternal merupakan faktor yang berkaitan dengan lingkungan tempat hidup ikan yang meliputi sifat kualitas air baik secara fisika, kimia, maupun biologi, ruang gerak, ketersediaan nutrisi dan penyakit (Silaban, Santoso, Limin, Suparmono, 2012).

Menurut Prajitno (2005), adanya penyakit dalam tubuh ikan merupakan suatu hasil interaksi yang tidak sesuai antara ikan, lingkungan dan patogen. Selain itu timbulnya penyakit juga dipengaruhi oleh kondisi ikan dan cara penyerangan dari organisme penyebab penyakit. Penyakit ikan dapat disebabkan oleh virus, bakteri, parasit ataupun zat-zat kimia pencemar yang mengganggu proses metabolisme di dalam tubuh ikan, dari beberapa jenis penyakit yang menyerang ikan, penyakit bakterial merupakan penyakit yang banyak menyebabkan kegagalan panen terutama disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Bakteri *A. hydrophila* adalah bakteri yang menyerang ikan air tawar. Bakteri *A. hydrophila* hidup di air tawar yang mengandung bahan organik tinggi, bakteri *A. hydrophila* berbentuk batang, memiliki diameter 0,3-1,0 μm dan memiliki panjang 1,0-3,5 μm selain itu bakteri ini tergolong dalam bakteri gram negatif (Aoki, 1999 dalam Setiaji, 2009).

Aeromonas hydrophila resisten terhadap antibiotik berupa ampicillin, kloramphenicol, eritromycin, nitrofurantoin, novobiocin, streptomycin, sulfonamid dan tetracyclin. Jika penggunaan antibiotik yang berlebihan dan tidak terkontrol maka akan menyebabkan patogen resisten dan residu dari antibiotik dapat terakumulasi di daging ikan dan lingkungannya (Plumb, 1995 dalam Angka, 2005).

Menurut Sugianti (2005), untuk mengatasi permasalahan penyakit pada ikan, para pembudidaya ikan banyak menggunakan berbagai bahan-bahan kimia maupun antibiotik dalam pengendalian penyakit tersebut. Penggunaan antibiotik

dapat menimbulkan efek samping bagi patogen itu sendiri maupun terhadap ikan yang dipelihara. Pemberian antibiotik secara terus menerus dapat menyebabkan organisme patogen menjadi resisten, sehingga penggunaan antimikroba menjadi tidak efektif. Selain itu, residu dari antibiotik tersebut dapat mencemari lingkungan perairan yang mengakibatkan kualitas air menjadi turun dan dapat membahayakan manusia yang mengkonsumsinya (Retnawati, 2008). Oleh karena itu perlu adanya solusi yang aman dan memiliki efek positif terhadap penyakit ini, salah satunya yaitu menggunakan bahan alami.

Menurut Peoloengan (2006), Indonesia merupakan salah satu negara tropis yang memiliki kekayaan alam yang tinggi baik dari segi flora maupun fauna. Indonesia memiliki ribuan jenis tumbuhan, yang harus di lestarikan dan dimanfaatkan dengan baik, sebagian besar tumbuhan tersebut dapat digunakan sebagai tanaman obat. Tanaman obat merupakan tanaman yang meliputi akar, batang, daun, bunga, dan buahnya yang memiliki khasiat sebagai obat dan digunakan sebagai bahan mentah dalam pembuatan obat modern maupun obat-obatan tradisional.

Tanaman di Indonesia banyak yang bisa memberi manfaat untuk kehidupan, salah satu diantaranya adalah spesies belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Belimbing wuluh merupakan salah satu spesies dalam famili *Averrhoa* yang tumbuh di daerah ketinggian hingga 500 m di atas permukaan laut dan dapat ditemui di tempat yang banyak terkena sinar matahari langsung dan keadaan tanahnya cukup lembab (Monalisa, 2012).

Tanaman belimbing wuluh memiliki banyak khasiat sehingga termasuk sebagai tanaman obat, diantaranya bagian bunga yang digunakan sebagai obat batuk, buah belimbing wuluh sebagai obat gusi berdarah, batuk, sakit gigi berlubang, jerawat, panu, kolesterol, darah tinggi, dan kelumpuhan. Sedangkan daun belimbing wuluh digunakan sebagai obat encok, diabetes, sakit perut,

rematik, penurunan panas, dan obat gondok. Kandungan zat aktif tertinggi terdapat pada bagian daun yang mengandung zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang sering disebut zat antiseptik. Adapun zat aktif yang terkandung didalam daun belimbing wuluh seperti tannin, saponin, dan flavonoid.

1.2 Rumusan Masalah

Masalah yang sering ditemukan pada kegiatan budidaya adalah serangan penyakit pada biota yang dipelihara. Salah satunya adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti *A. hydrophila*, cara yang sering dilakukan untuk mengatasi bakteri patogen adalah dengan menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik dapat menimbulkan efek samping yaitu dapat menjadikan bakteri patogen menjadi resisten. Masalah yang dihadapi yaitu belum diketahuinya pengaruh penggunaan ekstrak kasar daun belimbing wuluh terhadap uji daya hambat bakteri *A. hydrophila*.

Senyawa tannin, flavonoid, dan saponin pada ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) diduga dapat digunakan untuk menghambat perkembangbiakan bakteri *A. hydrophila*, maka dari uraian tersebut dapat dirumuskan bahwa apakah pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) dengan cara pemberian kertas cakram yang di rendam dalam ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) berpengaruh terhadap daya hambat dari bakteri *A. hydrophila*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) terhadap daya hambat bakteri *A. hydrophila*.

1.4 Manfaat penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) terhadap daya hambat dari bakteri *A. hydrophila*.

1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) dengan dosis yang berbeda tidak mempengaruhi daya hambat dari bakteri *A. hydrophila* secara *In vitro*.

H_1 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) dengan dosis yang berbeda dapat mempengaruhi daya hambat dari bakteri *A. hydrophila* secara *In vitro*.

1.6 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 19 Maret sampai dengan 21 Maret 2015.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi *Aeromonas hydrophila*

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri *A. hydrophila*

Menurut Holt (1979) dalam Laili (2007), klasifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah sebagai berikut :

Divisi : protophyta

Kelas : schizomycetes

Ordo : pseudomonadales

Sub ordo : pseudomonadineae

Famili : vibrionaceae

Genus : *Aeromonas*

Spesies : *Aeromonas hydrophila*

Menurut Rahmaningsih (2007), bakteri *A. hydrophila* adalah bakteri patogen penyebab penyakit “*motil Aeromonas septicemia*” (MAS). Terutama pada spesies ikan air tawar perairan tropis. Bakteri ini termasuk patogen oportunistik yang hampir selalu ada di air dan siap menimbulkan penyakit apabila ikan dalam kondisi kurang baik. Gambar bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 1.

Menurut Anonymous (2005), bakteri *A. hydrophila* termasuk bakteri gram negatif yang motil, tidak membentuk spora, bakteri ini berbentuk batang lurus atau melengkung yang tidak akan tumbuh pada salinitas 4-5 ppt atau pada pH kurang dari 6 bersifat anaerob fakultatif dimana bakteri tersebut dapat hidup dengan tersedianya oksigen maupun tidak tersedianya oksigen, akan tetapi akan lebih baik apabila dalam kondisi lingkungan yang tersedia oksigen. Menurut Prajitno (2005), bakteri *A. hydrophila* dapat menyebar dengan cepat pada saat padat penebaran tinggi dan sering ditemukan dalam rongga perut ikan air tawar

di daerah panas. Ikan yang terinfeksi jenis bakteri ini biasanya mati dalam waktu satu minggu. Bakteri *A. hydrophila* bersifat patogen dan sifat patogen akan meningkat apabila keadaan lingkungan dan inangnya dalam keadaan yang tidak seimbang. Jadi penyakit tidak hanya disebabkan oleh patogen saja, akan tetapi karena ada faktor lain yaitu interaksi antara inang, patogen dan lingkungan (Sartika, 2011).



Gambar 1. Bakteri *A. hydrophila*, Tanda Panah (Jamal, 2008)

2.1.2 Habitat dan Penyebaran Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* mempunyai habitat di lingkungan perairan tawar, biasanya bakteri *A. hydrophila* sering ditemukan di perairan yang memiliki kandungan bahan organik diperairan yang jumlahnya berlimpah. Bakteri ini merupakan bakteri patogen yang menyerang hewan akuatik berdarah dingin, selain itu bakteri *A. hydrophila* lebih banyak menyerang ikan di daerah tropis dan daerah sub tropis dibandingkan dengan daerah dingin, hal ini dikarenakan kandungan bahan organik daerah tropis dan sub tropis lebih tinggi dibandingkan dengan daerah dingin (Prajitno, 2005).

Menurut Kabata (1985), pada daerah tropik dan sub tropik *Haemorrhagic septicaemia* yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* pada umumnya muncul

pada musim panas dimana ada saat itu kandungan bahan organiknya tinggi. Bakteri *A. hydrophila* banyak ditemukan pada insang, kulit, hati, dan ginjal.

2.1.3 Pertumbuhan Bakteri *A. hydrophila*

Menurut Moat, Foster, Spector (2002) dalam Mangunwardoyo, Wibowo, Ismayasari, Riani (2010), pertumbuhan optimal bakteri pada fase eksponensial yaitu pada jam ke-4 sampai ke-12, selanjutnya bakteri akan mengalami fase stasioner pada masa inkubasi selama 24 jam, pada fase tersebut persentase antara bakteri yang hidup dan yang mati adalah sama. Bakteri akan mengalami fase kematian setelah melewati fase 48 jam. Kondisi tersebut berpengaruh terhadap ketersediaan nutrisi dan lingkungan yang tepat untuk kehidupan bakteri tersebut. Selama masa pertumbuhan *A. hydrophila* yang dikultur di dalam media akan mengeluarkan metabolit primer maupun sekunder yang dapat menurunkan kualitas nutrisi di dalam media. Nutrisi yang tersedia di dalam media kultur sangat terbatas dan akan habis pada waktu tertentu.

A. hydrophila termasuk ke dalam bakteri mesofilik, yaitu hidup pada suhu optimum sebesar 20°C – 40°C (Mangunwardoyo, 2010). Sementara itu menurut Sautor *et al.* (2003), pertumbuhan optimum bakteri *A. hydrophila* adalah pada suhu 30°C dan pada pH 7, sedangkan pada suhu 10°C dan pada pH 7 menjadi lambat.

2.2 Infeksi Bakteri *A. hydrophila* dan Gejalanya

Menurut Aini (2006), *A. hydrophila* menghasilkan enzim eksoprotease yang merupakan penyebab virulensi. Protease yang bersifat proteolitik bisa mengambil persediaan nutrisi dan melawan pertahanan tubuh inang sehingga berfungsi untuk berkembangnya penyakit pada inang.

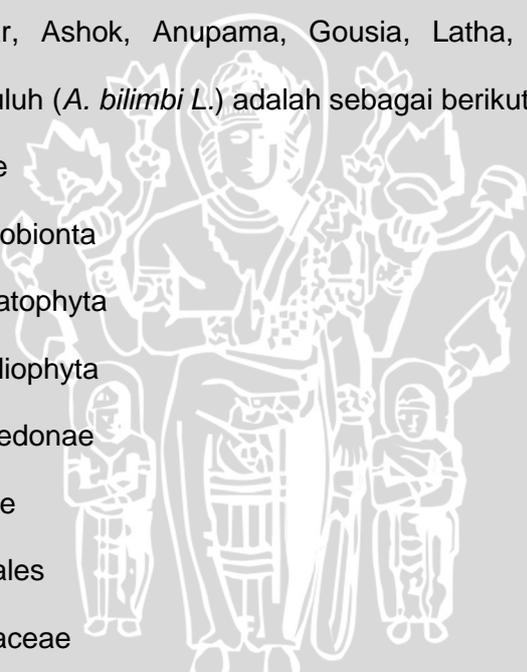
Tanda-tanda ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* berupa tingkah laku ikan menjadi tidak normal, cara berenang lambat, berada di atas permukaan air, dan

nafsu makan menurun. Adapun tanda-tanda lainnya seperti sirip rusak, kulit kering dan kasar dan mata menonjol (*exophthalmus*), serta terkadang perut mengembung yang berisi cairan berwarna kemerahan. Penyakit ini bersifat musiman dan meningkat selama musim panas serta berhubungan dengan populasi ikan yang mengalami stress (Kabata, 1985). Penyebaran penyakit bakterial pada ikan umumnya sangat cepat serta dapat menimbulkan kematian yang sangat tinggi pada ikan yang diserangnya (Rahmaningsih, 2007).

2.3 Biologi Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.)

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.)

Menurut Kumar, Ashok, Anupama, Gousia, Latha, Lavanya (2013), klasifikasi belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) adalah sebagai berikut :



Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Sub kelas	: Rosidae
Ordo	: Oxalidales
Family	: Oxalidaceae
Genus	: <i>Averrhoa</i>
Species	: <i>Averrhoa bilimbi</i> L.

Tanaman di Indonesia banyak yang bisa memberi manfaat untuk kehidupan, salah satu diantaranya adalah belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.). Belimbing wuluh merupakan salah satu spesies dalam famili *Averrhoa* yang tumbuh di daerah ketinggian hingga 500 m di atas permukaan laut dan dapat dijumpai di tempat yang banyak terkena sinar matahari langsung tetapi juga

harus pada keadaan tanah lembab, agar masih ada kandungan air dalam tanah (Savitri, 2014).

Pohon belimbing wuluh dapat dilihat pada (Gambar 2.), tergolong kecil, tinggi pohon belimbing wuluh mencapai 10 m dengan batang tidak begitu besar, dan mempunyai diameter sekitar 30 cm. Bunga belimbing wuluh berukuran kecil-kecil dan berbentuk bintang dengan warna ungu kemerahan. Sedangkan buahnya berbentuk sedikit bulat lonjong persegi, panjang 4,0-6,5 cm, warnanya hijau kekuningan, bila buah tersebut matang akan banyak mengeluarkan air dan rasanya masam, bijinya berbentuk seperti bulat telur. Daun belimbing wuluh berupa majemuk menyirip dan berjumlah ganjil dengan 21-45 pasang anak daun. Anak daun bertangkai pendek, bentuknya seperti bulat telur sedikit lonjong, ujungnya runcing, dengan pangkal daun membundar, tepinya rata, panjang 2-10 cm, lebar 1-3 cm, warnanya hijau dan permukaan bawah warnanya lebih muda (Dalimartha, 2005 dalam Kristianto, 2013).



Gambar 2. Pohon Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.) (Kristianto, 2013)

2.3.2 Habitat dan Penyebarannya

Pohon belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) tumbuh di daerah ketinggian hingga 500 m di atas permukaan laut dan dapat ditemui di tempat yang banyak terkena matahari langsung tetapi cukup lembab. Pada umumnya belimbing wuluh

ditanam dalam bentuk tanaman pekarangan yang dimanfaatkan sebagai peneduh halaman rumah (Monalisa, Widiana, Meriko., 2012).

Pada tahun 1973, pohon belimbing wuluh telah dikenal di pulau Timor, hingga negara Jamaika, dan beberapa tahun kemudian pohon belimbing wuluh telah tumbuh di Amerika tengah. Selain itu pohon belimbing wuluh sering ditemukan di Asia, seperti Negara Indonesia, Filipina, Thailand, Malaya, dan Singapore. Hal ini karena pohon belimbing wuluh menyukai habitat yang sering terkena sinar matahari (Kumar *et al.*, 2013).

2.4 Bahan Aktif Daun Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.)

Menurut Isa, Rinidar, Sugito (2012), pengembangan obat-obat baru dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan, salah satunya dari daun belimbing wuluh. Penggunaan tumbuhan sebagai bahan obat disebabkan karena adanya senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, dan terponoid yang dimanfaatkan sebagai bahan dasar obat-obatan. Senyawa tersebut menjadi sangat penting karena memiliki aktivitas biologis yang berguna bagi makhluk hidup.

Ekstrak daun belimbing wuluh mengandung saponin, tannin, dan flavonoid. Senyawa flavonoid yang terdapat pada daun belimbing wuluh adalah golongan flavon yaitu apigenin dan luteolin (Zakaria, Zaiton, Henie, Zainuddin., 2007). Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai glikosida dan aglikon flavonoid. Flavonoid biasanya terdapat dalam semua tumbuhan berpembuluh sedangkan tannin umumnya terdapat dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus di dalam jaringan. Tannin dapat bereaksi dengan protein yang membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air (Kresnanugraha, 2012).

2.5 Aktivitas Anti Mikroba

Menurut Singkoh (2011), senyawa antibakteri harus efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan masalah resistensi terhadap bahan yang digunakan, khususnya bakteri yang merugikan organisme. Adapun ciri-ciri efektifnya suatu zat antibakteri adalah memiliki zona hambat yang luas dan bersih (tidak ditumbuhi bakteri).

Menurut Aziz, Abdullah., Rahman, Shahariar, Islam, Mahfuzul, Begum, Ara (2014), ekstrak kasar daun belimbing wuluh mempunyai aktivitas antibakteri, baik pada bakteri gram positif maupun gram negatif. Hal ini disebabkan karena adanya zat antibakteri di dalam ekstrak seperti alkaloid dan polifenol.

2.6 Uji Cakram

Menurut Fuad (2014), uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram, yaitu dengan cara mengamati adanya zona hambat disekitar kertas cakram yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Menurut Bell (1984) dalam Rosidah dan Wila (2012), apabila diameter zona hambat pada kertas cakram yang terbentuk lebih besar atau sama dengan 6 mm, maka ekstrak dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri dan bila diameter zona hambat yang terbentuk lebih kecil dari 6 mm atau tidak terbentuk maka ekstrak tersebut dikategorikan tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Pada uji cakram, media agar di *swap* dengan mikroorganisme. kemudian cakram telah direndam dengan antibakteri diletakkan diatas media agar yang telah di *swap* dengan mikroorgaisme 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 persen atau ppm yang bersifat

bakteriostatik maupun bakteriosidal. Uji cakram diperkenalkan oleh William Kirby dan Alfred Bauer pada tahun 1966 (Lay, 1994).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan (Lampiran 1), dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Timbangan digital
- Timbangan sartorius
- Nampan
- Pipet tetes
- Gelas ukur
- *Autoclave*
- Lemari pendingin
- *Hotplate*
- Cawan petri
- Pinset
- *Laminar air flow*
- Spektrofotometer
- cuvet
- Inkubator
- Korek gas
- Rak tabung reaksi
- *Rotary vacuum evaporator*
- *Micropipet*
- Spatula
- Gunting
- Jarum osse
- Toples Kaca
- *Beaker glass*
- Tabung reaksi
- Erlenmeyer
- Bunsen
- Oven



3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.)
- Kapas
- Kertas label
- Tissue
- Bakteri *Aeromonas hydrophila*
- Etanol 96%
- Alkohol 70%
- Kertas Saring
- TSA (*Tryptic Soy Agar*)
- TSB (*Tryptic Soy Broth*)
- Alumunium Foil
- Akuades
- Tali
- Spiritus
- Lap kering
- Kertas cakram ukuran 6 mm
- DMSO 10 %

3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Menurut Sukmadinata (2012), metode eksperimen merupakan metode penelitian yang dapat dilakukan pada skala laboratorium maupun skala luar laboratorium. Metode ini terdiri dari satu atau dua lebih variabel terhadap variabel lain. Karena penelitian ini bersifat percobaan maka semua variabel yang dicoba harus diukur dengan menggunakan instrument yang sudah distandardisasikan. Dalam penelitian ini

terdapat kontrol dan perlakuan dimana kontrol digunakan untuk perbandingan hasil.

3.3 Rancangan Penelitian

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

$$Y = \mu + \tau + \varepsilon$$

Keterangan :

μ = nilai rerata harapan (*mean*)

τ = pengaruh faktor perlakuan

ε = pengaruh galat

Perlakuan yang di berikan adalah perbedaan konsentrasi ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi L.*) terhadap bakteri *A. hydrophila*. Dasar penelitian ini adalah penelitian pendahuluan untuk mengetahui dosis daya hambat yang tepat dalam penggunaan ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi L.*) . Dalam penelitian ini ada 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Adapun perlakuan secara acak yang digunakan sebagai berikut:

K (-) : Perlakuan pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi L.*)

dengan konsentrasi 0 % (kontrol negatif)

K (+) : Perlakuan pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi L.*)

dengan konsentrasi 100 % (kontrol positif)

A : Perlakuan pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi L.*)

dengan konsentrasi 20 %

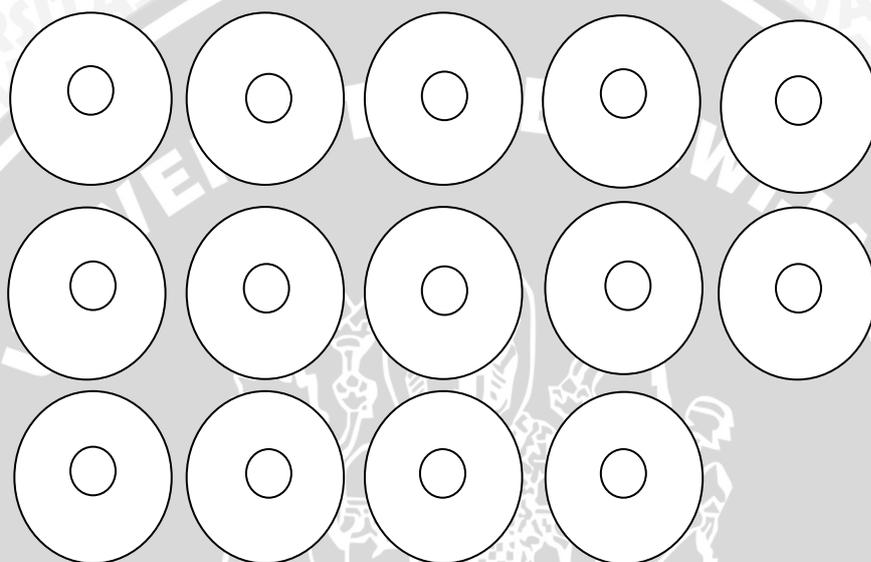
B : Perlakuan pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi L.*)

dengan konsentrasi 40 %

C : Perlakuan pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) dengan konsentrasi 60 %

D : Perlakuan pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) dengan konsentrasi 80 %

Penempatan denah penelitian dari 4 perlakuan dengan kontrol dan 3 ulangan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Denah Penelitian Uji Cakram

Keterangan:

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

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu menggunakan sabun cuci, lalu dikeringkan kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas bekas.

- Air aquades secukupnya dituang ke dalam *autoclave*, kemudian alat yang telah dibungkus kertas bekas dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris.
- Tombol ON dinyalakan, setelah mencapai suhu 121° C dan tekanan menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit dengan cara membuka atau menutup klep uap yang berada di bagian atas tutup *autoclave*.
- Tombol OFF ditekan, ditunggu beberapa saat sampai suhu menunjukkan angka 0 (nol), kemudian dibuka klep uap lalu dibuka penutup *autoclave* dengan cara simetris. Lalu alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

b. Sterilisasi Tempat Perlakuan

Selain alat dan bahan, tempat dan laboran harus steril tujuannya untuk menghindari kontaminan. Tangan laboran yang berada 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.

c. Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.)

Langkah pertama yang dilakukan pada proses pembuatan ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) adalah menyiapkan daun belimbing wuluh segar yang kemudian dikeringkan dengan cara di angin-anginkan agar kandungan fitokimia pada daun tersebut tidak hilang. Berat awal daun belimbing wuluh segar adalah 1 kg, lalu daun belimbing wuluh yang telah kering timbang ulang dan mengalami penyusutan berat sebesar 350 gram dan didiamkan selama 24 jam, tujuannya yakni agar didapatkan hasil pengeringan yang lebih

sempurna. Setelah didiamkan selama 24 jam kemudian langkah selanjutnya yaitu dilakukan proses penggilingan dengan menggunakan *blender* hingga didapatkan ukuran daun belimbing wuluh kering yang lebih halus.

Persiapan perendaman (maserasi), maserasi yang digunakan adalah maserasi bertingkat. Dimana serbuk daun belimbing wuluh sebanyak 300 gram dimaserasi dalam etanol 96% sebanyak 1,8 liter selama 3 x 24 jam dalam suhu kamar, selama perendaman dilakukan pengadukan 10 jam sekali selama 15 menit, selain itu dilakukan penggantian larutan setiap 24 jam sekali. Larutan yang didapat kemudian disaring dengan kertas saring (diperoleh ekstrak cair pertama), kemudian ampas tersebut dimaserasi ulang dengan 1,8 liter etanol 96 % pada suhu kamar selama 1 hari dan dilakukan pengadukan 10 jam sekali selama 15 menit. Larutan yang didapat kemudian disaring dengan kertas saring (diperoleh ekstrak cair kedua), kemudian ekstrak cair pertama dan kedua disatukan dalam 1 wadah, dan didiamkan selama 1 hari, kemudian dilanjutkan pada tahap pengentalan ekstrak yaitu menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak daun belimbing wuluh sebanyak 32,12 gram dan nilai rendamen sebesar 10,70%.

d. Pembuatan Media

➤ *Tryptic soy Agar (TSA)*

- 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.

➤ ***Tryptic 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 hingga rapat dan alumunium foil lalu dibungkus dengan kertas perkamen dan diikat, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121^o C selama 15 menit.
- Media yang akan digunakan untuk pembiakan bakteri dibiarkan dingin karena bakteri akan mati bila diinokulasi pada media yang masih panas.

e. **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 30^oC.
- 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 30^oC selama 24 jam.

f. **Penentuan Konsentrasi Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.)**

Penentuan konsentrasi daun belimbing wuluh ini didapatkan dari uji pendahuluan. Selanjutnya untuk menentukan konsentrasi yang diinginkan maka ditimbang ekstrak kasar daun belimbing wuluh lalu ditambahkan larutan DMSO 10%. Berikut adalah cara perhitungan untuk penentuan konsentrasi.

✓ **Konsentrasi 20%**

Ditimbang ekstrak kasar daun belimbing wuluh sebesar 0,20 gram dan ditambahkan pengencer menggunakan DMSO 10% sebanyak 0,80 ml sehingga dihasilkan 1 ml ekstrak kasar daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 20%.

✓ **Konsentrasi 40%**

Ditimbang ekstrak kasar daun belimbing wuluh sebesar 0,40 gram dan ditambahkan pengencer menggunakan DMSO 10% sebanyak 0,60 ml sehingga dihasilkan 1 ml ekstrak kasar daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 40%.

✓ **Konsentrasi 60%**

Ditimbang ekstrak kasar daun belimbing wuluh sebesar 0,60 gram dan ditambahkan pengencer menggunakan DMSO 10% sebanyak 0,40 ml sehingga dihasilkan 1 ml ekstrak kasar daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 60%.

✓ **Konsentrasi 80 %**

Ditimbang ekstrak kasar daun belimbing wuluh sebesar 0,80 gram dan ditambahkan pengencer menggunakan DMSO 10% sebanyak 0,20 ml sehingga dihasilkan 1 ml ekstrak kasar daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 80%.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

a. **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 bakteristatik (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 media agar yang telah di *swap* 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 belimbing wuluh untuk uji cakram.
- Penanaman bakteri pada media TSA dilakukan dengan cara mengambil biakan bakteri dari media TSB dengan mencelupkan *cutton swap*, lalu digoreskan pada seluruh permukaan media agar hingga merata.
- Kertas cakram steril ukuran 6 mm direndam ke dalam ekstrak daun belimbing wuluh selama 15 menit berdasarkan konsentrasi yang ditentukan.
- Kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak kasar daun belimbing wuluh ditiriskan dan diletakkan pada permukaan media agar.
- Dibaca hasilnya setelah diinkubasi pada suhu ruang 30°C selama 24 jam dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk pada sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong.
- Jarak antara 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.

b. Parameter Uji

Parameter uji terdiri dari parameter utama dan parameter penunjang. Parameter utama yaitu mengukur diameter daerah hambatan dengan menggunakan kertas cakram yang dinyatakan dengan mm ditambah daerah bening yang ada di sekeliling kertas cakram. Parameter penunjangnya adalah lama perendaman kertas cakram dan suhu inkubasi.

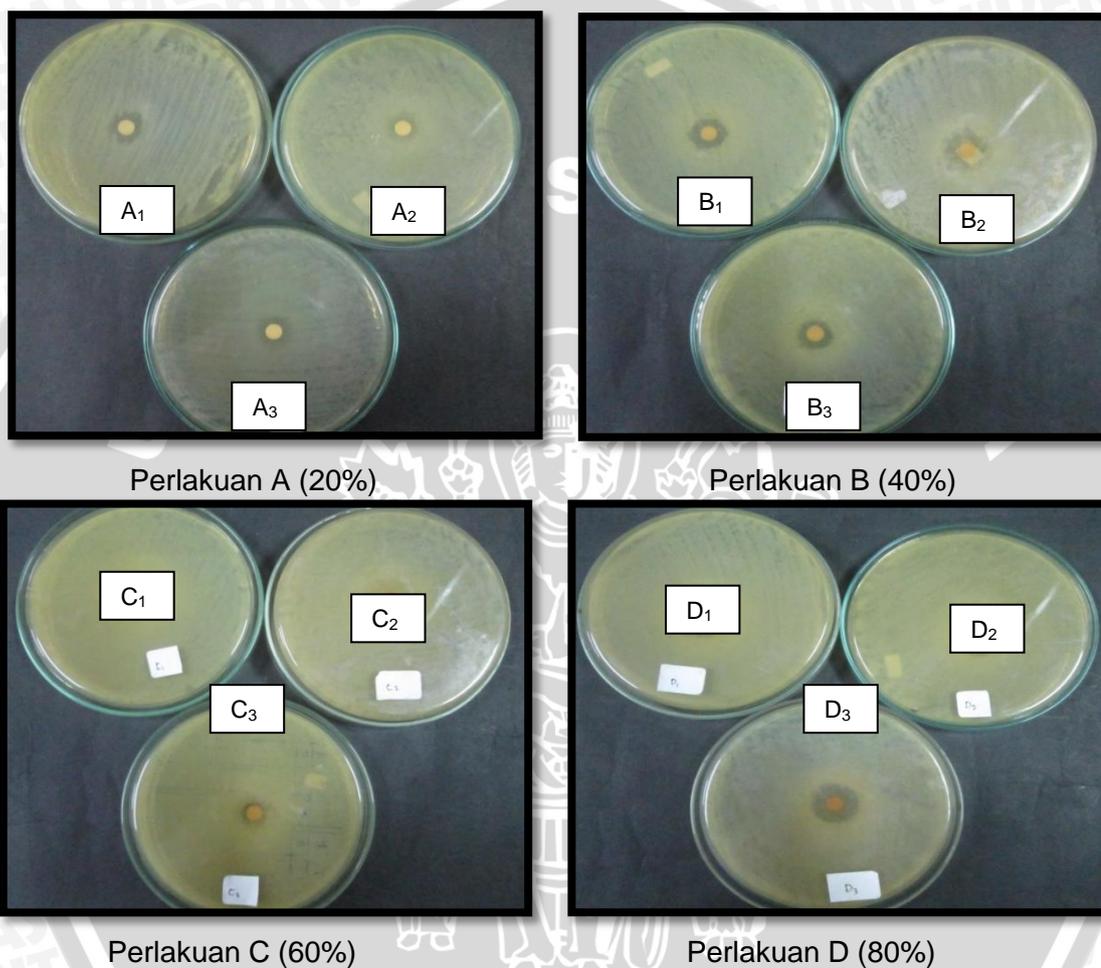
c. Analisa Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan mempergunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan perbedaan antar dua perlakuan.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Daya Antibakterial Ekstrak Kasar Daun Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.) Dengan Uji Cakram (*In vitro*)

Berdasarkan dari penelitian hasil uji cakram dari masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil Uji Cakram (Zona Hambat) pada Bakteri *A. hydrophila* Setelah Pemberian Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.)

Gambar di atas menunjukkan bahwa dari perlakuan A (20%), B (40%), perlakuan C (60%), dan perlakuan D (80%) memiliki zona bening yang berbeda-beda dari setiap perlakuan. Adapun hasil dari masing-masing perlakuan yaitu pada perlakuan A (20 %) zona bening yang dihasilkan rata-rata sebesar 6,43 mm, perlakuan B (40%) zona bening yang dihasilkan rata-rata sebesar 7,41 mm, lalu pada perlakuan C (60%) zona bening yang dihasilkan rata-rata sebesar 8,51

mm, sedangkan pada perlakuan D (80%) zona bening yang dihasilkan rata-rata sebesar 11,62 mm, ini disebabkan karena daun belimbing wuluh memiliki senyawa fitokimia seperti flavonoid, fenol, tanin, dan saponin yang bersifat antibakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan Savitri (2014), bahwa di daun belimbing wuluh mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid dan tanin sehingga senyawa aktif tersebut dapat digunakan sebagai antibakteri.

Senyawa tanin merupakan senyawa yang termasuk golongan senyawa flavonoid, karena dilihat dari strukturnya yang memiliki 2 cincin aromatik yang diikat oleh tiga atom karbon (Hayati, Fasyah, Sa'adah., 2010). Flavonoid berupa senyawa fenol yang sering ditemukan di dalam tumbuhan, menurut Parubak (2013), flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol yang memiliki bermacam-macam efek antara lain efek antioksidan, anti tumor, anti radang, antibakteri, dan anti virus.

Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri karena flavonoid dapat menghambat fungsi membran sitoplasma bakteri dengan mengurangi difusi dari membran dalam dan membran luar sel bakteri. Akhirnya terjadi kerusakan permeabilitas membran dinding sel bakteri dan membran tidak berfungsi sebagaimana mestinya, termasuk untuk melakukan perlekatan dengan substrat. Hasil interaksi tersebut menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri (Sudirman, 2014).

Adanya zona hambat pada media agar yang telah ditumbuhi bakteri *A. hydrophila* disebabkan oleh adanya kandungan antibakterial ekstrak daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.). Menurut Alfath, Yuliana, Sunnati (2013), zona hambat merupakan daerah tempat terdapatnya zona bening disekeliling kertas cakram yang menunjukkan adanya daya hambat ekstrak yang digunakan. Pengamatan zona hambat bakteri dilakukan setelah 24 jam dari inkubator

dengan cara mengukur diameter zona bening sekitar kertas cakram yang telah direndam ekstrak daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) pada tiap perlakuan.

Untuk perhitungan lengkap analisa data dapat dilihat pada Lampiran 3.

Sedangkan data hasil perhitungan rata-rata zona bening tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Hasil Perhitungan Rata-Rata Zona Bening Bakteri *A. hydrophila*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A (20%)	6.31	6.61	6.46	19.38	6.46
B (40%)	7.49	7.6	7.14	22.23	7.41
C (60%)	8.12	8.83	8.59	25.54	8.51
D (80%)	11.84	11.62	11.42	34.88	11.62
Total				102.03	

Pada Tabel 1. Diatas menunjukkan hasil rata-rata zona bening ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) terhadap bakteri *A. hydrophila*. Dari hasil perhitungan rata-rata zona bening tersebut kemudian dilanjutkan dengan perhitungan sidik ragam yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Hasil sidik ragam tentang pengaruh pemberian ekstrak daun belimbing wuluh pada tiap perlakuan terhadap bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Tabel 2. Sementara perhitungan lengkap sidik ragamnya dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 2. Sidik Ragam Diameter Zona Bening Bakteri *A. hydrophila*

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	45.37	15.12	237.74**	4.07	7.59
Acak	8	0.50	0.063			
Total	11	45.88				

Keterangan : ** = Berbeda Sangat Nyata

Pada hasil perhitungan sidik ragam (Tabel 2), didapatkan hasil bahwa pengaruh pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) terhadap

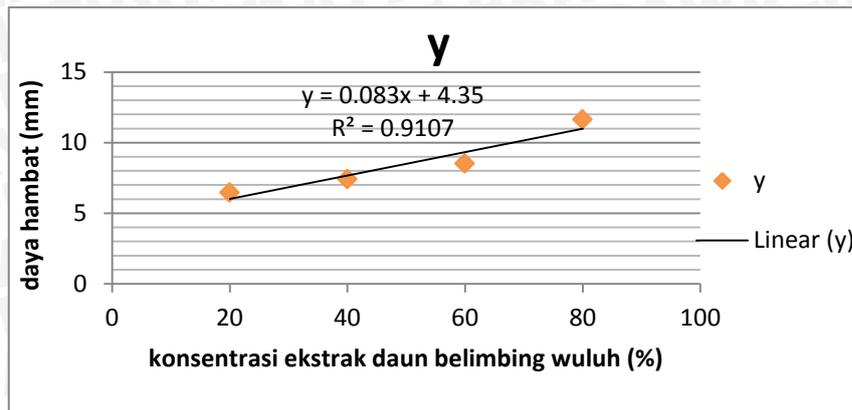
daya hambat bakteri *A. hydrophila* adalah berbeda sangat nyata. Hal ini dikarenakan hasil dari F hitung (237,74) lebih besar dari F tabel 1% (7,59) dan F tabel 5 % (4,07). Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan maka dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) yang disajikan pada Tabel 3. Sementara perhitungan lengkap untuk BNT dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 3. Uji Beda Nyata Terkecil Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila*

Rerata Perlakuan		A	B	C	D	Notasi
		6.46	7.41	8.51	11.63	
A	6.46	-				a
B	7.41	0.95**	-			b
C	8.51	2.05**	1.1**	-		c
D	11.63	5.17**	4.22**	3.12**	-	d

Berdasarkan notasi pada Tabel 3, dapat diketahui bahwa perlakuan A hasilnya berbeda nyata sehingga notasi yang diberikan adalah a, pada perlakuan B hasilnya berbeda nyata dengan perlakuan A sehingga notasi yang diberikan adalah b, sedangkan pada perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan B sehingga notasi yang diberikan adalah c, dan perlakuan D berbeda nyata dengan perlakuan C sehingga notasi yang diberikan adalah d.

Untuk mengetahui hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji yaitu daya hambat bakteri *A. hydrophila* maka dilakukan perhitungan uji polinomial orthogonal (Lampiran 3.). Selanjutnya untuk mengetahui bentuk grafik hubungan diameter zona bening dengan perlakuan yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Hubungan Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kasar Daun Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.) terhadap Diameter Zona Bening Bakteri *A. hydrophila*

Grafik pada Gambar 4 menunjukkan bahwa hubungan pengaruh konsentrasi ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) terhadap diameter zona bening bakteri *A. hydrophila* berbentuk linear dengan persamaan $y = 0,08x + 4,35$ dan koefisien $R^2 = 0,91$. Selain itu grafik tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20% hingga konsentrasi 80% mengalami kenaikan secara linear, dimana semakin tinggi konsentrasi yang digunakan atau yang diberikan pada bakteri *A. hydrophila* maka semakin besar zona hambat yang dihasilkan pada media agar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Brooks *et al.* (2005), bahwa efektivitas suatu zat antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat yang diberikan, semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula bahan aktif sebagai antibakteri sehingga meningkatkan kemampuan daya hambatnya terhadap mikroba.

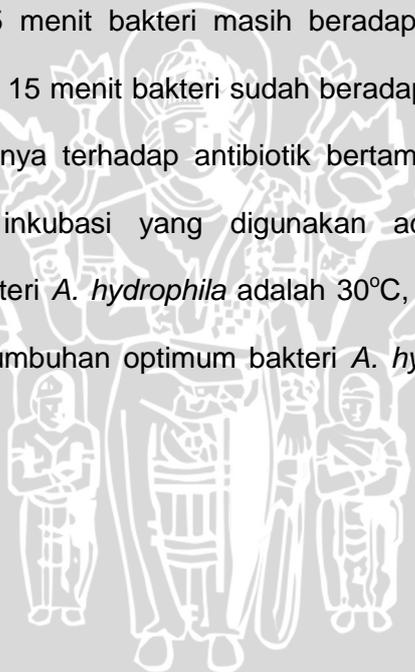
Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi adanya zona hambat bergantung pada kemampuan difusi bahan antimikroba ke dalam media dan interaksinya dengan mikroorganisme yang diuji, kepadatan mikroorganisme yang diuji, sensitivitas mikroorganisme terhadap bahan antimikroba yang diuji, dan bahan pelarut yang digunakan saat maserasi. Selain itu zat ekstraktif yang dikandung oleh simplisia yang digunakan (Alfath *et al.*, 2013).

Daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) memiliki zat aktif antimikroba seperti flavonoid, tanin, dan saponin. Sementara itu menurut Wijayakusuma (2006), kandungan yang terdapat dalam tanaman belimbing wuluh adalah saponin, tanin, flavonoid. Salah satu fungsi flavonoid dan tanin adalah sebagai antibakteri. Zat-zat tersebut merupakan senyawa aktif dalam tanaman yang berkhasiat sebagai obat yang dapat menyembuhkan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Cara kerja zat antimikroba flavonoid terhadap bakteri *A. hydrophila* diduga dengan cara menghambat kerja enzim bakteri sehingga mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel bakteri *A. hydrophila* (Buckly *et al.*, 1981 dalam Setiaji, 2009). Senyawa tanin sebagai senyawa antibakteri dengan cara merusak membran sitoplasma sehingga bakteri akan rusak dan mati. Tanin juga mempunyai kemampuan dalam menginaktivasi adhesin sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada polipeptida dinding sel, karena tanin merupakan senyawa fenol (Riwayati, 2012).

Dari penelitian ini dapat diketahui bahwa daun belimbing wuluh memiliki sifat bakteriosidal untuk pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Hal ini diketahui dari pengamatan inkubasi selama 48 jam, apabila zona beningnya bertambah besar atau tetap seperti semula (hasil inkubasi 24 jam) maka dapat dikatakan bahwa daun belimbing wuluh bersifat bakteriosidal (bersifat membunuh bakteri), Sifat bakteriosidal ini terjadi melalui mekanisme kerja dengan cara menghambat sintesis protein dari bakteri (Farida, 2004). Sedangkan apabila setelah dinkubasi selama 48 jam ukuran zona beningnya mengecil maka dapat dikatakan bahwa daun belimbing wuluh bersifat bakteriostatik (bersifat menghambat pertumbuhan bakteri). Secara garis besar antimikroba dibagi menjadi dua jenis yaitu yang membunuh kuman (bakteriosidal) dan yang hanya menghambat pertumbuhan kuman (bakteriostatik) (Utami, 2012).

4.2 Lama Perendaman Kertas Cakram dan Suhu Inkubator Selama Inkubasi pada Uji Cakram Secara *In vitro*

Lama waktu perendaman kertas cakram pada ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) selama \pm 15 menit pada setiap konsentrasi yang telah ditentukan, hal ini sesuai dengan hasil penelitian Farida (2004), yang menunjukkan bahwa waktu peresapan bakteri *Staphylococcus aureus* dalam media agar yang memberikan zona hambatan terbesar adalah waktu peresapan 15 menit yaitu sebesar 15-19 mm, sedangkan zona hambatan terendah dihasilkan pada waktu peresapan selama 25 menit yaitu sebesar 12-15 mm. Hal ini disebabkan karena bakteri yang sudah di *swap* di media agar pada waktu peresapan kurang dari 15 menit bakteri masih beradaptasi sedangkan pada waktu peresapan lebih dari 15 menit bakteri sudah beradaptasi dan berkembang biak sehingga daya tahannya terhadap antibiotik bertambah kuat. Sementara suhu inkubator selama inkubasi yang digunakan adalah 30°C, dimana pertumbuhan optimum bakteri *A. hydrophila* adalah 30°C, hal ini sesuai dengan Sautor. *et al*, (2003), pertumbuhan optimum bakteri *A. hydrophila* adalah pada suhu 30°C.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa hasil uji daya hambat antibakteri dengan menggunakan uji cakram menunjukkan ekstrak daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) berpengaruh terhadap daya hambat dari pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dan bersifat bakteriosidal. Zona hambat yang terbesar didapat pada perlakuan D (80%) sebesar 11,62 mm.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan sebagai berikut :

- Untuk memanfaatkan ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) karena dapat membunuh (bersifat bakteriosidal) terhadap bakteri *A. hydrophila*.
- Perlu dilakukan penelitian secara *in vitro* untuk mendapatkan konsentrasi optimal yang dilanjutkan secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E dan E, Liviawaty. 1992. Pengendalian Hama dan Penyakit. Kanisius: Yogyakarta. 89 hlm.
- Aini, N. 2006. Penurunan Produksi Enzim Eksprotease *Aeromonas hydrophila* Oleh Ekstrak Buah Tomat (*Lycopersicon esculentum* mill.) Skripsi. Universitas Sebelas Maret : Surakarta. 24-25. Tidak dipublikasikan.
- Alfath, C. R., V. Yuliana., Sunnati. 2013. Antibacterial Effect Of *Granati Fructus* Cortex Extract On *Streptococcus Mutans In Vitro*. University of Syiah Kuala, Banda Aceh. *Journal Of Density Indonesia*, vol **20** (1). 5-8.
- Angka, S. L. 2005. Kajian Penyakit *Motile Aeromonad septicemia* (MAS) Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.): Patologi, Pencegahan, dan Pengobatannya dengan Fitokarma. Doctoral disertasi program pascasarjana, Institut Pertanian Bogor : Bogor. 129. Tidak dipublikasikan.
- Anonymous. 2005. Penyakit bawaan Makanan. Penerbit Buku kedokteran. Jakarta. 225 hlm.
- Aziz, M. Abdullah., Rahman, Shahariar., Mahfuzul, Islam., Begum, Ara. 2014. A Comparative Study On Antibacterial Activites And Cytotoxic Properteis Of Various Leaves ExtractsOf *Averrhoa bilimbi*. *International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research*. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148. 913-918.
- Brooks, G.F., J.S. Butel, dan S.A. Morse 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Salemba Medika. Jakarta. 186 hlm.
- Farida. 2004. Pengaruh Peresapan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dalam Media Agar Terhadap Diameter Zona Hambatan Antibiotika Gentasimin Metode Difusi Cakram Kirby Bauer. *Media Bina Ilmiah*. Mataram. 73-76 hlm.
- Fuad, Z. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Awar-Awar (*Ficus septic* Burn f) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29523 dan *Escherichia coli* ATCC 35218. Skripsi. Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga : Yogyakarta. 32 hlm. Tidak dipublikasikan.
- Hayati, E.K., A.G. Fasyah., dan L. Sa'adah. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.). *Jurnal Kimia*, Vol **4** (2). 197-198.
- Isa. Rinidar. Sugito. 2012. Aktivitas Antiplasmodium Daun Sernai (*Wedelia biflora*) Berdasarkan Evaluasi Fungsi Ginjal dan Hati pada Mencit yang Diinfeksi dengan *Plasmodium berghei*. *Jurnal Veteriner*. ISSN 1411-8327. Vol. **13** (2). 167-176.
- Jamal, L. 2008. Penggunaan Kitosan untuk Pencegahan Penyakit *Motile Aromonas Septicaemia* (MAS) yang Disebabkan Oleh *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. Skripsi. IPB. 62 hlm. Tidak dipublikasikan

- Kabata, M. 1985. Zat-zat Toksik yang Secara Alamiah Ada pada Bahan Makanan Nabati. Cermin Dunia Kedokteran. *Jurnal Biologi*. Vol. 2 (3). 24-30
- Kordi, K. M. Ghufuran. 2004. Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan. PT. Rineka Cipta : Jakarta. 194 hlm.
- Kresnanugraha, Y. 2012. Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase Dari Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Identifikasi Golongan Senyawa Dari Fraksi Aktif. Skripsi. Universitas Indonesia: Depok. 96 hlm. Tidak dipublikasikan.
- Kristianto, A. 2013. Pengaruh Ekstrak Kasar Tannin Dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Pada Pengelolahan Air. Skripsi. Universitas Jember. 65 hlm. Tidak dipublikasikan.
- Kumar, K. Ashok., SK. Anupama., Gousia., J. Latha. N. Lavanya. 2013. A Review On Phytochemical Constituents And Biological Assays Of *Averrhoa bilimbi*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science Research*. ISSN: 22490337. 136-139.
- Laili, U. 2007. Pengaruh Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Terhadap Prevalensi Dan Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Skripsi. Universitas Negeri Malang. 84 hlm. Tidak dipublikasikan.
- Lay, B. W. 1994. Analisis Mikroba Di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 168 hlm.
- Mangunwardoyo, Wibowo., R. Ismayasari., E. Riani. 2010. Uji Patogenisitas dan Virulensi *Aeromonas hydrophila* Stanier pada ikan nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) melalui postulat kotch. *Jurnal Ris. Akuakultur*. Vol 5 (2). 245-255.
- Monalisa, P., R. Widiana., L. Meriko. 2012. Pengaruh Sari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. STKIP PGRI Sumbar. 1-5.
- Parubak, A. S. 2013. Senyawa Flavonoid yang Bersifat Antibakteri dari Akway (*Drimys beccariana*. Gibbs). *Jurnal Chem. Prog*, Vol 6 (1). 34-37.
- Pelczar, M.J dan E.C.S. Chan. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi I. Universitas Indonesia. Jakarta. 443 hlm.
- Peoloengan, M., I. Chairul., S. Komala., Salmah., M.N. Susan. 2006. Aktivitas Antimikroba dan Fitokimia dari Beberapa Tanaman Obat. Seminar Nasional Teknologi Peternakan Dan Veteriner. IPB: Bogor. 974-978.
- Prajitno, A. 2005. Parasit dan Penyakit Ikan. Diktat Kuliah. Universitas Brawijaya : Malang. 105 hlm.
- Rahmaningsih, S. 2007. Pengaruh Ekstrak Sidawayah Dengan Konsentrasi Yang Berbeda Untuk Mengatasi Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan*. 1-8 hlm.

- Retnawati, P. E. 2008. Pemberian Vaksin Polivalen dengan Chitosan dari Komponen Outer Membran Protein dan Lipopolisakarida *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio anguillarum* terhadap Sintasan Benih Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). Tesis Universitas Airlangga. Surabaya. 20-22 hlm. Tidak dipublikasikan.
- Riwayati, D. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap *Escheria coli* dan *Bacillus* sp. Naskah Publikasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. 12 hlm.
- Rosidah dan M. A. Wila,. 2012. Potensi Ekstrak Daun Jambu Biji Sebagai Antibakterial Untuk Menanggulangi Serangan Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Gurame (*Ospronemus gouramy lacepede*). *Jurnal Akuatika*. Vol III (1). ISSN 0853-2523. 19-27.
- Santoso, B. 1993. Petunjuk Praktis Budidaya Ikan Mas. Kanisius: Yogyakarta. 84 hlm.
- Sartika, Y. 2011. Efektivitas Fitofarmaka Dalam Pakan Untuk Pencegahan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. Skripsi. IPB: Bogor. 47 hlm.
- Sastrosupadi, A. 2002. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 276 hlm.
- Sautor, M., P. Mary., N.E. Chihib., and J.P. Hornez. 2003. The Effect Of Temperature, Water Activity and pH on The Growth of *Aeromonas hydrophila* and on its Subsequent Survival in Microscosm Water. *Appl.microbiol.* **95** (4) : 807-813.
- Savitri, N. P. I. 2014. Efektifitas Antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap bakteri bakteri mix sauran akar gigi. Skripsi. Universitas Mahasaraswati. Denpasar. 72 hlm. Tidak dipublikasikan.
- Setiaji, A. 2009. Efektifitas Ekstrak daun pepaya *Carica papaya* L. Untuk Pencegahan dan Pengobatan Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Skripsi. IPB. Bogor. 61 hlm. Tidak dipublikasikan.
- Silaban, T. F., Santoso, Limin., Suparmono. 2012. Dalam Peningkatan Kinerja Filter Air Untuk Menurunkan Konsentrasi Amonia Pada Pemeliharaan Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*). *E-jurnal rekayasa dan tekno*. Vol 1 (1). 47-56.
- Singkoh, M. F. O. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Laut *Caulerpa racemosa* Dari Perairan Pulau Nain. *Jurnal perikanan dan kelautan tropis*. Vol. VII (3). 123-127.
- Sudirman, Taufik Azhari. 2014. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. Skripsi. Universitas Hasanuddin: Makassar. 25-26 hlm.
- Sugianti, Budi. 2005. Pemanfaatan Tumbuhan Obat Tradisional Dalam Pengendalian Penyakit Ikan. *Jurnal*. Institut Pertanian Bogor. 1-37.

Sukmadinata, N. S. 2012. Metode Penelitian Pendidikan. Remaja Rosdakarya. Bandung. 326 hlm.

Surachmad, W. 1986. Dasar dan Teknik Research: Pengantar Metodologi Ilmiah. Tarsito. Bandung. 105 hlm.

Utami, E. R. 2012. Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi. *Jurnal Saintis*, vol 1 (1). 124-138 hlm.

Wangunwardoyo, W., R. Ismayasari., E. Riani. 2010. Uji Patogenisitas dan Virulensi *Aeromonas hydrophila* Stanier Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) Melalui Postulat Koch. *J. Ris. Akuakultur*. Vol 5 (2). 245-255.

Wijayakusuma, H. 2006. Ramuan Tradisional Untuk Pegobatan Darah Tinggi. Jakarta: Penebar Swadaya.

Zakaria, Z., H. Zaiton., E. Henie., dan E. E. Zainuddin. 2007. *In Vitro* Antibacterial Activity Of *Averrhoa bilimbi* L., Leaves and fruit extract. *Int. Journal Of Tropical Medicine*. 2. 96-100.



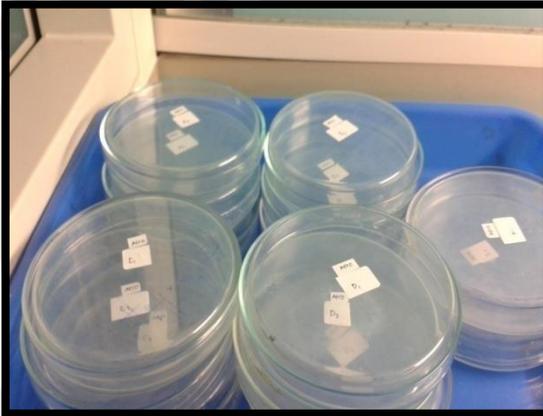
Lampiran 1. Foto Alat Penelitian



Lemari Pendingin



Timbangan digital



Cawan Petri



Nampan



Spatula, jarum ose, Pinset



Autoklaf

Lampiran 1. (Lanjutan)



Inkubator



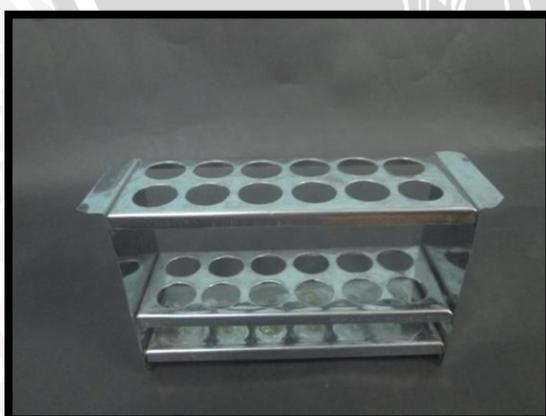
Laminar Air Flow (LAF)



Oven



Micropipet dan Blue Tip



Rak Tabung Reaksi



Bunsen dan Korek Api

Lampiran 1. (Lanjutan)



Vortex



Gunting



Gelas Ukur



Rotary Vacum Evaporator

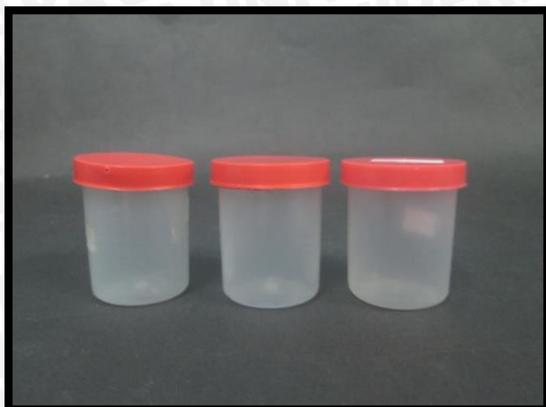


Beaker Glass



Tabung Reaksi

Lampiran 1. (Lanjutan)



Botol Film



Corong Kaca



Hot Plate



Erlenmeyer



Destruksi



Botol Sprayer

Lampiran 2. Foto Kegiatan Penelitian



Penyaringan Hasil Maserasi



Maserasi Daun Belimbing Wuluh



Kegiatan Vortex



Pengenceran Bakteri ke dalam Na - Fis

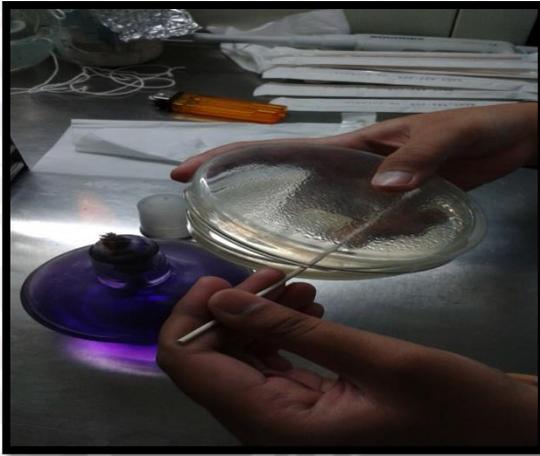


Perendaman Kertas Cakram dalam Ekstrak



Penuangan Media TSA pada Cawan

Lampiran 2. (Lanjutan)



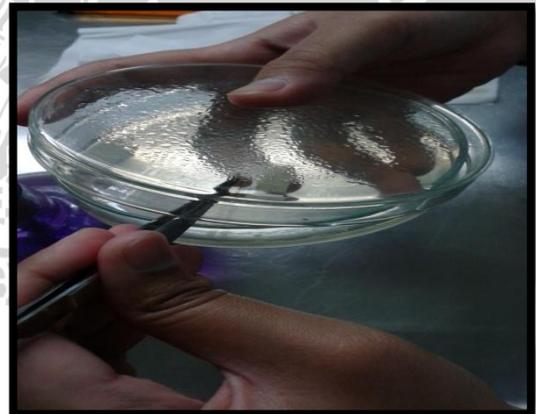
Kegiatan menswap bakteri *A. hydrophila* pada media agar



Pencelupan *cotton swap* ke dalam bakteri *A. hydrophila*



Pengukuran Zona Bening dengan Jangka Sorong



Peletakan Kertas Cakram pada Media Agar

Lampiran 3. Analisis Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *In vitro*

Perhitungan :

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 6,31 + 6,61 + 6,46 \\ &= 19,38 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{A rata-rata} &= \frac{19,38}{3} \\ &= 6,46 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 7,49 + 7,6 + 7,14 \\ &= 22,23 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{B rata-rata} &= \frac{22,23}{3} \\ &= 7,41 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 8,12 + 8,83 + 8,59 \\ &= 25,54 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{C rata-rata} &= \frac{25,54}{3} \\ &= 8,51 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total D} &= 11,84 + 11,62 + 11,42 \\ &= 34,88 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{D rata-rata} &= \frac{34,88}{3} \\ &= 11,62 \end{aligned}$$

➤ **Data Diameter Hambatan (mm) Bakteri *Aeromonas hydrophila***

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	6,31	6,61	6,46	19,38	6,46
B	7,49	7,6	7,14	22,23	7,41
C	8,12	8,83	8,59	25,54	8,51
D	11,84	11,62	11,42	34,88	11,62
				102,03	

Perhitungan Sidik Ragam:

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

$$= \frac{102,03^2}{12}$$

$$= 867,510$$

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

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

$$= (6,31^2 + 6,61^2 + 6,46^2 + \dots + 11,42^2) - 867,510$$

$$= 45,87$$

Lampiran 3 (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum xi)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - FK \\
 &= \frac{19,38^2 + 22,23^2 + 25,54^2 + 34,88^2}{3} - 867,510 \\
 &= 45,37
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 45,87 - 45,37 \\
 &= 0,59
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 4 - 1 \\
 &= 3
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 6. \text{ KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\
 &= \frac{45,38}{3} \\
 &= 15,13
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 7. \text{ db Galat} &= n - 1 \\
 &= 11 - 3 \\
 &= 8
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 8. \text{ KT Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\
 &= \frac{0,59}{8} \\
 &= 0,06
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 9. \text{ db Total} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\
 &= 14 - 3 \\
 &= 11
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10. \text{ F hitung} &= \frac{\text{KT perlakuan}}{\text{KT Galat}} \\
 &= \frac{15,13}{0,06} \\
 &= 252,17
 \end{aligned}$$

➤ **Analisa Sidik Ragam dengan Uji F tabel dalam Statistik Rancangan Percobaan Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* Secara *In vitro***

SK	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	45.38	15.13	252,17**	4.07	7.59
Acak	8	0.51	0.06			
Total	11	45.88				

Keterangan : ** Berbeda Sangat Nyata)

Lampiran 3. (Lanjutan)

Perhitungan Uji BNT:

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{\text{ulangan}(r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,064}{3}} = 0,21$$

$$BNT 1\% = T \text{ tabel } 1\% (\text{db Acak}) \times SED$$

$$= 3,36 \times 0,21$$

$$= 0,69$$

$$BNT 5\% = T \text{ tabel } 5\% (\text{db Acak}) \times SED$$

$$= 2,31 \times 0,21 = 0,48$$

- Hasil Uji BNT Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *in vitro*

		A	B	C	D	Notasi
Rerata perlakuan		6.46	7.41	8.51	11.63	
A	6.46	-				a
B	7.41	0.95**	-			b
C	8.51	2.05**	1.1**	-		c
D	11.63	5.17**	4.22**	3.12**	-	d

Keterangan : ** → Sangat Berbeda Nyata

- Tabel Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan Ci		
		Linear	Kuadratik	Kubik
A	19,38	-3	1	-1
B	22,23	-1	-1	3
C	25,54	1	-1	-3
D	34,88	3	1	1
Q=∑Ci*Ti		49,81	6,49	5,57
Kr=(∑Ci^2)*r		60	12	60
JK=Q^2/Kr		41,35	3,51	0,51
		0,83	0,54	

Perhitungan Sidik Ragam Regresi:

$$KT \text{ Linear} = \frac{JK \text{ Linear}}{\text{db Linear}}$$

$$= \frac{41,35}{1}$$

$$= 41,35$$

$$F \text{ Hitung Linear} = \frac{KT \text{ Linear}}{KT \text{ Acak}}$$

$$= \frac{41,35}{0,06}$$

$$= 649,23$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 \text{KT Kuadratik} &= \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{db Kuadratik}} & \text{F Hitung Kuadratik} &= \frac{\text{KT Kuadratik}}{\text{KT Acak}} \\
 &= \frac{3,51}{1} & &= \frac{3,51}{0,06} \\
 &= 3,51 & &= 55,11 \\
 \text{KT Kubik} &= \frac{\text{JK Kubik}}{\text{db Kubik}} & \text{F Hitung Kubik} &= \frac{\text{KT Kubik}}{\text{KT Acak}} \\
 &= \frac{0,52}{1} & &= \frac{0,52}{0,06} \\
 &= 0,52 & &= 8,12 \\
 \text{KT Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} \\
 &= \frac{0,51}{8} \\
 &= 0,06
 \end{aligned}$$

➤ **Tabel Sidik Ragam Regresi Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.) Terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* Secara In Vitro**

sumber keragaman	Db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	45.38			4.07	7.59
Linear	1	41.35	41.35	649.23		
Kuadratik	1	3.51	3.51	55.11		
Kubik	1	0.52	0.52	8.12		
Acak	8	0.51	0.06			
Total	11					

Perhitungan Regresi :

$$a = \bar{y} - b \bar{x}$$

$$b = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$= \frac{1866,60 - \frac{200 \times 34,01}{4}}{12000 - \frac{40000}{4}}$$
$$= 0,083$$

$$a = \bar{y} - 0,083 \bar{x}$$
$$= 8,50 - 0,083 \times 50$$
$$= 4,35$$

$$R^2 = \frac{JK \text{ Perlakuan}}{JK \text{ Total}}$$
$$= \frac{13,79}{15,15}$$

$$= 0,910$$

- **Grafik Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.) Terhadap Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila* Secara *In Vitro***

