

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KIPA HIT  
(*Tithonia diversifolia*) TERHADAP BAKTERI  
*Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella tarda*  
DAN *Edwardsiella ictaluri***

**OLEH**

**MIKE OKTARIA DANI**  
**NPM : 174310201**

**SKRIPSI**

*Diajukan sebagai Syarat untuk Memperoleh  
Gelar Sarjana Perikanan*



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ISLAM RIAU  
PEKANBARU  
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KIPA HIT  
(*Tithonia diversifolia*) TERHADAP BAKTERI  
*Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella tarda*  
DAN *Edwardsiella ictaluri***

**SKRIPSI**

**NAMA : MIKE OKTARIA DANI  
NPM : 174310201  
PROGRAM STUDI : BUDIDAYA PERAIRAN**

KARYA ILMIAH INI TELAH DIPERTAHANKAN DALAM UJIAN KOMPREHENSIF YANG TELAH DILAKSANAKAN PADA TANGGAL 09 JULI 2021 DAN TELAH DISEMPURNAKAN SESUAI SARAN YANG TELAH DISEPAKATI, KARYA ILMIAH INI MERUPAKAN SYARAT PENYELESAIAN STUDI PADA FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS ISLAM RIAU

**DISETUJUI OLEH:**

DOSEN PEMBIMBING



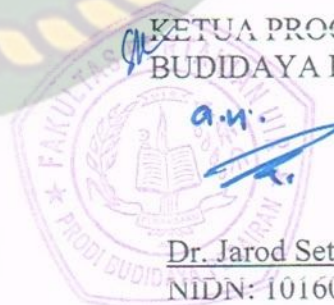
Dr. Jarod Setiaji, S.Pi, M.Sc  
NIDN: 1016066802

DEKAN FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ISLAM RIAU



Dr. Ir. Hj. Siti Zahrah, MP  
NIDN: 0013086004

KETUA PROGRAM STUDI  
BUDIDAYA PERAIRAN




Dr. Jarod Setiaji, S.Pi, M.Sc  
NIDN: 1016066802

**KARYA ILMIAH INI TELAH DIPERTAHANKAN DALAM  
UJIAN KOMPREHENSIF PROGRAM STUDI BUDIDAYA  
PERAIRAN FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ISLAM RIAU**

**TANGGAL: 09 Juli 2021**

No.	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	Dr. Jarod Setiaji, S.Pi, M.Sc	Ketua	
2	Ir. T. Iskandar Johan, M.Si	Anggota	
3	Muhammad Hasby, S.Pi, M.Si	Anggota	
4	Hisra Melati, S.Pi, M.Si	Notulen	

Mengetahui  
Dekan Fakultas Pertanian  
Universitas Islam Riau

  
Dr. Ir. Hj. Siti Zahrah, MP  
NIDN: 0013086004



## BIOGRAFI PENULIS



**Mike Oktaria Dani** adalah nama penulis skripsi ini. Lahir pada tanggal 27 Oktober 1999, di Padang Kecamatan Lubuk Begalung, Provinsi Sumatera Barat. Penulis merupakan anak terakhir dari 6 bersaudara dari pasangan Alm Dasril dan Ismarni. Penulis pertama kali masuk SD Negeri 12 Tanah Sirah pada tahun 2006 dan tamat tahun 2012, pada tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan ke SMP Semen Padang dan tamat pada tahun 2014. Setelah tamat di SMP penulis melanjutkan ke SMA PGRI 2 Padang dan tamat pada tahun 2017. Kemudian pada tahun 2017 penulis terdaftar sebagai Mahasiswi di Universitas Islam Riau, Fakultas Pertanian, Program Studi Budidaya Perairan. Dengan izin Allah SWT pada tanggal 9 Juli 2021 penulis berhasil menyelesaikan pendidikan Sastra-1 (S1) dan sekaligus berhasil meraih gelar Sarjana Perikanan Sastra-1 (S1) dengan judul penelitian “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*) Terhadap Bakteri *Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella tarda* dan *Edwardsiella ictaluri*”. Dibimbing oleh Bapak Dr. Jarod Setiaji, S.Pi, M.Sc.

**Mike Oktaria Dani, S.Pi**

## UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis banyak mendapat dukungan dan juga saran dari berbagai pihak. Peneliti dan sekaligus penulis haturkan kehadiran Allah SWT berkat rahmat, taufik dan hidayah Nya, serta kesehatan dan kesempatan kepada penulis. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Orang tua yaitu Ibu yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan moril maupun materil demi kesuksesan penulis.
2. Bapak Prof. Dr. H. Syafrinaldi, S.H, M.CL selaku Rektor Universitas Islam Riau (UIR).
3. Ibu Dr. Ir. Hj. Siti Zahrah, MP selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau.
4. Bapak Dr. Jarod Setiaji, S.Pi, M.Sc selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan dan Dosen Pembimbing yang telah banyak membantu penulis.
5. Ibu Hj. Sri Ayu Kurniati, SP, M.Si selaku Sekretaris Program Studi Budidaya Perairan.
6. Bapak Ir. T. Iskandar Johan, M.Si selaku Ketua Balai Benih Ikan (BBI) Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau.
7. Bapak Muhammad Hasby, S.Pi, M.Si, Bapak Dr. Ir. H. Agusnimar, M.Sc, Bapak Ir. H. Rosyadi, M.Si dan Bapak Ir. Fakhrunnas M Jabbar, M.I.Kom selaku Dosen Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau yang telah mendidik dan membekali ilmu pengetahuan yang sangat berguna dan bermanfaat untuk penulis.

8. Hisra Melati, S.Pi, M.Si, Rahman Fauzi, S.Pi, F.A. Faza, S.Pi selaku Pengurus Balai Benih Ikan (BBI) UIR yang telah memberikan bantuan serta masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Valentio F.P, S.Si selaku staff laboratoium Balai Benih Ikan (BBI) UIR yang telah memberikan bantuan serta masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.
10. Desma dewi, Andi Putra, Deliati, Atri Yeni dan Lisa Anggraini yaitu Keluarga dan saudara, yang telah memberikan dukungan moril dan materil kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan studi ini.
11. Sahabatku Yelli R dan Lisa Y yang telah memberikan semangat dan dukungan moril kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
12. Apriansyah, Putri Marina, Rahmat Huluan, Ahmed Bahri, S.Pi dan Annisa Fajar yang membantu penulis dalam penelitian dan masukan sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
13. Keluarga besar HIMAPIKAN tanpa disebutkan nama masing-masing terima kasih atas dukungan juga canda tawanya, semoga terus terjalin ikatan kekeluargaan dimanapun kita berada.
14. Nurul F, Ristina, Andre S, Nurman A, Syawal M, Kevin M dan Japri Y. yaitu teman-teman seperjuangan angkatan 2017 yang telah memberikan dorongan serta masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu, terimakasih atas segalanya.

## ABSTRAK

**MIKE OKTARIA DANI (174310201) “UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAUN KIPAHIT (*Tithonia diversifolia*) TERHADAP BAKTERI *Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella tarda* dan *Edwardsiella ictaluri*”**. Dibawah bimbingan Bapak Dr. Jarod Setiaji, S.Pi., M.Sc. Penelitian ini dilakukan selama 30 hari di laboratorium Balai Benih Ikan (BBI) Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun Kipahit terhadap pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri* dan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun Kipahit yang baik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*. Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu ekstrak daun Kipahit, pelarut etanol 95%, bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 2 ulangan yaitu P1 konsentrasi (10%), P2 konsentrasi (20%), P3 konsentrasi (30%), P4 konsentrasi (40%) dan P5 konsentrasi (50%). Hasil penelitian menunjukkan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak daun Kipahit (*T. diversifolia*) berdasarkan uji fitokimia adalah alkaloid, fenolik, flavonoid dan steroid/terpenoid. Ekstrak daun Kipahit (*T. diversifolia*) efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*, dan zona hambat yang dihasilkan pada kategori sangat kuat.

Katakunci : Ekstrak, daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*), *Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella tarda* dan *Edwardsiella ictaluri*.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan nikmat yang tiada henti serta hidayah-Nya yang tak terhitung kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sesuai dengan rencana dan tanpa hambatan. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada program studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau. Adapun judul skripsi ini adalah “ UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KIPAHIT (*Tithonia diversifolia*) TERHADAP BAKTERI *Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella tarda* DAN *Edwardsiella ictaluri* “.

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Bapak Dr. Jarod Setiaji, S.Pi, M.Sc yang telah memberikan dukungan dan bantuan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini tepat pada waktunya.

Penulis sudah berusaha menulis skripsi ini dengan secara sungguh-sungguh namun bila masih terdapat kesalahan, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun untuk dijadikan sebagai bahan evaluasi untuk kedepannya. Untuk itu penulis mengharapkan terimakasih.

Pekanbaru, Juli 2021

Penulis



## DAFTAR ISI

Isi	Halaman
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b>	
<b>BIOGRAFI PENULIS</b>	
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b>	
<b>ABSTRAK</b> .....	i
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	ii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	v
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	vii
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Batasan Masalah .....	3
1.4. Tujuan Penelitian .....	3
1.5. Manfaat Penelitian .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Daun Kipahit ( <i>Tithonia diversifolia</i> ) .....	4
2.2. Kandungan Daun Kipahit ( <i>T. diversifolia</i> ) .....	5
2.3. Proses Ekstraksi .....	7
2.4. Pengujian Aktivitas Antibakteri .....	10
2.5. Bakteri Patogen .....	12
2.5.1. <i>Aeromonas salmonicida</i> .....	12
2.5.2. <i>Edwardsiella tarda</i> .....	15
2.5.3. <i>Edwardsiella ictaluri</i> .....	17
<b>III. METODE PENELITIAN</b>	
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	20
3.2. Alat dan Bahan Penelitian .....	20
3.2.1. Alat Penelitian .....	20
3.2.2. Bahan Penelitian .....	21
3.3. Hasil Uji Pendahuluan .....	22
3.4. Rancangan Percobaan dan Metode Penelitian .....	22
3.5. Prosedur Penelitian .....	23
3.5.1. Pengambilan Sampel Daun Kipahit .....	23
3.5.2. Ekstraksi Daun Kipahit ( <i>T. diversifolia</i> ) .....	23

3.5.3. Pembuatan Konsentrasi Suspensi Ekstraksi Daun Kipahit	24
3.5.4. Sterilisasi Alat dan Bahan.....	24
3.5.5. Peremajaan Bakteri Patogen.....	25
3.5.6. Kultur Bakteri Patogen Pada Nutrient Broth (NB).....	26
3.5.7. Uji Aktivitas Antibakteri.....	27
3.5.8. Uji Fitokimia.....	29
3.6. Hipotesis dan Asumsi.....	32
3.7. Analisis Data.....	32
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1. Uji Fitokimia.....	33
4.1.1. Alkaloid.....	34
4.1.2. Fenolik.....	35
4.1.3. Steroid/Terpenoid.....	35
4.1.4. Flavonoid.....	36
4.2. Uji Daya Hambat.....	37
4.2.1. Bakteri <i>A. salmonicida</i> .....	38
4.2.2. Bakteri <i>E. tarda</i> .....	41
4.2.3. Bakteri <i>E. ictaluri</i> .....	43
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1. Kesimpulan.....	48
5.2. Saran.....	48
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	49
<b>LAMPIRAN</b> .....	56

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
3.1. Alat Penelitian .....	20
3.2. Bahan Penelitian .....	21
3.3. Kriteria Kekuatan Zona Hambat.....	29
4.1. Data Hasil Pengamatan Uji Fitokimia .....	33



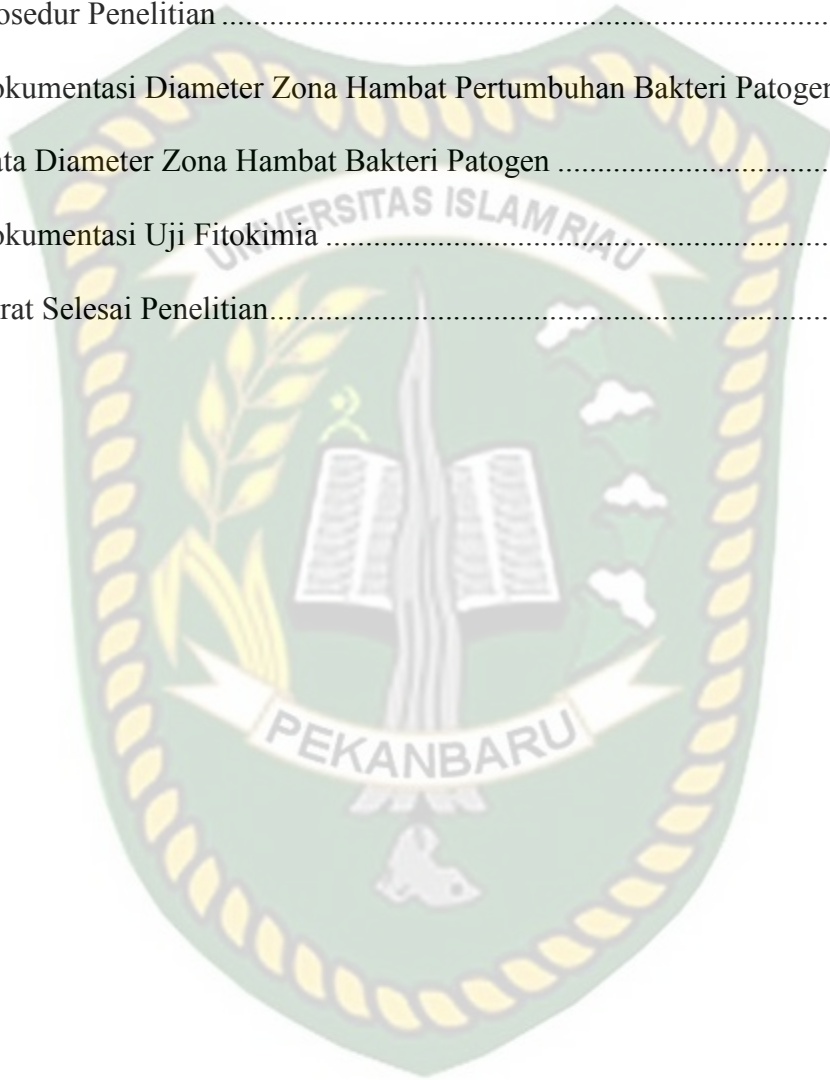


## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun Kipahit ( <i>T. diversifolia</i> ).....	4
2. <i>A. salmonicida</i> .....	13
3. <i>E. tarda</i> .....	15
4. <i>E. ictaluri</i> .....	19
5. Metode Difusi Cakram .....	28
6. Hasil Uji Alkaloid.....	34
7. Hasil Uji Fenolik.....	35
8. Hasil Uji Steroid .....	36
9. Hasil Uji Flavonoid.....	37
10. Besar Rata-rata Diameter Zona Hambat Bakteri <i>A. salmonicida</i> .....	39
11. Besar Rata-rata Diameter Zona Hambat Bakteri <i>E. tarda</i> .....	41
12. Besar Rata-rata Diameter Zona Hambat Bakteri <i>E. tarda</i> .....	43

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan Penelitian .....	57
2. Prosedur Penelitian .....	59
3. Dokumentasi Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri Patogen	60
4. Data Diameter Zona Hambat Bakteri Patogen .....	66
5. Dokumentasi Uji Fitokimia .....	67
6. Surat Selesai Penelitian.....	68



## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Usaha budidaya perikanan memiliki potensi yang besar dari segi ekonomi. Dalam kegiatan budidaya yang menguntungkan memiliki resiko yang cukup besar, karena ikan merupakan makhluk yang bernyawa dan kapan saja bisa mengalami kematian. Kematian pada ikan disebabkan oleh umur ikan, kondisi lingkungan, dan wabah serangan penyakit. Penyakit ikan adalah sesuatu yang menimbulkan gangguan pada ikan baik secara langsung maupun tidak langsung. Salah satu patogen penyebab timbulnya penyakit pada usaha budidaya adalah bakteri, bakteri merupakan organisme yang sering ditemukan pada lingkungan perairan, tidak memiliki membran inti sel dan memiliki ukuran yang sangat kecil.

Menurut Novriadi *et al.* (2014) bakteri merupakan organisme yang paling umum dijumpai di lingkungan akuatik serta memiliki keragaman morfologi, ekologi dan fisiologi yang cukup tinggi. Sebagian besar bakteri patogen pada budidaya ikan memiliki sel berbentuk batang pendek dan bersifat Gram negatif. Adapun jenis bakteri yang menjadi penyebab utama penyakit infeksi pada ikan antara lain: *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*.

Menurut Handayani (2012) bakteri *A. salmonicida* merupakan patogen opportunistik, yang dapat menyerang baik ikan air tawar maupun ikan air laut. Bakteri ini berbentuk batang pendek dengan ukuran  $1,3 - 2,0 \times 0,8 - 1,3 \mu\text{m}$ , tidak motil, bersifat gram negatif. Kemudian menurut Holts (1994) bakteri *E. tarda* memiliki ukuran  $1 \mu\text{m} \times 2 - 3 \mu\text{m}$ , berbentuk batang pendek, non *acud* fast, tidak berspora dan tidak berkapsul. Sedangkan menurut Mayer dan Bullock (1973)



bakteri *E. ictaluri* memiliki bentuk batang, tepian rata, memiliki koloni cembung dan berwarna putih.

Untuk itu dibutuhkan suatu pengobatan yang berguna untuk penyembuhan bakteri pada ikan tersebut, salah satu pengobatan yang baik dan tidak memiliki efek samping tentunya ialah pengobatan dengan menggunakan bahan alami. Bahan alami sebagai antibakteri alternatif yang dapat digunakan untuk menghambat dan membunuh bakteri. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai antibakteri yaitu daun Kipahit.

Menurut Wardhana dan Diana (2014) menyatakan bahwa tanaman daun Kipahit (*T. diversifolia*) memiliki aktivitas antibakteri. Tanaman daun Kipahit (*T. diversifolia*) ini mengandung senyawa golongan alkaloid dan golongan flavonoid. Hal ini sesuai dengan pernyataan Nurjanah *et al.* (2018) bahwa tanaman daun Kipahit merupakan salah satu tanaman obat yang digunakan sebagai obat tradisional di Indonesia bahkan diberbagai negara lainnya. Tanaman ini mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Berdasarkan informasi tersebut, sifat antibakteri pada tanaman daun Kipahit diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas fluorescens*.

Berdasarkan uraian di atas, penulis tertarik meneliti aktivitas bakteri tumbuhan daun Kipahit terhadap bakteri lainnya yang belum diteliti yaitu bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak daun Kipahit memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*.
2. Berapakah konsentrasi ekstrak daun Kipahit yang baik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*.

## 1.3. Batasan Masalah

Batasan masalah yang terdapat dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari ekstrak daun Kipahit dengan konsentrasi yang berbeda terhadap bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*.

## 1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun Kipahit terhadap pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun Kipahit yang baik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*.

## 1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Memberikan informasi ilmiah bahwa ekstrak daun Kipahit dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*.
2. Sebagai bahan rujukan dan pertimbangan bagi peneliti selanjutnya agar dapat menghasilkan penelitian yang lebih maksimal dan relevan.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)

Menurut Tania *et al.* (2016) klasifikasi Kipahit (*T. diversifolia*) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae  
Divisi : Spermatochyta  
Kelas : Dicotyledoneae  
Sub Kelas : Metaclamideas  
Ordo : Campanulate  
Family : Asteraceae  
Genus : *Tithonia*  
Species : *Tithonia diversifolia*



Gambar 1. Daun Kipahit (*T. diversifolia*) (Dokumentasi Pribadi)

Tumbuhan Kipahit atau kembang bulan atau bunga matahari Mexico diperkirakan berasal dari Meksiko, menyebar ke negara-negara tropika basah atau subtropika di Amerika Selatan, Asia, dan Afrika (Sonke, 1997). Kipahit termasuk



family Asteraceae, dapat tumbuh baik pada tanah yang kurang subur, sebagai semak di pinggir jalan, lereng-lereng tebing atau sebagai gulma di sekitar lahan pertanian. Adaptasi tumbuhan Kipahit cukup luas, berkisaran antara 2 – 1.000 m di atas permukaan laut (Jama *et al.* 2000).

Tanaman daun Kipahit (*T. diversifolia*) berupa tumbuhan perdu dengan tinggi mencapai 5 m, batang tegak, bulat, berkayu, dan berwarna hijau. Daun tunggal berseling dengan panjang 26 – 32 cm, lebar 15 – 25 cm, ujung dan pangkal runcing, pertulangan menyirip, dan berwarna hijau. Bunga manjemuk muncul di ujung ranting, tangkai bulat, kelopak berbentuk tabung, berbulus halus, putik melengkung, dan berwarna kuning. Buahnya berbentuk kotak, bulat, buah muda berwarna hijau dan buah tua berwarna cokelat. Biji berbentuk bulat, keras, dan berwarna cokelat. Tanaman ini berakar tunggang dan berwarna putih kotor (Hutapea, 1994).

Tanaman daun Kipahit ini kaya akan insulin yang terdiri dari gula-gula fruktosa yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan tetapi difermentasi oleh usus besar. Oleh karena itu dengan mengkonsumsi daun Kipahit ini secara rutin dan teratur dapat menurunkan kadar gula dalam darah (Widowati, 2006).

## **2.2. Kandungan Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)**

Senyawa komponen aktif yang terkandung di dalam ekstrak tumbuhan dapat menimbulkan daya hambat terhadap pertumbuhan mikroorganisme. Essiett dan Akpan (2013) menyatakan bahwa pada tanaman daun Kipahit (*T. diversifolia*) ini terdapat senyawa aktif yaitu saponin, tanin, flavonoid dan alkaloid. Kehadiran dari beberapa metabolit sekunder ini menunjukkan bahwa tanaman tersebut memiliki peran penting secara medis dan dapat digunakan beberapa pengguna etno.

Tanaman ini memiliki aktivitas antioksidan, antialergi, antiinflamasi, antimikroba, dan antikanker. Kehadiran tanin menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki aktivitas antivirus dan antibakteri dan dapat menyembuhkan luka. Sedangkan senyawa aktif saponin sangat penting karena bersifat kardoaktif.

Michael *et al.* (2011) menyatakan bahwa saponin berfungsi sebagai zat antibakteri, antijamur, antioksidan dan antiinflamasi, senyawa saponin yang terkandung pada daun bidara dapat diperoleh melalui ekstraksi.

Tanin merupakan fenolat polimer yang larut dalam air yang mengendapkan protein. Tanin juga dapat menjadi racun bagi bakteri berfilamen, tanin dapat mengikat dinding sel bakteri dan mencegah pertumbuhan dan aktivitas protease (Gutierrez *et al.* 2013).

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang umum ditemukan di alam, manfaat dari flavonoid yaitu menjaga pertumbuhan normal, pengaruh infeksi dan kerusakan. Flavonoid sudah dikenal sebagai antibakteri, anti karsinogenik, anti alergi, anti tumor, dan digunakan sebagai pengobatan tradisional (Harbone, 1997). Mekanisme yang dimiliki oleh flavonoid dalam memberikan efek antibakteri dengan cara merusak dinding sel bakteri.

Kandungan alkaloid dalam ekstrak etanol daun Kipahit mempunyai kemampuan antibakteri karena memiliki gugus aromatik kuartener yang mampu berinterkalasi dengan DNA. Selain itu alkaloid juga mampu mengganggu integritas komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Peptidoglikan merupakan suatu komponen penyusun dinding sel bakteri sehingga adanya gangguan tersebut akan menyebabkan lapisan dinding sel tidak dapat terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Rahman *et al.* 2017).

Mekanisme senyawa terpenoid sebagai antibakteri dengan membentuk ikatan polimer yang kuat dengan porin sehingga mengakibatkan rusaknya pada porin. Rusaknya porin mengakibatkan sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri tersebut menjadi terhambat (Hasibuan dan Rosidanelli, 2016).

### **2.3. Proses Ekstraksi**

Menurut Berk (2009) ekstraksi merupakan proses pemisahan berdasarkan kelarutan bahan, proses ekstraksi memiliki dua perbedaan kelarutan bahan. Ekstrak disaring menggunakan kain saring agar antara ampas dan filtratnya terpisah (Anditasari *et al.* 2014). Menurut Rahayu (2009) ekstraksi merupakan pemisahan suatu zat dari campurannya dengan pembagian sebuah zat terlarut antara dua pelarut yang tidak dapat tercampur untuk mengambil zat terlarut tersebut dari satu pelarut ke pelarut lain.

Ekstrak merupakan bahan kering yang digunakan untuk ekstraksi, yang mana hasilnya berbentuk kental maupun cair. Adapun peroses cara pengerjaannya yaitu dengan melakukan penyaringan simplisia tumbuhan atau hewan sesuai prosedur, diluar pengaruh cahaya matahari secara langsung. Ekstraksi merupakan proses pengambilan senyawa kimia dari ekstrak dengan cara pelarut dikocok agar kandungan kimia yang terdapat pada tumbuhan atau hewan dapat larut dan terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Terdapat dua cara ekstraksi yang umum digunakan yaitu dengan cara dingin dan panas. Adapun cara dingin yang digunakan yaitu dengan cara maserasi dan perkolasi, sedangkan cara panas yaitu dengan melakukan reflux, soxhlet, digest, infusa, dan dekokta (Departemen Kesehatan III, 1979).

Sedangkan menurut Aisyah (2015) Ekstraksi merupakan proses pencarian senyawa aktif dari nabati dan hewani. senyawa aktif yang terdapat di dalam sel tumbuhan maupun sel hewan memiliki ketebalan yang berbeda, sehingga perlu adanya metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya. Ekstraksi kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan dilakukan dengan tujuan menarik senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak yang merupakan bahan alami yang terdapat pada tumbuhan. Ekstrak ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan itu dimulai dengan terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut.

Mukhriani (2014) menjelaskan bahwa pembuatan ekstrak khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan tahapannya adalah sebagai berikut :

1. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, batang, bunga, dan lain-lain), pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan.
2. Pemilihan pelarut, ini digunakan untuk memisahkan zat aktif. Pelarut yang dipilih secara selektif tergantung pada zat aktif yang diharapkan
3. Pemisahan dan pemurnian merupakan pemisahan zat aktif yang diharapkan sehingga didapatkan ekstrak murni.
4. Pengeringan ekstrak ini bertujuan untuk menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan massa kering keruh.
5. Rendemen yaitu perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal.

Irianty *et al.* (2012) menambahkan proses ekstraksi dipengaruhi oleh suhu, ukuran partikel, jenis pelarut, waktu ekstraksi, dan metode ekstraksi.



## **Maserasi**

Simanjuntak (2008) menyatakan bahwa metode ekstraksi yang umum dipakai adalah metode perendaman karena cara pengerjaan dan peralatannya yang sederhana. Adapun masalah saat melakukan ekstraksi menggunakan cara ini yaitu penggunaan pelarut yang banyak dan penggunaan waktu dalam mengekstraksi bahan baku yang cukup lama.

Istiqomah (2014) menyatakan bahwa maserasi proses ekstrak simplisia yang menggunakan larutan tertentu dengan pengadukan pada suhu ruangan. Maserasi ini berfungsi untuk mengambil senyawa-senyawa berkhasiat yang tahan terhadap panas ataupun tidak, maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling mudah.

Istiqomah (2014) menambahkan bahwa metode maserasi dapat dilakukan dengan cara memasukan serbuk tanaman dan pelarut kedalam wadah yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi selesai ketika sudah tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah melakukan proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan melakukan penyaringan. Kerugian dalam menggunakan metode ini yaitu membutuhkan cukup banyak waktu, serta pelarut yang digunakan cukup banyak dan besar kemungkinan beberapa senyawa yang terdapat dalam ekstrak akan hilang. Namun disisi lain metode ini dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

## **Pelarut**

Menurut Ardydi (2013) berdasarkan kepolaran pelarut, pelarut terbagi dalam tiga kategori yaitu :

### 1. Pelarut Protik Polar

Protik menunjukkan atom hydrogen yang menyerang atom elektronegatif yang dalam hal ini adalah oksigen. Dengan kata lain pelarut protik polar adalah senyawa yang memiliki rumus umum ROH. Contoh dari pelarut protik polar adalah air ( $H_2O$ ), metanol ( $CH_3OH$ ), dan asam asetat ( $CH_3COOH$ ).

### 2. Pelarut Aprotik

Polar aprotik menunjukkan molekul yang tidak mengandung ikatan O-H. pelarut dalam kategori ini semuanya memiliki ikatan yang memiliki ikatan dipol besar. Contoh dari pelarut ini adalah aseton ( $C_3H_6O$ ) dan etil asetat ( $C_4H_8O_2$ ).

### 3. Pelarut Non-Polar

Pelarut nonpolar merupakan senyawa yang memiliki konstanta dielektrik yang rendah dan tidak larut dalam air. Contoh pelarut dari kategori ini adalah benzene ( $C_6H_6$ ), karbon tetraklorida ( $CCl_4$ ), dan etil eter ( $CH_3CH_2OCH_2CH_3$ ).

## 2.4. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Nuraina (2007) menyatakan bahwa pengujian aktivitas antibakteri merupakan suatu proses pengukuran seberapa besar konsentrasi yang dihasilkan dari senyawa dalam memberikan efek kepada mikroorganisme. Adapun faktor yang mempengaruhi kemampuan antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba yaitu : zat antimikroba, suhu, penyimpanan, sifat dari mikroba itu seperti jumlah, umur, dan keadaan mikroba, sifat fisika serta kimia dari makanan seperti kadar air, derajat keasamaan (pH) dan jumlah senyawa.

Menurut Jawetz *et al.* (2007) menyatakan bahwa metode yang sering digunakan yaitu metode difusi kertas cakram. Kertas cakram mengandung

beberapa obat yang diletakan di atas medium padat yang diinokulasi terhadap permukaan pada organisme yang diuji. Selanjutnya melalui proses inkubasi, diameter zona bening di sekitar kertas cakram diukur untuk pengukuran dalam kekuatan inhibisi obat dalam melawan organisme tertentu.

Metode difusi terbagi menjadi beberapa cara antara lain menurut (Jawerz *et al.* 2007) :

### **1. Metode Silinder Gelas**

Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri diatas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah di inkubasi, pertumbuhan pada bakteri diamati untuk melihat ada atau tidaknya daerah hambatan disekeliling silinder.

### **2. Metode Kertas Cakram (*Disk diffusion*)**

Metode cakram kertas adalah meletakkan cakram kertas yang telah direndam dengan larutan uji diatas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinokulasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada atau tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram. Kelebihan yang terdapat pada metode difusi cakram ini adalah mudah dilakukan, tidak perlu memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Kekurangan yang terdapat pada metode difusi cakram ini adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inoculum, predifusi, dan preinkubasi serta ketebalan medium.

### 3. Metode Cetak Lubang (metode sumur)

Metode lubang yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang.

#### 2.5. Bakteri Patogen

Bakteri merupakan uniseluler yang pada umumnya tidak berklorofil, ada beberapa yang fotosintetik dan produksi asekdualnya secara pembelahan dan bakteri mempunyai ukuran sel kecil dimana setiap selnya hanya dapat dilihat dengan menggunakan bantuak mikroskop. Ukuran bakteri bervariasi baik penampang maupun panjang, tetapi pada umumnya penampang bakteri berkisaran 0,7 – 1,5, dengan panjang berkisaran 1,6  $\mu\text{m}$  (Anonim, 2003). Bakteri patogen merupakan bakteri yang mampu menyebabkan penyakit. Bakteri patogen dapat menyebar melalui populasi manusia dalam berbagai cara. Pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen melibatkan antibiotik, obat yang diformulasikan khusus untuk membunuh bakteri (Pelczar dan Chan, 1998).

##### 2.5.1. *Aeromonas salmonicida*

*A. salmonicida* (sinonim *Bacillus salmonicida*, *Bacterium trutta*) pertama kali ditemukan pada ikan Trout di Jerman oleh Emmerich dan Weibel (1894).

*A. salmonicida* terdiri dari 4 sub spesies, yaitu *A. salmonicida*, *A. achromogene*, *A. masoucida*, dan *A. smithia* (Cipriano dan Bullock, 2001).

Menurut Buchanan dan Gibbons (1974) dalam Departemen Kelautan dan Perikanan (2007) klasifikasi ilmiah *A. salmonicida* adalah sebagai berikut :



Domain : Bacteria  
Kingdom : Proteobacteria  
Filum : Gammaproteobacteria  
Kelas : Aeromonadales  
Genus : *Aeromonas*  
Spesies : *Aeromonas salmonicida*



Gambar 2. *A. salmonicida* (Cipriano dan Bullock, 2001)

*A. salmonicida* merupakan bakteri Gram negatif (Austin dan Austin, 2007). Bakteri Gram negatif merupakan bakteri yang tidak mempertahankan zat warna metil ungu pada metode perwarnaan Gram. Bakteri *A. salmonicida* berbentuk batang pendek ( $1,3 - 2,0 \times 0,8 - 1,3 \mu\text{m}$ ), non motil atau tidak bergerak, tidak membentuk spora, fakultatif anaerob, pertumbuhan optimum pada suhu  $22^{\circ}\text{C}$ , memproduksi brown pigmen yang *diffusible* (untuk strain *typical*) (Pusat Karantina Ikan, 2007).

Secara taksonomi bakteri *A. salmonicida* dibagi menjadi 2 jenis yaitu *typical* dan *atypical*. Strain *typical* mempunyai inang dominan ikan-ikan salmonid dan menyebabkan penyakit furunculosis dengan gejala klinis yang khas sedangkan

strain *atypical* mempunyai karakteristik yang memiliki banyak variasi dari sifat fisiologi, biokimia, dan serelogi serta ketahanan terhadap antibiotik.

Menurut Depatemen Kelautan dan Perikanan (2009) menyatakan bahwa koloni bakteri *A. salmonicida* berwarna putih, kecil, bulat, dan cembung. Strain *typical* dapat menghasilkan pigmen coklat yang akan akan lebih keliatan apabila medium ditambah dengan *tyrosine* atau *phenylalanine* (Robert, 1989). Pada media dengan kandungan asam amino tinggi pigmen coklat akan jelas kelihatan pada umur kultur 48 jam. Secara biokimia bakteri ini mempunyai sifat-sifat oksidase positif dan memfermentasi glukosa

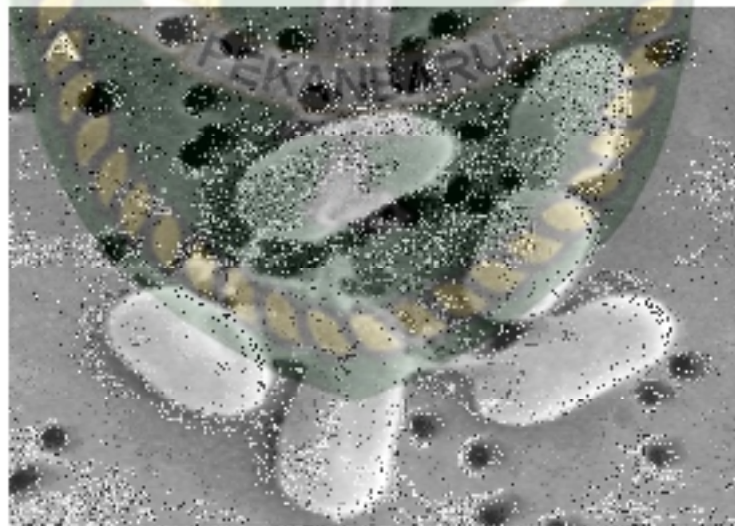
Ikan yang terserang bakteri *A. salmonicida* biasanya akan memperlihatkan tanda-tanda seperti : warna tubuhnya akan berubah menjadi agak gelap, kulitnya akan menjadi kasar dan timbul pendarahan yang selanjutnya akan menjadi borok (hemoragi), seluruh siripnya rusak dan insangnya menjadi berwarna keputih-putihan, mata rusak dan agak menonjol (*exophthalmia*) (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

Menurut McCarthy dan Robert (1980) dalam Koski (2005) menyatakan bahwa gejala klinis atau tanda-tanda serangan bakteri *A. salmonicida* pada ikan menyebabkan kemampuan berenangannya menurun dan sering ke permukaan air dikarenakan insang rusak menyebabkan pendarahan pada insang sehingga sulit untuk bernapas, sering terjadi pendarahan pada organ bagian dalam seperti hati, ginjal maupun limpa, sering pula terlihat perutnya kembung (dropsi), lender berdarah pada rectum, pembentukan cairan berdarah, pendarahan pada pangkal sirip, pendarahan didasar sirip dada, dan kematian yang tinggi.

### 2.5.2. *Edwardsiella tarda*

Menurut Mac. Faddin (1980) klasifikasi bakteri *E. tarda* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Eubacteria  
Sub kingdom : Prokayota  
Filum : Proteobacteria  
Divisi : Protophta  
Kelas : Schizomycetes  
Ordo : Pseudomonadales  
Sub ordo : Thiorhodaceae  
Famili : Enterobacteriaceae  
Genus : *Edwardsiella*  
Spesies : *Edwardsiella tarda*



Gambar 3. *E. tarda* (Anonim, 2021)

Menurut Afrianto dan Liviawaty (1992) bakteri *E. tarda* merupakan penyebab penyakit bakteri yang paling serius pada budidaya ikan dan dilaporkan juga menyerang kelompok ikan air tawar, laut, beberapa reptillia dan mamalia

laut. Bakteri *E. tarda* dilaporkan juga dapat menjadi patogen bagi manusia. Infeksi yang terkait dengan spesies ini antara lain *gastroenteritis* (radang lambung atau usus), infeksi luka seperti selulitis atau gangrene gas yang berhubungan dengan trauma pada permukaan mukosa atau selaput lender, dan meningitis.

Faktor penyebab dari infeksi bakteri *E. tarda*, yaitu paparan dari lingkungan perairan atau hewan peliharaan (jenis reptile atau amfibi), maupun kebiasaan memakan ikan mentah yang mengandung bakteri *E. tarda* (Janda dan Abbot, 1993).

Bakteri *E. tarda* sudah tersebar di beberapa negara seperti Eropa, Thailand, Amerika Serikat, Malaysia, Asia, Canada, dan Australia. Di Indonesia *E. tarda* ditemukan di DI Yogyakarta, Kalimantan Barat, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jambi, Bangka Belitung, Kalimantan Tengah, Sulawesi Tengah, DKI Jakarta, dan Sumatera Barat (Biro Hukum, 2010).

Menurut Plumb (1993) *E. tarda* disebabkan oleh bakteri dari genus *Edwardsiella* dan umumnya menyerang spesies-spesies ikan di daerah tropis. *E. tarda* berbentuk batang pendek, Gram negatif, non acid fast, motil, tidak membentuk spora dan tidak membentuk kapsul, termasuk ke dalam kelompok *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini hidup secara alamiah di perairan tawar dan laut khususnya perairan yang banyak mengandung bahan organik dan juga lumpur. Beberapa inang alamiah bisa bertahan sebagai carier dan penularannya secara horizontal yaitu kontak antara inang satu dengan inang lain melalui media air. Bakteri *E. tarda* ini juga merupakan bakteri yang zoonosis dan dapat menyebabkan penyakit *gastrointestinae* dan *extraintestinae* atau diare yang akut pada manusia.



Menurut Hawke (1979) dalam Austin dan Austin (1987) morfologi koloni bakteri *E. tarda* adalah permukaan rata, berbentuk bundar, diameter 2 mm, sedikit cembung, tepi rata, perkembangan koloni tidak menghasilkan pigmen, koloni transparan, suhu optimal 35°C dan tidak tumbuh pada suhu <10°C atau >45°C. Waktu pembelahan bakteri *E. tarda* tiap 34 menit.

Menurut Septiama (2008) gejala klinis ikan yang terserang bakteri *E. tarda* adalah :

- a. Pada infeksi ringan penyakit ini hanya menampilkan luka-luka kecil dengan ukuran 3 – 5 mm pada samping belakang tubuh (*posteriolateral*).
- b. Sebagai perkembangan lebih lanjut, luka bernanah berkembang dalam otot rusuk dan lambung yang apabila mengeluarkan gas H<sub>2</sub>S.
- c. Pada kasus akut, luka bernanah secara cepat bertambah dalam berbagai ukuran. Perkembangan lebih lanjut luka-luka (rongga-rongga) tersebut berisi gas dan terlihat bentuk cembung menyebar ke seluruh tubuh.
- d. Ikan kehilangan warna dan luka-luka kemudian merata ke seluruh tubuh
- e. Ikan cenderung kehilangan kontrol pada tubuh bagian belakang.

### **2.5.3. *Edwardsiella ictaluri***

Karakteristik dari bakteri *E. ictaluri* adalah bergerak dengan flagella, tidak berspora dan tidak berkapsul, batang, pleomorfik, termasuk bakteri Gram negatif, berukuran 0,75 – 2,5 µm, koloni kecil, bulat transparan, tidak berwarna, suhu optimum 28 - 30°C (Holt *et al.* 1994). Masa inkubasi *E. ictaluri* adalah 36- 48 jam, tampak sebagai koloni non pigmen yang halus, bundar (berdiameter 1 – 2 mm), cembung ramping sampai keseluruhan tepi. Bakteri ini tumbuh lambat atau tidak sama sekali pada suhu 37°C (Anonim, 2006a).

Adapun klasifikasi bakteri *E. ictaluri* menurut Holt *et al.* (1994) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Eubacteria  
Subkingdom : Prokaryota  
Phylum : Proteobacteria  
Divisi : Protophyta  
Kelas : Szhizomycetes  
Ordo : Pseudomonadales  
Subordo : Thiorhodaceae  
Familia : Enterobacteruaceae  
Genus : *Edwardsiella*  
Spesies : *Edwardsiella ictaluri*



Gambar 4. *E. ictaluri* (Paniogoro *et al.* 2005)

Menurut Hawke *et al.* (1998) ikan yang terinfeksi bakteri *E. ictaluri* seringkali terlihat berenang berputar-putar, kepala ikan tersebut mengejar ekornya. Keadaan tingkah laku berputar (whirling atau kepala mengejar ekor) tersebut merupakan tanda adanya bakteri *E. ictaluri* pada otak ikan. Ikan yang terinfeksi akan berenang menggantung dengan kepala di atas dan ekor di bawah.

*E. ictaluri* dapat menginfeksi inangnya melalui hidung, saluran gastrointestinal dan insang, kemudian akan menyebar ke organ tubuh melalui bakteremia akut (Nusbaum dan Morrison, 2002).



### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Balai Benih Ikan Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau pada bulan Januari sampai Maret 2021.

#### 3.2. Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.2.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada saat penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Alat Penelitian

No	Alat	Jumlah	Fungsi
1.	Timbangan analitik	1 Unit	Menimbang bahan yang diperlukan
2.	<i>Autoclave</i>	1 Unit	Sterilisasi alat dan bahan yang akan diperlukan
3.	Sendok	1 Buah	Mengambil bahan yang diperlukan
4.	Kaca arloji	1 Buah	Wadah media saat penimbangan
5.	Erlenmeyer 50 ml	19 Buah	Wadah untuk memanaskan media dan kultur bakteri patogen
6.	Erlenmeyer 250 ml	1 Buah	Wadah untuk memanaskan media
7.	<i>Magnetic stirrer</i>	1 Buah	Mengaduk media saat pemanasan di <i>hot plate</i>
8.	<i>Hot plate</i>	1 Unit	Memanaskan media yang akan digunakan
9.	Laminar air flow	1 Unit	Tempat menanam dan infeksi bakteri patogen
10.	Cawan petri	15 Buah	Tempat media agar
11.	Tabung reaksi	6 Buah	Tempat media agar miring
12.	Gelas ukur 25 ml	1 Buah	Menakar agar yang akan dimasukan ke cawan petri
13.	Gelas ukur 250 ml	1 Buah	Menakar aquades
14.	Vortex	1 Unit	Menghomogenkan suspense ekstrak
15.	Aluminium foil	1 Roll	Menutup wadah media yang digunakan
16.	Rak tabung reaksi	2 Buah	Tempat meletakkan tabung reaksi
17.	Micro pipet 10-100 $\mu$ m	1 Buah	Mengambil sampel bakteri ke media agar



18.	Micro pipet 100-1000 $\mu\text{m}$	1 Buah	Mengambil sampel ekstrak daun Kipahit
19.	Jarum ose	2 Buah	Infeksi bakteri patogen ke media agar dan broth
20.	Bunsen	2 Buah	Sterilisasi jarum ose
21.	Beaker glass 20 ml	7 Buah	Wadah kertas cakram dan cakram antibiotik yang akan digunakan
22.	Pinset	1 Buah	Mengambil kertas cakram
23.	<i>Incubator</i>	1 Unit	Tempat inkubasi dan pembiakan bakteri
24.	Jangka sorong	1 Buah	Mengukur diameter daya hambat
25.	<i>Rotary evaporator</i>	1 Buah	Mengekstraksi daun Kipahit
26.	Botol selai kaca	1 Buah	Wadah penyimpanan ekstrak
27.	Botol vial	5 Buah	Wadah stok konsentrasi ekstrak
28.	Plat tetes	1 Buah	Wadah kertas cakram yang akan ditetesi konsentrasi dari ekstrak

### 3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada saat penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2. Bahan Penelitian

No.	Bahan	Fungsi
1.	Nutrien Agar (NA)	Media isolasi, kultur dan permurnian bakteri patogen
2.	Nutrien Borth (NB)	Media pemurnian bakteri
3.	Aquades	Pelarut media agar dan broth
4.	Ekstrak Daun Kipahit	Bahan sampel uji
5.	Alkohol	Sterilisasi
6.	Spiritus	Bahan bakar Bunsen
7.	Bakteri <i>A. salmonicida</i>	Bakteri patogen uji antagonis
8.	Bakteri <i>E. tarda</i>	Bakteri patogen uji antagonis
9.	Bakteri <i>E. ictaluri</i>	Bakteri patogen uji antagonis
10.	Kertas Cakram	Uji antagonis
11.	Kertas Cakram Antibiotik Oksitetrasiklin	Control positif uji antagonis
12.	Etanol 95%	Mengekstraksi ekstrak daun Kipahit
13.	Metanol	Melarutkan ekstrak
14.	Tissu	Untuk mengeringkan alat penelitian
15.	Kloroform 0,05 N	Uji alkaloid
16.	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2N	Uji alkaloid dan uji terpenoid/steroid
17.	Mayer	Uji alkaloid
18.	Dragendorff	Uji alkaloid
19.	Serbuk Magnesium	Uji flavonoid

20.	HCl 37%	Uji flavonoid
21.	Acetic Acid	Uji terpenoid/steroid
22.	Asam Asetat Anhidrida	Uji terpenoid/steroid
22.	FeCl <sub>3</sub> 1%	Uji fenolik
23.	Aquades	Sebagai pelarut NA, NB dan uji fitokimia

### 3.3. Hasil Uji Pendahuluan Aktivitas Antibakteri

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak daun Kipahit dengan konsentrasi 50% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*. Hasil uji pendahuluan, didapatkan bahwa ekstrak daun Kipahit dengan konsentrasi 50% memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat (zona bening) pada bakteri *A. salmonicida* sebesar 28 mm, *E. tarda* sebesar 27 mm dan *E. ictaluri* sebesar 27 mm pada area sekitar cakram, efektivitas daya hambat ini tergolong kuat. Hasil uji pendahuluan ini digunakan untuk memenuhi konsentrasi perlakuan pada penelitian ini.

### 3.4. Rancangan Percobaan dan Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan pendekatan eksperimental, dimana untuk mengetahui kemampuan daya antibakteri ekstrak daun Kipahit terhadap bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri* yang dilakukan dengan lima perlakuan dan dua kali ulangan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah perbedaan konsentrasi ekstrak daun Kipahit, sebagai berikut :

- P1 = Ekstrak daun Kipahit konsentrasi 10%
- P2 = Ekstrak daun Kipahit konsentrasi 20%
- P3 = Ekstrak daun Kipahit konsentrasi 30%
- P4 = Ekstrak daun Kipahit konsentrasi 40%
- P5 = Ekstrak daun Kipahit konsentrasi 50%

Metode perlakuan ini dilakukan dengan dua tahap yaitu pertama adalah eksperimental laboratorium. Daun Kipahit (*T. diversifolia*) di ekstraksi dengan metode maserasi yaitu dengan menggunakan pelarut etanol 95%. Ekstrak daun Kipahit (*T. diversifolia*) menentukan aktivitas sediaan ekstrak daun Kipahit sebagai kandidat antibakteri. Kedua, metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu difusi cakram, dimana dalam teknik ini media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri patogen kemudian dimasukan kertas cakram pada media yang telah diisi ekstrak uji.

### **3.5. Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1. Pengambilan Sampel Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)**

Sampel penelitian yang digunakan adalah daun Kipahit yang diperoleh di sekitaran Jalan Kamang Mudiak Jorong Rawang Bunian Kecamatan Tilatang Kamang Kabupaten Agam Sumatera Barat.

#### **3.5.2. Ekstraksi Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)**

Dalam proses pembuatan ekstrak daun Kipahit metode yang digunakan yaitu metode ekstraksi maserasi. Metode ini digunakan karena cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Proses pengerjaannya yaitu sampel dari daun Kipahit yang telah kering kemudian dimasukan ke dalam bejana maserasi lalu diberi cairan pelarut etanol 95%

secukupnya. Etanol yang digunakan karena termasuk pelarut polar sehingga pelarut diharapkan dapat menarik zat-zat aktif yang sifatnya polar (yang dibutuhkan), kemudian ditutup dan disimpan pada tempat yang tidak terkena cahaya matahari langsung, sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 2 hari sampel tersebut disaring untuk memisahkan larutan dengan ampasnya, ampas dari daun Kipahit tersebut dimasukan kembali ke dalam bejana maserasi dan dilakukan seperti semula. Hasil saringan diuapkan dalam *rotary evaporator* dengan suhu 40°C untuk mendapatkan ekstrak murni dari daun Kipahit, setelah mendapatkan ekstrak murni daun dari proses evaporasi, ekstrak dimasukkan kedalam botol selai kaca dan ditutup menggunakan tisu agar penguapannya maksimal.

### **3.5.3. Pembuatan Konsentrasi Suspensi Ekstraksi Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)**

Konsentrasi suspense ekstrak daun Kipahit yang akan digunakan yaitu mulai dari 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% dengan cara:

1. Konsentrasi 10% (0,2 g ekstrak daun Kipahit + 2 ml Metanol)
2. Konsentrasi 20% (0,4 g ekstrak daun Kipahit + 2 ml Metanol)
3. Konsentrasi 30% (0,6 g ekstrak daun Kipahit + 2 ml Metanol)
4. Konsentrasi 40% (0,8 g ekstrak daun Kipahit + 2 ml Metanol)
5. Konsentrasi 50% (1 g ekstrak daun Kipahit + 2 ml Metanol)

### **3.5.4. Sterilisasi Alat dan Bahan**

Sebelum melakukan kultur bakteri dan uji aktivitas antibakteri, peralatan yang terbuat dari kaca dibersihkan terlebih dahulu dengan mencucinya dengan sabun dan dibilas dengan air yang mengalir dan bersih, setelah dicuci alat tersebut



dibungkus dengan menggunakan plastik bening lalu dimasukkan ke dalam alat autoclave untuk disterilisasi dan didiamkan selama 30 menit pada suhu 121°C.

Untuk sterilisasi aquades, hal pertama yang dilakukan yaitu aquades yang dibutuhkan dimasukkan ke dalam erlenmayer sebanyak 1000 ml atau sesuai yang dibutuhkan, setelah itu bagian atas dari erlenmayer tersebut ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan dimasukkan ke dalam *autoclave* untuk disterilisasi selama 15 menit pada suhu 121°C.

Sterilisasi dilakukan untuk membunuh mikroba yang terdapat pada peralatan. Teknik sterilisasi yang paling sering digunakan adalah sterilisasi dengan menggunakan uap air panas bertekanan atau menggunakan *autoclave*. Suhu atau tekanan yang tinggi diberikan kepada alat dan bahan memberikan kekuatan yang lebih besar untuk membunuh sel dibanding dengan udara panas. Biasanya untuk mensterilkan media digunakan suhu 121°C selama 15 menit dan alat selama 30 menit (Fardiaz, 1992).

#### **3.5.5. Peremajaan Bakteri Patogen**

Peremajaan bakteri patogen merupakan proses penanaman ulang patogen yang sebelumnya sudah ada ke media yang baru untuk mempertahankan ketersediaan patogen atau bakteri tersebut, bakteri patogen yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*. Peremajaan bakteri patogen ini dilakukan pada media agar miring, untuk membuat media agar miring langkah pertama yang dilakukan yaitu mempersiapkan enam buah tabung reaksi yang sudah disterilisasi.

Langkah selanjutnya yaitu Nutrient Agar (NA) ditimbang sebanyak 1,08 gr dan ditambahkan aquades sebanyak 54 ml ke dalam erlenmayer 100 ml, setelah

itu masukan *magnetik stirrer* dan ditutup menggunakan aluminium foil. Larutkan sampai homogen lalu dipanaskan menggunakan hot plate dengan suhu 200°C hingga mendidih. Setelah mendidih larutan diangkat dan dinginkan sebentar lalu disterilkan ke dalam autoclave selama 20 menit pada suhu 121°C. Setelah dipanaskan dan disterilkan media NA dituangkan kedalam tabung reaksi sebanyak 9 ml, miringkan tabung reaksi dan dinginkan sampai media NA mengeras. Setelah media mengeras, lalu tanam bakteri patogen masing-masing dilakukan dua kali ulangan dengan menggunakan metode jarum ose. Tandai setiap tabung reaksi sesuai dengan bakteri patogen yang terdapat di dalamnya, kemudian dilakukan inkubasi ke dalam incubator selama 24 jam dalam suhu 30°C.

### **3.5.6. Kultur Bakteri Patogen pada Nutrient Broth (NB)**

Nutrient Broth (NB) merupakan media yang akan digunakan untuk kultur bakteri dan patogen yang berbentuk cair atau liquid. Pembuatan media NB menggunakan tiga erlenmeyer, langkah pertama yang akan dilakukan untuk pembuatan media NB yaitu, timbang NB sebanyak 0,24 gr, kemudian tambahkan aquades sebanyak 45 ml kedalam erlenmeyer 50 ml, setelah itu masukan *magnetik stirrer* dan ditutup menggunakan aluminium foil. Kemudian panaskan media NB dengan menggunakan *hot plate* dengan suhu 200°C sambil diaduk menggunakan *magnetik stirrer* hingga mendidih dan bening. Setelah mendidih media NB diangkat dan didinginkan sebentar, lalu masukan ke dalam erlenmeyer 30 ml sebanyak 3 buah. Masing-masing erlenmeyer tersebut di isi media NB sebanyak 10 ml, tutup bagian atasnya dengan menggunakan aluminium foil, lalu sterilkan pada autoclave pada suhu 121°C selama 20 menit.

Media NB yang telah disterilkan kemudian didinginkan ke dalam *Laminar air flow*, setelah media tersebut dingin tanam tiga bakteri patogen yang sebelumnya sudah di remajakan, yaitu *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri* pada masing-masing erlenmeyer dengan cara ambil bakteri pada tabung reaksi menggunakan jarum ose steril, kemudian masukan ke dalam erlenmeyer yang sudah berisi NB yang dingin, aduk sampai homogen lalu tutup bagian atas erlenmeyer menggunakan aluminium foil. Proses kultur bakteri dilakukan secara aseptis, setelah semua bakteri patogen di tanam ke dalam NB, lalu masukan ke dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 30°C.

#### **3.5.7. Uji Aktivitas Antibakteri**

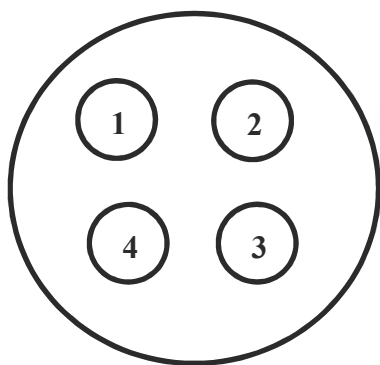
Dalam melakukan uji aktivitas antibakteri metode yang digunakan yaitu metode difusi cakram untuk mengetahui kekuatan daya hambat ekstrak terhadap bakteri patogen dengan menggunakan media Nutrient Agar (NA), dengan cara menanam sediaan ekstrak dalam media agar yang telah diberi bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*, bakteri ini diperoleh dari Laboratorium Balai Benih Ikan Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau.

Nutrient Agar (NA) merupakan media yang digunakan untuk kultur bakteri dan patogen yang berbentuk padat. Pembuatan media NA untuk 15 cawan petri, langkah pertama yang dilakukan yaitu timbang NA sebanyak 4,5 gr kemudian tambahkan aquades sebanyak 225 ml ke dalam erlenmeyer 250 ml, homogenkan, lalu masukan *magnetik stirrer* dan tutup dengan aluminium foil. Panaskan menggunakan *hot plate* dengan suhu 200°C hingga mendidih. Setelah mendidih angkat dan dinginkan sebentar, lalu masukan ke dalam erlenmeyer 50 ml sebanyak 15 buah. Masing-masing erlenmeyer di isi sebanyak 15 ml, tutup bagian

atasnya menggunakan aluminium foil, kemudian sterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 20 menit.

Media NA yang sudah disterilkan kemudian diletakan ke dalam *laminar air flow* tunggu suhu media 40°C atau hangat kuku. Setelah media hangat kuku tanam tiga bakteri patogen yang sebelumnya sudah dikultur pada media NB dengan cara ambil suspensi bakteri dengan mikro pipet dan diteteskan sebanyak 30 µL ke dalam erlenmeyer, homogenkan, setelah itu tuang ke dalam cawan petri diratakan pada media, lalu diamkan selama 30 menit.

Setelah itu teteskan kertas cakram dengan sediaan ekstrak daun Kipahit sebanyak 30µL. Setelah itu kertas cakram yang telah ditetesi diletakan di atas media dan ditekan dengan pelan menggunakan pinset agar menempel sempurna. Setelah selesai diberi label, lalu diinkubasi secara terbalik selama 24 jam dengan suhu 30°C. Hasil dari inkubasi berupa daerah bening di sekitar cakram menunjukkan bahwa tidak ada pertumbuhan bakteri diinterpretasikan sebagai zona hambat. Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram atau tes Kirby Bauer, terdiri dari satu kertas cakram antibiotik (+), satu kertas cakram kontrol (-), dan dua kertas cakram yang sudah ditetesi suspense ekstrak daun Kipahit. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Keterangan :

1. Kontrol positif, antibiotik oksitetrasikin
2. Kontrol negatif, methanol
3. Suspensi konsentrasi ekstrak daun Kipahit
4. Suspensi konsentrasi ekstrak daun Kipahit

Gambar 5. Metode Difusi Cakram



Zona hambat yang terbentuk setelah 24 jam diukur menggunakan jangka sorong dan diinterpretasikan kekuatan zona hambatnya. Adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri* yang ditandai terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram yang mengandung larutan uji dan kontrol positif.

Tabel 3.3. Kriteria Kekuatan Zona Hambat

Diameter Zona Bening	Respon Hambatan Pertumbuhan
< 5 mm	Lemah
5 - 10 mm	Sedang
10 - 19 mm	Kuat
20 - 30 mm	Sangat kuat

Sumber: Sartika *et al.* (2013)

### 3.5.8. Uji Fitokimia

#### 3.5.8.1. Uji Alkaloid

Adapun proses pengerjaan dalam melakukan uji alkaloid yaitu, timbang ekstrak daun Kipahit sebanyak 0,05 gram di dalam botol vial lalu tambahkan 5 ml Kloroform-amoniak 0,05 N kemudian larutkan. Kemudian tambahkan sebanyak 3 ml asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) 2 N, kocok lalu diamkan hingga terjadi pemisahan. Ambil bagian atas lalu masukkan ke dalam 2 buah botol vial yang mana masing-masing diisi sebanyak 1 ml.

Pada botol vial pertama tambahkan 5 tetes pereaksi Mayer dan pada botol vial kedua tambahkan 5 tetes pereaksi Dragendorff. Apabila terbentuk kabut atau endapan putih pada botol vial pertama (Mayer) dan kabut atau endapan oren pada botol vial kedua (Dragendorff) maka sampel positif alkaloid.

Ekstrak diambil sebanyak 0,1 gram kemudian ditambahkan dengan kloroform sebanyak 5 ml dan amoniak sebanyak 3 tetes. Fraksi kloroform

dipisahkan dan diasamkan dengan 2 tetes  $H_2SO_4$  2M. Fraksi asam dibagi menjadi tiga tabung yang mana masing-masing tabung ditambahkan pereaksi dragendorf, meyer dan wagner. Untuk alkaloida pada sampel ditandai dengan adanya endapan putih pada pereaksi meyer, pada endapan pereaksi dragendorf ditandai dengan adanya endapan merah dan pada pereaksi wagner ditandai dengan adanya endapan coklat (Harbone, 1987).

#### **3.5.8.2. Uji Fenolik**

Adapun proses pengerjaan dalam melakukan uji fenolik yaitu, ambil 2 ml larutan ekstrak daun Kipahit pada lapisan aquades (atas) lalu masukkan kedalam tabung vial. Kemudian tambahkan 5 tetes  $FeCl_3$  1%. Apabila terbentuk larutan warna hijau sampai biru kehitaman, maka sampel positif fenolik.

#### **3.5.8.3. Uji Saponin**

Ekstrak diambil sebanyak 0,1 gram kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan aquades sebanyak 10 ml lalu dikocok selama 30 detik. Hasil positif dari percobaan ini adalah terbentuknya busa tebal  $\pm$  1 cm yang konstan (Harbone, 1987).

#### **3.5.8.4. Uji Terpenoid/Steroid**

Adapun proses pengerjaan dalam melakukan uji terpenoid/steroid yaitu ambil lapisan kloroform dari larutan ekstrak daun Kipahit menggunakan pipet tetes, lalu tetesi pada lubang plat tetes sebanyak 5 tetes dan tunggu hingga mongering. Kemudian tambahkan pereaksi Lieberman-Burchard, yaitu 8 tetes asam asetat anhidrida ( $(CH_3CO)_2O$ ) dan 2 tetes asam sulfat pekat ( $H_2SO_4$  95%).

Bila terbentuk warna merah atau ungu menandakan positif terpenoid, dan bila terbentuk warna biru atau hijau menandakan positif steroid.

#### **3.5.8.5.Uji Flavonoid**

Adapun proses pengerjaan dalam melakukan uji flavonoid yaitu, ambil 2 ml larutan ekstrak daun Kipahit pada lapisan aquades (atas), lalu masukkan kedalam tabung vial. Kemudian tambahkan 0,05 gram serbuk magnesium dan teteskan asam klorida pekat (HCl 37%) sebanyak 10 tetes, tunggu beberapa saat. Jika terbentuk larutan warna merah muda sampai merah, maka sampel positif flavonoid.

Ekstrak diambil sebanyak 0,1 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan serbuk magnesium sebanyak 0,1 gram dan amil alkohol 0,4 ml. Kemudian ditambahkan lagi alkohol sebanyak 4 ml dan dicampur hingga homogen, reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Cowan, 1999).

#### **3.5.8.6.Uji Tanin**

Ekstrak diambil sebanyak 0,1 gram kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan aquades sebanyak 10 ml lalu dikocok. Diamkan sampel selama 5 menit, setelah itu sampel disaring dengan menggunakan kertas saring dan filtrat ditampung menggunakan tabung reaksi. Filtrat ditambah dengan  $\text{FeCl}_3$  1 sebanyak 5 tetes kemudian dikocok. Reaksi positif dari percobaan ini adalah terbentuknya warna hijau kehitaman (Harbone, 1987).

### 3.6. Hipotesis dan Asumsi

Dalam penelitian ini hipotesa yang diajukan adalah:

H0 = Ekstrak daun Kipahit tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri

*A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*.

H1 = Ekstrak daun Kipahit dapat menghambat pertumbuhan bakteri

*A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*.

Hipotesis di atas diajukan dengan asumsi sebagai berikut:

1. Tingkat virulensi bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri* dianggap sama
2. Tingkat keterampilan dan ketelitian peneliti dianggap sama
3. Keadaan lingkungan dan kebersihan alat laboratorium dianggap sama.

### 3.7. Analisis Data

Pada penelitian ini data yang diamati berupa aktivitas daya hambat ekstrak daun Kipahit (*T. diversifolia*) terhadap bakteri patogen (*A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*) dan identifikasi uji fitokimia ekstrak daun Kipahit. Kemudian data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan didukung studi literatur.



## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Uji Fitokimia

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan. Pada penelitian ini pengujiannya dilakukan dengan cara mengambil sedikit sampel dari ekstrak hasil maserasi, kemudian ditambahkan reagen sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi.

Hasil uji fitokimia pada ekstrak daun Kipahit (*T. diversifolia*) menunjukkan bahwa daun Kipahit mengandung senyawa alkaloid, fenolik, steroid/terpenoid dan flavonoid, dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Data Hasil Pengamatan Uji Fitokimia

No.	Senyawa Aktif	Hasil Pengamatan	Hasil Uji
1.	Alkaloid	Endapan putih dan Oren	(+)
2.	Fenolik	Warna hijau	(+)
3.	Saponin	Tidak terbentuk buih	(-)
4.	Steroid/Terpenoid	Warna hijau kebiruan	(+)
5.	Flavonoid	Warna merah muda	(+)

Keterangan : (+) = Terdapat senyawa, (-) = Tidak terdapat senyawa

Dari Tabel 4.1. di atas dapat dilihat bahwa dari lima senyawa aktif yang diuji hanya senyawa saponin yang tidak teridentifikasi dengan tidak terbentuknya buih atau busa pada larutan ekstrak daun Kipahit. Menurut Sangi *et al.* (2008) hasil dari uji saponin yang menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya buih atau busa yang terbentuk setelah pengocokan dan bertahan lama. Saponin memiliki glikosil sebagai gugus polar serta gugus steroid atau terpenoid sebagai gugus non polar sehingga bersifat aktif permukaan dan membentuk misel saat dikocok dengan air. Pada struktur

misel gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus non polar menghadap ke dalam dan keadaan inilah yang tampak seperti busa atau buih.

Adapun senyawa yang teridentifikasi memiliki kandungan senyawa aktif dalam ekstrak metabolit sekunder pada daun Kipahit yaitu alkaloid, fenolik, steroid/terpenoid dan flavonoid.

#### 4.1.1. Alkaloid

Pengujian alkaloid pada ekstrak metabolit daun Kipahit positif mengandung alkaloid. Hasil positif alkaloid ditunjukkan dengan adanya perubahan yang terdapat pada masing-masing larutan, pada botol vial pertama terbentuknya kabut atau endapan putih setelah ditetesi pereaksi Mayer dan pada botol vial kedua terbentuknya kabut atau endapan oren setelah ditetesi peraksi Dragendorff.



Gambar 6. Hasil Uji Alkaloid

Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Prabhakar dan Doble, 2008).

#### 4.1.2. Fenolik

Pada pengujian fenolik pada ekstrak metabolit daun Kipahit positif mengandung fenolik, hasil positif fenolik ditunjukkan dengan adanya perubahan setelah larutan ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  1% yang terbentuk larutan warna hijau sampai biru kehitaman.



Gambar 7. Hasil Uji Fenolik

Bukti kualitatif untuk menunjukkan adanya fenolik dapat diperoleh dengan menggunakan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1%. Fenolik akan membentuk warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat akibat reaksi dengan  $\text{FeCl}_3$ . Senyawa fenolik dengan gugus hidroksil semakin banyak memiliki tingkat kelarutan dalam air semakin besar atau bersifat polar, sehingga dapat terekstrak dalam pelarut-pelarut polar (Harbone, 1987).

#### 4.1.3. Steroid/Terpenoid

Dapat dilihat pada gambar di bawah bahwa hasil uji steroid dari ekstrak metabolit sekunder daun Kipahit yaitu positif, reaksi steroid dengan pereaksi Liebermann-Burchard menghasilkan warna biru atau hijau dan terbentuk cincin. Hal

ini sesuai dengan pendapat Marliana dan Saleh (2011) prinsip reaksi dalam uji steroid/terpenoid adalah kondensasi atau pelepasan H<sub>2</sub>O dan penggabungan karbokation dan menyebabkan adisi elektrofilik diikuti dengan pelepasan hidrogen. Gugus hidrogen beserta elektronnya akan dilepas sehingga mengalami perpanjangan konjungsi yang memperlihatkan adanya terbentuk cincin coklat atau hijau.



Gambar 8. Hasil Uji Steroid

Steroid atau sterol merupakan triterpenoid yang mempunyai bentuk dasar siklopentana perhidrofenantren yang biasanya larut dalam pelarut yang kurang polar (Febrianty, 2004). Senyawa ini paling sering ditemukan pada tumbuhan berbiji, bebas dan sebagai glikosida. Triterpenoid yang paling penting dan paling tersebar luas adalah triterpenoid pentasiklik (Robinson, 1995).

#### 4.1.4. Flavonoid

Dapat dilihat pada gambar di bawah bahwa hasil uji flavonoid dari ekstrak metabolit sekunder daun Kipahit yaitu positif, karena adanya perubahan yang ditunjukkan setelah larutan ditambahkan serbuk magnesium dan asam klorida pekat (HCl 37%) terbentuk warna merah muda sampai merah. Harbone (1987) menjelaskan bahwa jika ekstrak sampel terdapat senyawa flavonoid, maka



setelah penambahan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga.



Gambar 9. Hasil Uji Flavonoid

Flavonoid memiliki kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzene ( $C_6$ ) terikat pada rantai propana ( $C_3$ ) sehingga membentuk suatu susunan  $C_6-C_3-C_6$  (Lenny, 2006). Pada tumbuhan tingkat tinggi flavonoid terdapat baik dalam vegetatif maupun dalam bunga (Robinson, 1995). Sebagian besar flavonoid alam ditemukan dalam bentuk glikosida dimana unit flavonoid terikat pada satu gula. Glikosida merupakan kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida (Lenny, 2006). Flavonoid yang berupa glikosida merupakan senyawa polar sehingga dapat diekstrak dengan etanol, metanol maupun air.

#### 4.2. Uji Daya Hambat

Daya hambat ekstrak yang diuji menghasilkan zona bening di sekitar kertas cakram. Zona bening yang terdapat di sekitar kertas cakram merupakan daerah difusi ekstrak yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Besar diameter dari zona hambat

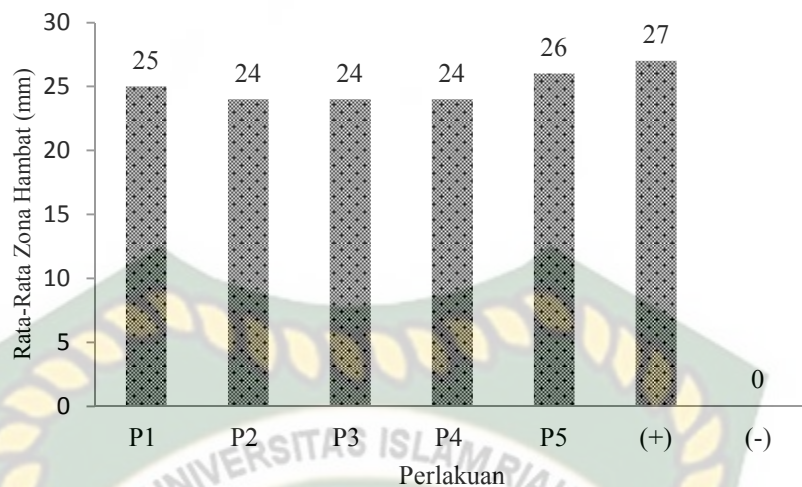
yang terbentuk dapat menunjukkan kekuatan antibakteri dari ekstrak yang digunakan, Penggolongan kekuatan antibakteri Sartika *et al.* (2013) mempermudah dalam menggolongkan kemampuan diameter hambatan lebih dari 20 mm termasuk dalam kategori sangat kuat, diameter hambatan berkisar dari 10-20 mm termasuk kategori kuat, diameter hambatan berkisar dari 5-10 mm termasuk dalam kategori sedang dan diameter hambatan kurang dari 5 mm termasuk dalam kategori lemah.

Efektivitas ekstrak diperoleh dengan membandingkan daya hambat dengan daya hambat dari kontrol positif. Hasil pengujian efektivitas antibakteri ekstrak daun Kipahit (*T. diversifolia*) secara keseluruhan masih tergolong sangat kuat.

#### **4.2.1. Bakteri *Aeromonas salmonicida***

Berdasarkan hasil dari penelitian menunjukkan ekstrak daun Kipahit memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*. Daya hambat ini dibuktikan dengan adanya zona bening yang terdapat disekitar kertas cakram. Konsentrasi larutan ekstrak yang digunakan berbeda-beda dan larutan kontrol yang tidak diberi perlakuan ekstrak. Diameter zona hambat yang terbentuk di daerah sekitar kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong.

Uji daya hambat bakteri *A. salmonicida* dengan menggunakan ekstrak daun Kipahit (*T. diversifolia*) dengan konsentarsi P1 (10%), P2 (20%), P3 (30%), P4 (40%), P5 (50%) dengan 2 kali ulangan dan kontrol positif sebagai pembanding. Besar rata-rata diameter zona hambat pada bakteri *A. salmonicida* dapat dilihat pada Gambar 10 berikut :



Gambar 10. Rata-rata Diameter Zona Hambat pada Bakteri *A. salmonicida*

Dapat dilihat pada Gambar 10 hasil dari penelitian yang dilakukan dapat dikatakan bahwa ekstrak daun Kipahit (*T. diversifolia*) dari konsentrasi 10% hingga 50% memiliki aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri ekstrak daun Kipahit dilihat dari adanya diameter zona hambat atau zona bening yang terbentuk disekitaran kertas cakram. Diameter zona hambat yang dihasilkan pada penelitian ini dikategorikan sangat kuat, yang mana pada konsentrasi 10% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 25 mm, pada konsentrasi 20% hingga 40% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 24 mm, dan pada konsentrasi 50% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 26 mm.

Nilai rata-rata diameter zona hambat terendah terdapat pada konsentrasi 20% hingga konsentrasi 40% yaitu 24 mm, dan rata-rata diameter zona hambat tertinggi terdapat pada konsentrasi 50% yaitu 26 mm. Selanjutnya rata-rata diameter zona hambat pada kontrol positif yaitu 27 mm. Sedangkan pada kontrol negatif tidak terdapat zona hambat di sekeliling kertas cakram.

Menurut Susanto *et al.* (2012) menyatakan jika diameter zona hambat 5 mm atau kurang maka aktivitas penghambatan dikategorikan lemah, selanjutnya diameter zona hambat 6 – 10 mm dikategorikan sedang, diameter zona hambat 11 – 20 mm dikategorikan kuat, sedangkan diameter zona hambat 20 mm atau lebih maka aktivitas penghambatan dikategorikan sangat kuat.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun Kipahit pada konsentrasi yang paling rendah (10%) sudah efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen, karena pada konsentrasi 10% tersebut terdapat senyawa-senyawa antibakteri yang sangat kuat dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen tersebut. Maka dari itu perbedaan konsentrasi yang dihasilkan ekstrak daun Kipahit terhadap daya hambat tidak terlalu berbeda dengan konsentrasi lainnya.

Sesuai dengan pendapat Sinambela (1985) menyatakan bahwa peningkatan dan penurunan besar zona hambat disebabkan karena komponen senyawa yang terkandung dalam tumbuhan dapat saling memperlemah, memperkuat, memperbaiki atau merubah sama sekali.

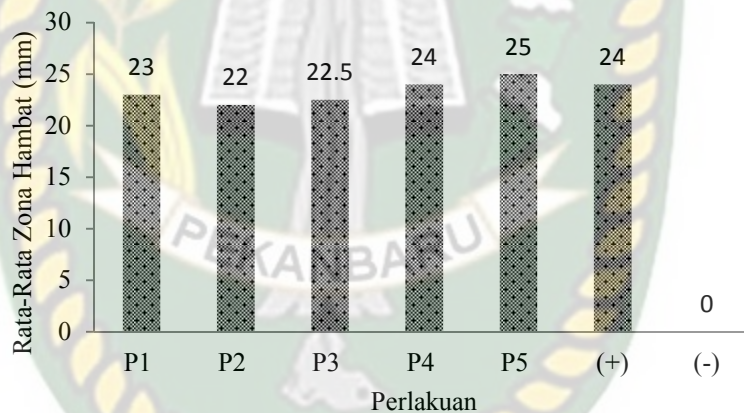
Adapun faktor lainnya yang menyebabkan perbedaan diameter zona hambat yang dihasilkan tidak terlalu berbeda seperti konsentrasi bahan kimia, dan kondisi saat inkubasi. Michel *et al.* (2003) menyatakan bahwa faktor lain yang berpengaruh dalam perbedaan diameter zona hambat yang dihasilkan tidak terlalu berbeda yaitu toksisitas bahan uji, interaksi antar komponen medium, dan kondisi lingkungan *in vitro*.



#### 4.2.2. Bakteri *Edwardsiella tarda*

Pada penelitian ini konsentrasi larutan ekstrak yang digunakan berbeda-beda yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dan larutan kontrol yang tidak diberi perlakuan ekstrak. Diameter zona hambat yang terbentuk didaerah sekitar kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong. Daun Kipahit dianalisis dengan melihat dari kemampuan ekstrak daun Kipahit untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. tarda*.

Uji daya hambat bakteri *E. tarda* dengan menggunakan ekstrak daun Kipahit (*T. diversifolia*) yaitu konsentrasi P1 (10%), P2 (20%), P3 (30%), P4 (40%), P5 (50%) dengan 2 kali ulangan dan kontrol positif sebagai pembanding. Besar rata-rata diameter zona hambat pada bakteri *E. tarda* dapat dilihat pada Gambar 11 berikut:



Gambar 11. Rata-rata Diameter Zona Hambat pada Bakteri *E. tarda*

Dapat dilihat pada Gambar 11 hasil dari penelitian yang dilakukan dapat dikatakan bahwa ekstrak daun Kipahit (*T. diversifolia*) dari konsentrasi 10% hingga 50% mempunyai aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri ekstrak daun Kipahit dilihat dari adanya diameter zona hambat yang terbentuk di sekitaran kertas cakram. Metode difusi cakram merupakan metode yang digunakan untuk menguji aktivitas

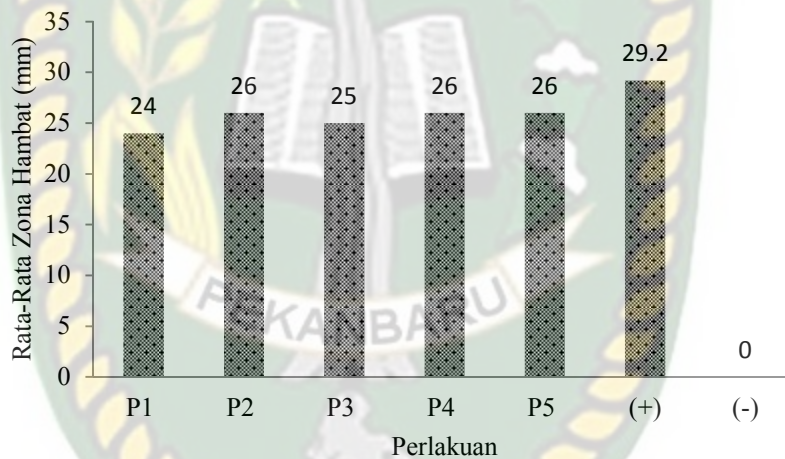
antimikroba suatu antibiotik terhadap mikroorganisme patogen terhadap antibiotik terlihat dari ukuran zona bening yang terbentuk (Cappucino dan Sherman, 2001).

Diameter zona hambat yang terbentuk setelah pemberian ekstrak daun Kipahit memiliki rata-rata yang tidak berbeda signifikan dari konsentrasi 10% hingga 50%. Diameter yang dihasilkan dari konsentrasi ini dikategorikan sangat kuat, yang mana pada konsentrasi 10% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 23 mm, pada konsentrasi 20% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 22 mm, pada konsentrasi 30% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 23,5 mm, pada konsentrasi 40% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 24 mm, dan pada konsentrasi 50% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 25 mm. Sesuai dengan pendapat Rundengan *et al.* (2017) menyatakan bahwa zona hambat >20 mm dikategorikan sangat kuat, zona hambat 11 – 20 mm dikategorikan kuat, pada zona hambat 5 – 10 mm dikategorikan sedang, sedangkan pada zona hambat <5 mm dikategorikan lemah.

Pada penelitian ini nilai rata-rata diameter zona hambat terendah terdapat pada konsentrasi 20% yaitu 22 mm, dan rata-rata diameter zona hambat tertinggi terdapat pada konsentrasi 50% yaitu 25 mm Selanjutnya rata-rata diameter zona hambat pada kontrol positif yaitu 24 mm. Sedangkan pada kontrol negatif tidak terdapat zona hambat di sekeliling kertas cakram. Sesuai dengan pendapat Redjeki (2014) bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin besar zona hambat yang dihasilkan.

### 4.2.3. Bakteri *Edwardsiella ictaluri*

Berdasarkan hasil dari penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun Kipahit memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. ictaluri* secara in vivo. Zona hambat dibuktikan dengan adanya daerah bening pada sekitar kertas cakram. Uji daya hambat bakteri *E. ictaluri* dengan menggunakan ekstrak daun Kipahit (*T. diversifolia*) dengan konsentrasi P1 (10%), P2 (20%), P3 (30%), P4 (40%), P5 (50%) dengan 2 kali ulangan dan kontrol positif sebagai pembanding. Besar rata-rata diameter zona hambat pada bakteri *E. ictaluri* dapat dilihat pada Gambar 12 berikut.



Gambar 12. Rata-rata Diameter Zona Hambat pada Bakteri *E. ictaluri*

Dapat dilihat pada Gambar 12 hasil dari penelitian yang dilakukan dapat dikatakan bahwa ekstrak daun Kipahit (*T. diversifolia*) dari konsentrasi 10% hingga 50% mempunyai aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri ekstrak daun Kipahit dilihat dari adanya diameter zona hambat yang terbentuk disekitaran kertas cakram. Diameter zona hambat yang terbentuk setelah pemberian ekstrak daun Kipahit

memiliki rata-rata yang tidak berbeda signifikan dari konsentrasi 10% hingga 50%, yang mana pada konsentrasi 10% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 24 mm, pada konsentrasi 20% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 26 mm, pada konsentrasi 30% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 25 mm, pada konsentrasi 40% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 26 mm, dan pada konsentrasi 50% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 26 mm. Berdasarkan hasil penelitian ekstrak daun Kipahit efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. ictaluri*, yang mana diameter zona hambat yang dihasilkan >20 mm dan dikategorikan sangat kuat.

Berdasarkan penelitian ini nilai rata-rata diameter zona hambat terendah terdapat pada konsentrasi 10% yaitu 24 mm, dan diameter zona hambat tertinggi terdapat pada konsentrasi 20%, konsentrasi 40% dan konsentrasi 50% yaitu 26 mm. Selanjutnya rata-rata diameter zona hambat pada kontrol positif yaitu 29,2 mm. Sedangkan pada kontrol negatif tidak terdapat zona hambat di sekeliling kertas cakram.

Peningkatan zona hambat dipengaruhi oleh konsentrasi yang diberikan setiap perlakuan. Pada umumnya, semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka zona hambat yang dihasilkan semakin besar, hal itu disebabkan karena kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun Kipahit semakin tinggi mempengaruhi zona hambat yang dihasilkan, namun pada konsentrasi 20% grafik menurun karena zona hambat yang dihasilkan menurun. Menurut Sarjono dan Mulyani (2007) menyatakan dengan menggunakan variasi konsentrasi yang berbeda aktivitas antibakteri dapat meningkat pada konsentrasi tertentu dan menurun pada konsentrasi berikutnya. Hal ini



dikarenakan telah diperoleh hambatan maksimal kemudian turun dan cenderung konstan.

#### **4.3. Mekanisme Senyawa Aktif Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Kipahit**

Daun Kipahit (*T. diversifolia*) adalah tumbuhan alami yang dapat dijadikan sebagai bahan antibiotik, karena terbukti memiliki kandungan senyawa antibakteri. Berdasarkan hasil uji fitokimia daun Kipahit memiliki empat senyawa yaitu alkaloid, fenolik, steroid atau terpenoid dan flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Senyawa tersebut masing-masing memiliki mekanisme kerja yang berbeda-beda dan saling bersinergi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*.

Lewis (2005) menyatakan penyebab terjadinya penghambatan yaitu karena adanya senyawa yang mengganggu keutuhan membran sel, menghambat kerja enzim, mengganggu sintesis protein dan asam nukleat, serta menghambat sintesa dinding sel. Pelczar dan Reid (1972) menyatakan, mekanisme penghambatan antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri dapat berupa kerusakan dinding sel yang mengakibatkan lisis atau penghambatan sintesis dinding sel, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan melalui dinding sel, dan perusakan sistem metabolisme di dalam sel dengan cara penghambatan dari kerja enzim intraseluler.

Senyawa metabolit sekunder memiliki aktivitas antibakteri yang bekerja secara bersinergis. Senyawa alkaloid kerjanya saling bersinergis dengan senyawa flavonoid dan fenolik yang mana mekanisme kerjanya adalah dengan mengganggu komponen

penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Oleh karena itu tidak terbentuknya secara utuh lapisan dinding sel serta menyebabkan kematian sel. Adapun mekanisme lainnya seperti interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase bakteri (Darsana, 2012).

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki fungsi sebagai antimikroba, mekanisme kerja pada senyawa fenol yaitu merusak dinding sel sehingga mengakibatkan lisis atau menghambat proses pembentukan dinding sel yang sedang tumbuh, mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak sistem metabolisme di dalam sel dengan cara menghambat kerja enzim intraseluler. Senyawa fenolik mendenaturasi protein pada sel bakteri dengan cara membentuk ikatan hidrogen dengan protein bakteri, hal ini mengakibatkan struktur protein bakteri menjadi rusak dan enzim menjadi inaktif (Naim, 2004).

Mekanisme kerja dari senyawa steroid sebagai antibakteri yaitu dengan cara merusak membran sel bakteri patogen (Monalisa *et al.* 2011). Sedangkan mekanisme kerja dari senyawa terpenoid sebagai antibakteri yaitu melibatkan kerusakan membran oleh senyawa lipofilik, terpenoid dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri. Dengan membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, serta mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri patogen. Akibatnya sel bakteri kekurangan nutrisi dan pertumbuhannya akan terhambat atau mati (Cowan, 1999).

Mekanisme kerja senyawa flavonoid dimulai dengan merusak dinding sel. Dinding sel ini menjadi pertahanan utama, karena dinding sel ini merupakan komponen terluar dari bakteri. Flavonoid sendiri memiliki kemampuan untuk

membentuk senyawa kompleks dengan sel protein bakteri melalui ikatan hidrogen. Dimana ikatan ini akan merusak struktur protein sehingga fungsi dari dinding sel menjadi tidak stabil.

Menurut Rejeki (2016) mekanisme kerja dari senyawa flavonoid dipengaruhi oleh faktor respon dari golongan bakteri. Penelitian ini menggunakan bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri* yang merupakan bakteri gram negatif. Mekanisme kerjanya yaitu dengan cara menahan ikatan silang peptidoglikan pada tahap akhir sintesis dinding sel yaitu menghambat protein pengikat penisilin. Tebalnya lapisan peptidoglikan pada bakteri gram negatif menyebabkan senyawa antibakteri sulit menembus dinding sel bakteri dan kebal terhadap bakteri kimia, namun tetap dapat dirusak hanya saja tidak semudah seperti halnya bakteri gram negatif yang memiliki lapisan peptidoglikan lebih sederhana dan cukup tipis (Rabekka, 2015).

Dinding sel yang telah dirusak mengakibatkan senyawa metabolit sekunder dapat masuk lebih dalam lagi, dan dapat mengganggu fungsi membran bakteri. Senyawa yang dapat menyerang membran sel yaitu tanin, flavonoid, dan saponin. Senyawa flavonoid mengandung fenol yang mana merupakan suatu alkohol yang sifatnya asam sehingga disebut asam karbolat. Kondisi asam karena adanya fenol dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri (Rabekka, 2015).

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak daun Kipahit (*T. diversifolia*) berdasarkan uji fitokimia yaitu alkaloid, fenolik, flavonoid dan steroid/terpenoid. Ekstrak daun Kipahit (*T. diversifolia*) efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri*. Zona hambat ekstrak daun Kipahit terhadap pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. tarda* dan *E. ictaluri* dikategorikan sangat kuat.

### 5.2. Saran

Saran pada penelitian ini yaitu penelitian lanjutan tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak daun Kipahit (*T. diversifolia*) pada ikan yang terinfeksi bakteri patogen.



## DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E dan Liviawaty. 1992. *Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Aisyah. 2015. Daya Hambat Ekstrak Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Hasanuddin.
- Anditasari, D.A., S. Kumalaningsih, dan A.F. Mulyadi. 2014. Potensi Daun Suji (*Pleomele angustifolia*) Sebagai Serbuk Pewarna Alami (Kajian Konsentrasi Dekstrin dan Putih Telur Terhadap Karakteristik Serbuk). Seminar Nasional BKS PTN Barat. Lampung.
- Anonim Tim Mikrobiologi FK Universitas Brawijaya. 2003. *Bakteriologi Medik*. Bayu Media. Malang.
- Anonim. 2006a. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals : Eteric Septicaemia of Catfish (*Edwardsiella ictaluri*). OIE. Hal. 214 – 220.
- Anonymous. 2014. [https://www.bappenas.go.id/files/7614/4401/Strategi\\_Pengelolaan\\_Perikanan\\_Berkelanjutan.pdf](https://www.bappenas.go.id/files/7614/4401/Strategi_Pengelolaan_Perikanan_Berkelanjutan.pdf). Diakses pada 14 Januari 2021.
- Anonim. 2021. American Society For Microbiology. <https://aem.asm.org/content/73/4/1349/figures-only>. Diakses pada tanggal 14 Januari 2021.
- Ariyanti, dan N.I. Kadek. 2011. Daya Hambat Ekstrak Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Miller) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Biologi*, FMIPA Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran. 16:(1).
- Ardydi. 2013. Pelarut. <https://ardydii.wordpress.com.2013/03/13/pelarut>. Diakses pada tanggal 13 Januari 2021.
- Austin, B. and D.A. Austin. 1987. *Bacterial fish Pathogens; Diseases in Farmed and Wild Fish*. Ellis Horwood Limited. Chichester West Sussex, England.
- Austin, B. and D.A. Austin. 2007. *Bacterial Fish Pathogens Disease of Farmed and Wild Fish*, 4<sup>th</sup> Edition. Springer Praxis. Godalming. UK.
- Berk, Z. 2009. *Food Process Engineering and Technology*. ElsevierInc. New York. Daryono, E. D. 2009.

- Biro Hukum, 2010. *Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Nomor : KEP.03/MEN/2010 tentang Penetapan Jenis-jenis Hama Penyakit Ikan Karantina, Golongan, Media Pembawa dan Sebarannya*. Jakarta: Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Buchanan, R.E. and N.E. Gibbon. 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Eight edition. The William and Wilkins Company. Hal. 201 – 202.
- Cappucino, J.G. and N. Sherman. 2001. *Microbiology: A Laboratory Manual*. 2<sup>nd</sup> Edition. The Benjamin Cummings Publishing Company. Rockland Community College. State University of New York.
- Cipriano, R.C. and G.L. Bullock. 2001. *Furunculosis and Other Diseases caused by Aeromonas salmonicida*. Fish Disease Leaflet 66. The Freshwater Institute. West Virginia.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *American Society for Microbiology* 12(4): 564 – 582.
- Darsana. 2012, Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. *Indonesia Medicus Veterinus*.
- Departemen Kelautan dan Perikanan, *Outlook 2009 dan Reflesi 2008*(Jakarta: DKP. 2008)
- Departemen Kesehatan RI. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta, hal 28 – 29.
- Essiett, U. and E. Akpan. 2013. Proximate Composition and Phytochemical Constituents Of *Aspilia Africana (Pers) C. D. Adams* and *Tithonia diversifolia (Hemsl) A. Gray* Stems (Asteraceae). *Indian Journal of Pharmaceutical & Biological Reasearch (IJPBR)*, I(1), 23 – 30.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Gutierrez, R. M. Baculi, N. Pastor, T. Puma-at and T. Balangcod. 2013. *Antibacterial potential of some medicinal plants of the Cordilera Region, Philippines*. *Indian Journal of Traditional Knowledge*. 12(4): 630 – 637.
- Hafiza, I. 2006. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rumput Laut (*Eucheuma* sp) pada Berbagai Tingkat Konsentrasi terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Imunologi FK UHO*.

- Handayani. 2012. Prevalensi Infeksi Bakteri Patogen Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) Di Kawasan Minapolitan Kabupaten Banjar. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Tidak Dipublikasikan.
- Harbone, J.B. 1987. Metode Fitokimia. Institut Teknologi Bandung. Bandung. 62 hal.
- Hawke, J.P, Durborow, R.M, Thune, R.L, and Camus, A.C. 1998. ESC-Enetic Septicemia of Catfish. Southhern Region Aquaculture Center. SRAC Piblication No. 477.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Ninth Edition. Williams and Wilkins. Baltimore. Hal. 175 – 289.
- Hutapea, J.R. 1994. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Badan Peneliti dan Pengembangan Kesehatan RI. Jakarta.
- Irianty, R.S. dan R. Verawati. 2012. Variasi Komposisi Pelarut Metanol Air pada Ekstraksi Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb). Prosiding SNTK. ISSN. 1907 – 0500.
- Istiqomah. 2014. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti fructus*). Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Jama, B., C.A. Palm, R.J. Buresh, A. Niang, C. Gachengo, G. Nziguheba, and B. Amadalo. 2000. *Tithonia diversifolia* as a Green Manure for Soil Fertility improvement in western Kenya. Journal of Agroforestry Aystem 49(2): 201 – 221.
- Janda, J.M and Abbott, S.L. 1993. *Infections Associated With the Genus Edwardsiella: the role of Edwardsiella tarda in Human Disease*, Clin. Infect. Dis. 17 742 – 748 In: B R Mohanty and P K Sahoo, 2007, Edwardsiellosis in fi sh: a brief review, J. Biosci. 32 1331 – 1344.
- Jawetz, E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 2007. Mikrobiologi Kedokteran. 23th ed. Jakarta.
- Koski, V.H. 2005. Ikan Patogen *Aeromonas salmonicida* dan *Renibacterium Salmoninarum*: Aspek Diagnostik dan Epidemiologi (skripsi). Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Helsinki. Finlandia.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoid, Fenil Propanoida dan Alkaloida. *Karya Ilmiah*. MIPA Universitas Sumatera Utara.



- Lewis, E.R. 2005. Antifungal Pharmacology. <http://www.doctorfungus.org/thedrugs.html>. Diakses pada 2 Juni 2021. Pukul 21.33 WIB.
- Mac F.J.F. 1980. *Individual Biochemical Test in Bacteria*, 2<sup>nd</sup> ed. Williams and Wilkins Baltimore: 1 – 320.
- Mayer, F.P. and Bullock, G.L. (1973) *Edwardsiella tarda* a new pathogen of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *App. Microbiol.* 25: 155- 156.
- Michel, G, Y. Le Loir, and B. Florence. 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Journal Genetic Molecular Research* 2(1): 63-76. Mukhtar A, 2006. Ilmu Produksi Ternak Perah. Surakarta LPP UNS dan UNS Press. Surakarta.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. Fakultas Ilmu Kesehatan. UIN Alaudin Makassar. *Jurnal Kesehatan*. Volume 7 No. 2/2014.
- Monalisa, D.T., Handayani, Sukmawati, D. 2011. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal BIOMIA*. 9 (2): 13-20.
- Naim, R. 2004. Senyawa Antimikroba dari Tumbuhan. Kompas, Edisi Rabu, 2 Juni 2021. <http://www.kompas.com/kompasctak/0409/15/sorotan/1265264.htm>.
- Novriadi, R. S. Agustatik, Hendrianto, Pramuanggit dan A. Hariwibowo. 2014. Penyakit Infeksi Pada Budidaya Ikan Laut di Indonesia. *Research Gate*. 1 – 10.
- Nuraini, A.D. 2007. Ekstraksi Komponen. Antibakteri dan Antioksidan dari Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd). Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. ITB. Bogor.
- Nurjanah, S. Isbiyantoro dan H. Fadhillah. 2018. Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* (hemsl.) A. Gray) sebagai Antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus sanguinis*. *Junal Farmasi. Lampung*. 7(1): 33 – 40.
- Nusbaum, K.E. and E.E. Morrison. 2002. *Edwardsiella ictaluri* bacteraemia elicits shedding of *Aeromonas hydrophila* complex in latently infected channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *J. of Fish Diseases*, 25:343 – 350.



- Panigoro, N. M. Bahnan, E.B. Kholidin, dan K. Yuasa . 2005. Pathogenicity of Cultured Fishes. Iowa State University Press. Ames, Iowa. Hal 187 – 194.
- Pelczar, M.J. and R.D. Reid. 1972. Microbiology. New York Mc Graw Hill Book Company.
- Plumb, J.A. 1993. *Edwardsiella Septicemia dalam: Bacterial diseases of Fish Inglis, V., R.J. Roberts & N.R. Bromage (eds)*. Blackwell Science Ltd. London. 61-79.
- Pusat Karantina Ikan, DKP. 2007. *Metode Standar Pemeriksaan HPIK Golongan Bakteri*. Pusat Karantina Ikan. Hal 1 – 4.
- Rahayu, T. 2009. Uji Antijamur Kombucha Coffe terhadap *Candida albicans* dan *Tricophyton mentagrophytes*. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*, 10(1) : 10 – 17.
- Rabekka, A.L. 2015. Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *OM Faperta*. 2 (2).4.
- Rahman, F.A., T. Haniastuti dan T.W. Utami. 2017. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstral Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 3(1): 1 – 7. Sediaan Krim Terhadap Penyembuhan Luka Bakar. Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan. USU Repository.
- Ratnasari. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dikolometan dan Etil Aetat Daun Mimba (*Azadirachta indica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Universitas Islam Negeri Syarifihyatullah. Jakarta.
- Rundengan, C.H, Fatmawali, dan S. Herny. 2017. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Pinangyaki (*Areca vestiaria*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 6(1):37-46.
- Redjeki, S. 2014. Uji Aktivitas Antimikroba Unfusum The Hijau dan The Hitam (*Camelia sinensis* (L.) Kuntze) Terhadap *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 11(1):98-107.
- Rejeki, S. 2016. Isolasi dan Identifikasi *Aeromonas* spp. Dari Lele Dumbo (*Clarias* sp) Sakit di Kabupaten ngawi. *Perikanan Universitas Gajah Mada*. 18:(2).

- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bnadung: ITB.
- Roberts, R.J. 1989. *Fish Pathology*. Second Edition. Baillere Tindal. England. United Kingdom. Pp 190 – 195.
- Sangi, M. Runtuwene, M.R.J. Simbala, H.E.I. dan Makang, V.M.A. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 1,47-53.
- Sarjono, P.R dan N.S. Mulyani. 2007. Aktivitas Antibakteri Rimpang Temu Putih (*Curcuma mangga vall*). *Jurnal Sains dan Matematika (JSM)*. 15(2):89-93.
- Sartika, R., Melki dan A.I.S. Purwiyanto. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut (*Euचेuma cottoni*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera* Dan *Salmonella typhosa*. *Maspari Journal*. 5(2), 98 – 103.
- Septiama. 2008. *Metode Standar Pemeriksaan HPIK Golongan Bakteri, Edwardsiella tarda*. 33 hal. Jakarta. Pusat Karantina Ikan.
- Simanjuntak, M. 2008. Ekstraksi dan Fraksinasi Komponen Ekstrak Daun Tumbuhan Senduduk (*Melastoma malabathricum*. L) Serta Pengujian Efek
- Sinambela, J.M. 1985. Fitoterapi, Fitostandar dan Temulawak dalam Prosiding Simposium Nasional Temulawak. UNPAD 17 – 18 September 1985. Bandung. Hlm. 174 – 178.
- Sonke, D. 1997. *Tithonia weed: a Potential Green Manure Crop*. *Echo Development Notes* 57: 5 – 6.
- Susanto, Sudrajat, dan R. Ruga. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Mulawarman Scientifie*, 11(12), 181 – 190.
- Tania, M.P., D.D. Castilo, C.D. Serrão, A.B. Lobato, R. da Silva, F. de Oliveira, P.S. Ferreira, N.P.L. Távora dan S.S.M.A. da Silva de. (2016). Antioxidant effect of plant extracts of the leaves of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray on the freeradical DPPH. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 8(8): 1182 – 1189.
- Wardhana, A.H dan N. Diana. 2014. Aktivitas Biolarvasidal Ekstrak Methanol Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*) Terhadap Larva Lalat *Chrysornya bezziana*. *JITV* 19(1): 43 – 51.

Widowati, H. 2006. *Tithonia diversifolia* sebagai Pupuk Hijau. Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian Vol. 29(5): 3 – 5.



Dokumen ini adalah Arsip Milik :

Perpustakaan Universitas Islam Riau