

JURNAL

**SENSITIVITAS LARUTAN DAUN SALAM (*Syzygium polyantha*)
TERHADAP BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

OLEH

VEKRI RAMADHI



FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN

UNIVERSITAS RIAU

PEKANBARU

2019

**SENSITIVITY OF BAY LEAF (*Syzygium polyantha*) SOLUTION TOWARD
*Aeromonas hydrophila***

Vekri Ramadhi¹⁾, Morina Riauwaty²⁾, Henni Syawal²⁾

Aquaculture Department, Faculty of Fisheries and Marine,

University of Riau Pekanbaru, Riau Province

e-mail : vramadhi@gmail.com

ABSTRACT

This research was conducted from Juni to October 2018, at Parasites and Fish Disease Laboratory, Faculty of Fisheries and Marine, University of Riau. The Purpose of this study was to determine the sensitivity of bay leaf (*Syzygium polyantha*) solution as antimicrobial to *Aeromonas hydrophila*, the range of *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) and the lethal dose (LD50) bay leaf (*Syzygium polyantha*) solution against to catfish (*Clarias* sp.) (8-10 cm) by immersion for 24 hours. Sensitivity test is using the method of Kirby-Bauer disk blank 6 mm disc with dose used were 100% , 90%, 80% , 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%,9%, 8%, 7% and control *Novobiocin*. The result shown that the bay leaf solution can inhibit the growth of bacteria *Aeromonas hydrophila* that in the dose of 7% with 6,13 mm clear zone . MIC test showed this resueld is 12% has a number of colonies of bacteria aqual 159.66 CFU/mL is able to inhibit the growth of bacteria *Aeromonas hydrophila*. Dose LD50 bay leaf solution against catfish by immersion for 24 hours in 13,5% .

Keywords: Bay leaf, *Sensitivity*, *Minimum Inhibitory Concentration*, *Aeromonas hydrophila*, LD50.

¹⁾ Student of the Fisheries and Marine Faculty of the University of Riau

²⁾ Lecturer of the Fisheries and Marine Faculty of the University of Riau

SENSITIVITAS LARUTAN DAUN SALAM (*Syzygium polyantha*) TERHADAP BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Vekri Ramadhi¹⁾, Morina Riau waty²⁾, Henni Syawal²⁾

Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan,
Universitas Riau Pekanbaru, Provinsi Riau
e-mail : vramadhi@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan Juni sampai Oktober 2018, di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui sensitivitas larutan daun salam (*Syzygium polyantha*) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*, Dosis MIC dan Dosis LD50 larutan daun salam (*Syzygium polyantha*) terhadap ikan lele (*Clarias* sp.) ukuran 8-10 cm selama 24 jam. Uji sensitivitas menggunakan metode cakram Kirby-Bauer menggunakan disk blank berdiameter 6 mm dengan dosis 100% , 90%, 80% , 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 9%, 8%, 7% dan kontrol *Novobiocin*. Hasil sensitivitas larutan daun salam dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* menghasilkan zona hambat terkecil yaitu pada dosis 7% dengan zona hambat sebesar 6,13 mm. Dosis MIC terbaik yaitu pada dosis 12% dengan rata-rata jumlah koloni bakteri yaitu 159,66 CFU/mL. Dosis LD50 larutan daun salam terhadap ikan lele selama 24 jam yaitu 13,92%.

Kata kunci : Daun salam, Sensitivitas, *Minimum Inhibitory Concentration*,
Aeromonas hydrophila, LD50

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

²⁾ Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

PENDAHULUAN

Salah satu kendala yang dihadapi dalam budidaya intensif adalah penyakit ikan. Jenis penyakit yang sering dijumpai pada organisme budidaya adalah penyakit bakterial yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*, dimana merupakan bakteri patogen penyebab penyakit "Motil *Aeromonas Septicemia*" (MAS), terutama untuk spesies ikan air tawar di perairan tropis (Rahmaningsih, 2012). Selama ini usaha yang dilakukan untuk mengurangi penyakit ikan dengan menggunakan antibiotik telah banyak dilakukan terutama karena sifat antibiotik yang secara selektif dapat

menghambat dan membunuh organisme patogen tanpa merusak inang yang diobati sejauh dosisnya tepat (Sari *et al.*, 2014). Adanya dampak negatif yang dapat ditimbulkan dari antibiotik baik terhadap ikan maupun lingkungan, maka perlu dilakukan upaya pengobatan menggunakan bahan alami yang ramah lingkungan.

Salah satu jenis tumbuhan obat yang berpotensi digunakan sebagai obat adalah daun salam (*Syzygium polyantha*). Tanaman salam merupakan tanaman obat tradisional yang berkhasiat sebagai antibakteri, antidiare, antioksidan, antihipertensi, antikolesterol dan antidiabetik

(Malik, 2013). Bagian dari tanaman salam yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah bagian daun, kulit, batang, akar dan buah. Namun, bagian tanaman salam yang paling tinggi kandungan kimianya adalah pada bagian daun, yaitu mengandung senyawa tanin (21,7%), flavonoid (0,4%) dan minyak atsiri (0,05%) yang berkhasiat sebagai antibakteri (Sari, 2010). Berdasarkan informasi tentang adanya manfaat daun salam (*Syzygium polyantha*) sebagai anti bakteri maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang sensitivitas larutan daun salam (*Syzygium polyantha*) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan adalah deskriptif dengan menggunakan metode cakram KIRBY-BAUER yaitu menggunakan disk blank berdiameter 6 mm, untuk mengurangi tingkat kekeliruan maka dilakukan ulangan sebanyak 3 kali. Penetapan dosis pada penelitian ini sebagai berikut. P0 : Kontrol (Novobiocin); P1: 100%; P2: 90%; P3: 80%; P4: 70%; P5: 60%; P6: 50%; P7: 40%; P8: 30%; P9: 20% dan P10: 10% (Silaban, 2008). Uji MIC menghitung kepadatan bakteri dengan *colony counter* sedangkan untuk uji toksisitas LD50 menggunakan metode Reed and Muench (1938) dalam Harmita dan Radji (2008).

Pembuatan Media Tumbuh Bakteri

Media tumbuh untuk mendapatkan bakteri *Aeromonas hydrophila* digunakan media selektif GSP (*Pseudomonas-Aeromonas Selective Agar*) dengan perbandingan

45g/L, kemudian untuk memurnikan bakteri *A. hydrophila* digunakan media TSA (Tryptic Soy Agar) dengan perbandingan 40g/L dan media cair TSB (Tryptic Soy Broth) dengan perbandingan 30g/L yang masing-masing media dilarutkan dalam 1 liter akuades. Disterilisasi terlebih dahulu menggunakan autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit (Dwijoseputro, 2010).

Penyediaan Isolat Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Aeromonas hydrophila yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. Isolat ini kemudian dikultur pada media TSA dan inkubasi dalam *inkubator* selama 18-24 jam pada suhu 28°-30°C. Selanjutnya, koloni bakteri dari media TSA dikultur pada media GSP dan diinkubasi dalam *inkubator* selama 18-24 jam pada suhu 28°-30°C, selanjutnya diamati koloni bakteri yang tumbuh sesuai dengan perubahan warna media GSP merah menjadi kuning. Kemudian bakteri dari GSP dikultur kembali pada media TSA.

Pembuatan Larutan Daun Salam

Daun salam dipetik dan dikumpulkan kemudian tangkai dan daun di pisah kan, se hing ga di dapat kan daun salam yang tidak terlalu muda atau tua, yaitu daun ketiga dan keempat di bawah pucuk (Sine, 2012). Daun salam di bersih kan dengan air me nga lir dan di ke ring anginkan. Daun yang sudah di bersihkan di timbang ke mudian di halus kan meng guna kan blender, ke mu dian di halus kan lagi meng gunakan mortar, selanjutnya diperas

sari nya meng guna kan kasa. Hasil perasan daun salam di saring meng guna kan kertas saring *Whatman* nomor 42 μm sehingga didapatkan larutan murni (100%). Larutan tersebut dipanaskan menggunakan *hot plate* selama ± 3 menit atau sampai suhu mencapai 50°C supaya larutan menjadi homogen dan selanjutnya dilakukan pengenceran. Larutan daun salam siap digunakan untuk uji sensitivitas, uji MIC dan uji toksisitas LD_{50} .

Uji Sensitivitas Larutan Daun Salam (*Syzygium polyantha*)

Pengamatan zona hambat larutan daun salam (*Syzygium polyantha*) terhadap bakteri *A. hydrophila* dilakukan berdasarkan metode cakram Kirby-Bauer dengan *disk blank* yang berdiameter 6 mm. Tahap awal, suspensi bakteri diambil menggunakan mikropipet sebanyak $100 \mu\text{L}$, selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan petri berisi media TSA dan disebarakan secara merata menggunakan *spreader glass*. Di atas media TSA diletakkan *disk blank* yang sebelumnya telah direndam ke dalam larutan Daun Salam (*Syzygium polyantha*) selama 15 menit sesuai konsentrasi setiap perlakuan. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu $28\text{-}32^{\circ}\text{C}$ di dalam inkubator. Setelah 24 jam, dilakukan pengamatan ada tidaknya zona bening disekitar kertas cakram. Zona bening yang terbentuk diukur diameternya menggunakan jangka sorong (Affandi *et al.*, 2008).

Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Uji MIC dilakukan untuk mengetahui dosis minimum yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*

menggunakan larutan daun salam. Dosis perlakuan didapatkan berdasarkan uji sensitivitas, yaitu dosis yang menghasilkan zona hambat terkecil sampai dosis yang tidak menghasilkan zona hambat. Selanjutnya, dosis tersebut dilakukan pengenceran hingga didapatkan berbagai dosis. Masing-masing dosis yang telah ditentukan ditambahkan $50 \mu\text{L}$ bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan bakteri 10^8 CFU/mL , kemudian divortex agar homogen. Selanjutnya, suspensi bakteri diambil sebanyak $50 \mu\text{L}$ untuk ditumbuhkan pada media TSA dan inkubasi selama 18-24 jam pada suhu $28^{\circ}\text{-}30^{\circ}\text{C}$ dalam *inkubator*. Setelah 18-24 jam, pertumbuhan koloni bakteri diamati dan dihitung jumlah koloni bakteri menggunakan *colony counter* (Soleha, 2015).

Uji Toksisitas LD_{50} terhadap Ikan Lele (*Clarias sp.*)

Uji toksisitas LD_{50} diawali dengan mempersiapkan ikan uji yang digunakan adalah ikan lele yang berukuran 8-10 cm sebanyak 10 ekor/wadah. Wadah yang digunakan berupa akuarium ukuran $40 \times 30 \times 30 \text{ cm}$. Akuarium diisi air dengan volume 10 L yang akan dilarutkan dengan larutan yang konsentrasinya menunjukkan nilai MIC. Ikan uji dimasukkan ke dalam wadah untuk diamati tingkah laku dan kematian ikan mencapai 50% dalam waktu 24 jam. Data yang di dapat kan di tabulasikan dalam pengujian tersebut akan ditentukan LD_{50} dengan perhitungan Reed dan Muench (1938) dalam Hermita dan Radji (2008) sehingga diketahui dosis toksik 50% pada populasi ikan uji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat bakteri *A. hydrophila* yang berasal dari Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau ditumbuhkan pada media GSP. Hasil koloni bakteri yang tumbuh berwarna kuning. Koloni bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 2.



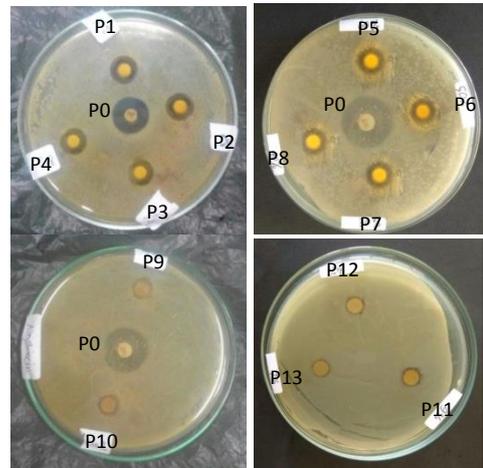
Gambar 2. Isolat *A. hydrophila* pada media GSP

Bakteri *A. hydrophila* yang diisolasi pada media GSP (*Pseudomonas-Aeromonas Selektive Agar*), terjadi perubahan warna media awalnya merah menjadi kuning. Hal ini sesuai dengan Merk dalam Fitria (2015), bahwa perubahan warna media GSP yang awal media berwarna merah kemudian menjadi kuning termasuk ke dalam golongan bakteri *A. hydrophila*. Menurut Robert dalam Tanjung (2012), Bakteri *Aeromonas hydrophila* termasuk bakteri Gram negatif, di mana mempunyai karakteristik berbentuk batang pendek, bersifat aerob dan fakultatif anaerob, tidak berspora, motil, mempunyai satu flagel, hidup pada kisaran suhu 25-30°C.

Hasil Sensitivitas Larutan Daun Salam (*Syzygium polyantha*) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Hasil uji sensitivitas menunjukkan bahwa larutan daun salam dengan dosis berbeda memiliki kemampuan zona hambat terhadap

pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* (Gambar 3.)



Gambar 3. Zona hambat larutan daun salam terhadap bakteri *A. hydrophila*

Keterangan: P₀. Novobiocin, P₁. 100%, P₂. 90%, P₃. 80%, P₄. 70%, P₅. 60%, P₆. 50%, P₇. 40%, P₈. 30%, P₉. 20%, P₁₀. 10%, P₁₁. 9%, P₁₂. 8%, P₁₃. 7%.

Berdasarkan Gambar 3, dapat diketahui bahwa larutan daun salam dosis 100% - 10% menghasilkan zona hambat dengan adanya zona bening di sekitar *disk blank*. Zona hambat yang terbentuk disekitar *disk blank* tergantung dari dosis bahan alami yang digunakan, bila bahan tersebut mengandung antibiotik maka pertumbuhan bakteri akan terhenti dan disekitar disk cakram akan terlihat bening (Dwijoseputro dalam Lukistyowati, 2012).

Dosis 10% masih terdapat zona hambat, dilakukan penurunan dosis dari 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%. Larutan daun salam pada dosis 10% masih menunjukkan rata-rata zona hambat sebesar 9,68 mm, untuk itu dilakukan penurunan dosis hingga 5%. Hasil zona hambat pada dosis 9% menunjukkan zona hambat sebesar 7,66 mm, dosis 8% sebesar

6,23 mm, dosis 7% sebesar 6,13 mm. Sedangkan pada dosis 6% dan 5% tidak terbentuk zona hambat (Tabel 3.)

Tabel 3. Zona Hambat Larutan Daun Salam (*Syzygium polyantha*) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Dosis larutan daun salam (%)	Zona Hambat (mm) pada setiap ulangan			Rata-rata (mm)
	I	II	III	
<i>Novobiocin</i> *	18,00	19,20	19,35	18,85
100	14,75	14,40	14,55	14,56
90	14,30	14,80	14,20	14,43
80	13,60	14,00	13,90	13,83
70	13,30	13,90	13,45	13,55
60	13,30	13,30	13,70	13,43
50	13,40	13,10	13,15	13,22
40	12,50	12,40	13,15	12,68
30	12,15	12,60	12,10	12,28
20	10,00	10,15	10,40	10,18
10	9,40	8,95	9,70	9,68
9	7,40	7,90	7,70	7,66
8	6,10	6,25	6,35	6,23
7	6,10	6,10	6,20	6,13

Keterangan : Tanda * menunjukkan penggunaan antibiotik pada perlakuan kontrol

Berdasarkan Tabel 3, zona hambat yang terbentuk pada dosis 100% yaitu sebesar 14,56 mm, sedangkan pada dosis 7% menghasilkan zona hambat sebesar 6,13 mm. Menurut Susanto *et al.*, (2012), zona hambat $\geq 10-15$ merupakan zona hambat yang tergolong kuat dan $\geq 5-10$ mm tergolong sedang. Zona hambat tertinggi terlihat pada dosis 100%, hal ini disebabkan karena larutan daun salam yang digunakan pada dosis ini masih mengandung senyawa bioaktif yang kuat, sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dibandingkan dosis yang lain. Penghambatan suatu zat antibakteri dipengaruhi oleh be-

berapa faktor, salah satu diantaranya adalah dosis. Semakin tinggi dosis bahan yang diuji semakin banyak zat aktif yang terkandung di dalamnya, sehingga daya penghambatan semakin kuat (Bobbarala, 2012). Pertumbuhan bakteri dapat terhambat disebabkan kerusakan dinding sel, perubahan permeabilitas sel, perubahan molekul protein, asam nukleat penghambatan kerja enzim dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein (Sari *et al.*, 2014).

Novobiocin memiliki zona hambat sebesar 18,85 mm, hal ini menunjukkan antibiotik memiliki daya hambat yang luas terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Menurut Davis and Stout (1971), ketentuan kekuatan antibakteri yaitu sangat kuat untuk daerah hambat ≥ 20 mm, kuat untuk daerah hambat 10-20 mm, sedang untuk daerah hambat 5-10 mm, dan lemah untuk daerah hambat ≤ 5 mm.

Menurut Pelczar *dalam* Fitria (2012), faktor yang dapat mempengaruhi terhambatnya pertumbuhan mikro organisme salah satunya konsentrasi zat anti mikro bial. Kandungan kimia yang terdapat pada daun salam adalah tanin, flavonoid, minyak atsiri, sitral, eugenol, seskuiiterpen, triterpenoid, fenol, steroid, lakton, saponin, dan karbohidrat (Hariana, 2011). Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat sistem respirasi, karena dibutuhkan energi yang cukup untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan biosintesis makromolekul (Cushnie, 2005 *dalam* Nuraina, 2015). Efek flavonoid juga dapat mencegah pembelahan bakteri sehingga bakteri tidak dapat berkembang biak dan membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstra seluler yang

akan mengganggu integritas membran sel (Sudarno *et al.*, 2011). Sedangkan Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin dapat menjadi anti bakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran.

Hasil Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

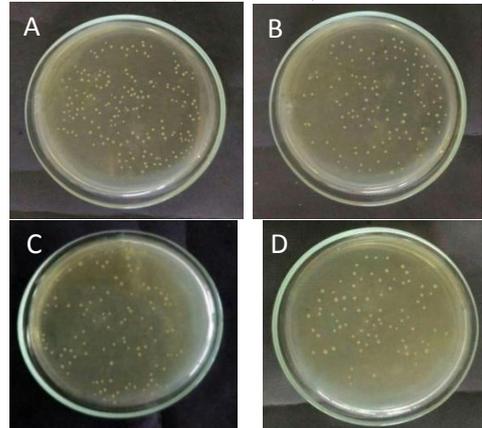
Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dilakukan berdasarkan hasil uji sensitivitas larutan daun salam sesuai dengan dosis yang menghasilkan zona hambat minimum yaitu 7%. Namun, dosis tersebut tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dan menghasilkan jumlah koloni tak terhingga (∞) sehingga dilakukan peningkatan dosis larutan daun salam. Menurut Dwijoseputro (2010), pertumbuhan koloni bakteri yang terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah $\geq 30 - 300$ koloni.

Pada uji MIC dilakukan peningkatan dosis yaitu 8%, 9%, 10% dan 11%. Hal ini bertujuan untuk mengetahui dosis minimum untuk menghambat pertumbuhan bakteri, namun masih juga menunjukkan jumlah koloni bakteri lebih besar dari 300 koloni, maka dilakukan peningkatan dosis menjadi 12%, 13%, 14%, 15%. Hasil uji MIC dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Jumlah koloni bakteri *Aeromonas hydrophila* setelah diberi larutan daun salam (*Syzygium polyantha*)

Dosis (%)	Jumlah Koloni Bakteri (CFU/mL)			Rerata Jumlah Koloni Bakteri (CFU/mL)
	1	2	3	
12	142	187	150	159,66
13	136	133	151	140,00
14	118	115	104	112,33
15	89	97	86	90,66

Berdasarkan Tabel 4, perhitungan pertumbuhan jumlah koloni bakteri *A. hydrophila* yang diberikan larutan daun salam dengan dosis 12% - 15% menghasilkan rata-rata jumlah koloni berkisar antara 90,66 – 159,66 CFU/mL. Pada dosis 12% rata-rata jumlah koloni bakteri adalah 159,66 CFU/mL dapat dikatakan dosis minimum yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Menurut Dwijoseputro, (2010) pertumbuhan koloni bakteri yang terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah $\geq 30 - 300$ koloni. (Gambar 4.)



Gambar 4. Koloni bakteri *A. hydrophila* pada Berbagai Dosis Larutan Daun Salam
Keterangan: A. 12%, B. 13%, C. 14%, D. 15%

Hasil uji MIC yang dilakukan menggunakan larutan daun salam terhadap bakteri *A. hydrophila* dari dosis 12% hingga 15%, didapatkan pertumbuhan koloni *A. hydrophila* yang berbeda-beda. Pada dosis 15% rata-rata koloni bakteri yang tumbuh adalah 90,66 koloni dan dapat dikatakan sebagai perlakuan terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*.

Dosis minimum yang mampu menghambat pertumbuhan koloni bakteri *A. hydrophila* pada penelitian ini ada pada dosis 12% dengan jumlah koloni yang tumbuh sebanyak 159,66 koloni. Sedangkan pada dosis 10% dan 11% koloni bakteri yang tumbuh tidak terhingga (∞) atau ≥ 300 koloni, walaupun sebelumnya pada uji sensitivitas dosis 10% masih mampu menghasilkan zona hambat sebesar 9,68 mm. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *A. hydrophila* terhambat pertumbuhannya dengan pemberian larutan daun salam pada dosis 7% sedangkan dosis $\geq 12\%$, larutan daun salam mampu membunuh pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Hal ini sesuai dengan pendapat Dwijo seputro (2010) dalam Kurniawan (2017), pertumbuhan koloni bakteri terbaik adalah 30-300 koloni.

Dewi (2010) dalam Lubis (2017) menyatakan bahwa kemampuan suatu antibakteri sangat tergantung pada dosis antibakteri tersebut, dengan peningkatan dosis maka zat aktifnya akan semakin bagus dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Salah satu senyawa antibakteri yang terdapat dalam larutan daun salam adalah tanin. Mekanisme kerja tanin mempunyai daya antibakteri dengan cara memprepitasi protein. Efek antibakteri tanin

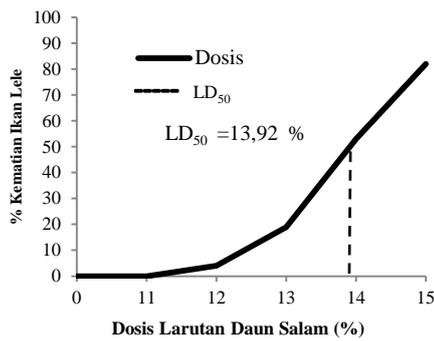
melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria, 2009). Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktivasi enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi tidak sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Sari dan Sari, 2011)

Hasil Uji Toksisitas (LD₅₀) Larutan Daun Salam (*Syzygium polyantha*) terhadap Ikan Lele (*Clarias sp.*)

Dosis yang digunakan berdasarkan hasil uji MIC yang didapatkan, yaitu, 12%, 13%, 14%, 15% dan kontrol. Hasil uji toksisitas dapat dilihat pada Tabel 5.

Dosis (%)	Mati	Hidup	Akumulasi			Ratio Kematian	% Kematian	LD ₅₀ (%)
			Mati	Hidup	Total			
0	0	30	0	103	103	0/103	0	} 13,92
12	3	27	3	73	76	3/76	4	
13	8	22	11	46	57	11/57	19	
14	16	14	27	24	51	27/51	53	
15	20	10	47	10	57	47/57	82	

Berdasarkan hasil perhitungan LD₅₀ menurut Reed and Muench, dosis yang dapat menimbulkan kematian ikan lele sebanyak 50% selama 24 jam adalah 13,92 %. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis pemberian larutan daun salam maka semakin meningkat pula mortalitas pada ikan uji (Gambar 5).



Gambar 5. Grafik mortalitas ikan lele setelah direndam larutan daun salam (*Syzygium polyantha*) selama 24 jam.

Berdasarkan Gambar 5. Terlihat bahwa semakin tinggi dosis larutan daun salam yang diujikan, maka semakin tinggi kematian ikan lele tersebut. Uji toksisitas larutan daun salam dengan rentang dosis 13,92% dapat mengakibatkan kematian 50% populasi ikan lele.

Tabel 6. Tingkah Laku Ikan Lele yang Direndam dengan Larutan Daun Salam Selama 24 Jam

Perlakuan (%)	Waktu pengamatan (jam)			
	1-6	7-12	13-18	19-24
0	• Ikan berenang normal.	• Ikan berenang normal.	• Ikan berenang normal.	• Ikan berenang normal.
12	• Ikan diam di dasar akarium.	• Ikan berenang ke permukaan.	• Ikan berenang ke permukaan • Produksi mukus meningkat.	• Ikan berenang ke permukaan • Ikan mengalami kematian sebanyak tiga ekor
13	• Ikan diam di dasar perairan.	• Ikan berkumpul di sekitar aerasi.	• Ikan berenang ke permukaan. • Ikan mengalami kematian sebanyak tiga ekor	• Ikan berenang melayang-layang. • Ikan mengalami kematian sebanyak lima ekor.
14	• Ikan berenang ke permukaan.	• Ikan berenang tidak seimbang.	• Ikan melayang-layang. • Produksi mucus meningkat • Ikan mengalami kematian sebanyak enam ekor.	• Ikan berenang melayang-layang. • Ikan mengalami kematian sebanyak sepuluh ekor.
15	• Ikan berkumpul di sekitar aerasi	• Ikan mengalami kematian sebanyak empat ekor.	• Ikan berenang melayang-layang. • Ikan mengalami kematian sebanyak delapan ekor.	• Ikan berenang melayang-layang. • Ikan mengalami kematian sebanyak delapan ekor.

Peningkatan kematian ikan lele tersebut diakibatkan karena ketidakmampuan ikan adaptasi ikan lele tersebut terhadap larutan daun salam diberikan dalam media hidranya. Kematian ikan lele yang terjadi kemungkinan besar penyebabnya adalah pengaruh pemberian larutan daun salam yang mengandung senyawa saponin yang dapat menimbulkan buih di dalam air sehingga ikan mengalami kesulitan untuk mendapatkan oksigen dan saponin juga dapat menyebabkan menghaemolisis sel darah (Handayani, 2013).

Adapun tingkah laku ikan lele yang direndam dengan larutan daun salam selama 24 jam dapat dilihat pada Tabel 6.

Gejala klinis ikan lele (*Clarias* sp.) adalah tingkah laku normal pada dosis rendah (12 %), namun pada dosis yang lebih tinggi (14 %) dapat mengubah tingkah laku ikan menjadi tidak normal seperti berenang melayang-layang bahkan menyebabkan kematian. Menurut (Irianto, 2005), bahwa tindakan pengobatan dan pencegahan penyakit dapat menyebabkan pergerakan ikan melompat-lompat (*darting*) ke atas permukaan air, menunjukkan bahwa ikan merasa tidak nyaman dengan lingkungannya, sehingga ikan tersebut berusaha untuk menghindar. Akibat adanya rasa tidak nyaman tersebut kemungkinan ikan menjadi *shock*, kondisi tubuh melemah dan akhirnya ikan tersebut mati. Menurut Tompo *et al.*, (2010), senyawa saponin dalam konsentrasi tinggi yang melewati batas toleransi tubuh ikan dapat menimbulkan keracunan bahkan sering mematikan. Toksisitas akan di mulai pada saat mekanisme pertahanan tubuh ikan sudah habis atau jalur detoksifikasi (biokimia) mengalami kejenuhan sehingga ikan stres, ikan yang tidak tahan mengalami kematian (Damono, 2001).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa larutan daun salam (*Syzygium polyantha*) sensitif terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* karena mempunyai zona hambat terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. Dosis MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) larutan daun salam (*Syzygium polyantha*), yaitu pada dosis 12% dengan rata-rata jumlah koloni bakteri 159,66 CFU/mL dan dapat dikatakan dosis minimum yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Nilai LD₅₀

larutan daun salam (*Syzygium polyantha*) terhadap ikan lele (*Clarias* sp.) dengan cara perendaman selama 24 jam yaitu pada dosis 13,92 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, A. Fauzia A., dan Suri Dwi L. 2008. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimal dan Konsentrasi Bunuh Minimal Larutan Povidon Iodium 10% Terhadap *Staphylococcus aureus* Resistensi Metisilin (MRSA) dan *Staphylococcus aureus* Sensitif Metisilin (MSSA). [Jurnal]. Fakultas Kedokteran Bagian Mikrobiologi Universitas Riau. 6 hal.
- Bobbarala, V. 2012. A Search for Antibacterial Agents. Rijeka. Kroasia.
- Darmono. 2001. *Lingkungan Hidup dan Pencemaran, Hubungannya dengan Toksikologi Senyawa Logam*. Jakarta: Universitas Indonesia (UI Press).
- Dewi, A. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Sirih Merah (*Piper betle* L. var *rebrum*). [Jurnal]. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. 37 hlm.
- Dwijoseputro, D. 2010. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan Press.
- Handayani S. 2013. Kandungan Flavonoid Kulit Batang dan Daun Pohon Api-Api (*Avicennia marina*) sebagai Senyawa Aktif Antioksidan [Skripsi]. Fakultas Perikanan

- dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hariana, 2011, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Seri 3. Cet 4, Penerbit Swadaya, Jakarta. 1 (3) : 23-30.
- Harmita., dan Radji, M. 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Edisi 3. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. EGC.
- Handayani S. 2013. Kandungan Flavonoid Kulit Batang dan Daun Pohon Api-Api (*Avicennia marina*) sebagai Senyawa Aktif Antioksidan [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Kurniawan, R. 2017. *Sensitivitas Daun Rhizopora sp terhadap Bakteri Edwardsiella tarda*. [Skripsi]. Pekanbaru : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. 59 hlm.
- Lukistyowati, I., dan Kurniasih. 2012. Pelacakan Gen Aerolysin Dari *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih. [Jurnal]. Pekanbaru: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. 8 hal. ISSN: 1411-8327
- Madduluri, S. Rao, K.Babu. 2013, B. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* .2013 :5 (4) : 679-684.
- Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu – ilmu Pertanian*. 5: 26 – 37.
- Rahmaningsih, S. 2012. Pengaruh Ekstrak Sidawayah dengan Konsentrasi yang Berbeda untuk Mengatasi Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumber Daya Perairan* 1 (1) : 1-7.
- Sari DR. SB Prayitno dan Sarjito. 2014. Pengaruh Perendaman Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Kelulus hidupan dan Histologi Ginjal Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*. *Journal of Aquaculture Management and Technology* 3 (4) : 126-133.
- Sari, F.P. dan S. M. Sari.(2011) Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. Semarang: Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.
- Soleha TU (2015). Uji Kepekaan terhadap Antibiotik. *Juke Unila* 5(9): 119-120.
- Silaban, Gideon Morhan Parsaulian. 2008. Sensitivitas Bakteri *Vibrio* sp. dan *Pseudomonas* sp. Terhadap Ekstrak Buah Pare (*Momordica Charanthia* L). [Skripsi]. Pekanbaru: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. 57 hlm.
- Sine, Yuni. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanaman Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan Daun Ta

naman Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*. [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknik Jurusan Biologi, Universitas Nusa Cendana Kupang. 47 hal.

Sudarno., Setiorini, F.A., dan Suprpto, H. 2011. Efektivitas Ekstrak Tanaman (*Phyllanthus niruri*) Sebagai Antibakteri *Edwardsiella tarda* Secara *In Vitro*. [Jurnal]. Surabaya: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Airlangga. 6 hlm.

Tanjung, L. R., Triyanto., N. H. Sadi., G. D. Haryani., D. S. Sa id. 2011. Uji Ketahanan Beberapa Strain Ikan terhadap Penyakit *Aeromonas*. Lomnotek (2011) 18(1) : 58-71

Tompo, A., Tjaronge dan S, Tahe. 2010. Pengaruh Pemberian Saponin dengan Dosis yang Berbeda sebagai Obat Bius pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos forsskal*) Umpan. [Jurnal]. Jurnal Bidang Biologi Perikanan. Maros: Balai Riset Budidaya Perikanan Air Payau.