**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KERSEN
(*Muntingia calabura L*) TERHADAP BAKTERI *Aeromonas salmonicida*,
Edwardsiella ictaluri DAN *Edwardsiella tarda***

OLEH :

REYZA PRAMADANI

NPM : 184310180

SKRIPSI

*Diajukan Sebagai Suatu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Perikanan*

Perpustakaan Universitas Islam Riau

Dokumen ini adalah Arsip Milik :

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ISLAM RIAU
PEKANBARU
2022**

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KERSEN
(*Muntingia calabura L*) TERHADAP BAKTERI *Aeromonas salmonicida*,
Edwardsiella ictaluri DAN *Edwardsiella tarda*

SKRIPSI

NAMA : REYZA PRAMADANI
NPM : 184310180
PROGRAM STUDI : BUDIDAYA PERAIRAN

KARYA ILMIAH INI TELAH DIPERTAHANKAN DALAM UJIAN
KOMPREHENSIF YANG DILAKSANAKAN PADA TANGGAL 05 JULI 2022
DAN TELAH DISEMPURNAKAN SESUAI SARAN YANG TELAH DISEPAKATI
KARYA ILMIAH INI MERUPAKAN SYARAT PENYELESAIAN STUDI
PADA FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS ISLAM RIAU

MENYETUJUI

DOSEN PEMBIMBING

Dr. JAROD SETIAJI, S.Pi., M.Sc
NIDN: 1016066802

DEKAN FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS ISLAM RIAU KETUA PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN

Dr. Ir. H. SITI ZAHRAH, MP
NIDN: 0013086004

Dr. JAROD SETIAJI, S.Pi., M.Sc
NIDN: 1016066802

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

TANGGAL : 05 JULI 2022

No	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	Dr. Jarod Setiaji S.Pi., M.Sc	Ketua
2	Dr. Ir. H. Rosyadi, M.Si	Anggota
3	Ir. T. Iskandar Johan, M.Si	Anggota
4	Valentio Febrian Prakoso, S.Si	Notulen

Mengetahui,
Dekan Fakultas Pertanian
Universitas Islam Riau

Dr. Ir. H. SITI ZAHRAH, MP
NIDN : 0013086004

Dokumen ini adalah Arsip Miilik :

Perpustakaan Universitas Islam Riau

BIOGRAFI PENULIS

Reyza Pramadani lahir di Desa Titian Resak tanggal 22 November 1999. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak Suratman dan Ibu Mulyani. Penulis menyelesaikan pendidikan di Taman Kanak-Kanak (TK) Tahun 2007 di TK. Taman Mekar, Sekolah Dasar (SD) Tahun 2012 di SDN 005 Titian Resak, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Tahun 2015 di SMPN 1 Seberida, Sekolah Menengah Kejuruan (SMK) Tahun 2018 di SMKN 1 Seberida. Pada tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan kejenjang perguruan tinggi Strata-1 (S1) di Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Islam Riau. Berkat Do'a Restu Kedua Orang Tua dan Izin Allah SWT serta Usaha, penulis berhasil menyelesaikan pendidikan Strata-1 (S1) pada tanggal 05 Juli 2022 yang dipertahankan dalam Ujian Komprehensif pada sidang meja hijau dan sekaligus berhasil meraih gelar Sarjana Perikanan (S.Pi). Adapun judul skripsi penulis adalah “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L*) terhadap Bakteri *Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella ictaluri* dan *Edwardsiella tarda*”.

Reyza Pramadani, S.Pi

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Kedua orangtuaku tercinta Bapak Suratman dan Ibu Mulyani yang selalu memberikan kasih sayang, perhatian, pengorbanan dan dukungan serta do'a yang dipanjatkan tidak berhenti demi kelancaran, keselamatan dan kesuksesan penulis.
2. Bapak Prof. Dr. H. Syafrinaldi, S.H., M.CL. selaku Rektor Universitas Islam Riau.
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 Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau, serta pembimbing yang telah memberikan bimbingan, masukan, saran dalam penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Hj. Sri Ayu Kurniati, S.P., M.Si. selaku Sekretaris Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau.
6. Bapak Dr. Ir. H. Rosyadi, M.Si, Bapak Muhammad Hasby, S.Pi., M.Si dan Bapak Ir. T. Iskandar Johan, M.Si. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan bimbingan serta saran dalam penulisan skripsi ini.
7. Bapak-Bapak Dosen Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau, yang telah mengajar dengan tulus dan memberi ilmu yang sangat bermanfaat kepada penulis.

8. Ibu Hisra Melati, S.Pi., M.Si selaku Kepala Laboratorium dan Bapak Valentio Febrian Prakoso, S.Si selaku staff laboratorium yang telah memberikan izin dan ilmunya selama melakukan penelitian dan menulis skripsi.
9. Seluruh Keluarga Besar HIMAPIKAN UIR terima kasih atas kebersamaannya, semoga tali silaturahmi ini akan terus terjalin dimana pun berada.
10. Bang Rahmat Huluan, S.Pi., Kak Mike Oktaria Dani, S.Pi., Kak Nurul Fauziana, S.Pi., selaku senior yang turut berbagi dan memberikan izin atas karya ilmiahnya sebagai bahan rujukan penulis.
11. Khairul Hadi, S.Pi., Rizal Rinaldi, S.Pi., Dea Nukri Fernanda Harahap S.Pi., Desi Marlina yang telah memberikan dukungan, nasehat, masukan dan semangatnya serta teman-teman angkatan 2018, terima kasih atas bantuan serta kebersamaannya.
12. Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

ABSTRAK

REYZA PRAMADANI (NPM : 184310180) Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau, telah melaksanakan penelitian dengan judul **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura L*) TERHADAP BAKTERI *Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella ictaluri* DAN *Edwardsiella tarda*** dibawah bimbingan Bapak Dr. Jarod Setiaji, S.Pi., M.Sc. Penelitian ini dilaksanakan selama 30 hari pada bulan Februari-Maret 2022 di Laboratorium Balai benih Ikan (BBI) Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen terhadap pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. ictaluri* dan *E. tarda* dan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun kersen yang baik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. ictaluri* dan *E. tarda*. Penelitian ini termasuk pada penelitian deskriptif dan eksperimental secara *in vitro*. Penelitian ini dilakukan dengan 5 taraf perlakuan dengan 2 kali ulangan. Kontrol terdiri dari kontrol positif menggunakan oxytetracycline (30ug/ml) dan kontrol negatif menggunakan pelarut metanol. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun kersen diantaranya saponin, flavonoid, fenolik dan terpenoid/steroid. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen terhadap pertumbuhan bakteri patogen, menunjukkan bahwa ekstrak daun kersen pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% telah menunjukkan zona hambat terhadap bakteri patogen. Konsentrasi 50% paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, Konsentrasi 50% paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. ictaluri* dan Konsentrasi 30% paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. tarda*.

Kata kunci : *Muntingia calabura L*, Ekstrak, Antibakteri, *A. salmonicida*, *E. ictaluri*, *E. tarda*.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, berkat dan rahmat-Nya lah sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan judul **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura L*) TERHADAP BAKTERI *Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella ictaluri* DAN *Edwardsiella tarda*.**

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih kepada Bapak Dr. Jarod Setiaji, S.Pi., M.Sc selaku dosen pembimbing yang telah membantu dan memberikan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini berlangsung.

Penulis menyadari bahwa Skripsi ini masih terdapat kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari para pembaca guna menyempurnakan segala kekurangan dalam penyusunan Skripsi ini.

Pekanbaru, Januari 2022

Penulis

DAFTAR ISI

Isi	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	ii
BIOGRAFI PENULIS	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Batasan Masalah.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Daun Kersen (<i>Muntingia calabura L</i>).....	5
2.2 Kandungan Kimia Daun Kersen (<i>Muntingia calabura L</i>)	6
2.2.1 Flavonoid	7
2.2.2 Fenolik	7
2.2.3 Saponin	8
2.2.4 Steroid/Terpenoid	8
2.3 Proses Ekstraksi	9
2.4 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	10
2.5 Bakteri.....	12
2.5.1 <i>Aeromonas salmonicida</i>	12
2.5.2 <i>Edwardsiella ictaluri</i>	14
2.5.3 <i>Edwardsiella tarda</i>	15
2.6 Kerangka Teori.....	17
III. METODE PENELITIAN	18
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	18
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	18
3.2.1 Alat Penelitian.....	18
3.2.2 Bahan Penelitian	19
3.3 Jenis Penelitian.....	19
3.4 Hasil Uji Pendahuluan.....	19
3.5 Rancangan Penelitian	20
3.5.1 Kerangka Teori	21

3.6	Prosedur Penelitian.....	21
3.6.1	Pengambilan Sampel Daun Kersen (<i>Muntingia calabura L</i>)....	21
3.6.2	Ekstraksi Daun Kersen (<i>Muntingia calabura L</i>).....	21
3.6.3	Pembuatan Konsentrasi Suspensi Ekstrak Daun Kersen Daun Kersen (<i>Muntingia calabura L</i>).....	22
3.6.4	Sterilisasi Alat.....	22
3.6.5	Peremajaan Bakteri patogen.....	23
3.6.6	Kultur bakteri Patogen pada Nutrien Broth (NB)	24
3.6.7	Uji Aktivitas Antibakteri	25
3.6.8	Uji Fitokima	27
3.7	Hipotesis dan Asumsi.....	28
3.8	Analisis Data	29
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1	Uji Fitokimia	30
4.1.1	Alkoloid	31
4.1.2	Fenolik	32
4.1.3	Terpenoid/Steroid	32
4.1.4	Flavonoid	33
4.1.5	Saponin	34
4.2	Uji Daya Hambat.....	35
4.2.1	Bakteri <i>Aeromonas salmonicida</i>	36
4.2.2	Bakteri <i>Edwardsiella ictaluri</i>	39
4.2.3	Bakteri <i>Edwardsiella tarda</i>	41
4.3	Mekanisme Senyawa Aktif Metabolit Ekstrak Daun Kersen	44
V.	PENUTUP.....	47
5.1	Kesimpulan	47
5.2	Saran	47
	DAFTAR PUSTAKA	48
	LAMPIRAN.....	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Alat Penelitian.....	18
3.2 Bahan Penelitian.....	19
3.3 Kriteria Kekuatan Zona Hambat	26
4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kersen	30
4.2 Diameter Zona Hambat (mm) Pada Ekstrak Daun Kersen Terhadap Bakteri <i>Aeromonas salmonicida</i>	36
4.3 Diameter Zona Hambat (mm) Pada Ekstrak Daun Kersen Terhadap Bakteri <i>Edwardsiella ictaluri</i>	39
4.4 Diameter Zona Hambat (mm) Pada Ekstrak Daun Kersen Terhadap Bakteri <i>Edwardsiella tarda</i>	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun Kersen (<i>Muntingia calabura L</i>).....	5
2. Bakteri <i>Aeromonas salmonicida</i>	13
3. Bakteri <i>Edwardsiella ictaluri</i>	15
4. Bakteri <i>Edwardsiella tarda</i>	16
5. Kerangka Teori.....	17
6. Kerangka Teori.....	21
7. Metode Difusi Cakram.....	26
8. Uji Alkoloid pada reagen dragendorf dan reagen mayer	31
9. Uji Fenolik	32
10. Uji Terpenoid dan Steroid.....	33
11. Uji Flavonoid	34
12. Uji Saponin.....	35
13. Rata-Rata Diameter Zona Hambat Pada Bakteri <i>A. salmonicida</i>	37
14. Rata-Rata Diameter Zona Hambat Pada Bakteri <i>E. ictaluri</i>	40
15. Rata-Rata Diameter Zona Hambat Pada Bakteri <i>E. tarda</i>	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian	55
2. Bahan Penelitian.....	59
3. Dokumentasi Penelitian.....	61
4. Dokumentasi Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri <i>Aeromonas salmonicida</i>	63
5. Dokumentasi Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri <i>Edwardsiella ictaluri</i>	64
6. Dokumentasi Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri <i>Edwardsiella tarda</i>	65
7. Hasil Pengukuran Zona Hambat Terhadap Bakteri <i>Aeromonas salmonicida</i>	66
8. Hasil Pengukuran Zona Hambat Terhadap Bakteri <i>Edwardsiella ictaluri</i>	67
9. Hasil Pengukuran Zona Hambat Terhadap Bakteri <i>Edwardsiella tarda</i>	68
10. Surat Izin Penelitian.....	69
11. Surat Selesai Penelitian.....	70

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit merupakan salah satu faktor yang menjadi penyebab kegagalan dalam usaha budidaya. Berdasarkan sifatnya penyakit terbagi menjadi dua yakni penyakit infeksi (menular dan disebabkan patogen sebagai pembawa bibit penyakit) dan non infeksi (tidak menular, disebabkan kekurangan nutrisi, genetik atau lingkungan). Salah satu patogen penyebab penyakit pada usaha budidaya adalah bakteri, diantaranya bakteri *Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella ictaluri* dan *Edwardsiella tarda*. Menurut Austin dan Austin dalam Rahmawati *et al.*, (2021) ikan yang terinfeksi penyakit *A. salmonicida* dapat menyebabkan penyakit furunculosis yang dapat menyebabkan kematian 2-3 hari. Selanjutnya bakteri *E. ictaluri* dapat menyebabkan kematian pada hari ke 4 sampai hari ke 12, karena dapat menyebabkan lesi terbuka pada daerah kepala ikan. Ikan yang terserang bakteri *E. tarda* akan mengalami gejala pendarahan pada kulit, kehilangan warna tubuh dan terjadi luka yang merata pada seluruh permukaan tubuh (Afriyanto dan Liviawaty dalam Ratnawati *et al.*, 2013).

Untuk mengatasi masalah penyakit pada ikan maka diperlukan suatu manajemen dengan tindakan dan pengobatan. Menurut Huluan (2021) hal ini bisa dilakukan dimulai dari menciptakan lingkungan yang sesuai kebutuhan ikan, upaya pencegahan hama penyakit dari luar, vaksinasi, membersihkan wadah hingga penggunaan antibiotik. Penggunaan antibiotik secara kontinu sebagai pengobatan untuk ikan yang sakit ternyata dapat memberikan efek kurang baik bagi lingkungan dan ikan itu sendiri. Menurut Azhar dan Dyke (2019) semakin

lama bakteri terpapar oleh senyawa antibiotik, maka dapat menyebabkan bakteri tersebut resistensi dengan antibiotik yang diberikan.

Pengobatan alternatif dengan menggunakan bahan-bahan alami kini telah dikembangkan oleh masyarakat, bahkan sudah diproduksi secara massal melalui pabrik. Bahan-bahan tersebut didapatkan dari tanaman obat. Dari total sekitar 40.000 jenis tumbuhan obat yang telah dikenal di dunia, 30.000 lebih diperkirakan berada di Indonesia dan hanya 1.200 jenis tanaman yang sudah dimanfaatkan (Salim dan Ernawati, 2017). Menurut Oktora dan Sari (2006) Penggunaan obat tradisional secara umum dinilai lebih aman dari pada penggunaan obat modern. Hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit dari pada obat pabrik. Disamping itu tentu pemanfaatan tanaman obat untuk menjaga kesehatan dan mencegah penyakit dengan penggunaan biaya yang lebih murah dan mudah digunakan oleh semua orang.

Menurut Isnarianti *et al.*, (2013) salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah daun kersen (*M. calabura L*). Tanaman kersen merupakan tanaman budidaya dan perawatannya mudah. Seringkali tanaman ini mudah ditemukan tumbuh liar tanpa perawatan apapun. Hal yang menjadi faktor utama tanaman kersen dipilih untuk penelitian yakni tanaman ini mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin yang mempunyai daya antibakteri dan antiinflamasi. Flavonoid mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri. Sementara tanin dapat bekerja langsung pada metabolisme bakteri dengan cara menghambat fosforilasi oksidasi.

Aktivitas antibakteri daun kersen terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*, *V. alginolyticus* dan *P. aeruginosa* (Huluan, 2021).

Berdasarkan uraian di atas, penulis tertarik meneliti aktivitas antibakteri daun kersen terhadap bakteri *A. salmonicida*, *E. ictaluri* dan *E. tarda*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

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

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

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

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Memberikan informasi baru kepada masyarakat perikanan bahwa ekstrak daun kersen dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. ictaluri* dan *E. tarda*.
2. Menambah pengetahuan tentang manfaat ekstrak daun kersen.

1.5 Batasan Masalah

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

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Kersen (*Muntingia calabura L*)

Tanaman Kersen adalah salah satu pohon yang memiliki buah kecil dan berasa manis. Kersen mempunyai keberagaman nama lokal ialah kersen (sunda), seri ataupun ceri (melayu), talok (jawa), serta nama inggris adalah Japanese kers (Yuzammi *dalam* Bimardati *et al.*, 2021). Klasifikasi tanaman daun Kersen (*M. calabura L*) menurut Tjitrosoepomo *dalam* Sariyati (2016) sebagai berikut.

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Sub Kelas : Dialypetalae
Bangsa : Malvales / Columniferae
Suku : Elaeocarpaceae
Genus : *Muntingia*
Spesies : *Muntingia calabura L.*

Gambar 1. Daun Kersen (*Muntingia calabura L*)
(Sumber : Data Primer)

Tanaman Kersen (*M. calabura L*) merupakan tanaman yang berasal dari Amerika. Tanaman ini di Indonesia dapat dijumpai di beberapa daerah seperti Sumatera, Jawa dan Kalimantan. Tanaman ini tumbuh liar ditempat terbuka, perbukitan, tepi-tepi jalan dan tepi sungai (Kosasih dalam Fadhli *et al.*, 2018). Tanaman Kersen adalah pohon tahunan yang memiliki tinggi 2-10 m, berkayu, tegak, bulat, percabangan simpodial, cabang berambut halus, coklat keputih-putihan. Bentuk daun adalah tunggal, berseling, bulat telur bentuk lanset, panjang 6-10 cm, ujung dan pangkal runcing, bergerigi, berbulu, pertulangan menyirip, hijau, mudah layu, kebiasaan dan format daun adalah *epitocaul, mesophytic*. Bentuk buah adalah bulat, berdiameter kurang lebih 1 cm, merah. Bentuk biji adalah bulat, kecil, putih kekuningan, tiap buah mengandung ratusan biji. Sedangkan perakarannya adalah tunggang (Watson dan Dallwitz dalam Lathif, 2016).

Beberapa ilmuwan yang meneliti daun Kersen (*M. calabura L*) mengetahui bahwa daun Kersen mengandung senyawa kimia golongan saponin dan flavonoid. Senyawa golongan flavonoid dapat bekerja sebagai antioksidan, sehingga bisa menyekresi hormon insulin yang diperlukan untuk metabolisme gula. Daun Kersen (*M. calabura L*) juga berkhasiat melindungi fungsi otot jantung (Saputri, 2020).

2.2 Kandungan Kimia Daun Kersen (*Muntingia calabura L*)

Berdasarkan hasil pengamatan uji fitokimia, daun Kersen (*M. calabura L*) diketahui mengandung Flavonoid, Fenolik, Saponin, dan Terpenoid/Steroid yang mempunyai daya antibakteri dan antiinflamasi (Saputri, 2020). Senyawa yang terkandung dalam daun Kersen (*M. calabura L*) dan diduga berperan dalam

penurunan kadar kolesterol. Selanjutnya (Saputri, 2020) berdasarkan penelitian sebelumnya, saponin dari ekstrak daun Kersen dapat membantu menurunkan kadar kolesterol serta mengurangi penimbunan lemak dalam pembuluh darah dengan menurunkan tingkat absorpsi kolesterol dan meningkatkan ekskresi.

2.2.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenolik utama yang terdapat genus *Erythrina*. Jenis flavonoid dari genus tanaman ini antara lain calkon, flavanon, flavon, pterokarpan, isoflavanon, isoflavon dan isoflav-3-en (Andriyani, 2012). Senyawa ini memiliki potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Senyawa-senyawa ini dapat ditemukan pada batang, daun, bunga dan buah. Pada beberapa tumbuhan senyawa flavonoid ini memiliki sifat antibakteri dimana menurut Mirzoeva *dalam* Manik *et al.*, (2014) mampu melepaskan energi tranduksi terhadap membran sitoplasma bakteri dan menghambat motilitas bakteri. Selain itu, flavonoid dapat mengakibatkan perubahan komponen dan transport nutrisi yang akhirnya menimbulkan efek toksik terhadap bakteri.

2.2.2 Fenolik

Tanin adalah jenis kandungan tanaman bersifat fenol yang memiliki rasa sepat. Tanin larut setidaknya sampai batas tertentu, dalam pelarut organik yang polar, tetapi tidak larut dalam pelarut organik non polar seperti benzena. Kadar tanin yang tinggi mungkin mempunyai arti pertahanan bagi tanaman yaitu untuk mengusir pemangsa tanaman. Beberapa tanin terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim (Robinson *dalam* Puspita, 2010).

Mekanisme kerja antibakteri tanin mempunyai daya antibakteri dengan cara memprepitasi protein. Efek antibakteri tanin melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik. Menurut Rijayanti (2014) mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak terbentuk.

2.2.3 Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang dapat membentuk buih jika dikocok dalam air. Saponin juga mempunyai sifat hemolisis dan jika diinjeksikan langsung ke dalam aliran darah akan sangat toksik, namun akan tidak akan berbahaya jika digunakan melalui mulut, karena saponin biasa dipakai untuk bahan tambahan minuman non alkohol (Evans *dalam* Puspariani, 2007).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan mendanaturasi protein. Karena zat aktif permukaan saponin mirip deterjen maka saponin dapat digunakan sebagai antibakteri dimana tegangan permukaan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membran bakteri dirusak. Menurut Peczar dan Reid *dalam* Sudarmi, 2017) setelah membran bakteri rusak, maka saponin akan berdifusi melalui membran sitoplasma sehingga keseimbangan membran akan terganggu sehingga mengalami kebocoran dan keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel.

2.2.4 Terpenoid/Steroid

Steroid adalah senyawa organik lemak sterol tidak terhidrolisis yang diidapat dari hasil reaksi penurunan dari terpena atau skualena. Senyawa ini termasuk turunan steroid. Senyawa ini memiliki mekanisme antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *Salmonella typhi* (Monalisa *dalam* Rachmawaty, 2016).

Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom. Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed *dalam* Bontjura *et al.*, 2015).

2.3 Proses Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis akan termasuk biota laut. Zat-zat aktif tersebut terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tersebut dalam mengekstraksi (Depkes *dalam* Rusmiati, 2010)

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut :

1. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga dan sebagainya), pengeringan dan penggilingan.
2. Pemilihan pelarut
3. Pelarut polar seperti air, etanol, metanol dan sebagainya.
4. Pelarut semipolar : etil asetat, diklorometan dan sebagainya.
5. Pelarut non polar : n-heksan, petroleum eter, kloroform dan sebagainya.

Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil dengan pemanasan rendah atau tanpa adanya proses pemanasan.

Metode ini memiliki kelebihan yaitu terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak (Pratiwi *dalam* Chairunnisa, 2019). Pada saat proses perendaman bahan akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut pada pelarut organik yang digunakan.

Kandungan senyawa yang terdapat di dalam ditarik oleh suatu pelarut saat proses ekstraksi. Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Jenis dan mutu pelarut saat ekstraksi. Senyawa polar hanya akan larut pada polar, seperti etanol, metanol, butanol dan air. Senyawa non polar juga hanya akan larut pada pelarut non polar seperti eter, kloroform dan n-heksana (Gritter *et al.*, 1991).

Pelarut non polar dapat mengekstrak likopen, triterpenoid dan sebagian kecil karotenoid, sedangkan senyawa xanthin dan senyawa polar lainnya akan terekstrak ke dalam pelarut polar (methanol, etanol) (Arifulloh, 2013). Jenis pelarut semi polar mampu menarik senyawa termasuk likopen, b-karoten, vitamin C, padatan terlarut dan total fenol (Ma'sum *et al.*, 2014). Pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan zat yang diinginkannya, mempunyai titik didih yang rendah, murah, tidak toksik dan mudah terbakar (Harbone *dalam* Kasminah, 2016).

2.4 Pengujian Aktivasi Antibakteri

Menurut Nuraini (2007) pengujian aktivitas antimikroba adalah metode untuk mengukur seberapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat mempengaruhi suatu mikroorganisme. Kemampuan suatu zat antimikroba dalam

menghambat pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh berbagai faktor yaitu : (1) konsentrasi antimikroba, (2) suhu lingkungan, (3) lama penyimpanan, (4) sifat mikrobiologi, meliputi jenis, jumlah, umur dan kondisi, (5) sifat fisik dan kimia, meliputi makanan, kadar air, pH, jenis dan jumlah senyawa yang terkandung di dalamnya.

Metode yang paling umum digunakan adalah uji difusi cakram. Cakram kertas filter yang mengandung sejumlah obat ditempatkan di atas medium padat yang telah diinokulasi pada permukaan dengan organisme uji. Setelah inkubasi, diameter zona jernih inhibisi disekitar cakram diukur sebagai ukuran kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji tertentu (Huluan, 2021).

Menurut Ratnasari *dalam* Nuraina (2015) metode difusi dibagi menjadi beberapa cara yaitu :

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 diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder.

Metode Kertas Cakram (Kirby Bauer)

Metode kertas cakram yaitu meletakkan kertas cakram yang telah direndam dengan larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan sekeliling kertas cakram.

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

Bakteri merupakan mikroba prokariot uniseluler, termasuk kelas Schizomycetes, berkembang biak secara aseksual dengan pembelahan sel. Bakteri umumnya tidak berklorofil kecuali beberapa yang bersifat fotosintetik (Sumarsih *dalam* Nanda, 2020). Mempunyai diameter berukuran 0,5-1 μm , dan panjang 0,1-10 μm . bakteri mampu hidup diberbagai media sehingga disebut bersifat cosmopolitan.

2.5.1 *Aeromonas salmonicida*

Menurut Departemen Kelautan dan Perikanan *dalam* Dani (2021) klasifikasi

A. salmonicida sebagai berikut.

Filum : Gammaproteobacteria

Kelas : Aeromonadales

Genus : Aeromonas

Spesies : *Aeromonas salmonicida*

Gambar 2. Bakteri *A. salmonicida*
(Sumber : Data Sekunder)

A. salmonicida merupakan bakteri gram negatif (Austin dan Austin, 2007). Bakteri gram negatif merupakan bakteri yang tidak mempertahankan zat warna metil ungu pada metode pewarnaan gram. *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°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 serologi serta ketahanan terhadap antibiotik.

Menurut Departemen Kelautan dan Perikanan (2009) koloni bakteri *A. salmonicida* berwarna putih, kecil, bulat dan cembung. *Strain typical* dapat menghasilkan pigmen coklat yang akan lebih kelihatan apabila medium ditambah dengan *tyrosine* atau *phenylalanine*. Pada media dengan kandungan asam amino tinggi pigmen coklat jelas kelihatan pada umur kultur 48 jam. Secara biokimia

bakteri ini mempunyai sifat-sifat oksidase positif dan memfermentasi glukosa (Robert, 1989).

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 (*exophthalmiai*) (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

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 organ bagian dalam seperti hati, ginjal maupun limpa, sering pula terlihat perutnya kembung (dropsi), lendir berdarah, pembentukan cairan darah, pendarahan pada pangkal sirip, pendarahan didasar sirip dada dan kematian yang tinggi (Carthy dan Robert dalam Koski, 2005).

2.5.2 Edwardsiella ictaluri

Klasifikasi bakteri *E. ictaluri* menurut Holt dalam Dani (2021) adalah sebagai berikut.

- Filum : Proteobacteria
- Kelas : Szhizomycetes
- Ordo : Pseudomonadales
- Famili : Enterobacteruaceae
- Genus : Edwardsiella
- Spesies : *Edwardsiella ictaluri*

Gambar 3. Bakteri *Edwardsiella ictaluri*
(Sumber : Data Sekunder)

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 *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).

2.5.3 *Edwardsiella tarda*

Klasifikasi bakteri *E. tarda* menurut Mac. Faddin dalam Dani (2021) adalah sebagai berikut.

- Filum : Proteobacteria
- Kelas : Szhizomycetes
- Ordo : Pseudomonadales
- Famili : Enterobacteruaceae
- Genus : Edwardsiella
- Spesies : *Edwardsiella tarda*

Gambar 4. Bakteri *Edwardsiella tarda*
(Sumber : Data Sekunder)

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 dan beberapa reptil serta 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 lendir dan meningitis.

Faktor penyebab dari infeksi bakteri *E. tarda* yaitu paparan dari lingkungan perairan atau hewan peliharaan (jenis reptil atau amfibi), maupun kebiasaan memakan ikan mentah yang mengandung bakteri *E. tarda* (Janda dan Abbot dalam Mardiah 2016). Bakteri *E. tarda* sudah tersebar di beberapa negara seperti Eropa, Thailand, Amerika Serikat, Malaysia, Asia, Canada dan Australia. Di Indonesia *E. tarda* di Yogyakarta, Kalimantan Barat, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jambi, Bangka Belitung, Kalimantan Tengah, Sulawesi Tengah, DKI Jakarta dan Sumatera barat.

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 zoonosis dan dapat menyebabkan penyakit *gastrointestinae* dan *extraintestinae* atau diare yang akut pada manusia.

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 (Hawke dalam Austin dan Austin, 1987).

2.6 Kerangka Teori

Gambar 5. Kerangka Teori Penelitian

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Balai Benih Ikan (BBI) Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau pada bulan Februari sampai Maret 2022.

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	Nama Alat	Jumlah	Fungsi
1	Autoclave	1 Unit	Sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan
2	Timbangan Analitik	1 Unit	Menimbang bahan yang dibutuhkan
3	Kaca Arloji	1 Buah	Wadah media saat penimbangan
4	Sendok	1 Buah	Mengambil media yang akan digunakan
5	Erlenmeyer 250 ml	1 Buah	Wadah untuk memanaskan media
6	Erlenmeyer 50 ml	19 Buah	Wadah untuk memanaskan media
7	Hot Plate	1 Unit	Memanaskan media yang akan digunakan
8	Magnetic Stirrer	1 Buah	Untuk pengaduk media saat pemanasan
9	Laminary Air Flow	1 Unit	Meja kerja untuk menanam bakteri
10	Cawan Petri	15 Buah	Tempat media agar
11	Tabung Reaksi	6 Buah	Mereaksikan larutan
12	Gelas Ukur 250 ml	1 Buah	Mengukur volume larutan
13	Gelas Ukur 25 ml	1 Buah	Mengukur volume larutan
14	Vortex	1 Unit	Mencampurkan sejumlah bahan
15	Aluminium foil	1 Roll	Melindungi bahan
16	Rak Tabung Reaksi	2 Buah	Wadah meletakkan tabung reaksi
17	Micro pipet 10-100 μ m	1 Buah	Untuk memindahkan cairan
18	Micro pipet 100-1000 μ m	1 Buah	Untuk memindahkan cairan
19	Jarum ose	2 Buah	Untuk memindahkan biakan mikroorganisme ke media tanam
20	Bunsen	2 Buah	Untuk pemanasan, sterilisasi dan pembakaran
21	Beaker glass 20 ml	7 Buah	Untuk menampung larutan
22	Pinset	1 Buah	Untuk mengambil benda berukuran kecil
23	Inkubator	1 Unit	Untuk mengoptimalkan suhu
24	Jangka sorong	1 Buah	Untuk mengukur panjang benda
25	Rotary evaporator	1 Buah	Untuk memisahkan suatu pelarut
26	Botol selai	4 Buah	Untuk menyimpan bahan atau sampel
27	Botol vial	5 Buah	Untuk menampung bahan atau sampel
28	Plate tetes	1 Buah	Untuk penguji keasaman atau mereaksikan larutan

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada saat penelitian dapat dilihat pada tabel 3.2

Tabel 3.2 Bahan Penelitian.

No	Nama Bahan	Fungsi
1	Nutrien Agar (NA)	Media isolasi, kultur dan pemurnian bakteri dan pathogen
2	Nutrien Broth (NB)	Media pemurnian bakteri
3	Aquades	Pelarut
4	Daun Kersen	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. ictaluri</i>	Bakteri patogen uji antagonis
9	Bakteri <i>E. tarda</i>	Bakteri patogen uji antagonis
10	Kertas Cakram	Uji antagonis
11	Kertas cakram antibiotik oksitetrasiklin	kontrol positif uji antagonis
12	Etanol	Mengekstraksi sampel uji
13	Metanol	Melarutkan ekstrak

3.3 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian jenis kuantitatif dengan pendekatan eksperimental, dimana untuk mengetahui kemampuan daya antibakteri ekstrak daun kersen terhadap *A. salmonicida*, *E. Ictaluri* dan *E. tarda*, dengan desain penelitian yang digunakan adalah deskriptif. Penelitian deskriptif dimaksudkan untuk mendeskripsikan, menjelaskan, menemukan dan memaparkan apa yang sedang diteliti. Peneliti menggunakan deskriptif, karena peneliti hanya ingin mengetahui aktivitas antibakteri atau zona hambat ekstrak daun kersen sebagai antibiotik alami terhadap pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. ictaluri* dan *E. tarda*.

3.4 Hasil Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak daun kersen dengan konsentrasi 50% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *A. salmonicida*, *E. ictaluri* dan *E. tarda*. Hasil uji pendahuluan, didapatkan bahwa

ekstrak daun kersen dengan konsentrasi 50% memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pada bakteri *A. salmonicida* sebesar 13,3 mm, *E. ictaluri* sebesar 11,3 mm dan *E. tarda* sebesar 10,2 mm pada area sekitar kertas cakram. Hasil uji pendahuluan dengan konsentrasi 50% menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *A. salmonicida*, *E. ictaluri* dan *E. tarda* dimana digunakan untuk memenuhi konsentrasi perlakuan pada penelitian ini dimulai dari konsentrasi rendah.

3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima taraf perlakuan dan 2 kali ulangan dengan perlakuan :

- P1 = Ekstrak Daun Kersen Konsentrasi 10%
- P2 = Ekstrak Daun Kersen Konsentrasi 20%
- P3 = Ekstrak Daun Kersen Konsentrasi 30%
- P4 = Ekstrak Daun Kersen Konsentrasi 40%
- P5 = Ekstrak Daun Kersen Konsentrasi 50%

Metode perlakuan ini dilakukan dengan dua tahap yaitu pertama adalah eksperimental laboratorium. Daun kersen (*M. calabura L*) di ekstraksi dengan metode maserasi yaitu dengan menggunakan pelarut etanol 95%. Ekstrak daun kersen (*M. calabura L*) menentukan aktivitas sediaan ekstrak daun kersen 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 dimasukkan kertas cakram pada media agar yang telah diisi ekstrak uji.

3.5.1 Kerangka Teori

Gambar 6. Kerangka Teori Penelitian

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pengambilan Sampel Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*)

Sampel penelitian yang digunakan adalah daun kersen yang diperoleh di Balai Benih Ikan Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau di Kelurahan Simpang Tiga, Kecamatan Bukit Raya, Pekanbaru, Provinsi Riau.

3.6.2 Ekstraksi Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*)

Pada proses pembuatan ekstrak daun kersen menggunakan metode ekstraksi maserasi. Metode maserasi digunakan karena cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Proses pengerjaannya adalah sampel daun kersen yang telah kering diremas kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi lalu diberi cairan pelarut etanol 96% secukupnya. Etanol 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 terlindungi dari cahaya matahari langsung, sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 3 hari sampel tersebut disaring, kemudian ampasnya dimasukkan kembali ke dalam bejana maserasi dan dilakukan seperti semula. Proses maserasi dilakukan sebanyak 4 kali perendaman. Hasil saringan diuapkan dalam rotary evaporasi dengan suhu 40°C kemudian di uapkan dengan suhu ruangan hingga diperoleh ekstrak yang kental.

3.6.3 Pembuatan Konsentrasi Suspensi Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*)

Pembuatan konsentrasi suspensi ekstrak daun kersen yang akan divariasikan adalah mulai dari 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% dengan cara :

1. Konsentrasi 10% (0,2 gr ekstrak daun kersen + 2 ml metanol)
2. Konsentrasi 20% (0,4 gr ekstrak daun kersen + 2 ml metanol)
3. Konsentrasi 30% (0,6 gr ekstrak daun kersen + 2 ml metanol)
4. Konsentrasi 40% (0,8 gr ekstrak daun kersen + 2 ml metanol)
5. Konsentrasi 50% (1 gr ekstrak daun kersen + 2 ml metanol)

3.6.4 Sterilisasi Alat

Sebelum melakukan kultur bakteri dan uji aktivitas antibakteri, peralatan yang terbuat dari kaca terlebih dahulu dicuci dengan sabun dan dibilas dengan air bersih, setelah di cuci alat kaca tersebut dibungkus dengan plastik bening untuk kemudian autoclave selama 30 menit pada suhu 121°C.

Untuk sterilisasi aquades, pertama-tama, aquades yang dibutuhkan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer sebanyak 1000 ml atau sesuai kebutuhan, selanjutnya tutup bagian atas Erlenmeyer dengan menggunakan aluminium foil dan dimasukkan ke dalam autoclave untuk di sterilisasi selama 15 menit pada suhu 121°C.

Sterilisasi dilakukan untuk membunuh mikroba pada peralatan. Teknik sterilisasi yang paling sering digunakan adalah sterilisasi menggunakan uap air panas bertekanan atau menggunakan autoclave. Suhu atau tekanan tinggi yang diberikan kepada alat dan media memberikan kekuatan 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).

3.6.5 Peremajaan Bakteri Patogen

Peremajaan bakteri patogen adalah 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. ictaluri* dan *E. tarda*. Peremajaan bakteri patogen dilakukan pada media agar miring, untuk membuat media agar miring pertama siapkan enam buah tabung reaksi yang sudah disterilisasi.

Selanjutnya, timbang Nutrien Agar (NA) sebanyak 1,08 gr dan tambahkan dengan aquades sebanyak 54 ml ke dalam Erlenmeyer 100 ml, magnetic stirer dan tutup dengan aluminium foil. Larutkan sampai homogeny kemudian dipanaskan dengan suhu 200°C hingga mendidih pada hot plate. Setelah mendidih, angkat dan dinginkan sebentar dan sterilkan dalam autoclave selama 20 menit pada suhu 121°C. Setelah media NA dipanaskan dan di sterilisasi, tuangkan media ke dalam tabung reaksi sebanyak 9 ml, miringkan tabung reaksi dan dinginkan sampai media NA di dalamnya mengeras. Setelah media agar mengeras, tanam bakteri patogen masing-masing dua kali ulangan dengan metode gores menggunakan

jarum ose, tandai setiap tabung reaksi sesuai bakteri patogen di dalamnya kemudian inkubasi dalam inkubator selama 24 jam dalam suhu 30°C.

3.6.6 Kultur Bakteri Patogen pada Nutrien Broth (NB)

Nutrient Broth adalah media yang digunakan untuk kultur bakteri dan patogen yang berbentuk cair atau liquid. Pembuatan media NB untuk tiga Erlenmeyer yaitu pertama timbang NB sebanyak 0,24 gr kemudian tambahkan aquades sebanyak 30 ml kedalam Erlenmeyer 50 ml dan homogenkan masukkan magnetic stirrer dan tutup dengan aluminium foil. Panaskan di atas hot plate dengan suhu 200°C sambil diaduk dengan magnetic stirrer hingga mendidih dan bening. Setelah mendidih angkat dan dinginkan sebentar dan masukkan ke dalam Erlenmeyer 50 ml sebanyak 3 buah, masing-masing Erlenmeyer di isi dengan 10 ml, tutup bagian atasnya dengan aluminium foil, lalu sterilkan pada autoclave pada suhu 121°C selama 20 menit.

Media NB yang sudah disterilkan kemudian didinginkan di dalam laminar air flow, setelah media dingin tanam tiga bakteri patogen yang sebelumnya sudah di remajakan yaitu bakteri *A. salmonicida*, *E. ictaluri* dan *E. tarda* pada masing-masing Erlenmeyer dengan cara ambil bakteri pada tabung reaksi menggunakan jarum ose steril kemudian masukkan ke dalam Erlenmeyer yang sudah berisi NB yang dingin, aduk sampai homogen dan tutup bagian atasnya dengan menggunakan aluminium foil dan proses kultur bakteri dilakukan secara aseptis. Setelah semua bakteri patogen di tanam dalam NB, diinkubator selama 24 jam pada suhu 30°C.

3.6.7 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram untuk mengetahui kekuatan daya hambat ekstrak daun kersen terhadap bakteri patogen dengan menggunakan media Nutrient Agar, yaitu dengan menanam sediaan ekstrak dalam media agar yang telah diberi bakteri *A. salmonicida*, *E. ictaluri* dan *E. tarda*.

Nutrient Agar adalah media yang digunakan untuk kultur bakteri patogen yang terbentuk padat. Pembuatan media Nutrient Agar untuk cawan petri 15 buah yaitu pertama timbang Nutrient Agar sebanyak 4,5 gr kemudian tambahkan aquades sebanyak 225 ml ke dalam Erlenmeyer 250 ml dan homogenkan masukkan magnetic stirrer dan tutup dengan aluminium foil. Panaskan di atas hot plate dengan suhu 200°C hingga mendidih. Setelah mendidih angkat dan dinginkan sebentar dan masukkan ke dalam Erlenmeyer 50 ml sebanyak 15 buah, masing-masing Erlenmeyer di isi dengan 15 ml, tutup bagian atasnya dengan aluminium foil, lalu sterilkan pada autoclave pada suhu 121°C selama 20 menit.

Media NA yang sudah disterilkan kemudian diletakkan di dalam laminar air flow tunggu suhu media 40°C atau hangat kuku. Setelah media hangat kuku tanam tiga bakteri patogen yang sebelumnya sudah di kultur pada media NB dengan cara ambil suspensi bakteri dengan mikro pipet dan diteteskan sebanyak 30µL ke dalam Erlenmeyer dihomogenkan. Setelah itu tuang ke dalam cawan petri diratakan pada media dan didiamkan selama 30 menit.

Setelah itu kertas cakram ditetesi sediaan ekstrak daun kersen sebanyak 30µL. Kemudian kertas cakram diletakkan diatas media dan ditekan dengan menggunakan pinset supaya menempel sempurna. Setelah selesai diberi label, lalu

diinkubasi secara terbalik selama 24 jam dengan suhu 30°C. Hasil inkubasi berupa daerah bening di sekitar cakram menunjukkan tidak adanya 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 kersen. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 7.

Gambar 7. Metode Difusi Cakram
(Sumber : Data Primer)

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

Tabel 3.3 Kriteria Kekuatan Zona Hambat

Diameter Zona Bening (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
<5	Lemah
6-10	Sedang
11-20	Kuat
21-30	Sangat Kuat

Sumber : Sartika *et al.*, dalam Dani (2021)

3.6.8 Uji Fitokimia

Timbang 0,1 g ekstrak daun kersen di dalam vial lalu tambahkan 3 mL Kloroform (CHCl_3) kemudian larutkan. Setelah larut, pindahkan larutan ekstrak ke dalam tabung reaksi lalu tambahkan aquades sebanyak 8 mL. Lalu kocok kuat dan biarkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan aquades (atas) dan lapisan kloroform. Uji fitokimia ini dilakukan di Laboratorium Balai Benih Ikan (BBI) Fakultas Pertanian, Universitas Islam Riau.

a. Uji Saponin

Ambil 3 mL lapisan aquades lalu masukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian dikocok kuat selama 1 menit. Terbentuknya buih atau busa yang stabil selama 5 menit setelah pengocokan, maka sampel positif saponin.

b. Uji Flavonoid

Ambil 2 mL lapisan aquades lalu masukkan kedalam tabung reaksi atau vial. Kemudian tambahkan 0,05 g serbuk magnesium dan 10 tetes asam klorida pekat (HCl 37%) dan tunggu beberapa saat. Jika terbentuk larutan warna merah muda sampai merah, maka sampel positif flavonoid.

c. Uji Fenolik

Ambil 2 mL lapisan aquades lalu masukkan kedalam tabung reaksi atau vial. Lalu tambahkan 5 tetes FeCl_3 1%. Apabila terbentuk larutan warna hijau sampai biru kehitaman, maka sampel positif Fenolik.

d. Uji Terpenoid dan Steroid

Ambil lapisan kloroform menggunakan pipet tetes lalu tetesi pada lubang plate tetes sebanyak 5 tetes dan tunggu hingga mengering. Kemudian tambahkan

pereaksi Liebermen-Burchard, yaitu 8 tetes asam asetat anhidrida dan 2 tetes asam sulfat pekat (H_2SO_4 95%). Bila terbentuk warna merah atau ungu menandakan positif Terpenoid. Bila terbentuk warna biru atau hijau menandakan positif Steroid.

e. Uji Alkaloid

Timbang 0,05 g ekstrak di dalam vial lalu tambahkan 5 mL Kloroform-amoniak 0,05 N kemudian larutkan. Kemudian tambahkan 3 mL asam sulfat (H_2SO_4) 2 N, kocok selama 1 menit lalu diamkan hingga terjadi pemisahan. Ambil lapisan asam (atas) dan masukkan ke dalam dua buah vial masing-masing 1 mL. pada vial pertama tambahkan 5 tetes pereaksi Mayer dan vial kedua tambahkan 5 tetes pereaksi Dragendorff. Apabila terbentuk kabut atau endapan putih pada vial pertama (Mayer) dan kabut atau endapan oren pada vial kedua (Dragendorff) maka sampel positif Alkaloid.

3.7 Hipotesis dan Asumsi

Dalam penelitian ini hipotesa yang akan diajukan adalah :

H_0 = Ekstrak daun kersen tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen

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

H_1 = Ekstrak daun kersen dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *A.*

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

Hipotesis di atas diajukan dengan asumsi sebagai berikut:

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

3.8 Analisis Data

Analisis data merupakan kegiatan pengolahan data yang diperoleh dari hasil penelitian aktivitas antibakteri dengan terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram yang diberi ekstrak daun kersen pada media kultur bakteri *A. salmonicida*, *E. ictaluri* dan *E. tarda*.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Fitokimia

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat pada daun kersen. Penelitian dilakukan dengan cara mengambil sedikit sampel dari ekstrak hasil maserasi, kemudian ditambahkan reagen sesuai senyawa yang akan diidentifikasi. Hasil uji fitokimia ekstrak daun kersen (*M. calabura L*) dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kersen

No	Parameter yang di uji	Hasil	Keterangan
1	Alkoid	-	Tidak terbentuk endapan putih pada mayer, dragendorf tidak terbentuk endapan orange atau coklat
2	Fenolik	+	Terbentuk larutan berwarna hitam
3	Terpenoid/Steroid	+	Terbentuk larutan berwarna biru atau kehijauan
4	Flavonoid	+	Terbentuk larutan berwarna merah muda
5	Saponin	+	Terbentuk busa stabil selama 5 menit

Keterangan : (+) Teridentifikasi senyawa, (-) Tidak teridentifikasi senyawa

Berdasarkan Tabel 4.1 dari hasil uji fitokimia, ekstrak daun kersen positif mengandung senyawa fenolik dengan terbentuk larutan berwarna hitam, senyawa terpenoid/steroid dengan terbentuk larutan berwarna biru atau kehijauan, senyawa flavonoid dengan terbentuk larutan berwarna merah muda, senyawa saponin dengan terbentuk busa stabil selama 5 menit. Uji kandungan alkoid memberikan hasil negatif, dimana pada ekstrak tidak terbentuk endapan putih setelah diberi pereaksi mayer dan tidak terbentuk endapan oren atau coklat setelah penambahan pereaksi dragendorf. Berdasarkan analisis fitokimia yang telah dilakukan oleh

Vonna *et al.*, (2021) bahwa, ekstrak etanol daun kersen mengandung senyawa flavonoid, saponin, steroid dan fenolik (tanin).

4.1.1 Alkoloid

Hasil uji fitokimia sampel ekstrak daun kersen negatif mengandung senyawa alkoloid. Hal ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya endapan oren setelah diberi pereaksi reagen dragendorf dan tidak terbentuk endapan putih setelah diberi pereaksi mayer. Sentat dan Susiyanto (2016) menyatakan bahwa, alkaloid dianggap positif jika menghasilkan endapan oren atau putih setelah sampel di beri pereaksi.

Gambar 8. Uji Alkoloid pada reagen dragendorf dan reagen mayer
(Sumber : Data Primer)

Alkoloid adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan. Sebagian besar senyawa alkoloid bersumber dari tumbuh-tumbuhan, terutama angiosperm. Lebih dari 20% spesies angiosperm mengandung alkoloid. Wink *dalam* Ningrum, (2016) menyatakan bahwa, alkoloid dapat ditemukan pada berbagai bagian tanaman, seperti bunga, biji, daun, ranting, akar dan kulit batang.

4.1.2 Fenolik

Hasil uji fitokimia sampel ekstrak daun kersen positif mengandung senyawa fenolik. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan warna hijau kehitaman pada larutan sampel ekstrak daun kersen setelah di tetesi FeCl_3 1%. Sentat dan Susiyanto (2016) menyatakan bahwa, fenolik dianggap positif jika menghasilkan larutan berwarna biru tua atau hijau kehitaman setelah di beri pereaksi.

Gambar 9. Uji Fenolik (Tanin)
(Sumber : Data Primer)

Senyawa fenolik merupakan kelompok senyawa terbesar yang berperan sebagai antioksidan alami pada tumbuhan. Senyawa fenolik memiliki satu (fenol) atau lebih (polifenol) cincin fenol, yaitu gugus hidroksi yang terikat pada cincin aromatis sehingga mudah teroksidasi dengan menyumbangkan atom hidrogen pada radikal bebas (Dhurhania, 2018).

4.1.3 Terpenoid/Steroid

Hasil uji fitokimia sampel ekstrak daun kersen positif mengandung senyawa terpenoid dan steroid. Hal ini ditunjukkan dengan adanya perubahan warna pada sampel ekstrak daun kersen menjadi hijau, setelah diberi asam asetat anhidrida

dan asam sulfat pekat pereaksi Liebermann-Bouchardat. Suci dan Yenni (2019) menyatakan bahwa, terpenoid/steroid dianggap positif jika timbulnya warna ungu dan merah, kemudian berubah menjadi hijau biru setelah di beri pereaksi.

Gambar 10. Uji Terpenoid dan Steroid
(Sumber : Data Primer)

Jafar *et al.*, (2020) menyatakan bahwa, prinsip reaksi dalam uji steroid/terpenoid adalah, kondensasi atau pelepasan H₂O dan penggabungan karbokation. Gugus hidrogen beserta elektronnya akan dilepas sehingga mengalami perpanjangan konjungsi yang memperlihatkan terbentuknya cincin coklat atau hijau. Steroid atau sterol merupakan triterpenoid yang mempunyai bentuk dasar siklopentana perhidrofenantren, yang biasanya larut dalam pelarut yang kurang polar. Senyawa ini paling sering ditemukan pada tumbuhan berbiji, bebas dan sebagai glikosida. Triterpenoid yang paling penting dan paling tersebar luas adalah triterpenoid pentasiklik.

4.1.4 Flavonoid

Hasil uji fitokimia sampel ekstrak daun kersen positif mengandung senyawa flavonoid. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah pada lapisan

aquades sampel ekstrak daun kersen yang ditambahkan dengan serbuk magnesium dan asam klorida. Suci dan Yenni (2019) menyatakan bahwa, flavonoid dianggap positif jika timbulnya warna merah muda atau ungu setelah di beri pereaksi.

Gambar 11. Uji Flavonoid
(Sumber : Data Primer)

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa penolik. Berbagai jenis senyawa, kandungan dan aktivitas antioksidatif flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada sereal, sayuran dan buah. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya, berada dalam bentuk glukosida atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Cuppet *dalam* Redha, 2010).

4.1.5 Saponin

Hasil uji fitokimia sampel ekstrak daun kersen positif mengandung senyawa saponin. Hasil ini didapatkan setelah lapisan aquades sampel ekstrak daun kersen ditambahkan klorofom sampai larut. Larutan tersebut tambahkan aquades, lalu

dikocok kuat dan biarkan beberapa saat hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan aquades pada bagian atas dan lapisan klorofom pada bagian bawah, lalu ambil lapisan aquades dan dikocok dengan kencang selama 1 menit, sehingga terbentuknya buih atau busa yang stabil selama 5 menit. Menurut Suci dan Yenni (2019) saponin dianggap positif jika buih atau busa tidak hilang selama tidak kurang dari 10 menit setelah di beri pereaksi.

Gambar 12. Uji Saponin
(Sumber : Data Primer)

Saponin merupakan suatu glikosida yang memiliki aglikon berupa sapogenin. Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan air sehingga akan mengakibatkan terbentuknya buih pada permukaan air setelah dikocok (Nurzaman *et al.*, 2018).

4.2 Uji Daya Hambat

Daya hambat ekstrak daun kersen yang diuji menghasilkan zona bening di sekitar kertas cakram. Zona bening yang terdapat di sekitar kertas cakram merupakan difusi ekstrak daun kersen yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri.

Besar diameter dari zona hambat yang terbentuk dapat menunjukkan kekuatan antibakteri dari ekstrak yang digunakan.

4.2.1 Bakteri *Aeromonas salmonicida*

Berdasarkan hasil dari pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak daun kersen memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*. Daya hambat ini dibuktikan dengan adanya zona bening yang terdapat disekitar kertas cakram pada media yang ditumbuhi bakteri *A. salmonicida*. Konsentrasi larutan ekstrak yang digunakan berbeda-beda dan larutan kontrol tidak diberi perlakuan ekstrak. Diameter zona hambat yang terbentuk di daerah sekitar kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong. Diameter uji daya hambat ekstrak daun kersen (*M. calabura L*) terhadap bakteri *A. salmonicida* dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Diameter Zona Hambat (mm) pada Ekstrak Daun Kersen Terhadap Bakteri *Aeromonas salmonicida*

Ekstrak Daun Kersen	Diameter Zona Hambat (mm)		Total (mm)	Rata-rata (mm)
	1	2		
P1 (Konsentrasi 10%)	9.7	8.7	18.4	9.2
P2 (Konsentrasi 20%)	9.1	9.1	18.2	9.1
P3 (Konsentrasi 30%)	9.6	9.5	19.1	9.6
P4 (Konsentrasi 40%)	10.3	10.2	20.5	10.3
P5 (Konsentrasi 50%)	10.6	11.1	21.7	10.9
Kontrol Positif	31.7		31.7	31.7
Kontrol Negatif	0		0	0

Keterangan : Zona hambat 1 (Ulangan 1), Zona Hambat 2 (Ulangan 2)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, ekstrak daun kersen (*M. calabura L*) dari P1 konsentrasi 10% hingga P5 konsentrasi 50% memiliki aktivitas antibakteri. Pada P1 konsentrasi 10% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 9,2 mm, pada P2 konsentrasi 20% diperoleh nilai rata-rata

diameter zona hambat sebesar 9,1 mm, pada P3 konsentrasi 30% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 9,6 mm, pada P4 konsentrasi 40% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 10,3 mm, pada P5 konsentrasi 50% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 10,9 mm. Kontrol positif sebesar 31,7 mm dan kontrol negatif tidak terdapat zona hambat di sekeliling kertas cakram. Aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen dilihat dari adanya diameter zona hambat yang dihasilkan pada penelitian ini dikategorikan sedang.

Gambar 13. Rata-rata Diameter Zona Hambat ekstrak daun kersen pada Bakteri *A. salmonicida* (mm)

Aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen pada gambar 13. dilihat dari adanya diameter zona hambat yang dihasilkan pada perlakuan P1 konsentrasi 10% sampai P5 konsentrasi 50%. Diameter zona hambat ekstrak daun kersen yang dihasilkan ini digolongkan pada kategori sedang. Menurut Kumesan dalam Henaulu dan Kaihena (2020) menyatakan bahwa, apabila zona hambat yang terbentuk pada uji difusi agar berukuran kurang dari 5 mm, maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah. Apabila zona hambat berukuran 5-10 mm dikategorikan lemah. Apabila zona hambat berukuran 5-10 mm dikategorikan

sedang, 10-20 mm dikategorikan kuat dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

Pada gambar 13. aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen mempunyai potensi sebagai antibakteri dan menghasilkan zona bening yang bervariasi. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa P5 menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan P2. Zona hambat yang dihasilkan pada uji ini dikarenakan ekstrak daun kersen dapat membunuh bakteri. Menurut Rosidah *et al.*, (2018) ekstrak daun kersen memiliki kemampuan dalam membunuh bakteri karena adanya kandungan senyawa aktif pada daun kersen, kematian bakteri oleh senyawa antimikroba dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu menghambat atau merusak dinding sel. Keefektifan suatu zat antibakteri dalam menghambat pertumbuhan tergantung pada sifat mikroba uji, konsentrasi dan lamanya waktu kontak.

Pada umumnya, diameter zona hambat cenderung meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang diberikan. Akan tetapi, dalam hal ini tidak seperti pada umumnya serta zona hambat yang dihasilkan sempit menurun. Komala dan Ismanto (2008) menyatakan bahwa, aktifitas antimikroba tanaman obat memiliki nilai zona hambat yang mengalami peningkatan dan penurunan pada berbagai konsentrasi yang ada. Stout dan Davis dalam Kamelia (2018) diameter zona hambat yang terbentuk tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi ekstrak, hal ini disebabkan karena adanya perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar serta konsentrasi yang berbeda juga memberikan diameter zona hambat yang berbeda pada waktu tertentu. Selain itu, perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing perlakuan dipengaruhi oleh

beberapa faktor antara lain adalah konsentrasi senyawa antibakteri, jumlah bakteri, jenis bakteri dan suhu (Pelczarr dan Chan *dalam* Kamelia, 2018).

4.2.2 Bakteri *Edwardsiella ictaluri*

Berdasarkan hasil dari penelitian menunjukkan bahwa, ekstrak daun kersen memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. ictaluri* secara in vitro. Zona hambat dibuktikan dengan adanya daerah bening pada sekitar kertas cakram. Besar rata-rata diameter zona hambat ekstrak daun kersen (*M. calabura L*) pada bakteri *E. ictaluri* dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Diameter Zona Hambat (mm) pada Ekstrak Daun Kersen Terhadap Bakteri *Edwardsiella ictaluri*

Ekstrak Daun Kersen	Diameter Zona Hambat (mm)		Total (mm)	Rata-rata (mm)
	1	2		
P1 (Konsentrasi 10%)	8.8	8.8	17.6	8.8
P2 (Konsentrasi 20%)	9.5	9.8	19.3	9.7
P3 (Konsentrasi 30%)	10.5	10	20.5	10.3
P4 (Konsentrasi 40%)	11.3	10	21.3	10.7
P5 (Konsentrasi 50%)	11.6	11.4	23	11.5
Kontrol Positif	31		31	31
Kontrol Negatif	0		0	0

Keterangan : Zona hambat 1 (Ulangan 1), Zona Hambat 2 (Ulangan 2)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kersen (*M. calabura L*) dari konsentrasi 10% hingga 50% memiliki aktivitas antibakteri. Pada konsentrasi 10% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 8,8 mm, pada konsentrasi 20% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 9,7 mm, pada konsentrasi 30% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 10,3 mm, pada konsentrasi 40% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 10,7 mm, pada konsentrasi 50% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat

sebesar 11,5 mm. Kontrol positif memiliki zona hambat sebesar 31 mm dan kontrol negatif tidak terdapat zona hambat di sekeliling kertas cakram.

Gambar 14. Rata-Rata Diameter Zona Hambat ekstrak daun kersen pada Bakteri *E. ictaluri* (mm)

Aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen pada gambar 14. dilihat dari adanya diameter zona hambat yang dihasilkan pada perlakuan P1 konsentrasi 10% sampai P4 konsentrasi 40% ini dikategorikan sedang. Pada perlakuan P5 konsentrasi 50% diameter zona hambat ekstrak daun kersen yang dihasilkan digolongkan pada kategori kuat. Berdasarkan Jannata *dalam Syawal et al.*, (2019) menyatakan bahwa, klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri terdiri atas 4 kelompok, yaitu respon lemah (diameter <5 mm), respon sedang (diameter 5-10 mm), respon kuat (diameter 10-20 mm) dan respon sangat kuat (diameter >20 mm). Farlex *dalam Azaldin* (2020) menyatakan bahwa, suatu bahan dikatakan sensitif terhadap bakteri ditandai dengan adanya zona hambat di sekeliling *disk blank*.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak daun kersen memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. ictaluri* dengan terbentuknya zona hambat pada media kultur bakteri pada gambar 14. dapat dilihat bahwa, semakin tinggi

konsentrasi ekstrak daun kersen yang diberikan, maka semakin besar daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri. Roslizawaty *et al.*, (2013) menyatakan bahwa, ini menunjukkan semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat sehingga kemampuan dalam membunuh suatu bakteri juga semakin besar.

Berdasarkan gambar 14. terlihat bahwa diameter zona hambat yang dihasilkan semakin meningkat. Dapat dikatakan aktifitas antibakteri semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang digunakan. Nilai diameter zona hambat yang dihasilkan berbanding lurus dengan tingkat konsentrasi ekstrak yang diberikan. Syawal *et al.*, (2019) menyatakan bahwa, hal ini disebabkan meningkatnya kadar senyawa antibakteri yang terdapat pada berbagai konsentrasi ekstrak. kualitas dan kuantitas zat yang terkandung dalam ekstrak daun kersen dapat mempengaruhi zona hambat yang dihasilkan. Maharti dalam Prawira (2013) menyatakan bahwa, faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri diantaranya pH lingkungan, komponen pembenihan, stabilitas zat aktif, besarnya inoculum, masa pengeraman dan aktifitas metabolik.

4.2.3 Bakteri *Edwardsiella tarda*

Berdasarkan hasil dari penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kersen memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. tarda* secara in vitro. Zona hambat dibuktikan dengan adanya daerah bening pada sekitar kertas cakram. Besar rata-rata diameter zona hambat ekstrak daun kersen (*M. calabura* L) pada bakteri *E. tarda* dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Diameter Zona Hambat (mm) pada Ekstrak Daun Kersen Terhadap Bakteri *Edwardsiella tarda*

Ekstrak Daun Kersen	Diameter Zona Hambat (mm)		Total (mm)	Rata-rata (mm)
	1	2		
P1 (Konsentrasi 10%)	9.7	9.5	19.2	9.6
P2 (Konsentrasi 20%)	9.8	12.2	22	11
P3 (Konsentrasi 30%)	11.8	11.6	23.4	11.7
P4 (Konsentrasi 40%)	11.5	11.3	22.8	11.4
P5 (Konsentrasi 50%)	11.6	11.1	22.7	11.4
Kontrol Positif	31		31	31
Kontrol Negatif	0		0	0

Keterangan : Zona hambat 1 (Ulangan 1), Zona Hambat 2 (Ulangan 2)

Hasil dari penelitian yang dilakukan menunjukkan ekstrak daun kersen (*M. calabura L*) pada konsentrasi 10% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 9,6 mm, pada konsentrasi 20% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 11 mm, pada konsentrasi 30% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 11,7 mm, pada konsentrasi 40% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 11,4 mm, pada konsentrasi 50% diperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 11,4 mm. Kontrol positif memiliki zona hambat sebesar 31 mm dan kontrol negatif tidak terdapat zona hambat di sekeliling kertas cakram.

Gambar 15. Rata-Rata Diameter Zona Hambat ekstrak daun kersen pada Bakteri *E. tarda* (mm)

Aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen pada gambar 15. dilihat dari adanya diameter zona hambat yang dihasilkan pada perlakuan P1 konsentrasi 10% ini dikategorikan sedang. Pada Perlakuan P2 konsentrasi 20% sampai P5 konsentrasi 50% diameter zona hambat ekstrak daun kersen yang dihasilkan digolongkan pada kategori kuat. 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 gambar 15. aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen mempunyai potensi sebagai antibakteri dan menghasilkan zona bening yang bervariasi. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa P3 menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan P5. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan, maka semakin menurun zona hambat yang dihasilkan. Sarjono dan Mulyani (2007) menyatakan bahwa, dengan variasi konsentrasi yang digunakan aktivitas antibakteri pada bakteri *E. tarda* awalnya meningkat sampai maksimal pada konsentrasi tertentu, setelah diperoleh hambatan maksimal aktivitasnya turun dan cenderung konstan. Menurut Suprianto *dalam* Henaulu dan Kaihena (2020) menyatakan bahwa, menurunnya zona hambat dikarenakan efektivitas senyawa antimikroba dari konsentrasi ekstrak yang digunakan.

Peningkatan konsentrasi ekstrak menyebabkan semakin besar jumlah senyawa antimikroba yang berdifusi dalam medium agar, sehingga zona penghambatan akan meningkat seiring peningkatan konsentrasi ekstrak. Akan tetapi pada pertumbuhan bakteri *E. tarda* diameter zona hambat ekstrak daun kersen mengalami penurunan pada P4 konsentrasi 40% jika dibandingkan dengan

P3 konsentrasi 30%. Hal ini dikarenakan P3 konsentrasi 30% merupakan konsentrasi optimum dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. tarda*. Konsentrasi efektif suatu bahan tidak selalu pada konsentrasi yang paling tinggi, karena bisa jadi pada konsentrasi tersebut dapat menurunkan aktivitas senyawa antibakteri pada ekstrak daun kersen. Irianto *dalam* Henaulu dan Kaihena (2020) menyatakan bahwa, apabila konsentrasi senyawa kimia antibakteri melewati suatu konsentrasi tertentu, maka peningkatan daya disinfeksi akan berkurang.

4.3 Mekanisme Senyawa Aktif Metabolit Ekstrak Daun Kersen

Daun Kersen (*M. calabura L*) adalah tumbuhan alami yang dijadikan sebagai bahan antibiotik, karena terbukti memiliki kandungan senyawa antibakteri. Berdasarkan hasil uji fitokimia daun kersen memiliki empat senyawa yaitu saponin, flavonoid, fenolik (tanin) dan terpenoid/steroid 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. ictaluri* dan *E. tarda*.

Lewis (2005) menyatakan bahwa, 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) menambahkan bahwa, 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 merusak 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 lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. 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 *et al.*, (2016) mekanisme kerja dari senyawa flavonoid dipengaruhi oleh faktor respon dari golongan bakteri. Penelitian ini menggunakan bakteri *A. salmonicida*, *E. ictaluri* dan *E. tarda* 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 uji menyebabkan senyawa antibakteri sulit menembus dinding sel bakteri terhadap bahan kimia, namun tetap dapat dirusak hanya saja tidak semudah seperti halnya bakteri lain 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. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Ekstrak daun kersen memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*, *E. ictaluri* dan *E. tarda* dengan terbentuknya zona hambat di sekitar area kertas cakram

Konsentrasi Ekstrak Daun Kersen yang baik pada pertumbuhan bakteri *A. salmonicida* pada P5 konsentrasi 50%, pada bakteri *E. ictaluri* pada P5 konsentrasi 50%, pada bakteri *E. tarda* pada P3 konsentrasi 30%.

5.2 Saran

Saran pada penelitian ini yaitu penelitian lanjutan tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kersen (*M. calabura L*) terhadap ikan yang diinfeksi bakteri patogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E. dan Liviawaty. 1992. *Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. 89 hal.
- Andriyani, L. 2012. Isolasi dan Uji Antioksidan Flavonoid Terprenilasi dari Daun *Erythrina crista-galli*. Skripsi. Universitas Airlangga. 85 hal.
- Arifulloh. 2013. Ekstraksi Likopen dari Buah Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill) dengan Berbagai Komposisi Pelarut. Skripsi. Universitas Jember. 53 hal.
- Austin, B. and D.A. Austin. 1987. *Bacterial fish Pathogens; Diseases in Farmed and Wild Fish*. Ellis Horwood Limited. Chichester West Sussex, England. 364 pp.
- Azaldin, M., H. Syawal dan I. Lukistyowati. 2020. Sensitivity of Pineapple Peel (*Ananas comosus*) Extract Against *Edwardsiella tarda* Bacteria. *Jurnal Ruaya*. 8 (1): 53-59.
- Azhar, F. dan G.W. Dyke. 2019. Pelatihan Penanganan Streptococcus pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) menggunakan Pakan Fermentasi di Desa Gontoran Lingsar. *Jurnal Abdi Insani*. 6 (2): 229-240.
- Bimardati, M.R., N.A. Faradiva., N.A. Dewi., N.F. Hidayah., N.S. Dianita., N.M. Ummah dan N.K. Putri. 2021. Metode Ekstraksi Infundasi dengan Pelarut Aquadest. Laporan Praktikum Fitokimia. 38 hal.
- Bontjura, S., O.A. Waworuntu dan K.V. Siagian. 2015. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 4 (4): 96-101.
- Chairunnisa, S., M.W. Ni dan S, Lutfi. 2019. Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 7 (4): 551-560.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *American Society for Microbiology*. 12 (4): 564 – 582.
- Dani, M.O. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*) terhadap Bakteri *Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella tarda* dan *Edwardsiella ictaluri*. Skripsi. Universitas Islam Riau. 81 hal.
- Darsana. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara *In Vitro*. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*. 1 (3): 337-351.
- Dhurhanian, C.E dan A, Novianto. 2018. Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan

- Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia. 5 (2): 62-68.
- Fadhli, M.I., R.H. Puspito dan F, Hayyu. 2018. Efektivitas Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara In Vitro. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Gritter, R.J., J.M. Bobbitt dan A.E. Schwarting. 1991. Pengantar Kromatografi. Bandung. Penerbit ITB. Hal 82-84.
- Hawke, J.P., R.M. Durborow., R.L. Thune and A.C. Camus. 1998. ESC-Enetic Septicemia of Catfish. Southhern Region Aquaculture Center. SRAC Piblication No. 477.
- Henaulu, A.H dan M. Kaihena. 2020. Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus* In Vitro. Biofaal Journal. 1 (1): 44-54.
- Holt, J.G., N.R. Krieg., P.H.A. Sneath., J.T. Stanley and William. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. United States of America Baltimore: Williams and Wilkins Company. 786-788.
- Huluan, R. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Daun Kersen (*Muntingia calabura L*) Terhadap Bakteri *Aromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi. Universitas Islam Riau. 61 hal.
- Isnarianti, R., I.A. Wahyudi dan R.M. Puspita. 2013. *Muntingia calabura L*. Leaves Extract Inhibits Glucosyltransferase Activity of *Streptococcus mutans*. Journal of Dentistry Indonesia. 20 (3): 59-63.
- Jafar, W., Masriany dan E. Sukmawaty. 2020. Uji Fitokimia Etanol Bunga Pohon Hujan (*Spathodea campanulatai*) secara In Vitro. Jurnal Prosiding Seminar Nasional Biotik. 8 (2): 328-334.
- Kamelia. 2018. Efektivitas Daya Hambat Berbagai Ekstrak Bahan Tumbuhan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi* secara In Vitro. Skripsi. Universitas Borneo Tarakan. 59 hal.
- Kasminah. 2016. Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Halymenia durvillaei* dengan Pelarut Non Polar, Semi Polar dan Polar. Skripsi. Universitas Airlangga. 63 hal.
- Khasanah, I. 2014. Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L*) sebagai Antibakteri terhadap *Streptococcus agalactiae* Penyebab Mastitis Subklinis pada Sapi Perah. Skripsi. Universitas Brawijaya. 70 hal.
- Komala, O. dan Ismanto. 2008. Daya Antimikroba Ekstrak Beberapa Tanaman Obat Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Jurnal Ekologia. 8(1): 29-36.

- Lathif, Y. 2016. Pengaruh Lama Fermentasi dan Variasi Konsentrasi Daun Kersen (*Muntingia calabura L*) terhadap Total Asam, pH Medium Aktivitas Antioksidan Kefir Air Teh Daun Kersen (*Muntingia calabura L*). Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. 106 hal.
- Lewis, E.R. 2005. Antifungal Pharmacology. <http://www.doctorfungus.org/thedrugs.html>. Diakses pada 2 Juni 2021. Pukul 21.33 WIB.
- Ma'sum, J., R. Isnaini., Primaharinastiti dan F, Annuryanti. 2014. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Aseton Tomat Segar dan Pasta Tomat Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH). Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia. 1 (2): 59-62.
- Manik, F.D dan Triana, H. 2014. Analisis Korelasi Antara Kadar Flavonoid dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Daun Kersen (*Muntingia calabura L*) terhadap *Staphylococcus aureus*. Jurnal Khazanah. 6 (2): 1-11.
- Mardiah, A. 2016. Efektivitas Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora mucronata* sebagai Antibakteri untuk Mencegah Perkembangan Bakteri *Edwardsiella tarda* pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio L.*). Skripsi. Universitas Sumatera Utara. 62 hal.
- Marliana, S.D., S. Venty dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. Jurnal Biofarmasi. 3 (1): 26-31.
- Monalisa, D.T., Handayani dan D. Sukmawati. 2011. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Jurnal BIOMIA. 9 (2): 13-20.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. Jurnal Kesehatan. 7 (2): 361-367.
- Naim, R. 2004. Senyawa Antimikroba dari Tumbuhan. Kompas, Edisi Rabu, 2 Juni 2021. <http://www.kompas.com/kompascetak/0409/15/sorotan/1265264.htm>.
- Nanda, S. 2020. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Bersimbiosis di Akar Tanaman Nanas (*Ananas comosus L. Merr*) pada Kebun Nanas Lahan Gambut Sungai Apit Kabupaten Siak Provinsi Riau. Skripsi. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. 61 hal.
- Ningrum, R., P. Elly dan Sukarsono. 2016. Identifikasi Senyawa Alkoloid dari Batang Karamunting (*Rhodomlyrtus tomentosa*) sebagai Bahan Ajar Biologi untuk SMA Kelas X. Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia. 2 (3): 231-236.
- Nuraina. 2015. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun *Garcinia benthami* Pierre dengan Metode Dilusi. Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. 75 hal.

- Nurzaman, F., J. Djajadisastra dan B. Elya. 2018. Identifikasi Kandungan Saponin dalam Ekstrak Kamboja Merah (*Plumeria rubra L.*). Jurnal Kefarmasian Indonesia. 8 (2): 85-93.
- 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). Journal of Fish Diseases. 25 (6): 343 –350.
- Oktora, L dan R.K. Sari. 2006. Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. Majalah Ilmu Kefarmasian. 3 (1): 1-7.
- Pelczar, M.J. and R.D. Reid. 1972. Microbiology, New York Mc Graw Hill Book Company. 948 page.
- 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.
- Pratama, A. 2014. Pengembangan Lembar Kegiatan Siswa (LKS) Berdasarkan Riset Teratogenitas Morfologi Fetus Mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster setelah Pemberian Ekstrak Daun Muda Sungkai. Skripsi. Universitas Bengkulu. 57 Hal.
- Prawira, M.Y. 2013. Daya Hambat Dekok Daun Kersen (*Muntingia calabura L*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Penyakit Mastitis pada Sapi Perah. Skripsi. Universitas Brawijaya. Hal 47.
- Puspariani, Y.S. 2007. Isolasi dan Identifikasi Saponin pada Kecambah Kedelai (*Glycine max L.*). Skripsi. Universitas Sanata Dharma Yogyakarta. 91 Hal.
- Puspita, M.D. 2010. Identifikasi Kandungan Tanin dalam Ekstrak Etanolik Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia Lamk*) dari Kebun Tanaman Obat Universitas Sanata Dharma dengan Metode Klt-Densitometri. Skripsi. Universitas Sanata Dharma. 98 hal.
- Rabekka, A.L. 2015. Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jurnal Online Mahasiswa. 3 (1): 1-15.
- Rachmawaty, D.U. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan Petroleum Eter Rambut Jagung Manis (*Zea mays ssaccharata Sturt*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. 115 hal.
- Rahmawati, A.R., M.F. Ulkhaq., Dewi, S., Hapsari, K dan H.F. Arif. 2021. Identifikasi Bakteri *Aeromonas salmonicida* dan *Edwardsiella ictaluri* pada Ikan Hidup yang akan Dilalulintaskan dari Daerah Istimewa Yogyakarta. Journal of Marine and Coastal Science. 10(2): 68-73.

- Ratnawati, A., Uni, P dan Kurniasih. 2013. Histopatologis Dugaan *Edwardsiella tarda* sebagai Penyebab Kematian Ikan Maskoki (*Crassius auratus*): Postulat Koch. Jurnal Sain Veteriner. 31 (1): 55-65.
- Redha, A. 2010. Flavonoid : Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. Jurnal Belian. 9 (2): 196-202.
- 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., Triyanto dan Murwantoko. 2016. Isolasi dan Identifikasi *Aeromonas* spp. Dari Lele Dumbo (*Clarias* sp) Sakit di Kabupaten ngawi. Jurnal Perikanan Universitas Gajah Mada. 18 :(2) 55-60.
- Rijayanti, R.P. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*. Naskah Publikasi. Universitas Tanjungpura. 19 hal.
- Rosidah., W. Lili., Iskandar., M.R., Afriliansyah. 2018. Efektivitas Ekstrak Daun Kersen untuk Pengobatan Benih Ikan Nila yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Akuatika Indonesia. 3 (1): 10-18.
- 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.
- Salim, Z dan Ernawati, M. 2017. Info Komoditi Tanaman Obat. Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan. 106 hal.
- Saputri, H.N. 2020. Pengaruh Rebusan Daun Kersen Terhadap Kadar Kolesterol Pada Usia Dewasa di Desa Tampirkulon Kecamatan Candimulyo Tahun 2020. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Magelang. 61 Hal.
- Sariyati, W. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap Mencit (*Mus musculus*) sebagai Antiinflamasi. Skripsi. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. 97 hal.
- Sarjono, P.R. dan N.S. Mulyani. 2007. Aktivitas Antibakteri Rimpang Temu Putih (*Curcuma manga* Vall). Jurnnal Sains & Matematika. 15 (2): 89-93.
- Sentat, T. dan Susiyanto, P. 2016. Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*) dengan Induksi Nyeri Asam Asetat. Jurnal Ilmiah Manuntung. 2 (2): 147-153.
- Suci, S dan Yenni, F.S. 2019. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia. 4 (2): 121-125.

- Sudarmi, K., B.G.D. Ida dan I.M. Ketut. 2017. Uji Fitokimia dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium cumini*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ATCC. *Jurnal Symbiosis*. 5 (2): 47-51.
- Syawal, H., Yuharmen dan K, Ronal. 2019. Sensitivitas ekstrak daun *Rhizopora apiculata* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Ruaya*. 7 (2): 34-38.
- Vonna, A., L.S, Desiyana., Rizki, H., D.N, Illian. 2021. Analisis Fitokimia dan Karakteristik dari Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*). *Jurnal Bioleuser*. 5 (1): 8-12.