

**DAYA ANTIBAKTERI PERASAN RIMPANG LENGKUAS  
(*Alpinia galanga*) DENGAN KONSENTRASI BERBEDA  
TERHADAP PERTUMBUHAN *Aeromonas hydrophila*  
SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

**PROGRAM STUDI S-1 BUDIDAYA PERAIRAN**



Oleh :

**SUMAYANI**  
NGANJUK - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2007**

**DAYA ANTIBAKTERI PERASAN RIMPANG LENGKUAS  
(*Alpinia galanga*) DENGAN KONSENTRASI BERBEDA  
TERHADAP PERTUMBUHAN *Aeromonas hydrophila*  
SECARA IN VITRO**

**Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar  
Sarjana Perikanan Pada Program Studi S-1 Budidaya Perairan  
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga**

Oleh:

**SUMAYANI**

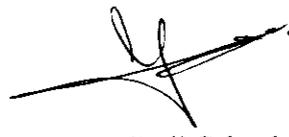
**NIM. 060210058 P**

Menyetujui,

Komisi Pembimbing



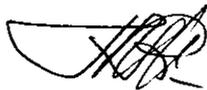
Ir. Rahayu Kusdarwati, M.Kes  
Pembimbing I



Ir. Yudi Cahyoko, M.Si  
Pembimbing II

Mengetahui,

Ketua Program Studi S-1  
Budidaya Perairan



Prof. Dr. Hj. Sri Subekti B.S., DEA, drh  
NIP. 130 687 296

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa Laporan Skripsi ini, baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan

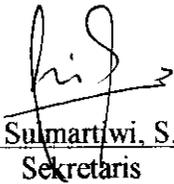
Menyetujui,

Panitia Penguji,



Ir. Sudarno, M. Kes.

Ketua



Laksmi Sulmartiwi, S.Pi, M.P.

Sekretaris



Ir. Kismiyati, M.Si

Anggota



Ir. Rahayu Kusdarwati, M.Kes

Anggota



Ir. Yudi Cahyoko, M.Si

Anggota

Surabaya, Juli 2007

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Perikanan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D, drh.

NIP. 130 687 305

## RINGKASAN

**SUMAYANI. Daya Antibakteri Perasan Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga*) Dengan Konsentrasi Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro. Dosen Pembimbing: Ir.RAHAYU KUSDARWATI, M.Kes. dan Ir.YUDI CAHYOKO, M.Si.**

Salah satu alternatif dalam usaha peningkatan kualitas dan kuantitas produksi perikanan adalah budidaya ikan. Seiring dengan usaha tersebut, hama dan penyakit merupakan masalah utama dalam kegiatan budidaya. Penyakit tersebut disebabkan karena infeksi *Aeromonas hydrophila*. Ketika infeksi ini terjadi, pengobatan dilakukan dengan pemberian antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik dapat menyebabkan resistensi bakteri dan residu antibiotik pada produk perikanan. Oleh karena itu maka perlu didapatkan obat yang efektif, murah, mudah didapat dan tidak menimbulkan efek samping untuk menanggulangi penyakit ini yang dapat diperoleh dari rimpang lengkuas.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat dan daya bunuh perasan rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*. Selain itu juga untuk mengetahui konsentrasi minimal daya hambat dan daya bunuh perasan rimpang lengkuas terhadap *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-April 2007 di ruang sanitasi Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental. Rancangan Acak Lengkap dengan 11 perlakuan dan 3 ulangan. Parameter pada penelitian ini adalah data yang diperoleh dari konsentrasi terendah uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) yang mempunyai daya bunuh dan data yang diperoleh dari konsentrasi terendah uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) yang mempunyai daya hambat. Hasil uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dianalisis dengan uji F kemudian dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan, sedangkan hasil uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dianalisis dengan analisis *Chi-square*.

Konsentrasi terendah hasil uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) adalah 0,39% (0,00625 gram/ml) dengan nilai *optical density* (OD) rata-rata

sebesar 0,021, sedangkan konsentrasi terendah hasil uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) adalah 50% (0,835 gram/ml). Hasil uji F menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata di antara perlakuan yang dapat menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*. Konsentrasi lengkuas tertinggi yang mempunyai daya bunuh adalah pada konsentrasi 100% yang berbeda nyata dengan konsentrasi 50 %. Saran pada penelitian ini adalah perlu diketahui daya antibakteri perasan rimpang lengkuas dengan konsentrasi berbeda terhadap pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* secara *in vivo*.

## SUMMARY

**SUMAYANI. Antibacterial Activity of Galangal Rhizome Juice In Different Concentration To The Growth of *Aeromonas hydrophila* With In Vitro Method. Lecturer of Councelor: Ir. RAHAYU KUSDARWATI, M.Kes. and Ir. YUDI CAHYOKO, M.Si.**

Aquaculture is an alternative to increase quality and quantity of fish production. Disease caused by *Aeromonas hydrophila* is main problem in aquaculture and antibiotics were used to treat. In other hand antibiotics cause side effects i.e resistance to bacteria and residue antibiotics to fishes products. Therefore needs an alternative medicine which effective, cheap and not causing side effects to treat this diseases. It is can get from galangal rhizome that have ability as antibacterial.

The aim of this research was to know the ability and minimum concentration of galangal rhizome juice with different concentration to inhibit and kill *Aeromonas hydrophila*. This research was done on March-April 2007 in Sanitation Room of Surabaya Medical Clinic Laboratory.

This research used experimental method, completely randomized design with 11 treatments and 3 repetitions. The parameters were data from minimum concentration of *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) test and *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) test. The result of *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) test analyzed with F-test continued with Duncan's Multiple Range test. *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) test result analyzed with *Chi-square*.

Galangal rhizome juice in can inhibit the growth of *Aeromonas hydrophila* at minimum concentration of 0,39% (0,00625 grams/ml) with average *optical density* (OD) 0,021 and can kill at the minimum concentration of 50% (0, 835 grams/ml). The result of F-test show that among concentration give significance result to inhibit growth of *Aeromonas hydrophila*. Concentration 100% gives best active respons toward *Aeromonas hydrophila* that differ with concentration 50%. This research suggest that need some research to know galangal rhizome juice effectivity in different concentration to the growth of *Aeromonas hydrophila* with in vivo method.

## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kami ucapkan kehadirat Allah swt atas limpahan berkah, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan Skripsi tentang Daya Antibakteri Perasan Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga*) dengan Konsentrasi Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro ini dapat terselesaikan dengan baik.

Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan pada Program Studi S-1 Budidaya Perairan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Penulis menyadari laporan ini masih jauh dari sempurna sehingga semua kritik dan saran diharapkan dari semua pihak. Akhirnya, semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya khususnya dan masyarakat pada umumnya.

Surabaya, Juni 2007

Penulis

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D, drh. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
2. Prof. Dr. Hj. Sri Subekti B.S, DEA, drh selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga
3. Ibu Ir. Rahayu Kusdarwati, M.Kes. selaku dosen pembimbing I
4. Bapak Ir. Yudi Cahyoko, M.Si selaku dosen pembimbing II
5. Bapak Ir. Sudarno, M.Kes selaku dosen penguji
6. Ibu Laksmi Sulmartiwi, S.Pi, M.P selaku dosen penguji
7. Ibu Ir. Kismiyati, M.Si selaku dosen penguji
8. Seluruh dosen Program Studi S-1 Budidaya Perairan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
9. PA'eBU'e tercinta atas kasih sayang, cinta, doa dan segalanya yang tercurah tiada henti ... *you're* manusia sempurna untukku ..., my bro' Bezta, seluruh keluargaku atas dukungannya dan Inyoenxkoe....
10. All my lovely friends: cheche, juwita, is, si doel, ninin, catur, teentoon YahoooH...(*the sexiest boy ???!, keep u'r sexy ya...he..he..*)
11. Teman-teman BP'02 serta seluruh pihak yang telah membantu yang tidak bisa disebutkan satu persatu

## RHDAFTAR ISI

<b>RINGKASAN</b> .....	iv
<b>SUMMARY</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	viii
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan .....	3
1.4 Manfaat .....	3
<b>II STUDI PUSTAKA</b> .....	4
2.1 Lengkuas ( <i>Alpinia galanga</i> ).....	4
2.1.1 Sinonim dan Nama Daerah .....	4
2.1.2 Klasifikasi Dan Morfologi .....	4
2.1.3 Habitat Dan Penyebaran.....	6
2.1.4 Kandungan Kimia .....	6
2.1.5 Kegunaan.....	8
2.2 <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	8
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi .....	8
2.2.2 Sifat Biakan .....	9
2.2.3 Habitat Dan Penyebaran.....	10
2.3 Uji Sensitivitas .....	10
<b>III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS</b> .....	12
3.1 Kerangka Konseptual .....	12

3.2 Hipotesis.....	13
<b>IV METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>14</b>
4.1 Waktu Dan Tempat .....	14
4.2 Materi Penelitian .....	14
4.3 Metode Penelitian.....	14
4.3.1 Rancangan Penelitian .....	15
4.3.2 Prosedur Kerja.....	15
A. Sterilisasi Alat .....	15
B. Pembuatan Perasan Rimpang Lengkuas.....	15
C. Pengujian Isolat <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	15
D. Penyiapan Larutan Dengan Berbagai Konsentrasi.....	19
E. Penyiapan Suspensi <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	20
F. Penentuan Uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC).....	20
G. Penentuan Uji <i>Minimum Bactericidal Concentration</i> (MBC).....	20
4.3.3 Parameter Uji .....	21
4.3.4 Analisis Data .....	21
<b>V HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>22</b>
5.1 Hasil .....	22
5.1.1 Hasil Pembuatan Perasan Rimpang Lengkuas .....	22
5.1.2 Hasil Pembiakan <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	22
5.1.3 Hasil Identifikasi <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	22
5.1.4 Hasil Uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC).....	24
5.1.5 Hasil Uji <i>Minimum Bactericidal Concentration</i> (MBC) .....	26
5.2 Pembahasan.....	27
<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>31</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>32</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Hasil Uji Biokimia <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	23
2. Pengamatan Hasil Uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC) Secara Visual.....	24
3. Hasil Uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC) Dengan Spektrofotometer.....	25
4. Pengamatan Hasil Uji <i>Minimum Bactericidal Concentration</i> (MBC) Secara Visual.....	26

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rimpang Lengkuas ( <i>Alpinia galanga</i> ).....	5
2. <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	9
3. Bagan Kerangka Konseptual.....	13

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Analisis Variansi (Anava) Uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC).....	38
2. Hasil Analisis Uji Jarak Berganda Duncan.....	40
3. Hasil Analisis <i>Chi-Square</i> Uji <i>Minimum Bactericidal Concentration</i> (MBC).....	42
4. Gambar Hasil Uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC) dan Uji <i>Minimum Bactericidal Concentration</i> (MBC) .....	44

**BAB I**

**PENDAHULUAN**

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Permintaan terhadap produk perikanan di masa yang akan datang akan meningkat sebagai konsekuensi pertumbuhan jumlah penduduk, peningkatan daya beli dan kecenderungan perubahan pola konsumsi dari produk peternakan menjadi produk perikanan (Rusfian *dkk.*, 2004). Salah satu alternatif yang tepat dalam usaha peningkatan kualitas maupun kuantitas produksi perikanan adalah budidaya ikan (Agustatik, 2004).

Budidaya ikan dapat dilakukan di perairan tawar, payau dan laut. Budidaya air tawar di Indonesia memainkan peranan penting sebagai sumber persediaan protein bagi masyarakat (Wakita *dkk.*, 2005). Namun, penyakit merupakan kendala utama dalam keberhasilan produksi yang sangat merugikan. Timbulnya penyakit adalah suatu proses yang dinamis dan merupakan interaksi antara inang, patogen dan lingkungan. Penyakit akan muncul jika lingkungan buruk dan keseimbangan terganggu (Soebjakto *dkk.*, 2004).

Infeksi *Aeromonas* secara umum di dunia dikenal sebagai penyakit pada budidaya air tawar (Wakita *dkk.*, 2005). Ikan yang diserang adalah ikan mas (*Cyprinus carpio*) (Aoki, 1999; Wakita *dkk.*, 2005), ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) (Wakita *dkk.*, 2005), ikan lele (*Clarias batrachus*), ikan maskoki (*Carassius carassius*) dan ikan nila (*Tilapia nilotica*) (Aoki, 1999).

Ketika infeksi ini terjadi, pengobatan dilakukan dengan pemberian antibiotik (Wakita *dkk.*, 2005) seperti *chloramphenicol*, *florfenicol*, *tetracycline*,

*sulphonamide*, *nitrofuran* dan *pyridonecarboxylic acid* (Aoki, 1999), oksitetrasiklin, *oxolinic acid*, eritromisin dan streptomisin (www.republika.co.id, 2005). Penggunaan antibiotik tersebut dapat menyebabkan resistensi bakteri terhadap obat-obat tersebut bila diberikan secara berkelanjutan dan tidak terkontrol, selain itu juga menyebabkan residu antibiotik pada produk perikanan yang berdampak negatif bagi konsumen (Saparinto, 2002). Oleh karena itu, perlu diketahui alternatif obat antibakteri yang berasal dari tumbuh-tumbuhan.

Minyak atsiri akhir-akhir ini menarik perhatian, hal ini disebabkan karena sifatnya sebagai antibakteri dan antijamur sehingga dapat dipergunakan sebagai antibiotik dan bahan pengawet pada makanan. Lengkuas mengandung minyak atsiri antara lain alkohol (Bisset and Wichtl, 2001), flavonoid dan senyawa fenol (Mutschler, 1991; Yuharmen *dkk.*, 2002) yang ketiganya bersifat sebagai bakterisidal (Mutschler, 1991). Senyawa tersebut sering dipergunakan sebagai bahan dasar obat-obatan modern alami (Yuharmen *dkk.*, 2002).

Lengkuas diharapkan dapat menjadi alternatif obat tradisional yang efektif, murah, mudah diperoleh dan tidak menimbulkan efek samping dalam penggunaannya untuk mengobati infeksi bakteri pada ikan sehingga perlu diketahui secara *in vitro*.

## 1.2 Perumusan Masalah

Perumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah perasan rimpang lengkuas dengan konsentrasi berbeda mempunyai daya hambat dan daya bunuh terhadap pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*?

2. Berapa konsentrasi minimal perasan rimpang lengkuas yang mempunyai daya hambat dan daya bunuh terhadap pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*?

### 1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui daya hambat dan daya bunuh perasan rimpang lengkuas dengan konsentrasi berbeda terhadap pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*
2. Untuk mengetahui konsentrasi minimal daya hambat dan daya bunuh perasan rimpang lengkuas terhadap pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*

### 1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah dapat diketahui bahwa perasan rimpang lengkuas dapat digunakan sebagai alternatif obat tradisional yang efektif, murah, mudah diperoleh dan tidak menimbulkan efek samping dalam penggunaannya untuk menanggulangi *Aeromonas hydrophila* sehingga dapat diaplikasikan di lapangan untuk para petani ikan khususnya dan masyarakat pada umumnya.

## **BAB II**

## **STUDI PUSTAKA**

## BAB II

### STUDI PUSTAKA

#### 2.1 Lengkuas (*Alpinia galanga*)

##### 2.1.1 Sinonim dan Nama Daerah

Sinonim lengkuas adalah *Alpinia pyramidata* Bl., *Alpinia galanga* (L.) Swartz., *Alpinia galanga officinarum* Hance, *Languas galanga* (L.) Merr., *Languas galanga* (L.) Stunz., *Languas vulgare* Koenig, *Maranta galanga* L., *Amomum galanga* (L.) Lour, *Amomum medium* Lour. (Sinaga, 2003).

Di daerah Sumatera, lengkuas dikenal dengan nama lengkulus, langkueueh, kalawas, halawas, lakuwe, langkuweh dan lawas. Di Pulau Jawa dikenal dengan laja dan laos. Di Bali disebut sebagai laja, kalawasan, lahwas dan isem. Di Sulawesi disebut dengan laja, langkuwasa, aliku, linkuwas, likui dan lingkuboto (Sinaga, 2003).

##### 2.1.2 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi lengkuas menurut Skinner (1996) adalah:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Klas	: Liliopsida
SubKlas	: Zingiberidae
Bangsa	: Zingiberalis
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: <i>Alpinia</i>
Spesies	: <i>Alpinia galanga</i> (L.) Sw.

Lengkuas ada 2 macam yaitu lengkuas putih (*Alpinia galanga*) dan lengkuas merah (*Alpinia purpurata*). Lengkuas putih banyak digunakan sebagai rempah-rempah, sedangkan lengkuas merah sebagai obat. Gambar rimpang lengkuas putih terdapat dalam gambar 1. Pohon lengkuas putih umumnya lebih tinggi daripada pohon lengkuas merah (Sinaga, 2003). Penggunaan lengkuas merah sebagai obat harus sesuai dosis dan harus kontinu. Bila tidak sesuai dosis justru akan menjadi racun (Rahman, 2002). Meskipun lengkuas putih banyak digunakan sebagai bumbu dapur, namun lengkuas putih juga dapat bersifat sebagai antibakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan Chaisawadi *et al* .(2002) yang menyatakan bahwa *Alpinia galanga* bersifat sebagai antibakteri.



**Gambar 1. Rimpang Lengkuas (Sumber: [www.gourmetsleuth.com](http://www.gourmetsleuth.com), 2002)**

Lengkuas merupakan tumbuhan terna berumur panjang dengan tinggi 1-2 meter bahkan dapat mencapai 3,5 meter. Mempunyai batang tegak yang tersusun oleh pelepah-pelepah daun yang bersatu membentuk batang semu yang berwarna hijau keputihan. Daunnya tunggal berwarna hijau dengan tangkai pendek dan tersusun berseling. Daun bagian atas dan bawah lebih kecil daripada yang di tengah. Bentuk daun lanset memanjang, ujungnya runcing dan pangkalnya tumpul dengan tepi daun rata dan bertulang daun menyirip. Bunganya merupakan bunga majemuk dengan bentuk seperti lonceng, berbau, dengan warna putih kehijauan

atau putih kekuningan yang terletak pada tandan bergagang panjang dan ramping, tegak di ujung batang. Buahnya berbentuk bulat dan keras. Saat muda berwarna hijau-kuning, setelah tua berwarna hitam kecoklatan, namun ada juga yang berwarna merah. Rimpangnya besar dan tebal, berdaging, bentuk silindris dengan diameter 2-4 cm dan bercabang-cabang. Bagian luar berwarna coklat kemerahan atau kuning kehijauan pucat. Terdapat sisik berwarna putih atau kemerahan, keras mengkilap, sedangkan bagian dalamnya berwarna putih. Rimpang yang tua mempunyai daging yang berserat kasar. Bila kering, rimpang berubah menjadi agak kehijauan dengan serat kasar dan liat (Sinaga, 2003).

### **2.1.3 Habitat dan Penyebaran**

Lengkuas tumbuh di tempat terbuka yang mendapat sinar matahari penuh atau yang sedikit terlindung. Hidup pada tanah lembab dan gembur tetapi tidak becek. Tumbuh subur di daerah dataran rendah sampai ketinggian 1200 m di atas permukaan laut (dpl). Di Indonesia banyak ditemukan tumbuh subur di hutan jati atau di semak belukar (Sinaga, 2003).

Lengkuas berasal dari Asia Tropika, tetapi tidak begitu jelas dari daerah mana. Ada yang berpendapat berasal dari Cina dan Bengali (Sinaga, 2003), India (Achyad dan Rasyidah, 2000), Bangladesh dan negara-negara Asia Tenggara (Chaisawadi *et al.*, 2002).

### **2.1.4 Kandungan Kimia**

Beberapa komponen minyak atsiri lengkuas ada yang bersifat sebagai antimikroba, tetapi belum diperoleh data, komponen yang dominan memberikan kontribusi terhadap khasiatnya (Soeratri *dkk.*, 2005).

Lengkuas mengandung minyak atsiri antara lain alkohol (Bisset and Wichtl, 2001), flavonoid dan senyawa fenol yang ketiganya bersifat bakterisidal (Mutschler, 1991), sesquiterpen hidrokarbon yang bersifat sebagai antimalaria (Colegate, 1993 dalam Yuharmen, 2002), *galangol* yang mengandung *diarylheptanoid* yang menyebabkan rasa pedas (Achyad dan Rasyidah, 2000), terpenoid yang bersifat sebagai antitumor (Itokawa, 1993 dalam Yuharmen, 2002) dan eugenol yang bersifat sebagai antifungi (Soeratri *dkk.*, 2005).

Alkohol bersifat bakterisidal karena dapat merusak membran bakteri yang mengakibatkan cepat hilangnya kandungan sitoplasma bakteri. Pada kadar tinggi, alkohol menyebabkan lisis (terlarutnya) sel bakteri (Nogrady, 1992).

Senyawa fenol mempunyai daya bunuh karena fenol mempresipitasikan protein secara aktif, selain itu juga merusak membran sel dengan cara menurunkan tegangan permukaan (Syahrurachman *dkk.*, 1994). Fenol juga merupakan desinfektan ampuh karena tidak hanya merusak protein tetapi juga bekerja sebagai deterjen karena kepolaran gugus hidroksil pada fenol (Nogrady, 1992).

Deterjen merupakan senyawa organik karena strukturnya dapat berikatan dengan air dan dengan molekul-molekul organik non polar. Deterjen mempunyai satu ujung hidrofilik yang dapat bercampur dengan air dan satu ujung hidrofobik yang tidak dapat bercampur dengan air (lipofilik), sehingga molekul deterjen ~~mencampur~~ pada permukaan bahan organik dengan ujung hidrofilik mengarah ke air. Kedua gugus deterjen ini akan merusak membran sel dan dapat membunuh sel (Syahrurachman *dkk.*, 1994).

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang bersifat desinfektan yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri. Denaturasi protein menyebabkan aktivitas metabolisme sel terhenti karena berhentinya semua aktivitas metabolisme yang berakibat pada kematian sel bakteri (Nogrady, 1992).

### **2.1.5 Kegunaan**

Rimpang lengkuas bersifat sebagai antibakteri, anti jamur (Sinaga, 2003; Achyad dan Rasyidah, 2000; Chaisawadi *et al.*, 2002), anti radang, anti oksidan (Chaisawadi *et al.*, 2002) dan juga untuk mengobati penyakit kulit akibat jamur (Rahman, 2002).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak lengkuas muda lebih efektif menghambat pertumbuhan mikroba patogen dengan daya hambat rata-rata 38,3% dibandingkan lengkuas tua (32,26%). Penggunaan lengkuas muda memiliki aktivitas antimikroba yang lebih tinggi dibandingkan yang tua (Rahayu *dkk.*, 2002).

## **2.2 *Aeromonas hydrophila***

### **2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi**

Klasifikasi *Aeromonas hydrophila* (Volk dan Wheeler, 1993) adalah:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Protophyta
Klas	: Schizomycetes
Bangsa	: Spirochaetales
Famili	: Vibrionaceae

Genus : *Aeromonas*  
 Spesies : *Aeromonas hydrophila*



**Gambar 2. *Aeromonas hydrophila* (Sumber: [www.buddy.com](http://www.buddy.com), 2000)**

*Aeromonas hydrophila* adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang lurus, mampu bergerak (motil) karena dilengkapi dengan monotrik flagel, berdiameter 0,3 – 1,0  $\mu\text{m}$  dan panjang 1,0 – 3,5  $\mu\text{m}$  (Roberts, 1989; Aoki, 1999; Austin dan Austin, 1999). Gambar *Aeromonas hydrophila* terdapat dalam gambar 2.

### 2.2.2 Sifat Biakan

*Aeromonas hydrophila* dapat dibiakkan pada media non selektif termasuk *nutrient agar* dan *Tryptose Soya Agar* (Stoskopf, 1993; Aoki, 1999). Koloni yang terbentuk berwarna putih kekuningan/krem, berbentuk bulat (Stoskopf, 1993) atau cembung (Roberts, 1989). Pada suhu 25°C setelah 48 jam diameter yang terbentuk 2 – 3 mm (Stoskopf, 1993). Media Rimler-Shotts adalah media selektif untuk *Aeromonas* dan diinkubasi pada suhu 20-25°C selama 24 – 48 jam (Roberts, 1989; Stoskopf, 1993; Aoki, 1999).

*Aeromonas hydrophila* termasuk bakteri fakultatif anaerob yaitu bakteri yang dapat hidup dengan atau dalam keadaan tanpa oksigen. Bakteri ini mampu

mampu memfermentasi karbohidrat menjadi asam atau asam dan gas, resisten terhadap agen vibriostatik O/129 (*phosphat: 2,4-diamino-6,7-diisopropylpteridine phosphat* 150 µg) (Roberts, 1989; Aoki, 1999). *Aeromonas hydrophila* mampu mengubah nitrat menjadi nitrit (Aoki, 1999; Austin dan Austin, 1999), mampu memfermentasi inositol dan manitol, memproduksi hidrogen sulfida dan indol, menghasilkan oksidase dan fosfatase tetapi tidak memproduksi ornithin dekarboksilase atau fenilalanin deaminase (Stoskopf, 1993; Austin dan Austin, 1999). Reaksi Voges-Proskauer positif, uji methil red negatif, mengandung 57 – 63% cytosine dan guanine (G+C) (Aoki, 1999).

### 2.2.3 Habitat dan Penyebaran

*Aeromonas hydrophila* ditemukan disekeliling spesies ikan air tawar, kadang-kadang ikan air laut (Aoki, 1999; Austin dan Austin, 1999), hewan amphibi, sapi dan manusia. Namun paling penting terjadi pada budidaya ikan air tawar. Bakteri ini tersebar luas di air tawar dan dasar sedimen yang mengandung bahan organik (Aoki, 1999).

### 2.3 Uji Sensitivitas

Uji sensitivitas (*sensitivity test*) adalah pemeriksaan uji kepekaan bakteri terhadap zat antibakteri. Antimikroba adalah suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba. Zat antimikroba apabila berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteriostatik sedangkan yang dapat membunuh bakteri disebut bakterisidal (Pelczar dan Chan, 1988).

Metode yang sering digunakan untuk mengetahui adanya aktifitas mikroba suatu bahan adalah metode pengenceran (*dilution method*) yang digunakan untuk

mengetahui *Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Test* dan *Minimum Bactericidal Concentration (MBC) Test* dari suatu bahan antimikroba terhadap pertumbuhan mikroba tertentu (Wistreich, 2003).

Prinsip metode tersebut adalah suatu seri pengenceran larutan dalam media pertumbuhan bakteri yang dimulai dari konsentrasi tinggi sampai konsentrasi rendah dimana bakteri dengan kepadatan tertentu diinokulasikan pada media pertumbuhan (Gillespie, 1994). Metode dilusi ini digunakan untuk menentukan nilai *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* dan *Minimum Bactericidal Concentration (MBC)*. *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* adalah konsentrasi bahan antibakteri terendah (minimum) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri sedangkan *Minimum Bactericidal Concentration (MBC)* adalah konsentrasi bahan antibakteri terendah (minimum) yang mampu membunuh 99,9% inokulum bakteri (Finegold dan Baron, 1986 dalam Qosimah, 2005).

Menurut Jawetz *dkk.* (1984), pengujian ini dilakukan dengan mensuspensikan inokulum bakteri dengan kepadatan tertentu pada larutan antibakteri atau zat kimia yang diuji dengan beberapa konsentrasi kemudian diinkubasi selama 24 jam lalu diamati pertumbuhan bakteri. Apabila media keruh berarti bakteri tersebut masih tumbuh sedangkan apabila media bening berarti bakteri tidak tumbuh. Langkah selanjutnya adalah dengan menginokulasikan suspensi bakteri dalam larutan antibakteri pada media tumbuh untuk melihat apakah larutan antibakteri yang diuji memiliki aktifitas membunuh bakteri.

## **BAB III**

# **KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS**

## BAB III

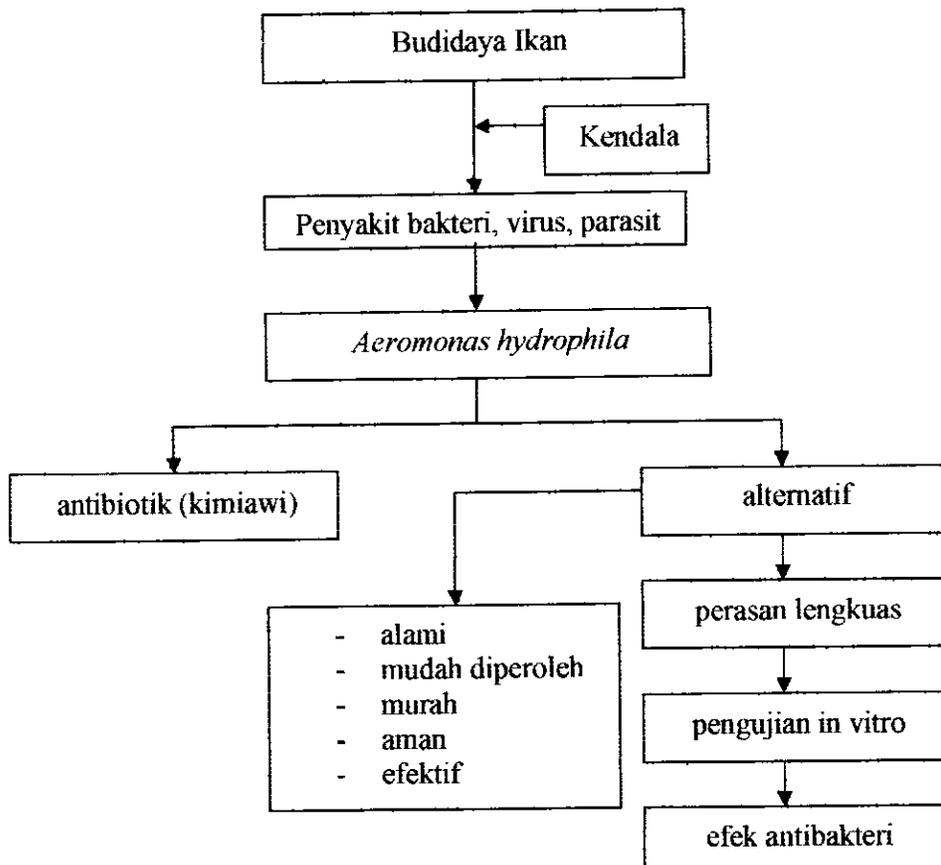
### KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

#### 3.1 Kerangka Konseptual

Permintaan terhadap produk perikanan di masa yang akan datang akan meningkat sebagai konsekuensi pertumbuhan jumlah penduduk, peningkatan daya beli dan kecenderungan perubahan pola konsumsi dari produk peternakan menjadi produk perikanan (Rusfian *dkk.*, 2004). Salah satu alternatif yang tepat dalam usaha peningkatan kualitas dan kuantitas produksi perikanan adalah budidaya ikan. Seiring dengan usaha tersebut, hama dan penyakit merupakan masalah utama dalam kegiatan budidaya (Agustati, 2004).

Penyakit yang menjadi masalah utama dalam kegiatan budidaya adalah penyakit yang disebabkan *Aeromonas hydrophila*. Ketika infeksi ini terjadi, pengobatan yang dilakukan adalah dengan pemberian antibiotik (Wakita *dkk.*, 2005) seperti *chloramphenicol*, *florfenicol*, *tetracycline*, *sulphonamide*, *nitrofurantoin* dan *pyridonecarboxylic acid* (Aoki, 1999), oksitetrasiklin, *oxolinic acid*, eritromisin dan streptomisin (www.republika.co.id, 2005). Namun, penggunaan antibiotik dapat menyebabkan resistensi bakteri terhadap obat-obat tersebut bila diberikan secara berkelanjutan dan tidak terkontrol, selain itu juga menyebabkan residu antibiotik pada produk perikanan yang berdampak negatif bagi konsumen (Saparinto, 2002). Oleh karena itu, perlu diketahui alternatif obat antibakteri yang berasal dari tumbuh-tumbuhan yang efektif, murah, mudah didapat dan tidak menimbulkan efek samping untuk menanggulangi penyakit yang disebabkan *Aeromonas hydrophila*.

Salah satu alternatif untuk menanggulangi penyakit yang disebabkan *Aeromonas hydrophila* adalah menggunakan perasan rimpang lengkuas yang mengandung minyak atsiri antara lain alkohol (Bisset and Wichtl, 2001), flavonoid dan senyawa fenol (Mutschler, 1991; Yuharmen *dkk.*, 2002) yang ketiganya bersifat sebagai bakterisidal (Mutschler, 1991).



Gambar 3. Bagan Kerangka Konseptual Penelitian

### 3.2 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

H1: Perasan rimpang lengkuas dengan konsentrasi berbeda mempunyai daya hambat dan daya bunuh terhadap pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*.

## **BAB IV**

# **METODOLOGI PENELITIAN**

## BAB IV

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 4.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret – April 2007. Isolat murni *Aeromonas hydrophila* diperoleh dari stok Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya. Identifikasi bakteri, uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC), uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dan pengamatan dengan spektrofotometer dilaksanakan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

#### 4.2 Materi Penelitian

Bahan yang digunakan antara lain isolat murni *Aeromonas hydrophila*, rimpang lengkuas, *Tryptose Soya Agar* (TSA), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Nutrient Broth* (NB), media agar darah (*blood agar*), media gula-gula (glukosa, sukrosa dan laktosa), media *Motility Indol Ornithine* (MIO), media *Lysine Iron Agar* (LIA), NaCl fisiologis (Pz), Mc.Farland no. 0,5, gentian violet, safranin, lugol, akuades, alkohol acetone dan alkohol 70 %.

Alat yang digunakan antara lain tabung reaksi, rak tabung reaksi, obyek glas, cover glas, cawan petri, pembakar Bunsen, ose, mikroskop, *autoclave*, pipet ukur, inkubator, *juicer*, corong dan botol kaca.

#### 4.3 Metode Penelitian

##### 4.3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 11 perlakuan dengan 3 ulangan. Ulangan diperoleh dari rumus:  $t(n-1) \geq 15$ , dimana  $t$  adalah banyaknya perlakuan dan  $n$  adalah banyaknya ulangan sehingga

diperoleh ulangan sebanyak 3 kali (Rochiman, 1989). Uji yang digunakan adalah metode pengenceran (dilusi) untuk mengetahui Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan Uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC).

#### 4.3.2 Prosedur Kerja

Prosedur kerja pada penelitian ini meliputi:

##### a. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian disterilisasi menggunakan autoclave dengan tekanan udara 1 atm pada suhu 121°C selama 15 menit (Taw, 1990), sedangkan alat *juicer*, corong dan botol kaca disterilkan dengan alkohol 70 %.

##### b. Pembuatan Perasan Rimpang Lengkuas

Rimpang lengkuas sebanyak 250 gram dicuci bersih lalu dibilas dengan akuades kemudian ditiris. Setelah itu dipotong kecil- kecil lalu dimasukkan ke dalam *juicer*. Hasilnya dimasukkan ke dalam botol kaca lalu ditutup rapat (Qosimah, 2005).

##### c. Pengujian Isolat *Aeromonas hydrophila*

Langkah-langkah pengujian isolat *Aeromonas hydrophila* meliputi:

###### 1. Pembiakan *Aeromonas hydrophila*

Sebelum digunakan, *Aeromonas hydrophila* dibiakkan terlebih dahulu pada media TSA dalam cawan petri. Langkah-langkah pembiakan adalah mengambil bakteri dari isolat murni menggunakan ose kemudian menginokulasi bakteri pada media TSA selanjutnya menginkubasi bakteri pada suhu 27-28°C selama 24 jam.

## 2. Pewarnaan Gram

Langkah-langkah pewarnaan Gram adalah membersihkan obyek glass dengan alkohol lalu dipanaskan di atas api bunsen (difiksasi). Mengambil biakan bakteri menggunakan ose steril lalu meratakan bakteri pada obyek glass yang telah ditetesi Pz lalu difiksasi di atas api bunsen sampai kering. Menetesi sediaan dengan gentian violet lalu didiamkan selama 2 menit. Mencuci sediaan dengan air mengalir lalu diangin-anginkan sampai kering. Menetesi sediaan dengan lugol dan didiamkan selama 1 menit. Mencuci sediaan dengan air mengalir lalu diangin-anginkan sampai kering. Menetesi sediaan dengan alkohol aseton selama 10-20 detik sampai zat warna hilang. Mencuci sediaan dengan air mengalir lalu diangin-anginkan sampai kering. Menetesi sediaan dengan safranin lalu didiamkan selama 30-60 menit. Mencuci sediaan dengan air mengalir lalu diangin-anginkan sampai kering. Menetesi sediaan dengan minyak emersi. Mengamati sediaan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali. Jika warna bakteri terlihat merah berarti bakteri bersifat gram negatif (Gandasoebrata, 2004).

## 3. Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Media yang digunakan adalah *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). Langkah - langkah pada uji ini adalah bakteri diinokulasikan secara tusukan pada media tegak dan goresan pada media agar miring kemudian diinkubasi selama 24 jam. Hasil yang diamati untuk uji penggunaan gula-gula adalah media berwarna kuning (asam), sedangkan untuk pembebasan

H<sub>2</sub>S bersifat negatif jika tidak terlihat warna kehitaman sepanjang goresan pada media (Departemen Kelautan dan Perikanan, 2005).

#### 4. Uji *Motility Indol Ornithine* (MIO)

Langkah - langkah pada uji ini adalah menginokulasi biakan bakteri dengan cara tusukan pada media MIO kemudian menginkubasi pada suhu 27-28°C selama 24 jam. Apabila pada tusukan terlihat adanya pertumbuhan bakteri yang ditandai adanya pelebaran pada tusukan tersebut maka bakteri tersebut motil. Setelah itu menetes media dengan kloroform dan kovacs 2 tetes. Jika timbul lapisan/cincin merah pada permukaan maka dikatakan indol positif (Departemen Kelautan dan Perikanan, 2005).

#### 5. Uji gula-gula

Langkah - langkah uji gula-gula adalah menginokulasi biakan bakteri murni ke dalam media glukosa, laktosa dan sukrosa. Selanjutnya mengocok suspensi tersebut perlahan-lahan dan menginkubasi pada suhu 27-28°C selama 24 jam. Apabila media berubah warna menjadi kuning maka reaksi bersifat positif, bila media berwarna orange maka reaksi bersifat positif lemah. Apabila tidak ada perubahan warna maka reaksi dikatakan negatif (Departemen Kelautan dan Perikanan, 2005).

#### 6. Uji Hemolisin

Langkah - langkah uji hemolisin adalah menginokulasikan biakan bakteri murni ke dalam media agar darah dengan goresan, kemudian menginkubasi pada suhu 27-28° C selama 24 jam. Pembacaan hasil

inkubasi setelah 24 jam adalah sebagai berikut: alfa ( $\alpha$ ) hemolisin jika terjadi zona samar-samar di sekitar koloni (media di sekitar goresan berubah warna menjadi kehijau-hijauan atau kecoklat-coklatan), beta ( $\beta$ ) hemolisin jika terjadi zona jernih tak berwarna di sekitar koloni dan gamma ( $\gamma$ ) hemolisin jika media tidak terjadi perubahan (Departemen Kelautan dan Perikanan, 2005).

#### **d. Penyiapan Larutan dengan Berbagai Konsentrasi**

Metode yang digunakan dalam penyiapan larutan adalah dengan metode dilusi. Metode ini dilakukan dengan beberapa konsentrasi pengenceran. Disiapkan 11 tabung dan diberi label 1 sampai 11. Tabung 1 hanya diisi 1 ml larutan perasan lengkuas untuk memperoleh konsentrasi 100%. Tabung 2 sampai tabung 9 diisi 1 ml Pz. Tabung 2 yang berisi 1 ml Pz ditambahkan 1 ml larutan perasan lengkuas lalu dikocok sampai homogen untuk memperoleh konsentrasi 50 %. Larutan dalam tabung 2 diambil 1 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung 3 yang telah berisi 1 ml Pz lalu dikocok sampai homogen untuk memperoleh konsentrasi 25%. Demikian seterusnya sampai tabung 9 sampai diperoleh konsentrasi 0,39%. Setelah sampai tabung 9 lalu sisanya dibuang. Tabung 10 diisi 1 ml Pz ditambah 1 ml suspensi bakteri sebagai kontrol negatif, sedangkan tabung 11 diisi 1 ml Pz ditambah 1 ml perasan lengkuas sebagai kontrol positif. Langkah ini dilakukan sebanyak 3 kali (Qosimah, 2005).

#### e. Penyiapan Suspensi *Aeromonas hydrophila*

Dosis infeksi ( $ID_{100}$ ) *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas (*Cyprinus carpio* Linn.) adalah  $10^6$  CFU/ml (Yolanda, 2005; Widiyastuti, 2005), sehingga kepadatan bakteri yang diinokulasi pada media disesuaikan dengan dosis tersebut. Langkah pembuatan suspensi *Aeromonas hydrophila* adalah sebagai berikut: langkah pertama adalah mengambil 4 - 10 koloni bakteri lalu diinokulasi pada NaCl fisiologis dalam tabung volume 50 ml kemudian dihomogenkan, selanjutnya kekeruhannya disetarakan dengan standar Mc. Farland no. 0,5 yang berisi bakteri dengan kepadatan  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml. Langkah kedua adalah menyiapkan 10 tabung reaksi volume 10 ml lalu masing-masing tabung reaksi diisi dengan 9 ml NaCl fisiologis. Tabung 1 yang telah berisi NaCl fisiologis ditambahkan 1 ml larutan suspensi *Aeromonas hydrophila* dari tabung volume 50 ml lalu dihomogenkan. Langkah selanjutnya adalah tabung 2 yang telah berisi NaCl fisiologis ditambahkan 1 ml larutan suspensi *Aeromonas hydrophila* dari tabung 1. Langkah tersebut dilakukan sampai tabung 10 sehingga diperoleh kepadatan *Aeromonas hydrophila* sebanyak  $1,5 \times 10^7$  CFU/ml.

Langkah berikutnya adalah menyiapkan 10 tabung reaksi volume 10 ml lalu masing-masing tabung reaksi diisi dengan 9 ml NaCl fisiologis. Tabung 1 yang telah berisi NaCl fisiologis ditambahkan 1 ml larutan suspensi *Aeromonas hydrophila* dari tabung 10 (yang telah berisi *Aeromonas hydrophila* dengan kepadatan  $1,5 \times 10^7$  CFU/ml). Langkah selanjutnya adalah tabung 2 yang telah berisi NaCl fisiologis ditambahkan

1 ml larutan suspensi *Aeromonas hydrophila* dari tabung 1. Langkah tersebut dilakukan sampai tabung 10 sehingga diperoleh kepadatan *Aeromonas hydrophila* sebanyak  $1,5 \times 10^6$  CFU/ml. Keseluruhan langkah tersebut dilakukan sebanyak 3 kali untuk memperoleh volume larutan suspensi bakteri sebanyak 30 ml.

**f. Penentuan Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)**

Tahap pelaksanaan uji MIC adalah menyiapkan tabung yang telah berisi perasan rimpang lengkuas sesuai konsentrasi. Memasukkan 1 ml suspensi bakteri sebanyak  $1,5 \times 10^6$  CFU/ml ke dalam tabung 1 sampai tabung 10. Tabung 10 sebagai kontrol negatif yang berisi 1 ml Pz dan 1 ml suspensi bakteri. Tabung 11 sebagai kontrol positif yang berisi 1 ml Pz dan 1 ml perasan rimpang lengkuas. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu  $27-28^\circ \text{C}$  selama 24 jam. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan seluruh tabung reaksi terhadap kekeruhan media (Baron *dkk.*, 1994).

**g. Penentuan Uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC)**

Setelah dilakukan uji MIC, selanjutnya dilakukan uji MBC (*Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) yaitu dengan mengambil koloni bakteri menggunakan ose dari masing-masing tabung lalu diinokulasikan pada media agar TSA dalam petridish. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $27-28^\circ \text{C}$ . Selanjutnya mengamati pertumbuhan bakteri pada media TSA. Apabila pada media agar teramati adanya pertumbuhan bakteri maka perasan rimpang lengkuas bersifat bakteriostatik, sedangkan

bila tidak ada pertumbuhan bakteri maka perasan rimpang lengkuas bersifat bakterisidal (Baron *dkk.*,1994).

#### **4.3.3 Parameter Uji**

Parameter uji pada penelitian ini adalah data yang diperoleh dari konsentrasi terendah pada uji MIC yang dapat menghambat bakteri (bakteriostatik) yang diperoleh dari hasil spektrofotometer dan data yang diperoleh dari konsentrasi terendah pada uji MBC yang dapat membunuh bakteri (bakterisidal) melalui pengamatan pertumbuhan bakteri pada media TSA.

#### **4.3.4 Analisis Data**

Hasil MBC dianalisis menggunakan analisis *Chi-square*, sedangkan hasil MIC diuji dengan uji F, kemudian dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan (Purbowati, 2004).

## **BAB V**

# **HASIL DAN PEMBAHASAN**

## **BAB V**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **5.1 Hasil**

##### **5.1.1 Hasil Pembuatan Perasan Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga*)**

Hasil pembuatan perasan rimpang lengkuas diperoleh dari 250 gram basah rimpang lengkuas dan menghasilkan 150 ml larutan perasan rimpang lengkuas. Larutan rimpang lengkuas yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam botol kaca lalu ditutup rapat.

##### **5.1.2 Hasil Pembiakan Bakteri *Aeromonas hydrophila***

*Aeromonas hydrophila* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya. *Aeromonas hydrophila* yang telah diperoleh dibiakkan dalam agar miring *Trypticase Soya Agar* (TSA) membentuk koloni berwarna putih kekuningan/ krem berbentuk cembung dan mengkilap.

##### **5.1.3 Hasil Identifikasi Bakteri *Aeromonas hydrophila***

Identifikasi bakteri digunakan untuk memastikan bakteri yang diperoleh merupakan isolat murni *Aeromonas hydrophila*. Hasil pemeriksaan yang telah dilakukan terdapat dalam tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Biokimia *Aeromonas hydrophila*

Uji Biokimia	Hasil
TSIA	A/K, gas +, H <sub>2</sub> S +
Indol	+
Motilitas	+
Lysin	-
Ornithin	-
Arginin	-
Hemolisin	+ ( $\beta$ hemolisin)
Glukosa	+
Laktosa	-
Sukrosa	+

Keterangan:

+ : positif

- : negatif

A/K : asam/alkali

Hasil uji biokimia *Aeromonas hydrophila* (tabel 1) menunjukkan bahwa pada uji TSIA, *Aeromonas hydrophila* mampu memfermentasi sukrosa dan tidak memfermentasi laktosa. *Aeromonas hydrophila* juga menunjukkan indol positif yang berarti bahwa *Aeromonas hydrophila* mampu menghasilkan indol, motilitas positif yang berarti bahwa *Aeromonas hydrophila* mempunyai kemampuan bergerak (motil), hemolisin positif yang berarti bahwa *Aeromonas hydrophila* mampu mendegradasi darah, glukosa positif yang berarti bahwa *Aeromonas hydrophila* mampu memfermentasi glukosa, sukrosa positif yang berarti bahwa *Aeromonas hydrophila* mampu memfermentasi sukrosa. Uji lysin, ornithin dan arginin negatif pada *Aeromonas hydrophila* menunjukkan bahwa *Aeromonas hydrophila* tidak mampu menghasilkan lysin, ornithin dan arginin. *Aeromonas hydrophila* juga tidak mampu memfermentasi laktosa yang ditunjukkan dengan reaksi laktosa negatif. Berdasarkan hasil uji biokimia pada tabel 1 maka bakteri tersebut merupakan isolat murni *Aeromonas hydrophila*.

#### 5.1.4 Hasil Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

Pengamatan hasil uji MIC dilakukan dengan pengamatan secara visual yaitu dengan melihat keruh/jernihnya larutan dan juga dilakukan pengamatan menggunakan alat spektrofotometer untuk melihat nilai absorbansi atau *optical density* (OD) larutan. Hasil uji MIC secara visual terdapat dalam tabel 2.

**Tabel 2. Pengamatan Hasil Uji MIC Secara Visual**

Konsentrasi perasan lengkuas	Ulangan		
	1	2	3
100%	keruh	keruh	keruh
50%	keruh	keruh	keruh
25%	jernih	jernih	jernih
12,5%	jernih	jernih	jernih
6,25%	jernih	jernih	jernih
3,125%	jernih	jernih	jernih
1,56%	jernih	jernih	jernih
0,78%	jernih	jernih	jernih
0,39%	jernih	jernih	jernih
Kontrol negatif	jernih	jernih	jernih
Kontrol positif	keruh	keruh	keruh

Pengamatan hasil uji MIC secara visual (tabel 2) menunjukkan bahwa larutan pada konsentrasi 0,39 - 25% dan kontrol negatif jernih, sedangkan pada konsentrasi 50% - 100% dan kontrol positif keruh.

**Tabel 3. Hasil Uji MIC Dengan Spektrofotometer**

Konsentrasi perasan lengkuas	Rata-rata Nilai OD
100%	0,861 <sup>a</sup>
50%	0,808 <sup>ab</sup>
25%	0,758 <sup>b</sup>
12,5%	0,612 <sup>c</sup>
6,25%	0,368 <sup>d</sup>
3,125%	0,199 <sup>e</sup>
1,56%	0,073 <sup>f</sup>
0,78%	0,038 <sup>f</sup>
0,39%	0,021 <sup>f</sup>
Kontrol negatif	0,018
Kontrol positif	0,919

Keterangan: superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0,05$ )

Hasil uji MIC dengan spektrofotometer menunjukkan bahwa hasil tertinggi diperoleh pada konsentrasi 100% yang tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 50%, sedangkan konsentrasi 50% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 25%. Hasil uji MIC dengan spektrofotometer terdapat dalam tabel 3. Hasil pengamatan secara visual dapat diketahui bahwa daya hambat perasan rimpang lengkuas dimulai pada konsentrasi 0,39% (tabel 3). Hal ini dapat diketahui dari larutan yang mulai terlihat jernih. Hasil analisis uji F menunjukkan bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel}$  ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa tiap perlakuan mempunyai pengaruh yang sangat berbeda dalam menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*. Hasil analisis uji F terdapat dalam lampiran 1. Setelah uji F, untuk mengetahui perlakuan mana yang memberikan pengaruh terbaik maka dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan. Hasil analisis uji Jarak Berganda Duncan menunjukkan bahwa hasil tertinggi diperoleh pada konsentrasi 100% yang tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 50%, sedangkan konsentrasi 50% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 25%. Hasil analisis uji Jarak Berganda Duncan terdapat dalam lampiran 2.

### 5.1.5 Hasil Uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC)

Pengamatan hasil uji MBC dilakukan dengan melihat tumbuh/tidaknya koloni bakteri pada media TSA. Hasil uji MBC terdapat dalam tabel 4. Hasil uji MBC pada tabel 4 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 50%, 100% dan kontrol positif pada media TSA tidak tumbuh bakteri, sedangkan pada konsentrasi 0,39% sampai 25% dan kontrol negatif pada media TSA tumbuh bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 50% dan 100% perasan rimpang lengkuas mempunyai daya bunuh terhadap bakteri, sedangkan pada konsentrasi 0,39% sampai konsentrasi 25% perasan rimpang lengkuas tidak mempunyai daya bunuh terhadap bakteri tetapi hanya mempunyai daya hambat. Uji *Chi-square* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada kedua konsentrasi (konsentrasi 100% dan 50%). Dengan demikian maka pada konsentrasi 100% dan 50% mempunyai perbedaan yang nyata dalam membunuh bakteri (bakterisidal). Hasil uji MBC terdapat dalam lampiran 3.

**Tabel 4. Pengamatan Hasil Uji MBC Secara Visual**

Konsentrasi perasan lengkuas	Ulangan		
	1	2	3
100%	-	-	-
50%	-	-	-
25%	+	+	+
12,5%	+	+	+
6,25%	+	+	+
3,125%	+	+	+
1,56%	+	+	+
0,78%	+	+	+
0,39%	+	+	+
Kontrol positif	-	-	-
Kontrol negatif	+	+	+

Keterangan:

-: tidak tumbuh bakteri

+: tumbuh bakteri

## 5.2 Pembahasan

Pada saat uji pewarnaan, sediaan bakteri berwarna merah. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut tergolong bakteri Gram negatif. Pelczar dan Chan (1986) menyatakan bahwa jika pada saat pewarnaan sediaan bakteri berwarna merah maka termasuk bakteri Gram negatif, sedangkan jika pada saat pewarnaan sediaan bakteri berwarna ungu gelap maka termasuk bakteri Gram positif. Perbedaan pewarnaan ini disebabkan dinding sel bakteri Gram positif berbeda dengan dinding sel bakteri Gram negatif. Zat warna gentian violet terperangkap antara dinding sel dan membran sitoplasma organisme Gram positif, sedangkan penyingkiran zat lipid dari dinding sel organisme Gram negatif dengan pencucian alkohol memungkinkan zat warna gentian violet dapat disingkirkan dari sel (Volk dan Wheeler, 1993).

Bakteri Gram negatif mempunyai kadar lipid yang tinggi (20%) di dalam dinding selnya. Lipid ini larut selama pencucian dengan alkohol. Pori-pori pada dinding sel membesar sehingga zat warna yang sudah diserap mudah dilepaskan dan bakteri menjadi tidak berwarna. Selain itu bakteri Gram negatif mempunyai lapisan peptidoglikan yang tipis, hanya 1-2 bagian dan susunan dinding sel tidak kompak. Permeabilitas dinding sel lebih besar sehingga masih memungkinkan terlepasnya zat warna gentian violet (Syahrurachman *dkk.*, 1994).

Bakteri Gram positif mengalami denaturasi protein pada dinding selnya oleh pencucian dengan alkohol. Protein menjadi lebih keras dan beku, pori-pori mengeras sehingga zat warna gentian violet dipertahankan dan sel kuman tetap berwarna ungu. Sel melepaskan zat warna gentian violet setelah dicuci dengan alkohol. Jadi, dinding sel menahan keluarnya zat warna gentian violet. Selain itu

juga ditentukan oleh tebal tipisnya lapisan peptidoglikan dalam dinding sel. Bakteri Gram positif mempunyai susunan dinding sel yang kompak dengan lapisan peptidoglikan yang terdiri dari 30 lapisan sehingga permeabilitasnya kurang dan zat warna gentian violet yodium tidak dapat keluar (Syahrurachman *dkk.*, 1994).

Hasil uji biokimia pada tabel 1 menunjukkan sifat-sifat *Aeromonas hydrophila*. Menurut Departemen Kelautan dan Perikanan (2005), Popoff (1994) dan Aoki (1999), *Aeromonas hydrophila* mampu memfermentasi sukrosa dan tidak mampu memfermentasi laktosa (Aoki, 1999). Selain itu juga mampu menghasilkan gas (Popoff, 1994), memproduksi indol, bersifat motil (Departemen Kelautan dan Perikanan, 2005; Austin dan Austin, 1999, Popoff, 1994) dan mampu mendegradasi darah ( $\beta$ - hemolisin) (Aoki, 1999; Austin dan Austin, 1999). Berdasarkan identifikasi tersebut maka dapat dikatakan bahwa bakteri tersebut merupakan isolat murni bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Hasil uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) menunjukkan bahwa media mulai jernih pada konsentrasi 0,39%, sedangkan media keruh pada konsentrasi 50% dan 100%. Taslihan *dkk.* (2001) menyatakan bahwa apabila media jernih berarti antibiotik efektif menghambat pertumbuhan bakteri (sifat bakteristatik), sedangkan apabila media keruh maka bakteri masih tumbuh yang berarti antibiotik tidak efektif. Namun, hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 50% dan 100% yang seharusnya jernih tetap keruh, sedangkan pada konsentrasi rendah (0,39% - 25%) jernih.

Kekeruhan yang terjadi disebabkan karena larutan perasan rimpang lengkuas tidak dapat larut sempurna dengan air. Hal ini disebabkan karena adanya

gugus fungsi hidrokarbon yang non polar pada rimpang lengkuas (Rahayu dkk., 2002). Molekul hidrokarbon yang non polar tidak melarut dalam air sehingga molekul air menjadi lebih tersusun di sekitar molekul hidrokarbon (Nogrady, 1992). Dengan demikian maka semakin tinggi konsentrasi maka semakin banyak molekul hidrokarbon non polar yang terdapat di dalamnya sehingga semakin sulit larut dengan air dan sebaliknya semakin rendah konsentrasi maka semakin sedikit molekul hidrokarbon non polar yang terdapat di dalamnya sehingga lebih mudah melarut dengan air. Hal ini juga disebabkan karena adanya tingkat kepekatan yang tinggi pada perasan rimpang lengkuas.

Selain pengamatan secara visual, juga dilakukan pengukuran kekeruhan larutan dengan spektrofotometer untuk mengetahui nilai absorpsi atau *optical density* (OD). Berdasarkan pengamatan secara visual, media mulai jernih pada konsentrasi 0,39% dengan nilai OD rata-rata sebesar 0,021, sedangkan media mulai keruh pada konsentrasi 50% dan 100% dengan nilai OD rata-rata sebesar 0,861 dan 0,808. Benson (2002) menyatakan bahwa ada hubungan sebanding antara jumlah sel bakteri dengan absorpsi (OD). Dengan demikian maka semakin jernih media maka nilai OD juga semakin rendah dan sebaliknya semakin keruh media maka nilai OD juga semakin tinggi. Hal ini disebabkan karena nilai OD yang terbaca spektrofotometer merupakan nilai banyaknya partikel yang terserap oleh spektrofotometer, dalam hal ini adalah partikel-partikel dari perasan rimpang lengkuas dan partikel dari bakteri *Aeromonas hydrophila*. Namun, hasil pada penelitian menunjukkan bahwa kekeruhan tersebut lebih banyak disebabkan oleh banyaknya partikel dari perasan rimpang lengkuas.

Uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) secara visual menunjukkan bahwa konsentrasi 100% dan 50% pada media TSA tidak tumbuh koloni bakteri, sedangkan pada konsentrasi 25% sampai 0,39% tumbuh koloni bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa perasan rimpang lengkuas mempunyai daya bunuh terhadap *Aeromonas hydrophila* pada konsentrasi 100% dan 50%. Taslihan *dkk.* (2001) menyatakan bahwa apabila pada media agar terdapat pertumbuhan bakteri berarti antibiotik hanya efektif menghambat pertumbuhan bakteri (sifat bakteristatik), sedangkan apabila tidak terdapat pertumbuhan bakteri maka antibiotik efektif membunuh bakteri (bakterisidal). Uji *Chi-square* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada kedua konsentrasi (konsentrasi 100% dan 50%). Dengan demikian maka pada konsentrasi 100% dan 50% mempunyai perbedaan yang nyata dalam membunuh bakteri (bakterisidal).

Antibiotik pada umumnya mengeluarkan efek bakterisidal atau bakteristatik pada organisme yang rentan dengan menghambat sintesis dinding sel, merusak membran sitoplasma, menghambat biosintesis protein dan menghambat sintesis asam nukleat (Volk dan Wheeler, 1993).

Perasan rimpang lengkuas mempunyai daya hambat dan daya bunuh terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* karena mengandung minyak atsiri antara lain alkohol (Bisset and Wichtl, 2001), senyawa fenol termasuk flavonoid dan deterjen yang bersifat bakterisidal (Mutschler, 1991).

Mutschler (1991) menyatakan bahwa alkohol bersifat antibakteri Hal ini disebabkan karena alkohol dapat merusak membran bakteri yang mengakibatkan cepat hilangnya kandungan sitoplasma bakteri. Pada kadar tinggi, alkohol menyebabkan lisis (terlarutnya) sel bakteri (Nogrady, 1992).

Mutschler (1991) menyatakan bahwa senyawa fenol bersifat antibakteri. Senyawa fenol mempunyai daya bunuh karena fenol mempresipitasikan protein secara aktif, dan selain itu juga merusak membran sel dengan cara menurunkan tegangan permukaan (Syahrurachman *dkk.*, 1994). Fenol juga merupakan desinfektan ampuh karena tidak hanya merusak protein tetapi juga bekerja sebagai deterjen karena kepolaran gugus hidroksil pada fenol. (Nogrady, 1992). Deterjen merupakan senyawa organik karena strukturnya dapat berikatan dengan air dan dengan molekul-molekul organik non polar. Deterjen mempunyai satu ujung hidrofilik yang dapat bercampur dengan air dan satu ujung hidrofobik yang tidak dapat bercampur dengan air (lipofilik), sehingga molekul deterjen menempel pada permukaan bahan organik dengan ujung hidrofobik mengarah ke air. Kedua gugus deterjen ini akan merusak membran sel dan dapat membunuh sel (Syahrurachman *dkk.*, 1994).

Flavonoid merupakan senyawa fenol bekerja dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri. Denaturasi protein menyebabkan aktivitas metabolisme sel terhenti karena berhentinya semua aktivitas metabolisme berakibat pada kematian sel bakteri (Nogrady, 1992).

Kandungan kimia lain bukan sebagai antibakteri, seperti sesquiterpen hidrokarbon yang bersifat antimalaria (Colegate, 1993 *dalam* Yuharmen, 2002), galangol yang mengandung *diarylheptanoid* yang menyebabkan rasa pedas (Achyad dan Rasyidah, 2000), terpenoid yang bersifat antitumor (Itokawa, 1993 *dalam* Yuharmen, 2002) dan eugenol yang bersifat antifungi (Soeratri *dkk.*, 2005).

**BAB VI**

**KESIMPULAN DAN SARAN**

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1 Kesimpulan

1. Perasan rimpang lengkuas mempunyai daya hambat dan daya bunuh terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*
2. Konsentrasi minimal perasan rimpang lengkuas yang mempunyai daya bunuh terhadap *Aeromonas hydrophila* dengan dosis infeksi  $10^6$  CFU/ml adalah 50% (0,835 gram rimpang lengkuas/ml Pz)

#### 6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian tentang daya antibakteri perasan rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) dengan konsentrasi berbeda terhadap *Aeromonas hydrophila* secara *in vivo*.

## DAFTAR PUSTAKA

## DAFTAR PUSTAKA

- Achyad, D.F. dan R. Rasyidah. 2000. LENGKUAS (*Alpinia galanga* Stuntz). [www.asiamaya.com](http://www.asiamaya.com).
- Agustatik, S. 2004. Rekayasa Teknologi Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan TA 2003. *Dalam*: Laporan Tahunan Proyek Pengembangan Rekayasa Teknologi Loka Budidaya Laut Batam Tahun Anggaran 2003. Departemen Kelautan dan Perikanan. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Loka Budidaya Laut Batam. Batam.
- Aoki, T. 1999. Motil Acromonads (*Aeromonas hydrophila*). *Dalam*: Woo, P.T.K and D.W Bruno. 1999. Fish Disease and Disorders Volume 3 Viral, Bacterial and Fungal Infection. CABI Publishing. New York.
- Austin, B. and D.A. Austin. 1999. Bacterial Fish Pathogens : Diseases Of Farmed And Wild Fish. Praxis Publishing. United Kingdom.
- Baron, E.J., L.R. Peterson and S. M. Finegold. 1994. Diagnostic Microbiology 9<sup>th</sup> Edition. Mossy Year Book, Inc. St.Louis.Missouri.
- Benson, H.J.2002. Microbiological Applications Laboratory Manual In General Microbiology Eight Edition. Pasadena City College. Pasadena.
- Bisset, N.G and M.Wichtl. 2001. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals Second Edition. Medpharm Scientific Publishers. Germany.
- Chaisawadi, S., D.Thongbute, W. Methawiriyasilp, N. Pitakworarat, A. Chaisawadi, K. Jaturonrasamee, J. Khemkhaw and W. Tanuthumchareon. 2006. Preliminary Study Of Antimicrobial Activities On Medicinal Herbs Of Thai Food Ingredients. [www.tropilab.com](http://www.tropilab.com).
- Departemen Kelautan dan Perikanan. 2005. Pemeriksaan Penyakit Ikan Golongan Bakteri Stasiun Karantina Ikan Kelas I Tanjung Perak Surabaya. Departemen Kelautan dan Perikanan. Surabaya.
- Gandasoebrata, R. 2004. Penuntun Laboratorium Klinik. Penerbit Dian Rakyat. Jakarta.
- Gillespie, S.H. 1994. Medical Microbiology Illustrated. Butterworth-Heineman. London.
- Jawetz, E., L.M. Joseph and A.A. Edward. 1984. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. EGC Buku Kedokteran. Jakarta.
- Mutschler, E. 1991. Dinamika Obat Buku Ajar Farmakologi Dan Toksikologi Edisi Kelima. Penerbit ITB. Bandung.

- Nogrady, T. 1992. Kimia Medisinal Pendekatan Secara Biokimia Terbitan Kedua. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Pelzcar, M. J and E.C.S. Chan. 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Popoff, M. 1994. *Aeromonas* Kluver And Van Niel 1936, 398. In: Krieg, N.R. And J.G. Holt. Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology Volume I. Williams And Wilkins. London.
- Purbowati, T.E. 2004. Daya Antibakteri Ekstrak Dan Jambu Biji (*Psidium guajava*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Secara Invitro. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Rahayu, W.P., S. Fardiaz dan L. Darusman. 2002. Aktivitas Dan Produksi Komponen Antimikroba Dari Rimpang Lengkuas. Jurusan Teknologi Pangan Dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rahman, S. 2002. Lengkuas Merah: Mengobati Bronkhitis, Diare, hingga Ejakulasi Dini. [www.kompas.com/kesehatan/news/0210/22/211733.htm](http://www.kompas.com/kesehatan/news/0210/22/211733.htm)
- Qosimah, D. 2005. Daya Antibakteri Perasan Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara Invitro. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Roberts, R.J. 1989. Fish Pathology Second Edition. Baillere Tindal. England. United Kingdom.
- Rochiman, K. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Rusfian, S.L., S. Laga dan M.Aola H.M. Desiminisasi Pembesaran Ikan Kerapu Macan di Keramba Jaring Apung. Dalam: Laporan Tahunan Proyek Pengembangan Rekayasa Teknologi Loka Budidaya Laut Batam Tahun Anggaran 2003. Departemen Kelautan dan Perikanan. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Loka Budidaya Laut Batam. Batam.
- Saparinto, C. 2002. Pemakaian Antibiotik Dilarang Dalam Budidaya Ikan dan Udang. [www. Agritekno.tripod](http://www.Agritekno.tripod).
- Sinaga, E. 2006. *Alpinia galanga* (L.) Willd. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tumbuhan Obat UNAS/ P3TO UNAS)
- [www.buddy.com](http://www.buddy.com). 2000. *Aeromonas hydrophila*. [www.buddy.com](http://www.buddy.com).
- [www.gourmetsleuth.com](http://www.gourmetsleuth.com). 2002. *Alpinia galanga*. [www.gourmetsleuth.com](http://www.gourmetsleuth.com)

- www.republika.co.id. 2005. Sambiloto Lindungi Ikan Air Tawar dari Serangan Bakteri. www.republika.co.id
- Skinner. 1996. *Alpinia galanga* (L.) Sw. <http://plants.usda.gov>.
- Socratri, W., R.D. Yuliani, N. Ifansyah dan Isnaeni. 2005. Aktivitas Krim Fungi Minyak Atsiri Lengkuas [*Alpinia galanga* (L.) Swartz ] Terhadap *Candida albicans*. Majalah Farmasi Airlangga V,1.
- Stoskopf, M.K. 1993. Fish Medicine. W.B Saunders Company. Mexico.
- Subjakto, S. M. Murdjani. Y. Lestari N., G. Triastutik, B.Hanggono, Didik BN and D.Yulianan P. 2004. Active Surveillance Operasional Penanggulangan Hama Penyakit Di Banyuwangi. Bagian Proyek Pembangunan Masyarakat Pantai Dan Pengelolaan Sumber Daya Perikanan (PMP2SP) Banyuwangi 2004 Bekerja Sama Dengan Balai Budidaya Air Payau Situbondo. Banyuwangi.
- Syahrurachman, A., A.Chatim, A. Soebandrio W.K., A.Karuniawati dan A.U.S. Santoso. 1994. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi. Binarupa Aksara. Jakarta.
- Taslihan, A., S.M. Astuti, E.M. Nur dan Zari'ah. 2001. Petunjuk Umum Cara Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Dari Air, Udang dan Ikan Di Air Payau. Balai Budidaya Air Payau Jepara. Jepara.
- Taw, N. 1990. Petunjuk Pemeliharaan Kultur Murni Dan Massal Mikroalga. Diterjemahkan: Budiono Martosudarmo Dan Indah Wulani. Proyek Pengembangan Budidaya Udang. United Nations Development Programme. Food And Agriculture Organization Of The United Nations.
- Volk, W.A and M.F Wheeler. 1993. Mikrobiologi Dasar. Alih Bahasa: Markham. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Wakita, K, K. Yuasa, N. Panigoro, M. Bahnan, Salfira, I. Astuti dan E.B Kholidin. 2005. Collected Cases of Fish Diseases in Sumatra, Indonesia during 2002 – 2004. Freshwater Aquaculture Development Center Jambi. Directorate General of Agriculture. Ministry of Marine Affairs and Fisheries, Indonesia and Japan International Cooperation Agency. Jambi.
- Wistreich, G.A. 2003. Microbiology Laboratory Fundaments And Applications. Pearson Education Inc. Los Angeles.
- Widiyastuti. 2005. Gambaran Histopatologi Intestinum Ikan Mas (*Cyprinus Carpio* Linn.) Setelah Pemberian Probiotik dan Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.

- Yolanda. 2005. Gambaran Histopatologi Insang Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linn.) Yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila* Setelah Diberi Probiotik. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Yuharmen, Y. Eryanti dan Nurbalatif. 2002. Uji Aktifitas Antimikroba Minyak Atsiri Dan Ekstrak Metanol Lengkuas (*Alpinia galanga*). Jurusan Kimia. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Riau. Riau.

LAMPIRAN

**Lampiran 1. Hasil Analisis Variansi (Anava) Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)**

Hasil pengamatan spektrofotometer

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
1	0,791	0,863	0,929	2,583	0,861
2	0,720	,0,838	0,867	2,425	0,808
3	0,663	0,775	0,835	2,273	0,758
4	0,575	0,608	0,653	1,836	0,612
5	0,294	0,402	0,407	1,103	0,368
6	0,161	0,222	0,213	0,596	0,199
7	0,096	0,077	0,045	0,218	0,073
8	0,072	0,023	0,019	0,114	0,038
9	0,014	0,022	0,026	0,062	0,021
10	0,005	0,020	0,028	0,053	0,018
11	0,885	0,933	0,940	2,758	0,919
Total				14,021	

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{(14,021)^2}{11 \times 3} = 5,9572$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total} &= (0,791)^2 + (0,863)^2 + \dots + (0,940)^2 - \text{FK} \\ &= 10,167327 - 5,9572 \\ &= 4,210127 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan} &= \frac{(2,583)^2 + (2,425)^2 + \dots + (2,758)^2}{3} - \text{FK} \\ &= 10,11183367 - 5,9572 \\ &= 4,154633667 \end{aligned}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Sisa} = 4,210127 - 4,154633667 = 0,055493333$$

$$\text{Kuadrat Tengah Perlakuan} = \frac{4,154633667}{10} = 0,415463366$$

$$\text{Kuadrat Tengah Sisa} = \frac{0,055493333}{22} = 0,00252242$$

$$F \text{ hitung} = \frac{0,415463366}{0,00252242} = 164,7082429$$

Tabel Sidik Ragam

Sumber keragaman	d.b	JK	KT	Fhit	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	10	4,154633667	0,415463366	164,7082429**	2.30	3.26
Sisa	22	0,055493333	0,00252242			
Total	32	4,210127				

F hitung > F tabel menunjukkan tiap perlakuan mempunyai pengaruh yang sangat berbeda dalam menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*

## Lampiran 2. Hasil Analisis Uji Jarak Berganda Duncan

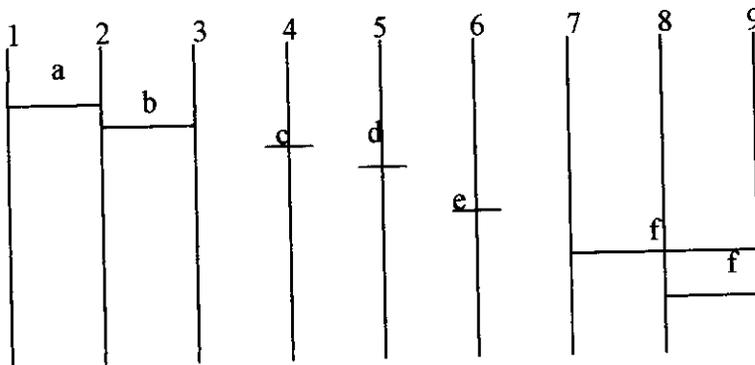
### Uji Jarak Berganda Duncan

Titik Kritis:  $t-1 = 11-1 = 10$

$$s.e = \sqrt{KTS/n} = \sqrt{0,00252242/3} = 0,028996666$$

$$LSR = SSR \times s.e$$

### Penentuan Superskrip dari Uji Jarak Berganda Duncan



**Hasil Analisis Uji Jarak Berganda Duncan (Lanjutan)**

Perla- kuan	Rata- rata ( $\bar{x}$ )	Beda									p	SSR	LSR
		( $\bar{x}$ -9)	( $\bar{x}$ -8)	( $\bar{x}$ -7)	( $\bar{x}$ -6)	( $\bar{x}$ -5)	( $\bar{x}$ -4)	( $\bar{x}$ -3)	( $\bar{x}$ -2)				
1(100%)	0,861a	0,840*	0,823*	0,788*	0,662*	0,493*	0,249*	0,103*	0,053		9	3,40	0,099
2(50%)	0,808ab	0,787*	0,770*	0,735*	0,609*	0,440*	0,196*	0,05			8	3,38	0,098
3(25%)	0,758b	0,737*	0,720*	0,685*	0,559*	0,390*	0,146*				7	3,36	0,097
4(12,5%)	0,612c	0,591*	0,574*	0,539*	0,413*	0,244*					6	3,33	0,097
5(6,25%)	0,368d	0,347*	0,330*	0,295*	0,169*						5	3,29	0,095
6(3,125%)	0,199e	0,178*	0,161*	0,126*							4	3,25	0,094
7(1,56%)	0,073f	0,052	0,035								3	3,18	0,092
8(0,78%)	0,038f	0,017									2	3,09	0,090
9(0,39%)	0,021f	0,003									1	2,94	0,085

Lampiran 3. Hasil Analisis *Chi-Square* Uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC)

Tabel Frekuensi Pengamatan

Konsentrasi perasan rimpang lengkuas	<i>Aeromonas hydrophila</i>		Total
	Tidak tumbuh	Tumbuh	
100%	3	0	3
50%	3	0	3
25%	0	3	3
12,5%	0	3	3
6,25%	0	3	3
3,125%	0	3	3
1,56%	0	3	3
0,78%	0	3	3
0,39%	0	3	3
Total	6	21	27

Penghitungan frekuensi harapan

$$\text{Tidak tumbuh} = \frac{3}{27} \times 6 = 0,67$$

$$\text{Tumbuh} = \frac{3}{27} \times 21 = 2,33$$

Tabel Frekuensi Pengamatan dan Frekuensi Harapan

Konsentrasi perasan rimpang lengkuas	Frekuensi	<i>Aeromonas hydrophila</i>		Total
		Tidak tumbuh	Tumbuh	
100%	pengamatan	3	0	3
	harapan	0,67	2,33	3
50%	pengamatan	3	0	3
	harapan	0,67	2,33	3

$$\begin{aligned}
 \text{derajat bebas (db)} &= (\text{banyak baris}-1)(\text{banyak lajur}-1) \\
 &= (9-1)(2-1) \\
 &= 8
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Penghitungan Chi-square } (x^2) &= \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i} \\
 &= \frac{(3 - 0,67)^2}{0,67} + \frac{(0 - 2,33)^2}{2,33} + \frac{(3 - 0,67)^2}{0,67} + \frac{(0 - 2,33)^2}{2,33} \\
 &= 20,86
 \end{aligned}$$

$$x^2 \text{ tabel} = 15,507$$

$x^2 (21) > x^2 \text{ tabel}$  berarti terdapat perbedaan yang nyata pada kedua perlakuan



**Gambar 4** Gambar Hasil Uji *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* dan



Hasil Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)



Hasil Uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC)