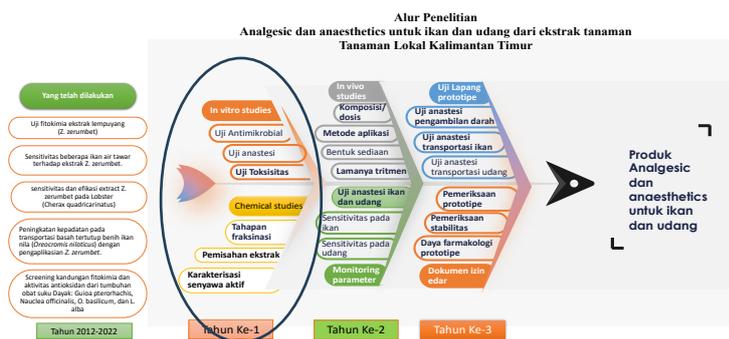


C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian meliputi data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan sesingkat mungkin. Dilarang menghapus/modifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

Penelitian ini terbagi dalam 3 tahapan dan 3 tahun pelaksanaan. Tahun ke-1, berfokus pada uji *in vitro* studies dan uji bahan aktif ekstrak. Tahun ke-2, *in vivo* studies dan uji anestesi terbatas pada ikan dan udang dan Tahun ke-3, uji lapang prototipe, pemeriksaan prototipe, serta penyusunan dokumen izin edar produk.



Gambar 1. Alur penelitian

Tahun pertama (2023) ini menguji 5 jenis tanaman lokal Kalimantan Timur yaitu ekstrak tunggal lempuyang (*Zingiber zerumbet*), ekstrak kayu manis (*Cinnamomum sp.*), ekstrak kemangi (*Ocimum basilicum*), dan ekstrak daun *Lippia alba*, dan ekstrak Kayu kuning (*Nauclea officinalis*). Seluruh tanaman di ambil dari wilayah Kab. Kutai Kartanegara dan Kabupaten Kutai Timur, Kalimantan Timur, pembudidaya merupakan binaan dari Universitas Mulawarman bekerjasama dengan Kalfor Indonesia.

Tahapan kegiatan yang dilakukan adalah untuk mengoptimalkan kerja dari kelima ekstrak sebagai bahan anestesi untuk ikan dan udang, dan membuat formulasi atau gabungan ekstrak sebagai calon prototipe.

1. Pemilihan Bahan Baku

Pemilihan bahan baku yang tepat akan mempengaruhi efikasi ekstrak tanaman pada akuakultur [1,2], berasal dari wilayah tanam Kabupaten Kutai Kartanegara, Kutai Timur dan Paser Kalimantan Timur, waktu tanam Januari-Mei 2022 dan panennya Mei-Juni 2022. Daun dan bunga (*O. basilicum*, dan *L. alba*) ditanam dalam waktu 30-45 hari daun segar dan tidak layu diambil bagian pucuk dan 3 daun kebawah. Rimpang *Z. zerumbet*, dan kulit kayu *Cinnamomum sp.*, dan batang dari *N. officinalis* dipilih yang memiliki tekstur baku padat, warnanya padat, putih kekuningan yang menandakan sudah matang. Batang dari *N. officinalis* yang dipilih berumur 5 bulan dan berwarna segar kehijauan. Keseluruhan bahan baku yang diambil berasal dari wilayah tanam Kabupaten Kutai Kartanegara dan Penajam Paser Utara Kalimantan Timur, diambil dari petani secara langsung. Persyaratan tanaman secara umum untuk dijadikan bahan baku adalah sebagai berikut: [3]

- Tekstur daun berwarna hijau segar, tidak layu.
- Tekstur bahan baku padat atau tidak lembek.
- Tidak busuk, ditandai daun berwarna cerah, rimpang masih keras saat ditekan, kayu manis berbetuk keras dan dapat dipatahkan dengan mudah
- Bentuk daun, batang kayu, kulit kayu, dan rimpang utuh.

Secara umum, diskripsi masing-masing bahan baku yang digunakan adalah sebagai berikut.

1.1. Daun Kemangi (*Ocimum basilicum*)

a. Klasifikasi :

Farmakope [3] menjelaskan klasifikasi, diskripsi dan ciri-ciri tanaman asli Indonesia yang dimanfaatkan sebagai obat-obatan.

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Lamiales
Famili : Lamiaceae
Genus : *Ocimum*
Spesies : *Ocimum basilicum*

b. Deskripsi

Kemangi berasal dari petani di Desa Giri Agung Kecamatan Sebulu Kabupaten Kartanegara dengan titik koordinat 50 M 0508034 – 9976167 pada ketinggian 66 mdpl. Ditanaman selama 1-2 bulan. Pemanenan dilakukan dengan memotong bagian tangkai pohon kemangi, dan yang digunakan pada riset ini adalah bagian daun.

c. Pemerian

- Helai daun bentuk bulat telur hingga lonjong, menggulung, pangkal daun runcing sampai meruncing, permukaan daun agak kasar.
- Tulang daun bentuk menyirip, warna hijau tua.
- Memiliki bau khas, memiliki rasa khas.

d. Gambar Tumbuhan



Gambar 2. Daun Kemangi (*Ocimum basilicum*)

1.2. Lippia Alba

a. Klasifikasi :

Kingdom : Plantae
Divisi : Tracheophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Lamiales
Famili : Verbenaceae
Genus : *Lippia*
Spesies : *Lippia alba*

b. Deskripsi

Tanaman ini berasal dari daerah Desa Jonggon Jaya Kecamatan Loa Kulu Kutai Kartanegara. Merupakan kerabat Verbena, tanaman lippia lebat dibudidayakan sebagai tanaman hias karena bunganya yang cantik dan daunnya yang wangi. Daunnya sangat mirip daun mint dan mengandung minyak atsiri. Bagian yang digunakan dalam penelitian ini adalah, daun, bunga, dan batang.

c. Pemerian

- Daun berbentuk bulat telur hingga bulat telur lebar atau bulat telur-elips.
- Ukurannya biasanya berkisar antara 5 - 24 cm dan lebar 2,5 - 12 cm.
- Pada ujungnya, helaian daun berbentuk lancip hingga runcing (meruncing hingga runcing), sedangkan pada pangkalnya berbentuk berbentuk hati dan tumpul, atau panjang, ramping, dan berbentuk baji.
- Permukaan helaian daun berkerut, tampak melepuh atau berkerut dan kasar. Helaian daun terasa kasar saat disentuh dan mempunyai bulu-bulu yang mungkin lembut, lemah, tipis dan terpisah dengan jelas atau kasar, kasar, panjang dan kusut rapat. Tepi daunnya bergerigi.

d. Gambar Tumbuhan



Gambar 3. Tanaman *Lippia alba*

1.3. Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*)

a. Klasifikasi :

Kingdom : Plantae
Divisi : Tracheophyta
Subdivisi : Spermatophytes
Klad : Angiospermae
Klad : monocots
Klad : commelinids
Ordo : Zingiberales
Famili : Zingiberaceae
Genus : Zingiber
Spesies : *Zingiber zerumbet*

b. Deskripsi

Lempuyang berasal dari petani di Desa Giri Agung Kecamatan Sebulu Kabupaten Kutai Kartanegara dengan titik koordinat 50 M 0508034 – 9976167 pada ketinggian 66 mdpl. Ditanaman selama 3 bulan. Bagian yang digunakan dalam riset ini adalah bagian rimpang lempuyang gajah.

c. Pemerian

- Lempuyang merupakan tanaman semak semusim berbatang semu. Batangnya merupakan perpanjangan pelepah daun yang berbentuk bulat.
- Daun lempuyang mempunyai susunan tunggal berseling, berwarna hijau, berbentuk bulat telur panjang, ujungnya meruncing, dan bagian tepi rata.
- Irisan rimpang bentuk agak membulat sampai membulat, kedua permukaan kasar, tampak serabut, permukaan luar lebih gelap, permukaan dalam tampak batas yang tegas antara bagian korteks dan stele, bekas patahan tidak rata dan berserat.
- Bagian luar berwarna coklat kekuningan sampai berwarna kuning pucat.
- Bau khas, rasa pedas pahit.

d. Gambar Tumbuhan



Gambar 4. *Zingiber zerumbet* (kanan, rimpang Lempuyang segar; kiri, irisan rimpang yang telah dikeringkan)

1.4. Kayu Manis (*Cinnamomi burmannii*)

a. Klasifikasi :

Kingdom : Plantae
(tanpa takson): Angiospermae
(tanpa takson): Magnoliids
Ordo : Laurales
Famili : Lauraceae
Genus : Cinnamomum
Spesies : *C. burmannii*

b. Deskripsi

Kayu manis diambil dari pohon yang ditanam petani di Kabupaten Penajam Paser Utara. Ditanaman selama 3 bulan.

c. Pemerian

- Berupa kulit batang, menggulung, membujur, tebal, pipih atau berupa bekas yang terdiri atas tumpukan beberapa potong kulit yang tergulung membujur, permukaan luar yang tidak bergabus berwarna coklat kekuningan atau coklat sampai coklat kemerahan, bergaris-garis pucat bergelombang memanjang dan garis-garis pendek melintang yang menonjol atau agak berlekuk, yang bergabus berwarna hijau kehitaman atau coklat kehijauan, permukaan dalam warna coklat kemerahan tua sampai coklat kehitaman, bekas patahan tidak rata; warna coklat kekuningan;
- Bau khas; rasa sedikit manis.

d. Gambar Tumbuhan



Gambar 5. Kulit kayu (*Cinnamomi burmannii*)

1.5. Kayu Kuning (*Nauclea officinalis*)

a. Klasifikasi :

Divisi : Tracheophyta
Subdivisi : Spermatophytes
Klad : Angiospermae
Ordo : Gentianales
Famili : Rubiaceae
Subfamili : Cinchonoideae
Tribus : Naucleaeae
Genus : Nauclea
Spesies : *Nauclea orientalis*

b. Deskripsi

Kayu kuning berasal dari petani di Kabupaten Penajam Paser Utara, sering dikenal dengan kayu kuning.

c. Pemerian

- Tumbuhan ini dapat tumbuh setinggi 30 meter memiliki bunga yang berbentuk bulat dan terdapat bunga kecil-kecil yang beraroma harum.
- Bunga akan menjadi buah yang berbentuk bulat, seukuran bola golf dan memiliki rasa pahit.
- Kayunya berwarna kuning, tebal dan dapat menjadi bahan pahat dan pengobatan tradisional.
- Tumbuhan ini juga dikenal sebagai "Bunga Corona" Karena penampilan bunganya yang menyerupai Virus.

d. Gambar Tumbuhan



Gambar 6. Kayu kuning (*Nauclea officinalis*)

2. Proses Ekstraksi dan Pemisahan Ekstraksi

Ekstraksi menggunakan pelarut air dan pelarut ethanol 96%, proses ekstraksi menggunakan alat ekstraksi di Lab. Kimia Kayu Fakultas Kehutanan Unmul, menggunakan metode Hardi et al. [4]. Ekstraksi menggunakan pelarut air dan pelarut ethanol 96%, proses ekstraksi menggunakan alat ekstraksi di Lab. Kimia Kayu Fakultas Kehutanan Unmul, menggunakan metode Hardi et al. [4]. Urutan Langkah-langkah ekstraksi, diantaranya :

a. Pembersihan Bahan Baku

Seluruh bahan baku dibersihkan dari debu, tanah, dan kotoran. Untuk daun dan bunga dilap menggunakan kain.

b. Pencucian Bahan Baku :

- Bahan baku rimpang, dan daun *A. alba* dicuci hingga bersih menggunakan air mengalir untuk membersihkan dari sisa tanah yang masih menempel, kemudian dilakukan dua kali pencucian ulang hingga bahan baku bersih.
- Kulit kayu, kayu, rimpang dibersihkan hingga sudah tidak ada lumpur dan tanah yang menempel.
- Rimpang lempuyang bersih ditandai dengan sudah tidak ada lumpur yang menempel.
- Meniriskan bahan baku kemudian disimpan dalam gudang penyimpanan. Hindari agar bahan baku tidak terkontaminasi langsung dengan tanah atau lantai.
- Melakukan penimbangan bahan baku basah.
- Mencatat berat bahan baku basah pada form kegiatan.

c. Pemotongan Bahan Baku

- Pemotongan hanya dilakukan untuk bahan baku kulit kayu, dan rimpang, sedangkan daun tidak di potong.
- Menyiapkan mesin pemotong otomatis dan bahan baku yang akan dipotong.
- Menyiapkan wadah untuk menampung hasil rajangan di bawah pisau pemotong.
- Melakukan penyesuaian ukuran pisau untuk pemotongan bahan baku dengan ketebalan 0,1 cm.
- Memotong bahan baku menggunakan mesin pemotong sesuai dengan ketebalan yang telah ditentukan.
- Meletakkan bahan baku satu per satu pada base frame mesin pemotong.
- Menekan tuas penggerak sampai irisan keluar dari sela pisau.
- Kumpulkan seluruh hasil rajangan bahan baku dari wadah.
- Lakukan berulang-ulang sampai semua bahan baku selesai dipotong.
- Lepaskan tuas batang penggerak.
- Membersihkan pisau mesin dengan sikat, jika ada sisa bahan tertinggal bersihkan dengan sikat dan/atau lap.
- Lakukan pengisian form kegiatan perajangan bahan baku.
- Bahan baku yang telah diiris dengan ketebalan 0,1 cm selanjutnya ditimbang dan dicatat dalam form kegiatan perajangan bahan baku sebelum dilakukan tahap pengeringan bahan baku.

d. Tahap Pengeringan Bahan Baku

Pengeringan dilakukan dengan menggunakan oven gas dan listrik.

- Pastikan gas dan kabel terpasang pada oven sebelum digunakan.
- Nyalakan saklar ON pada oven dan selanjutnya nyalakan gas.
- Lakukan pengaturan suhu pada tuas pengatur kearah 40 °C.
- Susun irisan bahan baku diatas nampan oven secara merata dan tidak menumpuk.
- Proses pengeringan di dalam oven selama 48 jam hingga kering.
- Bahan baku yang sesuai dengan pengeringan ditandai dengan kadar air bahan baku sisa 10% dan dapat dengan mudah dipatahkan.
- Mengisi form kegiatan pengeringan buah.
- Pengeringan bahan baku dilakukan untuk memperoleh simplisia yang kemudian dapat diproses ke tahap selanjutnya.
- dari 10 kg bahan segar diperoleh 2 kg simplisia kering.



Gambar 7. Proses pengeringan bahan menggunakan oven

e. IPC Bahan Baku Hasil Pengeringan

- Sortir serpihan simplisia yang telah kering berdasarkan hasil pengeringan menjadi tiga grade yaitu grade A, B, dan C.
- Grade A bentuk simplisia utuh dan berukuran besar, seperti bentuk awal sebelum pengeringan.
- Grade B apabila bentuk simplisia berukuran kecil.
- Grade C apabila bentuk simplisia hancur berupa serpihan.
- Grade A dilanjutkan dengan proses blender hingga menjadi serpihan kecil
- Grade B juga dilanjutkan dengan proses blender hingga menjadi serpihan kecil
- Proses selanjutnya hasil blender Grade A dan B dicampur dengan Grade C untuk dilakukan proses selanjutnya.
- Menimbang hasil pengeringan bahan baku yang dihasilkan dan ditulis pada form.
- Tahapan ini menghasilkan serpihan bahan baku kering dengan ukuran yang seragam.

f. Penyortiran Akhir

- Pada tahapan ini, serpihan simplisia kering dimasukkan ke dalam wadah plastik sebanyak 1 kg untuk dilakukan penyimpanan dan berikan gel untuk mengurangi kelembaban.
- Penyimpanan dilakukan dalam suhu ruang sampai akan dilanjutkan proses ekstraksi.
- Mengisi form kegiatan sortasi akhir.
- Tahapan ini menghasilkan serpihan simplisia kering yang
- disimpan dalam kemasan 1 kg yang siap diproses ke tahap maserasi.

g. Meserasi dan Evaporasi

Perendaman dengan etanol 96% dilakukan selama 3 hari, hasil rendaman menunjukkan warna yang berbeda seperti warna tumbuhan segar (Gambar 8 dan 9). Selanjutnya cairan di lakukan evaporasi hingga menjadi ekstrak kental.

- Timbang Kembali serpihan simplisia yang telah dihaluskan.
- Rendam simplisia halus ke dalam etanol 96% dengan perbandingan 1:10, 1 kg serpihan simplisia direndam dalam 1L etanol 96%.
- Perendaman dilakukan dalam wadah jerigen plastik selama 48-72 jam pada suhu ruang, hingga rendaman berwarna coklat.

- Lakukan pengadukan pada rendaman setiap 4-5 jam sekali.
- Penyaringan dilakukan untuk memisahkan antara rendaman dan etanol, selanjutnya cairan dimasukkan ke dalam mesin ekstraktor/Evaporator, dan proses ekstraksi dilakukan selama 6- 8 jam hingga seluruh etanol menguap dan ekstrak terbentuk seperti gel cair.
- Menimbang Kembali ekstrak yang terbentuk, selanjutnya dimasukkan dalam toples kaca dan ditutup dengan aluminium foil yang telah dilubangi, dan di oven kembali hingga ekstrak mengental dengan tingkat viskositas 1000-1200 cP selama 48 jam, dalam oven suhu 40°C.
- Dalam proses ini akan dihasilkan 0,15 kg ekstrak terung asam dan 0,05 kg ekstrak lempuyang yang siap digunakan.
- Ekstrak yang telah jadi disimpan dalam lemari pendingin dalam toples kaca yang ditutup rapat pada suhu 4°C sampai akan digunakan.
- Mengisi form kegiatan tahapan ekstraksi.
- Tahapan ini menghasilkan crude ekstrak kental sesuai dengan bahan baku masing-masing.



Gambar 8. Larutan rendaman pada tahap meserasi

h. Ekstrak Kental



Gambar 9. Hasil ekstraksi masing-masing tanaman

3. Karakterisasi Senyawa Aktif

Karakteristik senyawa aktif ini menggunakan metode HPLC, sampel tahap awal ini dilakukan di laboratorium Kimia Kayu, Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman. Sedangkan untuk uji diteksi bahan pada produk pada tahun ketiga akan dilakukan di Integrated Laboratory Pusat Penelitian Biomaterial – LIPI, Komplek Cibinong Science Center, Jalan Raya Bogor Km. 46 Cibinong, Jawa Barat 16911. Pemeriksaan bahan aktif dilakukan untuk seluruh (5 tanaman) sampel untuk mengetahui spesifik bahan aktif yang dimiliki dan jumlah minimum bahan dalam setiap crude ekstrak, ini sebagai dasar untuk menentukan kombinasi ekstrak yang akan diuji. Karakteristik senyawa aktif ini dilakukan untuk seluruh (5 tanaman) sampel untuk mengetahui spesifik bahan aktif yang dimiliki dan jumlah minimum bahan dalam setiap crude ekstrak, ini sebagai dasar untuk menentukan kombinasi ekstrak yang akan diuji.

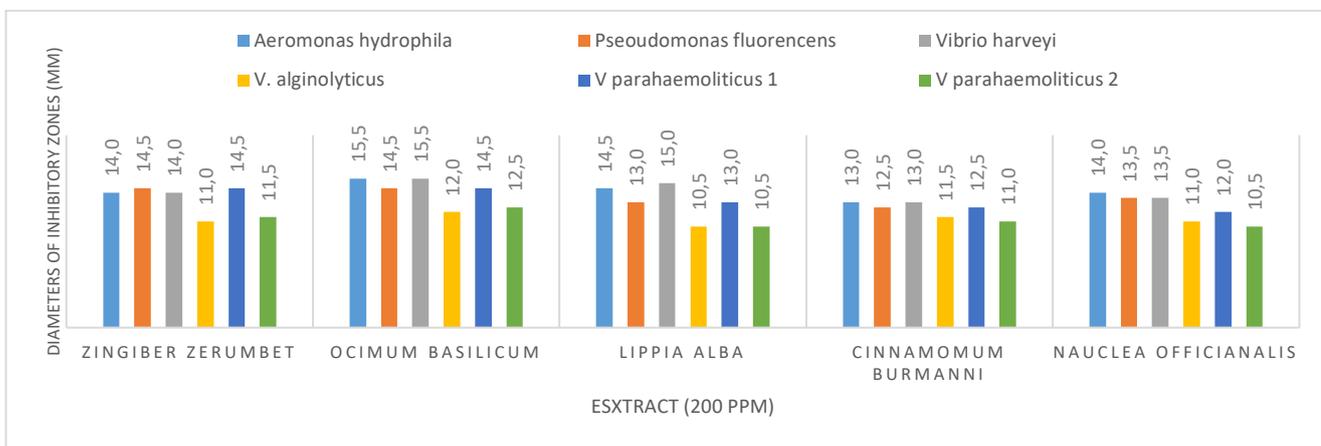
Tabel 1. Senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol sampel bahan uji

Nama latin	Bagian tanaman	Alkaloid	Flavonoid	Tanin	Saponin	Triterpenoid
<i>O. basilicum</i>	Daun kemangi	+	+	+	+	+

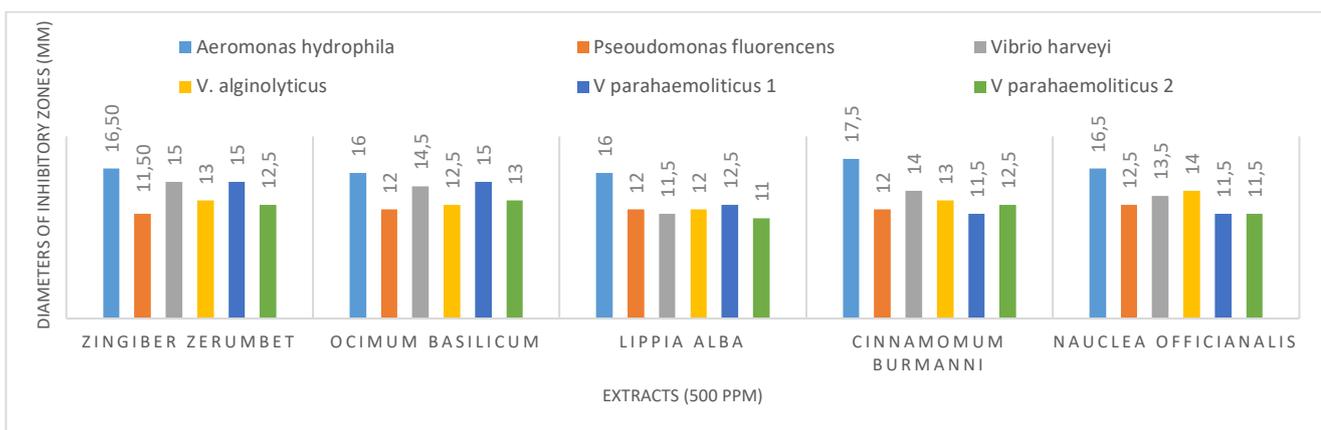
<i>L. alba</i>	Daun dan bunga	-	+	+	+	+
<i>Z. zerumbet</i>	Rimpang	+	+	+	+	-
<i>C. burmannii</i>	Kulit kayu	+	+	+	+	+
<i>N. officinalis</i>	Batang kayu	-	+	+	+	+

4. Uji Microbial

Uji microbial ini penting dilakukan untuk mengetahui fungsi tambahan dari senyawa bahan aktif, umumnya antimicrobial yang baik akan meningkatkan kualitas prototipe anastesi yang akan kita buat nantinya, pada pengujian ini akan dibuat 20 konsenyrtrasi/dosis berbeda dari single dan gabungan ekstrak dari ke-5 tanaman. Uji antimikroba, dilakukan untuk menguji crude ekstrak etanol terhadap antibacterial, antijamur, antiviral, dan antiparasitic, ini sebagai uji standar penentuan kisaran dosis yang akan digunakan pada penelitian selanjutnya dan untuk menentukan formulasi gabungan ekstrak yang akan digunakan dalam prototipe. Uji dilakukan secara in vitro dengan menggunakan metode ADD di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi akuakultur Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unmul.



Gambar 10. Diameters zona hambat ekstrak tanaman konsentrasi 200 ppm terhadap bakteri dari ikan dan udang pada 48 jam inkubasi



Gambar 11. Diameters zona hambat ekstrak tanaman konsentrasi 500 ppm terhadap bakteri dari ikan dan udang pada 48 jam inkubasi

Tabel 2. Perkembangan zona hambat ekstrak terhadap bakteri mulai jam 12-48 jam dengan dosis 200 ppm

Bakteri	Waktu (jam)	Z. zerumbet	O. basilicum	L. alba	C. burmanni	N. officianalis
<i>Aeromonas hydrophila</i>	12	10±0.1	12.5±0.1	9.5±0.1	9±0.1	8.5±0.1
	24	11±0.2	13.5±0.1	10.5±0.1	10.5±0.1	10.5±0.2
	36	13±0.1	15±0.1	14±0.1	13±0.1	12.5±0.1
	48	14±0.2	15.5±0.1	14.5±0.1	13±0.1	14±0.15
<i>Pseudomonas fluorencens</i>	12	9±0.15	9.5±0.1	10±0.1	9.5±0.1	9±0.11
	24	11.5±0.1	11.5±0.1	11.5±0.1	10.5±0.1	10.5±0.1
	36	13.5±0.1	13.5±0.1	13±0.1	12.5±0.1	13±0.1
	48	14.5±0.2	14.5±0.1	13±0.1	12.5±0.1	13.5±0.1
<i>Vibrio harveyi</i>	12	9.5±0.2	11.5±0.1	10±0.1	8.5±0.1	10±0.1
	24	12.5±0.1	13.5±0.1	12.5±0.1	11±0.1	12±0.1
	36	13.5±0.1	15±0.1	14.5±0.2	11.5±0.1	13.5±0.1
	48	14±0.2	15.5±0.1	15±0.1	13±0.1	13.5±0.1
<i>V. alginolyticus</i>	12	7.0±0.15	9.5±0.1	7.0±0.15	7.5±0.1	8.0±0.1
	24	8.5±0.2	10.5±0.1	9.0±0.1	8.5±0.1	10.0±0.1
	36	10.5±0.1	12.0±0.1	10.5±0.1	11.0±0.1	11.0±0.1
	48	11.0±0.2	12.0±0.1	10.5±0.15	11.5±0.1	11.0±0.1
<i>V parahaemoliticus 1</i>	12	11.0±0.1	11.5±0.1	9.0±0.2	11.0±0.1	8.5±0.1
	24	12.5±0.1	13.5±0.1	11.5±0.1	11.5±0.1	11.0±0.1
	36	14.0±0.1	15.0±0.1	13.0±0.2	12.5±0.1	12.0±0.1
	48	14.5±0.15	15.5±0.1	13±0.1	12.5±0.1	12.0±0.1
<i>V parahaemoliticus 2</i>	12	9.50±0.15	11.5±0.1	8.0±0.15	9.5±0.1	10.0±0.1
	24	10.5±0.1	12.5±0.1	10.0±0.1	10.0±0.1	10.0±0.1
	36	11.0±0.2	12.5±0.1	10.5±0.1	11.0±0.1	10.5±0.1
	48	11.5±0.1	12.5±0.1	10.5±0.2	11.0±0.1	10.5±0.1

Tabel 3. Perkembangan zona hambat ekstrak terhadap bakteri mulai jam 12-48 jam dengan dosis 500 ppm

Bacteria	Waktu (jam)	Z. zerumbet	O. basilicum	L. alba	C. burmanni	N. officianalis
<i>Aeromonas hydrophila</i>	12	12.5±0.1	12±0.1	12.5±0.1	15.5±0.1	12±0.1
	24	14±0.1	14±0.1	14±0.1	16±0.1	15±0.1
	36	15.5±0.1	15±0.1	15.5±0.1	17.5±0.1	16±0.1
	48	16.5±0.1	16±0.1	16±0.1	17.5±0.1	16.5±0.1
<i>Pseudomonas fluorencens</i>	12	7±0.15	8.5±0.1	8±0.1	7.5±0.1	8±0.1
	24	9.5±0.2	10.5±0.1	11±0.1	10±0.1	10±0.1
	36	11.5±0.2	12±0.1	11.5±0.1	12±0.1	12.5±0.1
	48	11.5±0.2	12±0.1	12±0.1	12±0.1	12.5±0.1
<i>Vibrio harveyi</i>	12	10±0.1	10±0.1	8±0.1	10±0.1	10±0.1
	24	12±0.1	11.5±0.1	10±0.1	11±0.1	12±0.1
	36	15±0.1	13.5±0.1	11.5±0.1	13.5±0.1	13±0.1
	48	15±0.1	14.5±0.1	11.5±0.1	14±0.1	13.5±0.1

<i>V. alginolyticus</i>	12	8.0±0.15	9.5±0.1	8.5±0.1	9.5±0.1	10.0±0.1
	24	10.0±0.15	10.5±0.1	10.0±0.1	10.5±0.1	13.0±0.1
	36	12.5±0.1	12.0±0.1	12.0±0.1	12.0±0.1	14.0±0.1
	48	13.0±0.1	12.5±0.1	12.0±0.1	13.0±0.1	14.0±0.1
<i>V. parahaemoliticus 1</i>	12	10.0±0.2	10.0±0.1	9.5±0.1	9.0±0.1	8.0±0.1
	24	13.0±0.2	11.5±0.1	11.0±0.1	10.5±0.1	10.0±0.1
	36	14.5±0.2	13.5±0.1	12.5±0.1	11.5±0.1	11.5±0.1
	48	15±0.1	14.5±0.1	12.5±0.1	11.5±0.1	11.5±0.1
<i>V. parahaemoliticus 2</i>	12	11.50±0.1	10.5±0.1	9.0±0.1	10.0±0.1	10.0±0.1
	24	12.5±0.1	11.5±0.1	10.0±0.1	11.0±0.1	11.5±0.1
	36	12.5±0.1	12.5±0.1	11.0±0.1	12.0±0.1	11.5±0.1
	48	12.5±0.1	13.0±0.1	11.0±0.1	12.5±0.1	11.5±0.1

5. Uji toksisitas

Uji ini dilakukan untuk menguji dosis yang aman dari single yang telah diujikan pada tahap 4 dan mencari kisaran dosis yang aman pada ikan, tidak menyebabkan kematian dan lama waktu treatment. Uji dilakukan secara in vitro dengan menggunakan metode toksisitas menggunakan larva udang artemia serta menggunakan sampel ikan nila.

Tahapan ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi akuakultur Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unmul. konsentrasi yang diuji adalah dipilih 4 konsentrasi masing-masing ekstrak dan 1 kontrol. Parameter yang diamati berupa jumlah kematian, Kedua dosis diujikan melalui peredaman pada larva artemia, dan diinjeksikan pada ikan nila untuk melihat jumlah kematian ikan dan artemia.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dosis ekstrak dan 1 perlakuan control tanpa ekstrak, dimana masing-masing perlakuan menggunakan 3 ulangan. Persiapan Diwali dengan menyiapkan wadah plastic sebanyak 12 buah dengan kapasitas wadah 5 L, kemudian diisi air sebanyak 4 L.

Penetasan telur artemia dilakukan dalam wadah plastic menggunakan air laut dengan salinitas 35-40 ppm, kultur dilakukan selama 48 jam hingga seluruh telur menetas. Larva artemia yang digunakan adalah telur yang menetas dengan sempurna (Gambar 12). Adapun dosis ekstrak masing-masing (*Z. zerumbet*, *O. basilicum*, *L. alba*, *C. burmanni*, *N. officianalis*) adalah

P0 = Kontrol

P1 = 10 ppm

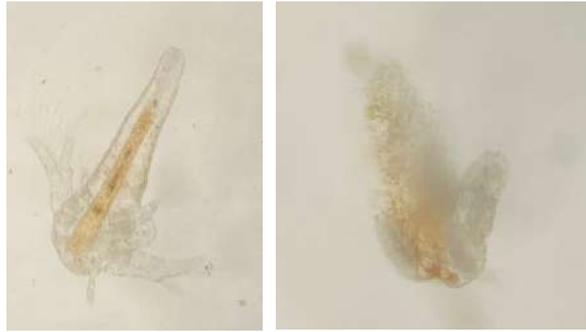
P2 = 100 ppm

P3 = 500 ppm

P4 = 1000 ppm

Setelah larutan masing-masing ekstrak siap, selanjutnya dimasukkan artemia yang telah menetas sebanyak 20 ekor pada masing-masing wadah penelitian dan pengamatan mortalitas dilakukan pada jam ke 24 dan 48.

Pengujian toksisitas pada ikan nila juga dilakukan untuk mengetahui tingkat toksisitas bahan terhadap ikan. Benih ikan nila yang digunakan berukuran 3 g, benih berasal dari pembenihan local Kalimantan Timur dan benih diadaptasikan di Laboratorium. Persiapan larutan dilakukan sama dengan pengujian toksisitas pada larva artemia, namun ikan yang digunakan berjumlah 6 ekor setiap wadah pemeliharaan atau setiap perlakuan. Pengamatan jumlah kematian ikan dilakukan pada jam ke 0, 24, dan 48.



Gambar 12. larva artemia yang menetas sempurna (kiri) dan yang tidak menetas sempurna atau mati (kanan)

Tabel 4. Kematian larva artemia pada uji toksisitas dosis ekstrak *Z. zerumbet*, *O. basilicum*, *L. alba*, *C. burmanni*, *N. officianalis*

Pengamatan jam ke-	Jenis ekstrak				
	<i>O. basilicum</i>				
	P0	P1	P2	P3	P4
0	20±0	20,0±0	19,3±1,2	20,0±0	20,0±0
24	20±0	16,7±2,9	16,0±1,7	14,7±0,6	11,3±2,3
48	20±0	16,7±2,9	11,3±2,3	12,0±1,7	8,7±01,1
Rata-rata	20±0	17,8±1,9	15,6±4,0	15,6±4,1	13,3±5,9
<i>Z. zerumbet</i>					
0	20±0	20,0±0	18,3±2,9	20,0±0	20,0±0
24	20±0	20,0±0	17,3±2,3	14,7±0,6	14,7±0,6
48	20±0	18,3±2,9	12,7±2,3	10,3±0,6	10,7±2,1
Rata-rata	20±0	19,4±1,0	16,1±3,0	15,0±4,8	15,1±4,7
<i>L. alba</i>					
0	20±0	20,0±0	20,0±0	20,0±0	20,0±0
24	20±0	15,0±0	16,3±1,5	14,0±1,0	13,3±2,9
48	20±0	11,0±2,6	11,3±2,3	7,7±1,5	8,3±02,9
Rata-rata	20±0	15,3±4,5	15,9±4,4	13,9±6,2	13,9±5,9
<i>N. officianalis</i>					
0	20±0	20,0±0	20,0±0	20,0±0	20,0±0
24	20±0	17,3±1,2	18,7±1,2	17,3±1,2	14,7±0,6
48	20±0	16,0±0	17,3±01,2	15,3±0,6	9,3±0,6
Rata-rata	20±0	17,8±2,0	18,7±1,3	17,6±2,3	14,7±5,3
<i>C. burmanni</i>					
0	20±0	20,0±0	20,0±0	20,0±0	20,0±0
24	20±0	18,7±1,2	15,0±0	16,3±1,5	15,7±2,1
48	20±0	16,7±0,6	12,7±2,3	9,3±0,6	8,3±0,6
Rata-rata	20±0	18,4±1,7	15,9±3,7	15,2±5,4	14,7±5,9

Tabel 5. Kematian ikan nila pada uji toksisitas dosis ekstrak *Z. zerumbet*, *O. basilicum*, *L. alba*, *C. burmanni*, *N. officianalis*

Pengamatan Jam ke-	Jenis ekstrak				
	<i>O. basilicum</i>				
	P0	P1	P2	P3	P4
	P0 (0)	P1 (10)	P2 (100)	P3 (500)	P4 (1000)
0	6±0	6.0±0	5.7±0.6	6.0±0	6.0±0
24	6±0	5.3±0.6	5.3±0.6	4.7±0.6	3.3±0.6
48	6±0	5.3±0.6	4.3±0.6	3.3±0.6	2.0±0.6
Rata-rata	6±0	5.6±0.4	5.1±0.7	4.7±1.3	3.8±2.0

<i>Z. zerumbet</i>					
0	6±0	6.0±0	6.0±0	6.0±0	6.0±0
24	6±0	6.0±0	5.3±0.6	4.3±0.6	3.3±0.6
48	6±0	5.7±0.6	4.0±0	3.3±0.6	3.0±0
Rata-rata	6±0	5.9±0.2	5.1±1.0	4.6±1.3	4.1±1.6
<i>L. alba</i>					
0	6±0	6.0±0	6.0±0	6.0±0	6.0±0
24	6±0	5.3±0.6	4.7±0.6	4.0±1	3.3±0.6
48	6±0	5.0±0	4.0±0	3.3±0.6	2.3±0.6
Rata-rata	6±0	5.4±0.6	4.9±0.6	4.4±0.6	3.9±0.6
<i>N. officianalis</i>					
0	6±0	6.0±0	6.0±0	6.0±0	6.0±0
24	6±0	4.3±0.6	4.3±0.6	3.7±0.6	3.3±0.6
48	6±0	4.0±0	3.3±0.6	3.3±0.6	2.3±0.6
Rata-rata	6±0	4.8±1.1	4.6±1.3	4.3±1.5	3.9±1.9
<i>C. burmanni</i>					
0	6±0	6.0±0	6.0±0	6.0±0	6.0±0
24	6±0	5.0±1	3.7±0.6	4.3±0.6	3.0±0
48	6±0	4.3±0.6	3.3±0.6	2.3±0.6	2.3±0.6
Rata-rata	6±0	5.1±0.8	4.3±1.5	4.2±1.8	3.8±1.9

6. Uji Anestesi In Vitro

Sebanyak yang diujikan pada tahap 5, selanjutnya dipilih lagi 4 konsentrasi dari single maupun gabungan ekstrak terbaik, dan dilakukan pengujian selanjutnya, yaitu pengujian anestesi secara in vitro yaitu menguji waktu pingsan, dan waktu sadar setelah diberi komposisi ekstrak. Pemilihan formulasi prototipe yaitu harus menginduksi anestesi (pingsan) maksimal dalam waktu 15 menit dan pemulihan sekitar 5 menit¹⁵. Konsentrasi dari uji toksisitas diambil sebagai prototipe untuk dilanjutkan pada pengujian anestesi pada ikan dan udang secara in vitro, yaitu konsentrasi 200 ppm.

6.1. Pengujian Lama Waktu Pingsan dan Sadar Ikan

Pengamatan waktu pingsan dan sadar ikan nila dan ikan lele yang diberi masing-masing ekstrak (dosis 200 ppm),

Tabel 6. Rata – rata lama perendaman hingga pingsan dan lama pingsan hingga sadar

Jenis ekstrak (200 ppm)	Jenis Ikan	Lama perendaman - pingsan (menit)	Lama pingsan - sadar (menit)
<i>Zingiber</i>	Nila	10.06	10.02
	Lele	14,03	9.35
<i>Zerumbet</i>	Udang	9.02	10.12
	Nila	11.05	10.02
	Lele	15,02	10.35
<i>O. basilicum</i>	Udang	9.05	10.15
	Nila	9.46	10.02
	Lele	11,02	9.35
<i>L. alba</i>	Udang	10.02	10.05
	Nila	10.00	10.02
	Lele	11.00	9.35
<i>C. burmanni</i>	Udang	8.15	9.10
	Nila	9.16	10.02
	Lele	12,13	9.35
<i>N. officianalis.</i>	Nila	9.16	10.02
	Lele	12,13	9.35

Udang	10.10	10.10
-------	-------	-------

Sensitifitas beberapa ikan terhadap masing-masing ekstrak menunjukkan bahwa rata-rata pingsan ikan yang paling cepat pada ikan nila di menit ke 9.46 dengan waktu pingsan 10.02 menit. Pengamatan gejala klinis ikan dan sensitifitas ikan air tawar terhadap ekstrak masing-masing dengan dosis 200 ppm.

Tabel 7. Pengamatan gejala klinis ikan pada uji perendaman hingga pingsan

Jenis Ekstrak	Jenis ikan	Respon tingkah laku ikan	Waktu pengamatan (menit ke-)	Gerak ikan/udang	Gerak operkulum	Fase	
<i>Z. zerumbet</i>	Nila	Normal	0	Normal	Normal	Normal	
		Lambat	5	Lambat	Cepat	Pingsan ringan	
		Lambat – tidak ada*	8	Lambat	Lambat	Pingsan berat	
		Tidak ada	9	Tidak ada	Tidak ada	Pingsan roboh	
	Lele	Normal	0	Normal	Normal	Normal	
		Lambat	3	Lambat	Cepat	Pingsan ringan	
		Lambat – tidak ada*	6	Lambat	Lambat	Pingsan berat	
		Tidak ada	7	Tidak ada	Tidak ada	Pingsan roboh	
	Udang	normal	0	Normal		Normal	
		Lambat	10	lambat		Pingsan	
	<i>O. basilicum</i>	Nila	Normal	0	Normal	Normal	Normal
			Lambat	9	Lambat	Cepat	Pingsan ringan
Lambat – tidak ada*			12	Lambat	Lambat	Pingsan berat	
Tidak ada			14	Tidak ada	Tidak ada	Pingsan roboh	
Lele		Normal	0	Normal	Normal	Normal	
		Lambat	9	Lambat	Cepat	Pingsan ringan	
		Lambat – tidak ada*	12	Lambat	Lambat	Pingsan berat	
		Tidak ada	14	Tidak ada	Tidak ada	Pingsan roboh	
Udang		normal	0	Normal		Normal	
		Lambat	10	lambat		Pingsan	
<i>L. alba</i>		Nila	Normal	0	Normal	Normal	Normal
			Lambat	9	Lambat	Cepat	Pingsan ringan
	Lambat – tidak ada*		12	Lambat	Lambat	Pingsan berat	
	Tidak ada		14	Tidak ada	Tidak ada	Pingsan roboh	
	Lele	Normal	0	Normal	Normal	Normal	
		Lambat	9	Lambat	Cepat	Pingsan ringan	
		Lambat – tidak ada*	12	Lambat	Lambat	Pingsan berat	
		Tidak ada	14	Tidak ada	Tidak ada	Pingsan roboh	
	Udang	normal	0	Normal		Normal	
		Lambat	10	lambat		Pingsan	
	<i>C. burmanni</i>	Nila	Normal	0	Normal	Normal	Normal
			Lambat	9	Lambat	Cepat	Pingsan ringan
Lambat – tidak ada*			12	Lambat	Lambat	Pingsan berat	
Tidak ada			14	Tidak ada	Tidak ada	Pingsan roboh	
Lele		Normal	0	Normal	Normal	Normal	
		Lambat	9	Lambat	Cepat	Pingsan ringan	

<i>N. officianalis</i>	Udang	Lambat – tidak ada*	12	Lambat	Lambat	Pingsan berat
		Tidak ada	14	Tidak ada	Tidak ada	Pingsan roboh
	Nila	normal	0	Normal		Normal
		Lambat	10	lambat		Pingsan
	Lele	Normal	0	Normal	Normal	Normal
		Lambat	9	Lambat	Cepat	Pingsan ringan
	Udang	Lambat – tidak ada*	12	Lambat	Lambat	Pingsan berat
		Tidak ada	14	Tidak ada	Tidak ada	Pingsan roboh
	Nila	Normal	0	Normal	Normal	Normal
		Lambat	9	Lambat	Cepat	Pingsan ringan
	Lele	Lambat – tidak ada*	12	Lambat	Lambat	Pingsan berat
		Tidak ada	14	Tidak ada	Tidak ada	Pingsan roboh
	Udang	normal	0	Normal		Normal
		Lambat	10	lambat		Pingsan

Tidak ada*= Kecuali tekanan kuat

6.2. Uji Ekstrak Lempuyang terhadap Kelangsungan Hidup Selama 24 – 48 jam

a. Kelulusanhidup Ikan

Kelulusanhidup adalah persentase ikan yang hidup di akhir penelitian. Berdasarkan analisis data hasil kelulusanhidup (%) nila dan lele dijabarkan dalam Tabel 14 sebagai berikut :

Tabel 8. Rata –rata kelangsungan hidup ikan dan udang setelah perendaman dengan ekstrak pada jam 24 – 48 jam

Jenis ekstrak	Jenis Ikan/udang	Kelangsungan Hidup (%)	
		24 jam	48 jam
<i>Z. zerumbet,</i>	Nila	100	100
	Lele	100	66
	Udang	100	100
<i>O. basilicum</i>	Nila	100	100
	Lele	99	75
	Udang	60	50
<i>L. alba</i>	Nila	100	100
	Lele	100	66
	Udang	90	85
<i>C. burmanni</i>	Nila	100	100
	Lele	100	100
	Udang	75	70
<i>N. officianalis.</i>	Nila	100	100
	Lele	100	66
	Udang	80	75

6.3. Pengamatan Hemoglobin Ikan

Pengamatan hemoglobin ikan dan udang, menunjukkan bahwa hasil perhitungan hemoglobin ikan dan larva udang/artemia.

Tabel 9. Nilai hemoglobin sebelum perendaman dan pasca perendaman pemeliharaan selama 48 jam

Jenis Tanaman	Perlakuan	Hemoglobin		
		Sebelum perendaman	Pasca perendaman	Normal
<i>Z. zerumbet</i>	Nila	3%	2,8%	5 - 10 gr% Hrubec & Smith (2010)
	Lele	4%	3,6%	

<i>O. basilicum</i>	Nila	3%	2,6%	5 - 10 gr% Hrubec & Smith (2010)
	Lele	4%	3%	5,05 - 8,33 g%
<i>L. alba</i>	Nila	3%	2%	5 - 10 gr% Hrubec & Smith (2010)
	Lele	4%	3%	5,05 - 8,33 g%
<i>C. burmanni</i>	Nila	3%	2%	5 - 10 gr% Hrubec & Smith (2010)
	Lele	4%	3%	5,05 - 8,33 g%
<i>N. officianalis</i>	Nila	3%	2%	5 - 10 gr% Hrubec & Smith (2010)
	Lele	4%	3%	5,05 - 8,33 g%

Kesimpulan dari tahap 1 ini menghasilkan beberapa data yaitu :

1. Formulir A - Ekstrak masing-masing dengan konsentrasi 200 dan 500 ppm memiliki kemampuan antibacterial yang sangat baik terhadap bakteri patogen pada ikan dan udang. Konsentrasi 200 ppm aman bagi ikan dilihat dari jumlah kematian yang rendah, stress rendah dilihat dari kandungan Hb normal.
2. Formulir B (Proses Pembuatan)- Pemilihan bahan baku, proses pengeringan, dan proses ekstraksi menggunakan etanol 96% menghasilkan kandungan metabolik sekunder yang baik.
3. Formulir C (Pemeriksaan Obat Jadi)- Pengujian toksisitas dosis 200 ppm masing-masing aman untuk ikan dan udang dan juga pada uji anestesi secara laboratory.
4. Formulir D (Pemeriksaan Bahan Baku)- Pemilihan bahan baku mengikuti farmakope 2017.
5. Formulir F (Daya Farmakologi)- Memiliki aktivitas antibacterial dan anestesi bagi ikan dan udang.
6. Prototipe yang dihasilkan yang berpotensi digunakan adalah
 - Prototipe 1. ekstrak Lempuyang 200 ppm.
 - Prototipe 2. gabungan kandidat adalah L alba dan kemangi.
 - Prototipe 3. gabungan kayu manis dan kayu kuning.

D. STATUS LUARAN: Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta unggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui BIMA.

Luaran Penelitian Terapan Jalur Hilirisasi ini berupa luaran Wajib berupa PATEN dan artikel yang dipublikasi di minimal S2.

Luaran Wajib :

1. **MEREK** terdaftar : BIOTESI (No. Permohonan *DID2023073707*)
2. **PATEN** terdaftar: ANASTESI ALAMI BERBASIS EKSTRAK LEMPUYANG (Zingiber zerumbet) UNTUK IKAN AIR TAWAR (No. Permohonan *P00202307686*)
3. **MANUSCRIPT** submitted :THE EFFECT OF THE FEEDING CONCOCTION OF PLANT EXTRACT ON GROWTH AND THE MOLTING PROCESS OF MUD CRAB (*Scylla serrata*) CULTURE IN THE SILVOFISHERY POND (*JSUSM-2022-0540.R5*)

Luaran Tambahan

4. **DRAF MANUSCRIP** tambahan: pathogen inhibition using traditional East Kalimantan Indonesian plant extracts and toxicity test in Fish and shrimp (Fish and Shellfish Diseases)
5. **PROTOTIPE** : TKT 7
6. **Vidio kegiatan di upload di youtube CV Bioperkasa** : <https://youtu.be/5P82KptLyc>

1 FORMULIR PERMOHONAN PENDAFTARAN PATEN INDONESIA
APPLICATION FORM OF INVENTION PATENT REGISTRATION

Data Pemohon (Applicant)	
Nama Pemohon	PT Biotesi
Alamat Pemohon	Jl. Aw Syahrani No. 2 Samarinda, Kalimantan Timur
Data Penemu (Inventor)	
Nama Penemu	Dr. A. H. Dedy Pratomo, Dr. A. H. Dedy Pratomo, Dr. A. H. Dedy Pratomo
Alamat Penemu	Jl. Aw Syahrani No. 2 Samarinda, Kalimantan Timur
Data Penemuan (Priority Date)	
Tanggal Penemuan	18 Agustus 2023

KEMENTERIAN KEBUDAYAAN DAN BUDAYA
REPUBLIC OF INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL KEHAKSIAN INTELEKTUAL
Jl. S. H. Soekarno, Gedung B, Lantai 5, Jakarta, 10119
Telp. (021) 5706011 Fax. (021) 5706010
Laman: www.ditjkt.prd.go.id www.ditjkt.go.id

2

FORMULIR PERMOHONAN PENDAFTARAN MEREK INDONESIA
APPLICATION FORM OF INDONESIAN TRADEMARK REGISTRATION

3

4

FORMULIR PERMOHONAN PENDAFTARAN MEREK INDONESIA
APPLICATION FORM OF INDONESIAN TRADEMARK REGISTRATION

4

FORMULIR PERMOHONAN PENDAFTARAN MEREK INDONESIA
APPLICATION FORM OF INDONESIAN TRADEMARK REGISTRATION

4

FORMULIR PERMOHONAN PENDAFTARAN MEREK INDONESIA
APPLICATION FORM OF INDONESIAN TRADEMARK REGISTRATION

4

FORMULIR PERMOHONAN PENDAFTARAN MEREK INDONESIA
APPLICATION FORM OF INDONESIAN TRADEMARK REGISTRATION

Gambar 13. Luaran Penelitian pada tahun pertama : 1) pendaftaran PATEN, 2) Bukti lolos pemeriksaan formalitas persyaratan telah terpenuhi, 3) pendaftaran Merek, 4) bukti submitted article di JSSM (Q3)

E. PERAN MITRA: Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (untuk Penelitian Terapan, Penelitian Pengembangan, PTUPT, PPUPT serta KRUP). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui BIMA.

Mitra pada penelitian ini adalah CV BIOPERKASA yang berlokasi di Jl. AW Syahrani perumahan Garden Hills Gardenia 1 no 2 Samarinda, Kalimantan Timur. CV ini memiliki KBLI produksi dan pemasaran produk Perikanan, pertanian, dan peternakan. Adapun peran Mitra CV Bioperkasa pada penelitian ini di tahun pertama meliputi

1. Menyiapkan alat untuk proses pengeringan, pemotongan bahan baku, preparasi bahan baku, mesin pemotong, yang dilakukan di Lokasi produksi atau pabrik.
2. Membantu dan mendampingi dalam proses yang sesuai dengan SOP pengolahan bahan alam : Melakukan evaluasi setiap tahapan di laboratorium sesuai dengan SOP; memastikan semua proses yang dilakukan secara laboratorium telah memperhatikan Penerapan Standar CPOIB; Melakukan pendampingan dan evaluasi proses pemilihan bahanbaku sesuai Farmakope 2017, proses pencucian, pengeringan, dan ekstraksi juga sesuai dengan CPOIB.
3. Membantu mempersiapkan berkas pengajuan izin edar di Kementerian Kelautan perikanan, Adapun pada tahun pertama ini berkas yang disiapkan berupa:
 - Formulir A (Komposisi Obat Ikan)
 - Formulir B (Proses Pembuatan)
 - Formulir C (Pemeriksaan Obat Jadi)
 - Formulir D (Pemeriksaan Bahan Baku)
 - Formulir F (Daya Farmakologi)

F. KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

Sampai Hingga Bulan Desember 2023, seluruh tahapan riset pada tahun pertama telah terpenuhi. Kendala yang sempat dihadapi adalah penetasan telur menggunakan air laut buatan yang belum optimal sehingga riset perlu di ulang kembali menggunakan campuran air laut asli. Hingga saat ini pencairan dana 30% belum terealisasi sehingga menyebabkan beberapa tahapan menggunakan dana talangan. Namun secara keseluruhan tahapan riset dapat berjalan dengan baik, dan kendala dalam pelaksanaan dapat di antisipasi.

G. RENCANA TAHAPAN SELANJUTNYA: Tuliskan dan uraikan rencana penelitian di tahun berikutnya berdasarkan indikator luaran yang telah dicapai, rencana realisasi luaran wajib yang dijanjikan dan tambahan (jika ada) di tahun berikutnya serta *roadmap* penelitian keseluruhan. Pada bagian ini diperbolehkan untuk melengkapi penjelasan dari setiap tahapan dalam metoda yang akan direncanakan termasuk jadwal berkaitan

dengan strategi untuk mencapai luaran seperti yang telah dijanjikan dalam proposal. Jika diperlukan, penjelasan dapat juga dilengkapi dengan gambar, tabel, diagram, serta pustaka yang relevan. Pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai.

Pengujian yang akan dilakukan pada tahun kedua dan tahun ketiga bertujuan untuk melengkapi berkas pengajuan izin edar dari KKP RI yang meliputi :

Tahapan Riset Tahun Ke 2

1. Pengujian prototipe yang dihasilkan dari tahap satu yaitu Prototipe 1. ekstrak Lempuyang 200 ppm. Prototipe 2. gabungan kandidat adalah L alba dan kemangi. Prototipe 3. gabungan kayu manis dan kayu kuning.
2. Pengujian meliputi uji sensitivitas, dan uji anastesi terbatas untuk 3 prototipe yang dihasilkan baik pada ikan maupun pada udang.

Output Tahun ke 2 :

Formulir B (Proses Pembuatan)

Formulir C (Pemeriksaan Obat Jadi)

Formulir F (Daya Farmakologi)

Formulir E (Pemeriksaan Stabilitas)

Tahapan Riset Tahun ke 3:

1. Uji anastesi transportasi pada benih ikan
2. Uji anastesi transportasi pada benih udang
3. Pemeriksaan prototipe, daya stabilitas prototipe, daya farmakologi prototipe.

Output Tahun ke 3 :

Laporan hasil uji lapang

Formulir E (Pemeriksaan Stabilitas)

Formulir G (Publikasi Percobaan Klinis/Uji lapang)

Formulir H (Keterangan tentang wadah, bungkus/kemasan dan tutup)

Formulir I (Keterangan tentang Penandaan).

H. DAFTAR PUSTAKA: Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan akhir yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

- [1] Abubakar AR, Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. J Pharm Bioallied Sci. 2020 Jan-Mar;12(1):1-10. doi: 10.4103/jpbs.JPBS_175_19. Epub 2020 Jan 29. PMID: 32801594; PMCID: PMC7398001.
- [2] Sasidharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram KM, Yoga Latha L. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2011;8(1):1-10. Epub 2010 Oct 2. PMID: 22238476; PMCID: PMC3218439.
- [3] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Jakarta : Kemenkes.
- [4] Hardi EH, Saptiani G, Kusuma IW, Suwinarti W, Nugroho RA. Immunomodulatory and antibacterial effects of *Boesenbergia pandurata*, *Solanum ferox*, and *Zingiber zerumbet* on tilapia, *Oreochromis niloticus*. AACL Bioflux, 2017; 10(2):182-190.
- [5] Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Nomor 01 / KEPMEN-KP / 2019 Tentang Obat Ikan