

Lampiran 1. Ekstraksi Daun Sambung Nyawa



Pengeringan daun sambung nyawa



Serbuk daun sambung nyawa



Maserasi serbuk daun sambung nyawa

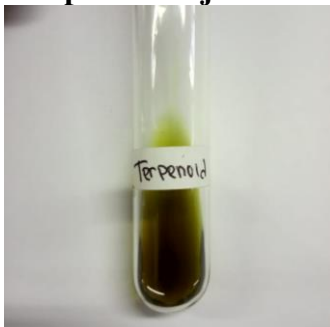


Proses evaporasi bahan



Ekstrak daun sambung nyawa berupa pasta

Lampiran 2. Uji Fitokimia



Hasil uji terpenoid



Hasil uji flavonoid



Hasil uji alkaloid



Hasil uji tanin

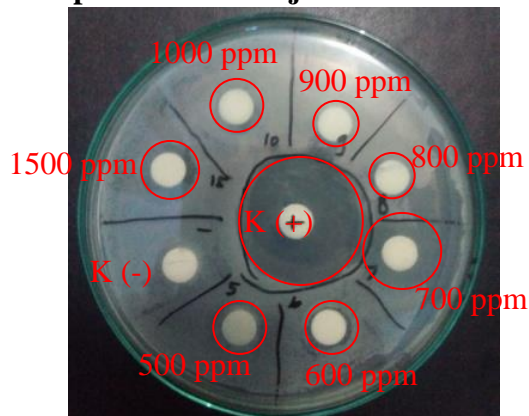


Hasil uji saponin

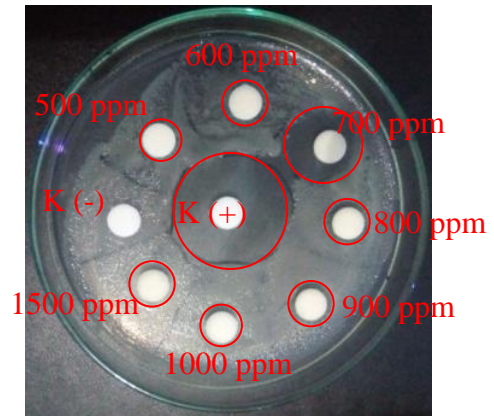


Hasil uji steroid

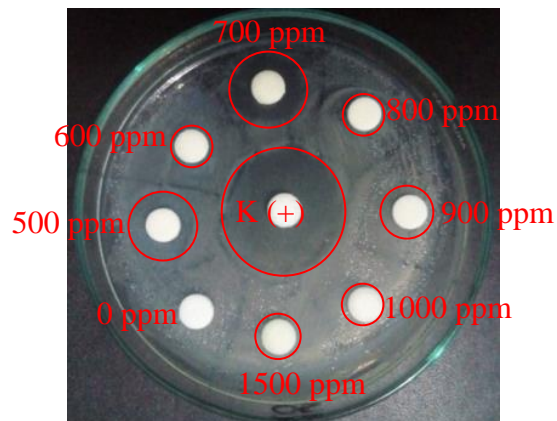
Lampiran 3. Hasil Uji Zona Hambat



Ulangan 1

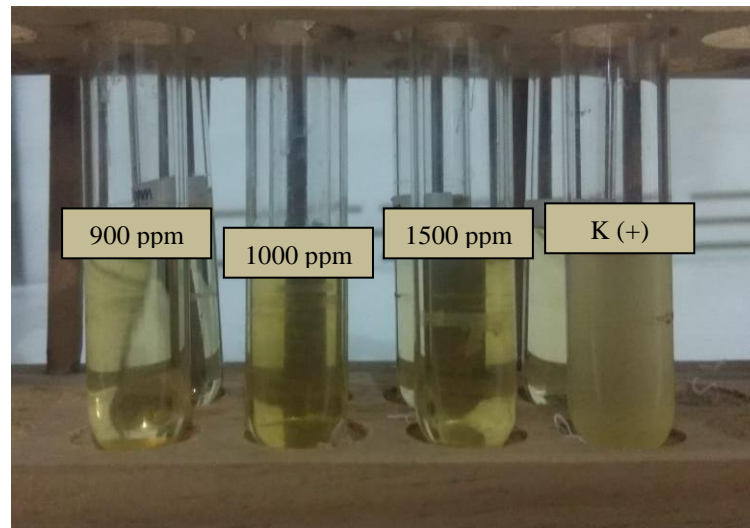
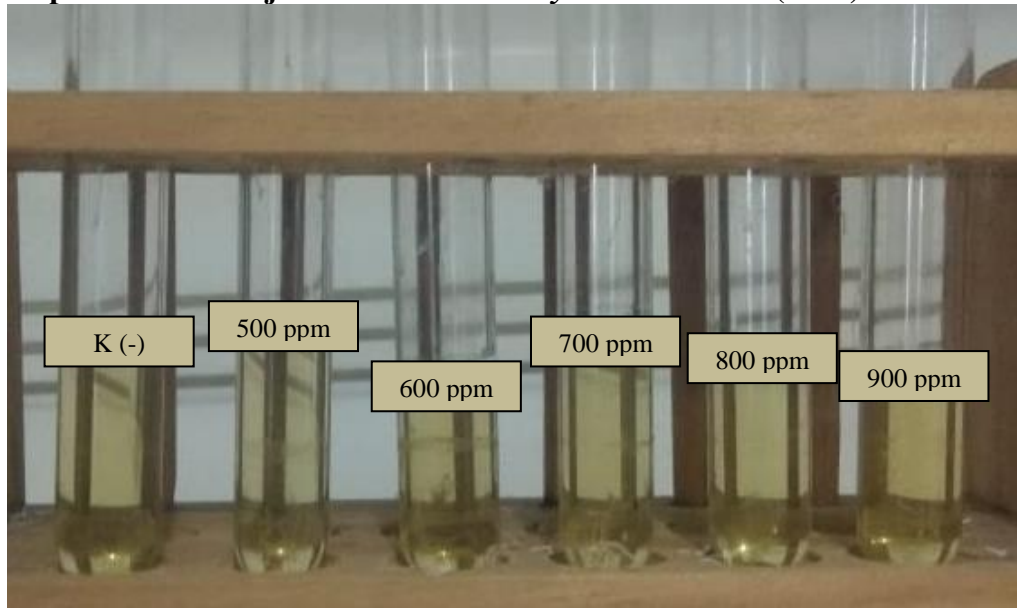


Ulangan 2



Ulangan 3

Lampiran 4. Hasil Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)



Lampiran 5. Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)



Penetasan kista *Artemia* sp.



Pengujian *Artemia* sp. di dalam media dengan penambahan ekstrak

Lampiran 6. Uji *In Vivo*



Pencampuran ekstrak dengan pakan dan penjemuran



Sortasi ikan uji



Pemeliharaan ikan uji



Eksoptalmia ikan uji



Haemoragi pada sirip dan pangkal ekor



Haemoragi pada tutupan insang

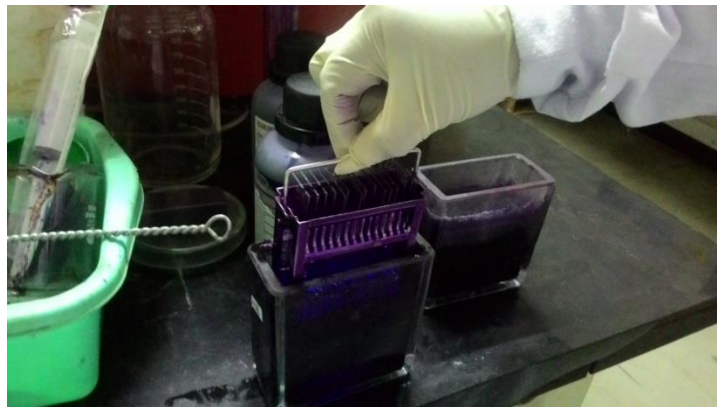


Ikan uji mati

Lampiran 7. Uji Hematologi dan Histopatologi



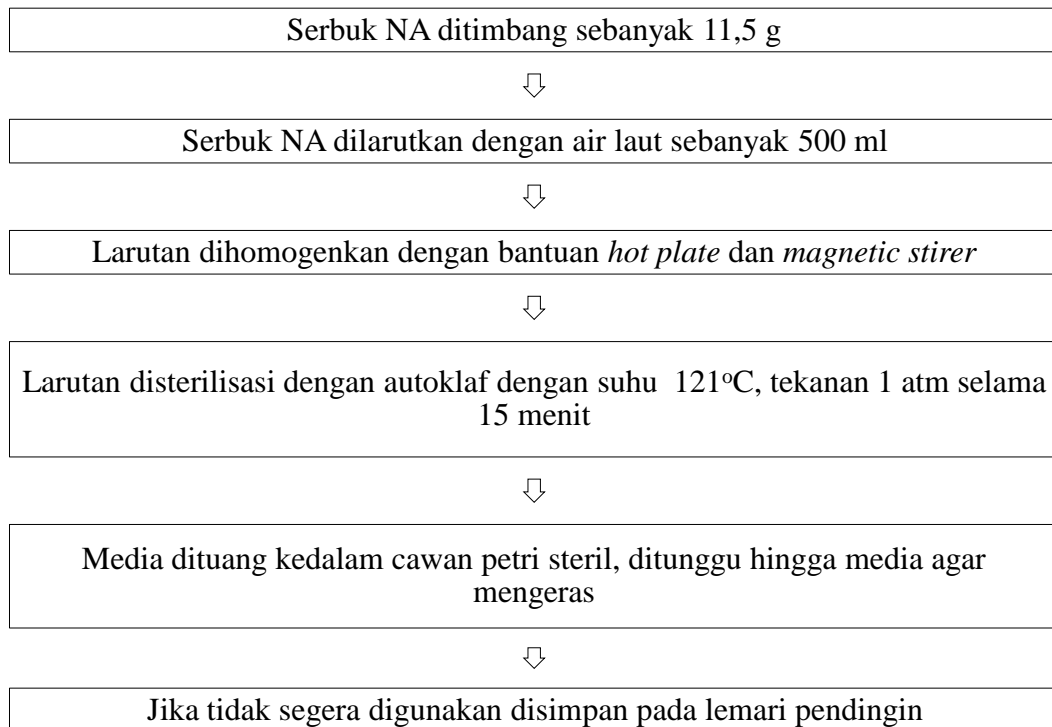
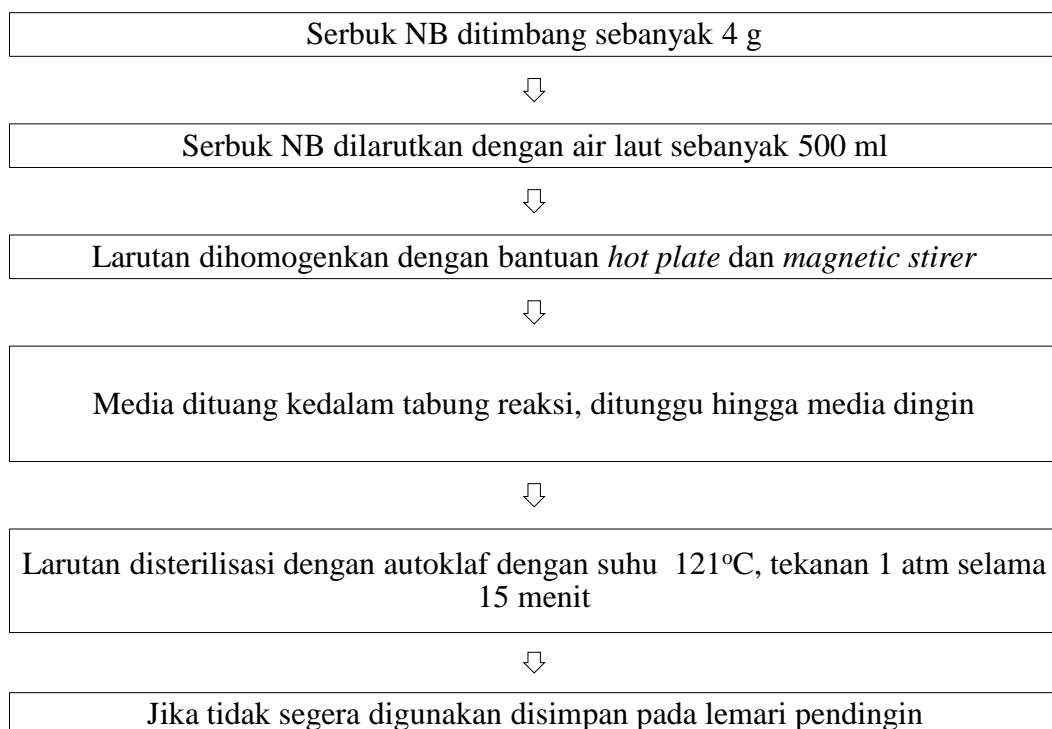
Pengambilan sampel darah



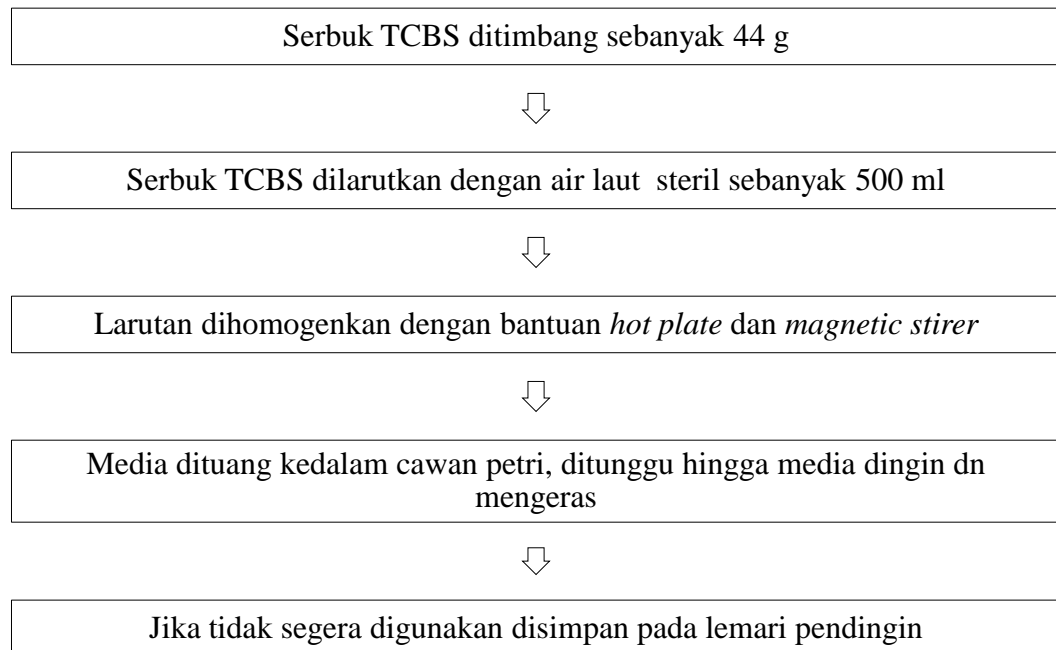
Pewarnaan ulasan darah



Penmotongan sampel uji histopatologi

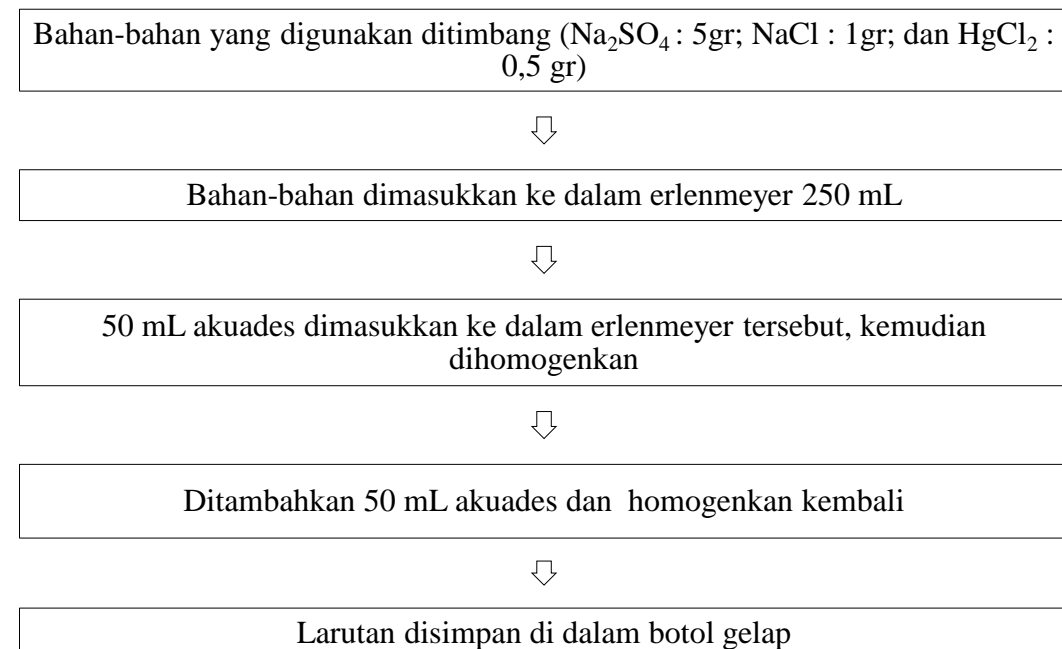
Lampiran 8. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)**Lampiran 9. Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)**

Lampiran 10. Pembuatan Media *Thiosulfate Citrat Bile Salt Sucrose* (TCBS)



Lampiran 11. Pembuatan Larutan Hayem

Larutan hayem berfungsi untuk mengencerkan darah dan melisiskan leukosit dan trombosit sehingga memudahkan dalam penghitungan eritrosit.



Lampiran 12. Pembuatan Larutan Turk

Larutan Turk berfungsi untuk mengencerkan darah, melisisikan sel darah selain leukosit sehingga memudahkan perhitungan

Asam asetat glacial 2,5% sebanyak 15 mL dimasukkan ke dalam erlenmeyer



Ditambahkan gentian violet sebanyak 1 mL



Ditambahkan akuades sebanyak 475 mL



Dihomogenkan



Larutan disimpan di dalam botol gelap

Lampiran 13. Pembuatan Larutan Giemsa

Giemsa adalah zat warna yang terdiri dari eosin dan metilen azur memberi warna merah muda pada sitoplasma dan methylene blue memberi warna biru pada inti sel. Sehingga memudahkan dalam penghitungan diferensial leukosit. Ketiga jenis zat warna ini dilarutkan dengan metil alkohol dan gliserin.

Untuk membuat larutan giemsa dibutuhkan cairan buffer pH 7,2



Cairan buffer pH 7,2 dibuat dengan cara melarutkan tablet buffer forte kedalam 1000 ml air jernih dan bersih. Cairan buffer ini bisa juga diganti dengan air mineral yang mempunyai pH 7,2 (Aqua)



Larutan Giemsa dibuat dengan melarutkan cairan Giemsa dengan cairan buffer pH 7,2 dengan perbandingan 1:20.

Lampiran 14. Perbandingan Larutan Davidson dan Larutan Formalin 10%

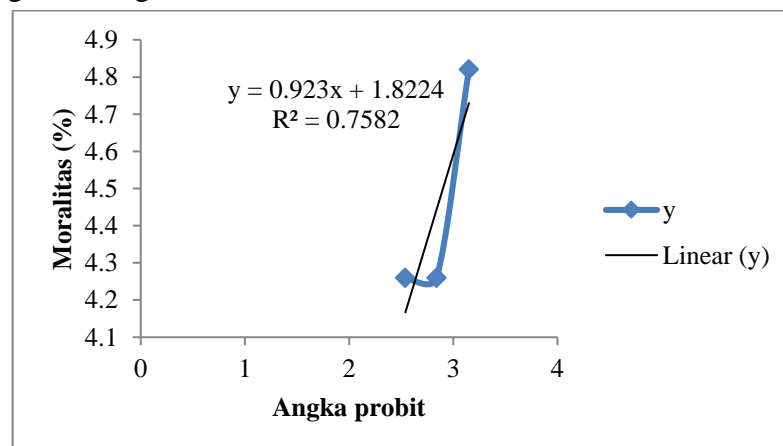
Larutan fiksasi yang digunakan dalam pemeriksaan ini adalah Larutan Davidson, tetapi pada awal saat nekropsi menggunakan formalin 10%. Dalam pemeriksaan histopatologi pada ikan, crustacea, termasuk udang, larutan yang direkomendasikan sebagai larutan fiksatif adalah larutan Davidson yang terdiri atas:

1. Ethanol 95 % 330 ml
2. Formalin 37 % 220 ml
3. Asam Asetat Glasial 115 ml
4. H₂O 335 ml

Sedangkan larutan formalin 10% merupakan campuran dari formaldehid 40% dan akuades dengan perbandingan 1:9. Formalin 10% terutama terdapat dalam bentuk polimer dari formaldehid. Bentuk ini tidak dapat digunakan untuk fiksasi, yang dapat digunakan adalah bentuk monomernya. Untuk menghasilkan formalin dalam bentuk monomer diperlukan waktu, kecuali bila pH larutan dibuat netral atau sedikit alkalis, karena kecepatan depolarisasi tergantung pada pH.

Lampiran 15. Perhitungan Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

1. Data mortalitas *Artemia* sp. dibuat dalam bentuk persen (%).
2. Tentukan log dosis tiap-tiap kelompok.
3. Tentukan nilai probit dari persen mortalitas.
4. Tentukan persamaan garis lurus hubungan antara nilai probit dengan log dosis, $y = m x + b$. Berdasarkan hasil uji pada penelitian ini, diperoleh persamaan garis regresi sebagai berikut.



5. Cari nilai dosis (x) yang dibutuhkan untuk mendapatkan respon (y) yang diinginkan dengan mengganti (y) dengan angka 5. Hal tersebut karena yang dicari adalah LD₅₀, maka respon yang diinginkan adalah kematian sebesar 50% dari total hewan coba. Dalam tabel probit, nilai probit untuk respon sebesar 50% adalah 5. Sehingga diperoleh nilai LD₅₀ untuk uji BSLT ini yaitu 2388 ppm.

Lampiran 16. Uji Statistik Diameter Zona Hambat

ANOVA

mm

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	752.092	7	107.442	250.350	.000
Within Groups	6.867	16	.429		
Total	758.958	23			

Mm

Duncan^a

ppm	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
800 ppm	3	3.3000				
600 ppm	3	3.6000	3.6000			
1000 ppm	3	3.7000	3.7000			
900 ppm	3		4.5667			
1500 ppm	3			6.9667		
500 ppm	3			7.4000		
700 ppm	3				10.4667	
K+	3					21.1333
Sig.		.489	.105	.430	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 17. Uji Statistik Kadar Hematokrit

ANOVA

%

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	175,000	3	58,333	43,750	,000
Within Groups	10,667	8	1,333		
Total	185,667	11			

%

Duncan^a

ppm	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3

350 ppm	3	7,0000		
0 ppm	3		12,0000	
1400 ppm	3			15,3333
700 ppm	3			17,0000
Sig.		1,000	1,000	,115

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 18. Uji Statistik Total Eritrosit

ANOVA

sel/mm3

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	66049147291,6 67	3	22016382430,5 56	17,835	,001
Within Groups	9875455000,00 0	8	1234431875,00 0		
Total	75924602291,6 67	11			

sel/mm3

Duncan^a

ppm	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
700 ppm	3	149333,3333		
350 ppm	3		228450,0000	
0 ppm	3		264416,6667	
1400 ppm	3			355883,3333
Sig.		1,000	,245	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 19. Uji Statistik Total Leukosit

ANOVA

sel/mm3

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	66049147291,6 67	3	22016382430,5 56	17,835	,001

Within Groups	9875455000,00 0	8	1234431875,00 0		
Total	75924602291,6 67	11			

sel/mm3Duncan^a

ppm	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
700 ppm	3	149333,3333		
350 ppm	3		228450,0000	
0 ppm	3		264416,6667	
1400 ppm	3			355883,3333
Sig.		1,000	,245	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.