

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK METABOLIT SEKUNDER  
BAKTERI YANG BERASAL DARI USUS IKAN SAPU-SAPU  
(*Hypostomus plecostomus*) TERHADAP BAKTERI PATOGEN**

**OLEH**

**APRIANSYAH**  
**NPM:164310201**

**SKRIPSI**

*Diajukan Sebagai 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  
2021**

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK METABOLIT SEKUNDER  
BAKTERI YANG BERASAL DARI USUS IKAN SAPU-SAPU  
(*Hypostomus plecostomus*) TERHADAP BAKTERI PATOGEN**

**SKRIPSI**

**NAMA : APRIANSYAH**  
**NPM : 164310201**  
**PROGRAM STUDI : BUDIDAYA PERAIRAN**

KARYA ILMIAH INI TELAH DIPERTAHANKAN DALAM UJIAN  
KOMPREHENSIF YANG TELAH DILAKSANAKAN PADA TANGGAL 16  
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:**

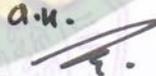
DOSEN PEMBIMBING



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

DEKAN FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ISLAM RIAU

KETUA PROGRAM STUDI  
BUDIDAYA PERAIRAN

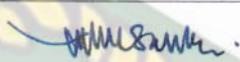
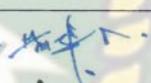
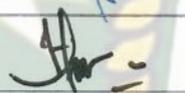


Dr. Ir. Hj. Siti Zahrah, MP  
NIDN: 0013086004

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, 16 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



**Apriansyah** adalah nama dari penulis skripsi ini. Lahir pada tanggal 23 April 1998, di Desa Bagan jaya, Kecamatan Enok, Kabupaten Indragiri Hilir, Provinsi Riau. Penulis merupakan anak pertama dari 2 bersaudara dari pasangan Asmarullah dan analisa. Penulis pertama kali masuk SDS 021 FISIPERA pada tahun 2005 dan tamat tahun 2011, pada tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan ke SMPN 1 Tembilahan Hulu dan tamat pada tahun 2013. Setelah tamat di SMP penulis melanjutkan sekolahnya ke SMAN 2 Tembilahan dan tamat pada tahun 2016. Kemudian pada tahun 2016 penulis terdaftar sebagai Mahasiswa di Universitas Islam Riau, Fakultas Pertanian, Program Studi Budidaya Perairan. Dengan izin Allah SWT pada tanggal 16 Juli 2021 penulis berhasil menyelesaikan pendidikan Sastra-1 (S1) dan sekaligus berhasil meraih gelar Sarjana Perikanan Sastra-1 (S1) dengan judul penelitian “Uji Daya Hambat Ekstrak Metabolit Sekunder Bakteri yang Berasal dari Usus Ikan Sapu-sapu (*Hypostomus plecostomus*) terhadap Bakteri Patogen”. Dibimbing oleh Bapak Dr. Jarod Setiaji, S.Pi, M.Sc.

**Apriansyah**

## 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 bapak (Asmarullah) dan Ibu (Analisa) 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. Aldi Novriansyah yaitu Keluarga dan saudara, yang telah memberikan dukungan moril dan materil kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan studi ini.
11. Putri Marina Kuswari sebagai rekan penelitan yang telah memberikan semangat, bantuan dan dukungan moril kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
12. Sahabat saya Rio Rosandika, Arjuna Satya Rizaldy, Angga Ibnu Kholid dan Muhammad Yunus (penjaga kos) yang memberi semangat dan motivasi kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
13. Ahmed Bahri, S.Pi, Mike Oktaria D, Nurul F, Ristina dan Rahmat Huluan yang membantu penulis dalam penelitian dan masukan sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
14. Keluarga besar HIMAPIKAN tanpa disebutkan nama masing-masing terima kasih atas dukungan juga canda tawanya, semoga terus terjalin ikatan kekeluargaan dimanapun kita berada.
15. Teman-teman seperjuangan angkatan 2016 yang telah memberikan dorongan serta masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

16. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu, terimakasih atas segalanya.



Dokumen ini adalah Arsip Milik :  
**Perpustakaan Universitas Islam Riau**

## ABSTRAK

**APRIANSYAH (164310201) “UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK METABOLIT SEKUNDER BAKTERI YANG BERASAL DARI USUS IKAN SAPU-SAPU (*Hypostomus plecostomus*) TERHADAP BAKTERI PATOGEN”** di bawah bimbingan Bapak Dr. Jarod Setiaji, S.Pi, M.Sc. Penelitian ini dilaksanakan selama 30 hari di Laboratorium Balai Benih Ikan (BBI) Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau Pekanbaru. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktifitas antibakteri ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* dari usus ikan sapu-sapu terhadap pertumbuhan bakteri patogen (*Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa*). Metode yang digunakan adalah metode eksploratif dengan 5 perlakuan dan 2 pengulangan yaitu P1 (Konsentrasi 100 ppm), P2 (Konsentrasi 250 ppm), P3 (Konsentrasi 500 ppm), P4 (Konsentrasi 750 ppm) dan P5 (Konsentrasi 1000 ppm). Uji fitokimia metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* menghasilkan senyawa saponin dan terpenoid. Ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen, dengan kategori sedang pada P4 (Konsentrasi 750 ppm) dan kategori kuat pada P5 (Konsentrasi 1000 ppm).

Kata Kunci: Ekstrak, metabolit sekunder, *Bacillus megaterium*, *V. alginolyticus*, *A. hydrophila*, *P. aeruginosa*.

## ABSTRACT

**APRIANSYAH (164310201) "TEST OF SECONDARY METABOLITE EXTRACTS OF BACTERIA COMING FROM THE INTESTS OF BROKE FISH (*Hypostomus plecostomus*) AGAINST PATHOGENIC BACTERIA"** under the guidance of Mr. Dr. Jarod Setiaji, S.Pi, M.Sc. This research was conducted for 30 days at the Laboratory of Fish Seed Center (BBI) Faculty of Agriculture, Islamic University of Riau, Pekanbaru. This study aimed to determine the antibacterial activity of the secondary metabolite extract of *B. megaterium* from the intestines of broomfish against the growth of pathogenic bacteria (*Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila* *Pseudomonas aeruginosa*). The method used is an exploratory method with 5 treatments and 2 repetitions, namely P1 (100 ppm concentration), P2 (250 ppm concentration), P3 (500 ppm concentration), P4 (750 ppm concentration) and P5 (1000 ppm concentration). Phytochemical test of secondary metabolites of *B. megaterium* bacteria produced saponins and terpenoids. The secondary metabolite extract of *B. megaterium* bacteria can inhibit the growth of pathogenic bacteria, with a moderate category at P4 (750 ppm concentration) and a strong category at P5 (1000 ppm concentration).

Keywords: Extract, secondary metabolites, *Bacillus megaterium*, *V. alginolyticus*, *A. hydrophila*, *P. aeruginosa*.

## KATA PENGANTAR

Segala Puji dan Syukur Kehadirat Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyusun hasil penelitian dengan judul, “Uji Daya Hambat Ekstrak Metabolit Sekunder Bakteri Yang Berasal Dari Usus Ikan Sapu-sapu (*Hypostomus plecostomus*) Terhadap Bakteri Patogen”.

Hasil penelitian ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dr. Jarod Setiaji, S.Pi, M.Sc selaku dosen pembimbing yang telah membimbing penulis, serta pihak yang membantu dalam penelitian, sehingga hasil penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

Hasil penelitian ini penulis susun sebaik mungkin dengan kemampuan penulis sendiri, namun jika ada kekurangan baik penulisan atau bahasa yang disampaikan oleh penulis, penulis mohon kritik dan saran untuk menambah kesempurnaan hasil penelitian ini.

Pekanbaru, Juni 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

Isi	Halaman
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b>	
<b>RINGKASAN</b> .....	i
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	viii
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Batasan Masalah.....	3
1.4. Tujuan dan Manfaat.....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Biologi dan Morfologi ikan sapu-sapu ( <i>H. Plecostomus</i> ) .....	5
2.2. Bakteri <i>Bacillus Megaterium</i> .....	8
2.3. Pertumbuhan Bakteri.....	11
2.4. Bakteri Patogen .....	15
2.4.1. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	15
2.4.2. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	17
2.4.3. Bakteri <i>Vibrio alginolyticus</i> .....	18
2.5. Metabolisme Sekunder .....	19
2.6. Ekstraksi .....	21
2.7. Uji Antagonis .....	24
<b>III. METODE PENELITIAN</b>	
3.1. Tempat dan Waktu .....	25
3.2. Alat dan Bahan Penelitian .....	25
3.2.1. Alat Penelitian .....	25
3.2.1. Bahan Penelitian.....	26
3.3. Metode Penelitian.....	26
3.4. Prosedur Penelitian.....	27
3.4.1. Sterilisasi Alat dan Aquades.....	28
3.4.2. Kultur Bakteri pada media NB dan MRSb.....	28
3.4.3. Shacker Bakteri .....	29
3.4.4. Ekstraksi Bakteri Menggunakan RE .....	30
3.4.5. Menimbang dan Menghitung Hasil Ekstraksi .....	30

3.4.6. Uji Daya Hambat Bakteri dan Uji Fitokimia.....	31
3.5. Pembuatan Konsentrasi Suspensi Ekstrak Metabolit Sekunder Bakteri Bacillus Megaterium dari Usus Ikan Sapu-sapu.....	32
3.6. Hipotesis dan Asumsi.....	33
3.7. Analisis Data.....	33
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>35</b>
4.1. Uji Fitokimia.....	35
4.2. Uji Daya Hambat.....	36
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>43</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>44</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>49</b>

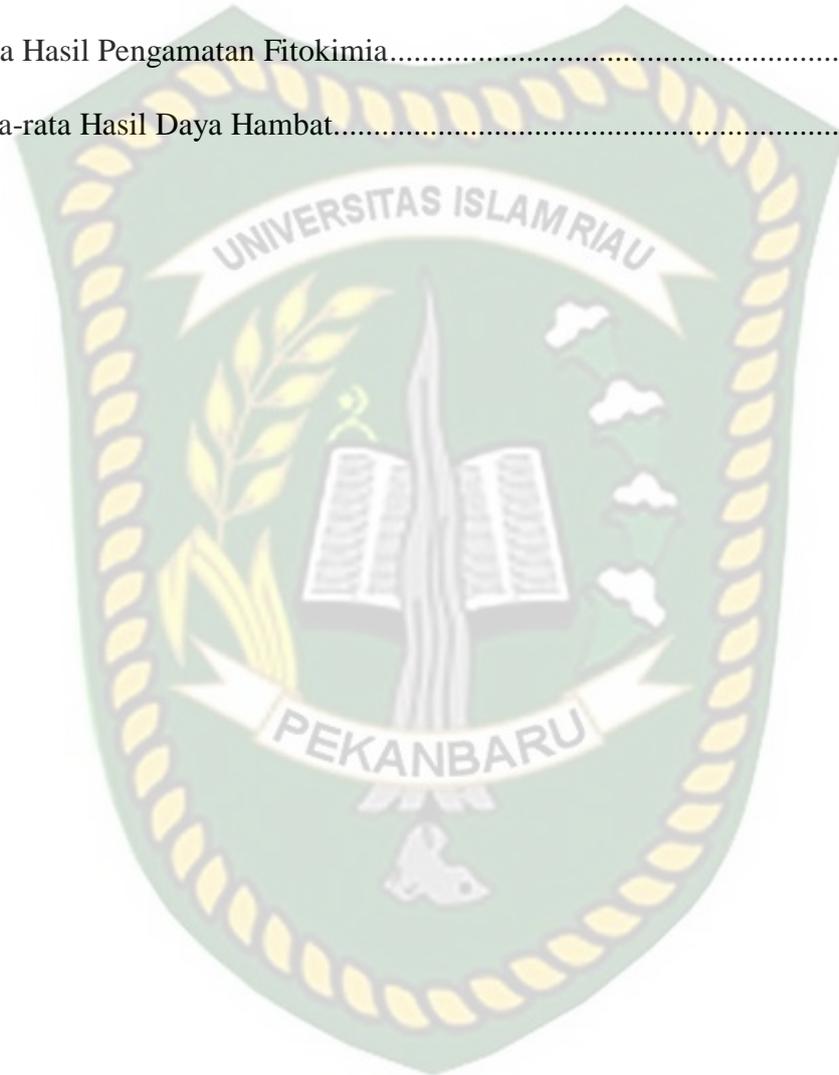


## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Sapu-sapu ( <i>H.Plecostomus</i> ) .....	5
2. Bakteri Bacillus megaterium.....	10
3. Skema Prosedur Penelitian .....	27
4. Rancangan Penelitan .....	32
5. Hasil Uji Saponin .....	35
6. Hasil Uji Terpenoid.....	37
7. Diameter Daya Hambat Ekstrak Metabolit Sekunder Bakteri ikan Sapu-sapu pada Bakteri Patogen.....	40
8. Hasil Uji Daya Hambat .....	41

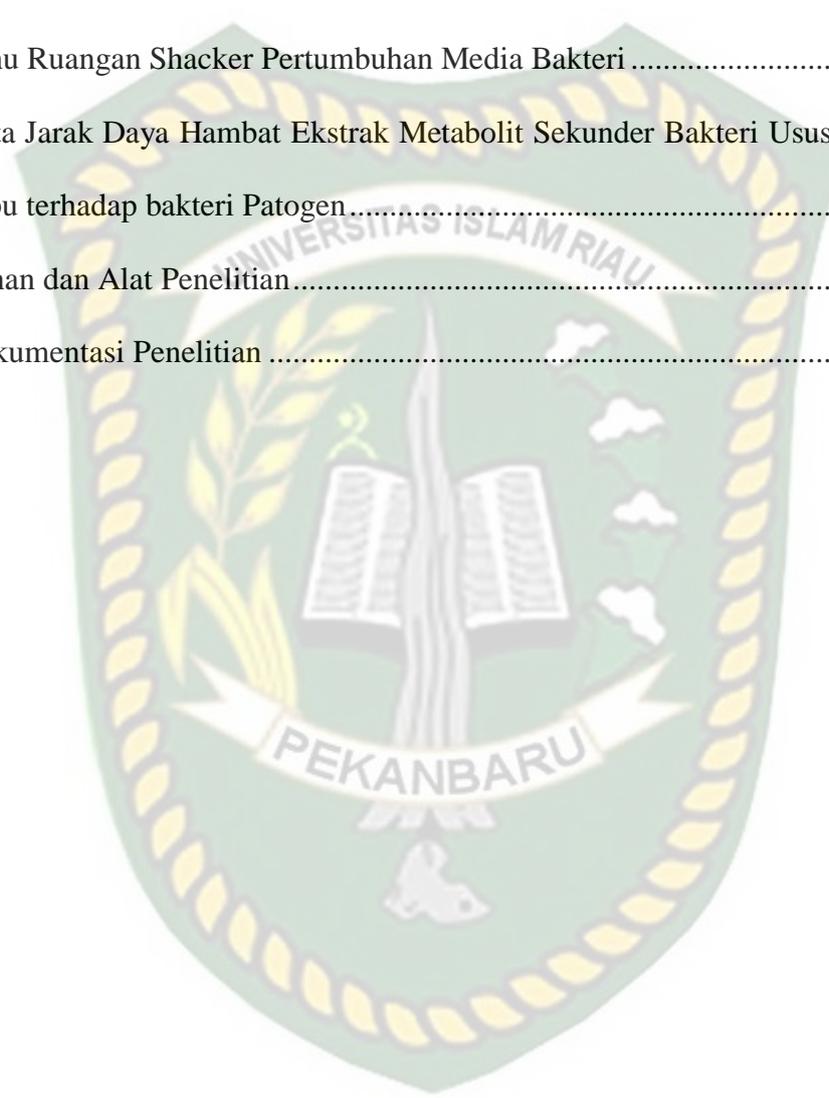
## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Alat Penelitian.....	25
2. Bahan Penelitian.....	26
3. Data Hasil Pengamatan Fitokimia.....	34
4. Rata-rata Hasil Daya Hambat.....	38



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Layout Penelitian .....	50
2. Suhu Ruangan Shacker Pertumbuhan Media Bakteri .....	51
3. Data Jarak Daya Hambat Ekstrak Metabolit Sekunder Bakteri Usus Ikan Sapu- sapu terhadap bakteri Patogen.....	52
4. Bahan dan Alat Penelitian.....	53
5. Dokumentasi Penelitian .....	55



## I. LATAR BELAKANG

### 1.1. Pendahuluan

Secara umum, proses pencernaan ikan sama dengan vertebrata yang lain. Namun, ikan memiliki beberapa variasi terutama dalam hubungannya dengan cara memakan. Alat pencernaan ikan terdiri atas saluran pencernaan dan kelenjar pencernaan. Pada umumnya, saluran pencernaan ikan berturut-turut dimulai dari segmen mulut, rongga mulut, faring, esophagus, lambung, pylorus, usus, rectum, dan anus. Sedangkan sel atau kelenjar pencernaan terdapat pada lambung, hati, dan pankreas.

Salah satu bagian dari pencernaan ikan yang terdapat bakteri ialah bagian usus. Dalam saluran pencernaan hewan termasuk salah satunya ikan memiliki peran penting dalam rangka meningkatkan pemanfaatan pakan, kesehatan ikan, dan perbaikan mutu lingkungan dan mikroorganisme (Watson *et al.* 2008). Selain itu, beberapa bakteri pada saluran pencernaan memainkan peran yang cukup penting dan menghasilkan beberapa jenis enzim dalam saluran pencernaan yang kemungkinan turut berperan dalam metabolisme inang. Dengan adanya kondisi budidaya perikanan yang mengalami kegagalan akibat serangan bakteri patogen, maka perlu dilakukan penelitian untuk melihat daya hambat bakteri yang terdapat pada ekstrak metabolit sekunder bakteri pada usus ikan sapu terhadap bakteri patogen, salah satunya adalah pada usus ikan sapu-sapu.

Ikan sapu-sapu bukan merupakan ikan yang berasal dari Indonesia melainkan merupakan jenis ikan hasil introduksi dari Brazil (Susanto, 2005). Ikan sapu-sapu merupakan jenis ikan yang sering ditemukan di sungai, danau atau rawa. Ikan ini paling bisa beradaptasi dengan perairan yang kandungan oksigen

terlarutnya rendah dimana pertumbuhannya relatif cepat tanpa membutuhkan pemeliharaan yang intensif seperti jenis ikan lainnya. Selain itu ikan Sapu-sapu merupakan hewan pemakan alga atau sisa-sisa pakan sehingga selama ini sebagian besar masyarakat memanfaatkan ikan tersebut hanya sebagai pembersih akuarium (Istanti, 2005). Ikan sapu-sapu (pleco) merupakan ikan yang mempunyai kemampuan hidup di lingkungan apapun. Ikan ini bisa hidup di dalam kolam, parit, got dan bahkan lingkungan yang sudah tercemar dengan limbah sekalipun bukan masalah bagi ikan ini (Dhika , 2013).

Berdasarkan kemampuan pertahanan yang dimiliki ikan Sapu-sapu, maka ikan jenis ini dapat dijadikan indikator pencemaran lingkungan oleh logam berat. Dalam dunia budidaya perikanan masalah yang sering muncul yaitu penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen (*Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas stutzeri* dan *Aeromonas hydrophila*).

Adanya sifat dari metabolit sekunder tersebut menarik untuk dilakukan penelitian dengan judul “Uji Daya Hambat Ekstrak Metabolit Sekunder Bakteri yang berasal dari usus ikan sapu-sapu (*Hypostomus plecostomus*) Terhadap Bakteri Patogen”. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak isolat usus ikan sapu-sapu terhadap bakteri patogen (*Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila* *Pseudomonas aeruginosa*) yang telah diekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya (Wilson, 2000).

Adapun manfaat dari penelitian ini dapat digunakan pada bidang tertentu yang berkaitan dengan metabolit seukunder pada usus dan menjadi sumber

informasi tentang bakteri usus ikan sapu-sapu untuk penelitian selanjutnya.

Metabolit sekunder merupakan suatu molekul yang dihasilkan dari proses metabolisme sekunder oleh mikroorganisme dimana produk metabolit tersebut bukan merupakan kebutuhan pokok mikroorganisme untuk hidup dan tumbuh, setiap organisme biasanya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda beda, namun metabolit sekunder juga berfungsi sebagai nutrisi darurat untuk bertahan hidup (Pratiwi, 2008). Fungsi metabolit sekunder juga untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya untuk hama dan penyakit. Singkatnya, metabolit sekunder digunakan organisme untuk berinteraksi dengan lingkungannya.

### **1.2. Rumusan Masalah**

Penelitian ini dilakukan untuk menjawab permasalahan apakah hasil ekstraksi Metabolit sekunder bakteri *Bacillus*

*megaterium* dari usus ikan sapu-sapu memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri patogen (*Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila* *Pseudomonas aeruginosa*).

### **1.3. Batasan Masalah**

Dalam penelitian ini perlu adanya batasan masalah agar dapat terarah dan tidak menyimpang dari maksud dan tujuan yang telah ditetapkan. Adapun batasan masalah atau ruang lingkup penelitian ini hanya Membahas apakah hasil ekstraksi metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* dari usus ikan sapu-sapu bisa menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

#### 1.4. Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakterin ekstrak metabolik sekunder bakteri *B. megaterium* dari usus ikan sapu-sapu terhadap pertumbuhan bakteri patogen (*Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa*). Sedangkan manfaat dari penelitian ini adalah sebagai informasi teknologi budidaya perikanan dalam upaya pengendalian penyakit ikan yang disebabkan oleh bakteri.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Biologi dan Morfologi Ikan sapu-sapu (*Hypostomus Plecostomus*)

Menurut Kotellat *et al* (1993), klasifikasi ikan sapu-sapu adalah sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Pisces
Ordo	: Siluridea
Famili	: Loricarinae
Genus	: <i>Hypostomus</i> <i>Hyposarcus</i>
Spesies	: <i>Hypostomus plecostomus</i>



Gambar. 1 Ikan sapu-sapu (*Hypostomus plecostomus*).

Ikan sapu-sapu dapat hidup pada perairan tropis dengan kondisi pH 7-7,5 dan suhu antara 23-28 0C. Walaupun begitu, ikan ini masih bisa hidup dengan baik dalam kondisi fisika kimia perairan yang kurang baik ataupun dalam kondisi tercemar sehingga dapat berperan sebagai indikator lingkungan (Whitten 1996 ).

Kemudian menurut Grzimek dalam Prihardhyanto (1995), mengatakan bahwa Ikan Sapu-sapu biasa mengkonsumsi alga yang melekat pada bebatuan, tumbuhan air, dan detritus. Ikan Sapu-sapu juga memakan bangkai yang ada di

dasar perairan, sehingga Ikan Sapu-sapu termasuk ke dalam kelompok omnivora. Jika diamati cara makan ikan sapu-sapu, gerakan ikan ini yang lambat dan cenderung menetap di dasar perairan, dengan kemampuan hidup yang kuat, ikan ini cenderung memiliki kandungan logam berat yang hampir sama dengan lingkungan tempat hidupnya yang biasa tinggal di lingkungan tercemar.

Bila perairannya tidak kotor, maka ikan ini aman untuk dikonsumsi demikian juga sebaliknya. Berdasarkan ususnya yang panjang dan tersusun melingkar seperti spiral, ikan sapu-sapu dapat dikelompokkan ke dalam jenis ikan herbivora. Sedangkan berdasarkan relung makannya yang luas maka ikan sapu-sapu dikelompokkan ke dalam jenis eurifagik (ikan pemakan bermacam-macam makanan) (Prihardhyanto 1995). Ikan ini bersifat omnivora (pemakan segala) tapi biasanya mencari sisa-sisa tumbuhan air di malam hari. Ikan yang hidup di dasar permukaan ini adalah ikan yang tidak agresif terhadap ikan lain, namun hanya sedikit memperebutkan daerah kekuasaan dengan sesama jenisnya.

Lebih dari satu jenis pleco yang seukuran dapat disatukan bersamaan asalkan adanya penambahan tempat persembunyian bagi pleco-pleco tersebut. Leopard frog pleco dapat dipelihara bersama dengan ikan barb berukuran medium, ikan rainbow, dan hampir semua jenis dari ikan tetra, dan rasboras. Menurut Grzimek (1973) mengatakan bahwa Ikan Sapu-sapu biasa mengkonsumsi alga yang melekat pada bebatuan, tumbuhan air, dan detritus. Sapu-sapu juga mengkonsumsi bangkai ikan dan hewan-hewan lain yang tenggelam di dasar perairan, sehingga Ikan Sapu-sapu digolongkan ke dalam kelompok omnivora. Dapat kita diamati cara makan ikan sapu-sapu, gerakannya yang lambat dan cenderung mendiam di dasar perairan, dengan kemampuan hidup

yang terbilang kuat, ikan sapu-sapu cenderung memiliki kandungan logam berat yang hampir sama dengan lingkungan tempat hidupnya. Bila perairannya bersih, maka ikan ini aman untuk dikonsumsi demikian juga sebaliknya. Berdasarkan ususnya yang panjang dan tersusun melingkar seperti spiral, ikan sapu-sapu dapat dikelompokkan ke dalam jenis ikan herbivora. Sedangkan berdasarkan relung makannya yang luas maka ikan sapu-sapu dikelompokkan ke dalam jenis eurifagik (ikan pemakan bermacam-macam makanan) (Prihardhyanto 1995).

Ikan Sapu-sapu termasuk ke dalam suku catfish dan famili Loricariidae yang mana ditandai dengan tubuh yang ditutupi oleh kulit keras dengan bentuk mulut cakram. Menurut Sterba dalam Sutanti (2005), bentuk kepala serta tubuh ikan sapu-sapu melebar dan membentuk seperti panah. Batang ekornya sendiri memanjang dan sirip punggung lebar. Pada semua siripnya kecuali sirip ekor selalu diawali oleh duri keras. Terdapat juga adipose fin yang terletak dekat dengan ujung batang ekor yang ditutupi oleh kulit yang mengeras. Sutanti (2005) mengatakan bahwa Sapu-sapu dapat mencapai panjang maksimum 50 cm.

Asal ikan sapu-sapu ini ialah dari perairan air tawar Amerika Selatan dan bagian utara Amerika Tengah hingga Nikaragua. Dalam system pernafasan Ikan sapu-sapu memiliki 2 alat pernafasan. Alat pernafasan yang pertama adalah insang. Insang digunakan oleh ikan sapu-sapu saat berada di air yang jernih. Alat pernafasan ikan sapu-sapu yang kedua adalah labirin. Labirin adalah alat pernafasan binatang lumpur atau air yang keruh. Karena memiliki 2 alat pernafasan, Ikan sapu-sapu dapat hidup di air dan di lumpur. Jadi, kita tidak perlu menguras air sapu-sapu terlalu sering.

## 2.2. Bakteri *Bacillus megaterium*

Bakteri dapat di artikan sebagai kelompok mikroorganisme yang tidak memiliki membran inti sel, mikroorganisme ini masuk ke dalam domain prokariot dan berukuran sangat kecil (mikroskopik), serta memiliki peran dalam kehidupan di bumi, beberapa kelompok bakteri dikenal sebagai agen penyebab infeksi dan penyakit, sedangkan kelompok lainnya dapat memberikan manfaat dibidang pangan, pengobatan, dan industri (Jawetz, 2005).

Salah satu bagian yang terdapat bakteri ialah bagian pencernaan, Dalam saluran pencernaan hewan termasuk ikan memiliki peran penting dalam rangka meningkatkan pemanfaatan pakan, kesehatan ikan, dan perbaikan mutu lingkungan dan mikroorganisme (Watson *et al.* 2008). Selain itu, beberapa bakteri saluran pencernaan memainkan peran yang cukup penting dan menghasilkan beberapa jenis enzim dalam saluran pencernaan yang kemungkinan turut berperan dalam metabolisme inang.

Pelczar dan Chan (1988) mengemukakan bahwa bakteri asli saluran pencernaan mempunyai hubungan mutualisme dengan inangnya, yaitu memanfaatkan inang sebagai tempat hidupnya. Keuntungan bagi inang adalah umumnya bakteri memakan sisa atau menggunakan bahan buangan, banyak bakteri usus dapat mensintesis vitamin, mensekresi enzim, dan membantu pencernaan nutrisi, dan kehadiran bakteri asli cenderung menekan pertumbuhan bakteri patogen sehingga dapat melindungi inang terhadap penyakit serta merangsang fungsi kekebalan tubuh.

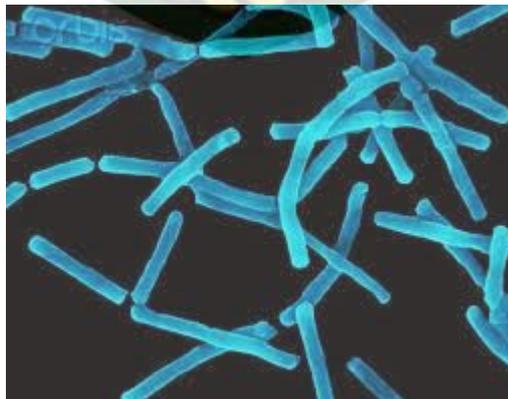
Usus merupakan segmen terpanjang dari saluran pencernaan dan memiliki fungsi untuk penyerapan nutrisi pakan yang telah diolah dilambung.

Pendapat yang sama dikatakan oleh Triastuti (2009) bahwa usus merupakan segmen yang terpanjang dari saluran pencernaan. Usus adalah tempat penyerapan utama dari makanan yang telah diolah di lambung. Hasil dari identifikasi bakteri yang terdapat pada usus halus yang diberi pakan.

Bakteri jenis *B. megaterium* yang terdapat pada usus membantu penyerapan nutrisi, karena dapat menghasilkan enzim protease. Pendapat ini didukung oleh (Rao *et al.* 1998) bahwa bakteri seperti *Bacillus sp*, *B. megaterium*, *Lactobacillus sp*, *Pseudomonas sp*, *Clostridium sp* dan *Serratia sp*. merupakan penghasil enzim protease.

#### Klasifikasi *Bacillus megaterium*

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Bacillaceae
Genus	: Bacillus
Spesies	: <i>Bacillus megaterium</i> (Honig dalam Madigan, 2000)



Gambar 2. *Bacillus megaterium* Sumber : Anonim, 2008

*Bacillus megaterium* adalah suatu organisme yang tidak berbentuk filament, gram positif, berbentuk batang, menghasilkan endospora, katalase positif, aerobik, nitrit negatif dan VP negatif (Hadieotomo, 1985). Bakteri pada jenis ini memiliki endospora yang letaknya di tengah. Menurut Madigan (2000), bakteri ini memiliki ciri-ciri yaitu spora oval/silindris, fakultatif anaerob, menghidrolisis gula dan kasein, dinding spora tipis.

*B. megaterium* merupakan salah satu dari golongan Eubacteria terbesar yang ditemukan di tanah. *B. megaterium* mampu bertahan dalam beberapa kondisi lingkungan yang ekstrim seperti gurun karena membentuk spora. Enzim yang dihasilkan yaitu penisilin amidase digunakan untuk membuat penisilin. *B. megaterium* termasuk dalam golongan bakteri probiotik. Karakteristik morfologi bakteri ini yaitu memiliki ekor dengan panjang  $201 \pm 3,9$  nm serta lebar yaitu  $9,7 \pm 0,6$  nm (Cooney dkk., 1974). Bakteri ini lebih stabil jika hidup pada pH yang berkisar antara 7-8.

*B. megaterium* termasuk dalam golongan bakteri mesofilik yaitu bakteri yang dapat bertahan hidup pada pH berkisar antara 5,5 hingga 8. Pada pH basa relatif lebih stabil pertumbuhannya dibandingkan pada pH asam. Syarat ion yang harus tersedia pada media hidupnya meliputi 0,8 mM-kalsium dan 1,8 mM-magnesium. Sedangkan mangan tidak berpengaruh terhadap pertumbuhannya. Selain itu, *B. megaterium* dapat tumbuh pada suhu 37°C. *B. megaterium* dapat tumbuh pada suhu 30 °C (Belma et al., 2000). Dengan penentuan suhu optimum ini maka *Bacillus megaterium* digolongkan bakteri 7 ADLN Viabilitas dan Pola Pertumbuhan *Bacillus megaterium* pada Konsentrasi Molase dan Waktu Inkubasi

yang Berbeda. Anita Noer Heryani mesofilik yaitu memiliki temperatur optimum untuk pertumbuhan berkisar antara 25- 37 oC.

*B. megaterium* termasuk kedalam bakteri nitrifikasi. Menurut Antony dan Philips (2006), bakteri nitrifikasi berperan mengubah amonia menjadi nitrit dan nitrat dalam siklus nitrogen sehingga mampu mengatasi akumulasi bahan organik dan amonia dalam air. Melalui teknik ini diharapkan akan diperoleh kualitas air yang baik serta mengurangi penggunaan pakan buatan dan pergantian air pada tambak. Oleh karena kelompok mikroba di dalam air, *B. megaterium* termasuk dalam kelompok mikroba yang menguntungkan karena dapat berguna sebagai probiotik

### **2.3. Pertumbuhan Bakteri**

Kelompok mikroorganisme yang paling banyak tersebar di udara bebas adalah bakteri, Bakteri ialah organisme jumlahnya paling banyak dan tersebar luas dibandingkan dengan makhluk hidup lainnya. Bakteri memiliki ratusan ribu spesies yang hidup di berbagai kondisi (Maryati, 2007). Bakteri yang keberadaanya banyak sekali ini, memungkinkan untuk menjadi salah satu penyebab penyakit pada manusia dan hewan (Radji, 2011). Bakteri yang menyebabkan penyakit pada manusia adalah bakteri patogen (Darmadi, 2008). Bakteri patogen yang menyebabkan penyakit ineksi pada manusia dan hewan.

Terdapat beberapa Fase pada pertumbuhan bakteri (Riadi,2016).

- a). Fase Lag (Fase Penyesuaian) merupakan fase penyesuaian bakteri dengan lingkungan yang baru. Lama fase lag pada bakteri sangat bervariasi, tergantung pada komposisi media, pH, suhu, aerasi, jumlah sel pada inokulum awal dan sifat fisiologis mikroorganisme pada media sebelumnya.

- b). Fase logaritma / eksponensial ditandai dengan terjadinya periode pertumbuhan yang cepat. Setiap sel dalam populasi membelah menjadi dua sel. Variasi derajat pertumbuhan bakteri pada fase logaritma ini sangat dipengaruhi oleh sifat genetik yang diturunkannya.
- c). Fase stasioner terjadi pada saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya. Sehingga jumlah keseluruhan bakteri akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi karena adanya pengurangan derajat pembelahan sel. Hal ini disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel. Fase stasioner ini dilanjutkan dengan fase kematian yang ditandai dengan peningkatan laju kematian yang melampaui laju pertumbuhan, sehingga secara keseluruhan terjadi penurunan populasi bakteri.
- d). Fase kematian merupakan fase dimana laju kematian lebih besar (Riadi, 2016).

Selanjutnya terdapat Faktor-Faktor Yang dapat berpengaruh terhadap Pertumbuhan Bakteri.

- a). Nutrien Nutrien atau zat makanan yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri harus mengandung sumber karbon, sumber nitrogen, mineral (sulfur, fosfat) dan faktor-faktor pertumbuhan yang meliputi asam amino, purin, pirimidin dan vitamin. Persyaratan untuk pertumbuhan bakteri beraneka ragam sesuai dengan jenis bakterinya. Beberapa bakteri dapat memperbanyak diri pada berbagai jenis nutrisi, sedangkan yang lain mempunyai kekhususan dan hanya membutuhkan jenis nutrisi tertentu untuk pertumbuhannya (Jawetz dkk, 2008).

- b). Suhu optimal untuk pertumbuhan bagi bakteri sangat bervariasi tergantung pada jenis bakteri itu sendiri. Pada suhu yang tepat (optimal), sel bakteri dapat memperbanyak diri dan tumbuh sangat cepat. Sedangkan pada suhu yang lebih rendah atau lebih tinggi, masih dapat memperbanyak diri, tetapi dalam jumlah yang lebih kecil dan tidak secepat jika dibandingkan dengan pertumbuhan pada suhu optimalnya. Suhu optimal biasanya mencerminkan lingkungan normal bakteri tersebut, oleh karena itu bakteri yang patogen bagi manusia biasanya tumbuh optimal pada suhu 37°C (Jawetz dkk, 2008).
- c). Kelembaban Kelembaban sangat penting untuk pertumbuhan bakteri bakteri membutuhkan kelembaban tinggi, pada umumnya untuk pertumbuhan bakteri yang baik dibutuhkan kelembaban diatas 85%. Udara yang sangat kering dapat membunuh bakteri, tetapi kadar kelembaban minimum yang diperlukan untuk mendukung pertumbuhan bakteri bukanlah merupakan nilai pasti. Kandungan air atau kelembaban yang terjadi dan tersedia, bukan total kelembaban yang ada juga dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri.
- d). Pencahayaan Cahaya yang berasal dari sinar matahari dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Bakteri lebih menyukai kondisi gelap, karena terdapatnya sinar matahari secara langsung dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Jawetz dkk, 2008)
- e). Oksigen Kebutuhan oksigen pada bakteri tertentu mencerminkan mekanisme yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan energinya. Berdasarkan kebutuhan oksigen tersebut, bakteri dapat dipisahkan menjadi lima kelompok:
- (1). Anaerob obligat yang tumbuh hanya dalam keadaan tekanan oksigen sangat rendah dan oksigen bersifat toksik.

- (2). Anaerob aerotoleran yang tidak mati dengan adanya paparan oksigen.
- (3). Anaerob fakultatif, dapat tumbuh dalam keadaan aero dan anaerob.
- (4). Aerob obligat membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya.
- (5). Mikroaerofilik yang tumbuh baik pada tekanan oksigen rendah, tekanan tinggi. dapat menghambat pertumbuhannya (Jawetz dkk, 2008).
- f). Konsentrasi ion hydrogen (pH) pH pembenihan juga mempengaruhi kuman, kebanyakan kuman patogen mempunyai pH optimum 7,2 – 7,6. Meskipun suatu pembenihan pada mulanya baik bagi suatu kuman, tetapi pertumbuhan kuman selanjutnya juga akan terbatas Karena produk metabolisme kuman itu sendiri. Hal ini terutama dijumpai pada kuman yang bersifat fermentatif yang menghasilkan sejumlah besar asam-asam organik yang bersifat menghambat.
- g). Tekanan osmotik Suatu tekanan osmotik akan sangat mempengaruhi bakteri jika tekanan osmotik lingkungan lebih besar (hipertonis) sel akan mengalami plasmolysis. Sebaliknya jika tekanan osmotik lingkungan yang hipotonis akan menyebabkan sel membengkak dan juga akan mengakibatkan rusaknya sel. Oleh karena itu dalam mempertahankan hidupnya, sel bakteri harus berada pada tingkat tekanan osmotik yang sesuai, walaupun sel bakteri memiliki daya adaptasi, perbedaan tekanan osmotik dengan lingkungannya tidak boleh terlalu besar (Jawetz dkk, 2008).

#### **2.4. Bakteri patogen**

Bakteri Patogen merupakan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit yang dapat ditemukan diberbagai tempat, tersebar luas di tanah, air, udara, tanaman, hewan dan manusia. Pada berbagai sistem budidaya perikanan, penyakit pada ikan budidaya banyak disebabkan oleh jamur, parasit, virus dan bakteri

(Sumino, 2013). Penyakit bakteri pada ikan merupakan salah satu penyakit yang dapat menimbulkan kerugian yang banyak. Selain dapat mematikan ikan, penyakit ini dapat mengakibatkan menurunnya kualitas daging ikan yang terinfeksi, Penyakit ini dapat menyebabkan sistemik yang menimbulkan kematian ikan yang tinggi . Ada berbagai bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada ikan salah satunya ialah :

#### **2.4.1. Bakteri *Aeromonas hydrophila***

Klasifikasi dari *Aeromonas hydrophila* menurut Holt (1984) adalah sebagai berikut :

Filum : Protophyta

Kelas : Schizomycetes

Ordo : Pseudomonadales

Famili : Vibrionaceae

Genus : *Aeromonas*

Species : *Aeromonas hydrophila*

*A. hydrophila* merupakan bakteri yang paling banyak di temukan pada sampel ikan yaitu 36.6 %. *A. hydrophila* termasuk ke dalam Gram negatif, dengan warna koloni krem, tepian koloni rata dan elevasi cembung, berbentuk batang, bersifat motil, oksidase dan katalase positif fermentatif, indol positif (Cowan, 1974). Bakteri ini umumnya hidup di air tawar. *A. hydrophila* bisa muncul setiap saat terutama kondisi lingkungan jelek. Penularan bakteri *A. hydrophila* dapat berlangsung melalui air, kontak badan, kontak dengan peralatan yang tercemar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kordi (2004), bahwa penularan *A. hydrophila*. dapat berlangsung melalui peralatan yang tercemar dan ikan yang terinfeksi *A.*

*hydropila*. gerakannya menjadi lebih lambat, lemah dan mudah ditangkap. Menurut Saragih dkk., (2015) serangan bakteri ini bersifat laten, jadi tidak memperlihatkan gejala penyakit meskipun telah dijumpai pada tubuh ikan.

Bakteri *A. hydrophila* merupakan salah satu bakteri oportunistik yang dapat menyebabkan penyakit bakterial. Keberadaan bakteri ini sangat berpengaruh terhadap budidaya ikan air tawar karena sering menimbulkan wabah penyakit dengan tingkat kematian yang tinggi yaitu % dalam kurun waktu yang relatif singkat (Irianto, 2005). Serangan bakteri ini baru terlihat apabila ketahanan tubuh ikan menurun akibat stres yang disebabkan oleh penurunan kualitas air, kekurangan pakan, atau penanganan ikan yang kurang baik. Penularan bakteri ini dapat langsung melalui air, kontak badan, kontak dengan peralatan yang tercemar atau karena pemindahan ikan yang telah terinfeksi *A. hydrophila* dari satu tempat ke tempat lain (Kordi, 2004). Ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* memperlihatkan tanda-tanda berupa tingkah laku ikan tidak normal, berenang lambat, megap-megap di permukaan air, dan nafsu makan menurun.

#### **2.4.2. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa***

Bakteri *P. aeruginosa* merupakan kuman patogen oportunistik yang dapat menyebabkan keadaan yang invasif pada pasien dengan penyakit kritis maupun pasien yang memiliki tingkat imunitas yang sangat rendah. Umumnya kuman ini sering ditemukan sebagai penyebab infeksi nosokomial di rumah sakit khususnya di Intensive Care Unit (ICU) (Putri & Rasyid, 2014).

Pemberian nama bakteri *P. aeruginosa* memakai sistem penamaan binomial. Klasifikasi dari *P. aeruginosa* adalah (Siegrist, 2010) :

Kingdom : Bacteria P

hylum : Proteobacteria  
Class : Gamma Proteobacteria  
Order : Pseudomonadales  
Family : Pseudomonadaceae  
Genus : Pseudomonas  
Species : *aeruginosa*

*P. aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu 37-42°C (Pratiwi, 2013). Pertumbuhannya pada suhu 42°C membantu membedakannya dari spesies pseudomonas lain dalam kelompok fluoresen. Bakteri ini bersifat oksidase positif, tidak memfermentasi laktosa dan dengan mudah dibedakan dengan bakteri lactose-fermenter, tetapi banyak strain mengoksidasi glukosa. Identifikasi biasanya berdasarkan morfologi koloni, sifat oksidase-positif, adanya pigmen yang khas (Kasper *et al.*, 2015). Banyak strain *P.aeruginosa* menghasilkan eksotoksin A, yang dapat bereaksi setiap kali berikatan dengan sel inang sehingga dapat menyebabkan menyebabkan nekrosis jaringan dan bersifat letal untuk binatang jika disuntikan dalam bentuk murni. Eksotoksin tersebut menghambat sintesis protein melalui suatu mekanisme kerja yang serupa seperti mekanisme toksin difteri, walaupun struktur kedua toksin tersebut tidak sama. Antitoksin terhadap eksotoksin A ditemukan pada beberapa serum manusia, termasuk pasien yang telah sembuh dari infeksi berat *P. aeruginosa* (Sinulingga, 2015).

#### **2.4.3. Bakteri *vibrio alginolyticus***

Penyakit Vibriosis disebabkan oleh bakteri gram negatif *Vibrio*, yaitu *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, dan *V. Parahaemolyticus*. Penyakit tersebut dapat dideteksi dengan mengisolasi bakteri dari tubuh udang sakit dan menanamnya

pada media agar selektif *Vibrio*, yaitu TCBS agar. Pada media ini koloni bakteri yang tumbuh tampak berwarna kuning dan hijau (Effendi, 1998).

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gamma proteobacteria

Ordo : Vibrionales

Familia : Vibrionaceae

Genus : *Vibrio*

Spesies : *Vibrio alginolyticus* (Nair, 2008).

Menurut Hartono (1998), karakteristik utama bakteri *V. alginolyticus* yaitu flagela bercabang pada ujung sel monotorik, tumbuh pada media padat, dan termasuk penghasil asam. Karakteristik penyakit yang disebabkan terdapat septisemik, dapat menginfeksi ikan/udang yang lemah, berkulit gelap atau pada saat bertukar kulit. 5 *V. alginolyticus* berwarna kuning muda transparan atau kuning keruh pada medium TSA maupun TCBS, ada beberapa yang tumbuh swarming (tumbuh menutupi seluruh permukaan agar) dan menghasilkan asam, tidak bercahaya, bentuk permukaan koloni datar (flat). Diameter koloni lebih besar bila dibandingkan dengan koloni bakteri lain, tumbuh bagus pada medium TCBS pada suhu 30° C (Prajitno, 1995).

## 2.5. Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah suatu molekul yang dihasilkan dari proses metabolisme sekunder oleh mikroorganisme dimana produk metabolit tersebut bukan merupakan kebutuhan pokok mikroorganisme untuk hidup dan tumbuh,

namun metabolit sekunder juga berfungsi sebagai nutrisi darurat untuk bertahan hidup (Pratiwi, 2008).

Apabila metabolit sekunder tidak diproduksi dapat menyebabkan berkurangnya ketahanan hidup organisme tersebut (Khotimah, 2016). Secara umum metabolit sekunder berupa antibiotik, inhibitor enzim, zat pengatur tumbuh, hormon dan insektisida (Widiastuti, 2014). Metabolit sekunder juga berpotensi sebagai anti fungi, neuritogenik, antikanker, antialga, antimalaria dan antiinflamasi (Ravikumar *et al.*, 2011). aktivitas kerjanya antibiotik mempunyai dua fungsi yaitu bakteriostatik yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan bakterisida yang bersifat membunuh bakteri patogen.

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang disintesa oleh makhluk hidup yang berfungsi untuk membantu proses pertahanan diri dari kondisi lingkungan sekitar serta tanaman atau hewan pengganggu. Oleh karena itu, keanekaragaman metabolit sekunder dari suatu makhluk hidup sangat dipengaruhi oleh keadaan ekosistem tempat makhluk tersebut hidup. Pada tumbuhan, metabolit sekunder diproduksi dengan tujuan utama sebagai “antifeedant” dan “attractant”, dimana kedua fungsi tersebut dapat membantu tumbuhan untuk berkembangbiak dan bertahan dari berbagai serangan hama pengganggu (Achmad, 1986). Ada beberapa hipotesis tentang fungsi metabolit sekunder bagi produsen metabolit sekunder, misalnya dalam mempertahankan hidup dari bakteri, fungi, insekta, dan binatang melalui produksi antibiotik dan anti kotor (antifouling) (Gudbjarnason, 1999).

Pembentukan metabolit sekunder diatur oleh nutrisi, penurunan kecepatan pertumbuhan, feedback control, inaktivasi enzim, dan induksi enzim.

Keterbatasan nutrisi dan penurunan kecepatan pertumbuhan akan menghasilkan sinyal yang mempunyai efek regulasi sehingga menyebabkan diferensiasi kimia (metabolit sekunder) dan diferensiasi morfologi (morfogenesis) (Demain, 1998).

Metabolit sekunder berperan juga dalam memperbaiki kehidupan mikroba penghasil metabolit sekunder ketika berkompetisi dengan spesies lain (Tabarez, 2005). Ada 5 alasan yang memperkuat hal tersebut (Tabarez, 2005). Pertama, metabolit sekunder beraksi sebagai mekanisme pertahanan alternatif sehingga organisme yang kekurangan sistem imun akan menghasilkan metabolit sekunder yang banyak dan bermacam-macam. Kedua, metabolit sekunder memiliki struktur dan mekanisme kerja yang mantap (sophisticated) serta jalur metabolismenya kompleks dan mahal secara energetika. Ketiga, metabolit sekunder beraksi jika ada kompetisi dengan mikroba, tanaman, atau binatang. Keempat, metabolit sekunder dihasilkan oleh sekelompok gen biosintesis. Kelima, produksi metabolit sekunder dengan aktivitas antibiotik biasanya diiringi dengan sporulasi dan terjadi pada sel mikroba yang sensitif dengan mikroba, tumbuhan, atau binatang.

## **2.6. Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Secara garis besar, proses pemisahan secara ekstraksi terdiri dari tiga langkah dasar yaitu :

1. Penambahan sejumlah massa pelarut untuk dikontakkan dengan sampel, biasanya melalui proses difusi.
2. Zat terlarut akan terpisah dari sampel dan larut oleh pelarut membentuk fase ekstrak.

3. Pemisahan fase ekstrak dengan sampel (Wilson *et al.*, 2000). Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyaring tertentu. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian, hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes RI, 1995).

Pada umumnya ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran, biasanya air dan yang lainnya pelarut organik. Bahan yang akan diekstrak biasanya berupa bahan kering yang telah dihancurkan, biasanya berbentuk bubuk atau simplisia (Sembiring, 2007).

Ekstraksi bahan alam bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Bahan-bahan aktif seperti senyawa antimikroba dan antioksidan yang terdapat pada tumbuhan atau hewan pada umumnya diekstrak dengan pelarut. Pada proses ekstraksi dengan pelarut, jumlah dan jenis senyawa yang masuk kedalam cairan pelarut sangat ditentukan oleh jenis pelarut yang digunakan dan meliputi dua fase yaitu fase pembilasan dan fase ekstraksi. Pada fase pembilasan, pelarut membilas komponen-komponen isi sel yang telah pecah pada proses penghancuran sebelumnya. Pada fase ekstraksi, mula-mula terjadi pembengkakan dinding sel dan pelonggaran kerangka selulosa dinding sel sehingga pori-pori dinding sel menjadi melebar yang menyebabkan pelarut dapat dengan mudah masuk kedalam sel. Bahan isi sel kemudian terlarut ke dalam pelarut sesuai dengan tingkat kelarutannya lalu berdifusi keluar akibat adanya

gaya yang ditimbulkan karena perbedaan konsentrasi bahan terlarut yang terdapat di dalam dan di luar sel (Voigt, 1995).

Ekstraksi secara umum dapat digolongkan menjadi dua yaitu ekstraksi padat cair dan ekstraksi cair. Pada ekstraksi cair, senyawa yang dipisahkan terdapat dalam campuran yang berupa cairan, sedangkan ekstraksi padat-cair adalah suatu metode pemisahan senyawa dari campuran yang berupa padatan (Anonim, 2012). Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi anatar lain yaitu ukuran bahan baku, pemilihan pelarut, waktu proses ekstraksi suhu ekstraksi. Ukuran bahan baku yang kecil akan menghasilkan hasil yang rendah. Pemilihan pelarut akan mempengaruhi suhu ekstraksi dan waktu proses ekstraksi. Jika suhu tinggi, maka akan menghasilkan sisa pelarut yang tinggi pula (Anam, 2010:74).

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi yaitu (Kirk *et al.*, 1984):

- a. Perlakuan pendahuluan Perlakuan pendahuluan dapat berpengaruh terhadap rendeman dan mutu ekstrak yang dihasilkan. Perlakuan pendahuluan meliputi pengecilan ukuran dan pengeringan bahan. Semakin kecil ukuran partikel, maka semakin besar luas kontak antara padatan dengan pelarut, tahanan menjadi semakin berkurang, dan lintasan kapiler dalam padatan menjadi semakin pendek (laju difusi berbanding lurus dengan luas permukaan padatan dan berbanding terbalik dengan ketebalan padatan), sehingga proses ekstraksi menjadi lebih cepat dan optimal. Teknik pengecilan ukuran dapat dilakukan dengan cara pemotongan, penggilingan, maupun penghancuran.

- b. Temperatur Kelarutan bahan yang diekstraksi dan difusivitas akan meningkat dengan meningkatnya temperatur. Namun temperatur yang terlalu tinggi dapat merusak bahan yang diekstrak, sehingga perlu menentukan temperatur optimum.
- c. Faktor pengadukan Pengadukan dapat mempercepat pelarutan dan meningkatkan laju difusi solute. Pergerakan pelarut di sekitar bahan akibat pengadukan dapat mempercepat kontak bahan dengan pelarut dan memindahkan komponen dari permukaan bahan ke dalam larutan dengan jalan membentuk suspensi serta melarutkan komponen tersebut ke dalam media pelarut (Larian, 1959). Pengadukan dapat dilakukan dengan cara mekanis, pengaliran udara atau dengan kombinasi keduanya.

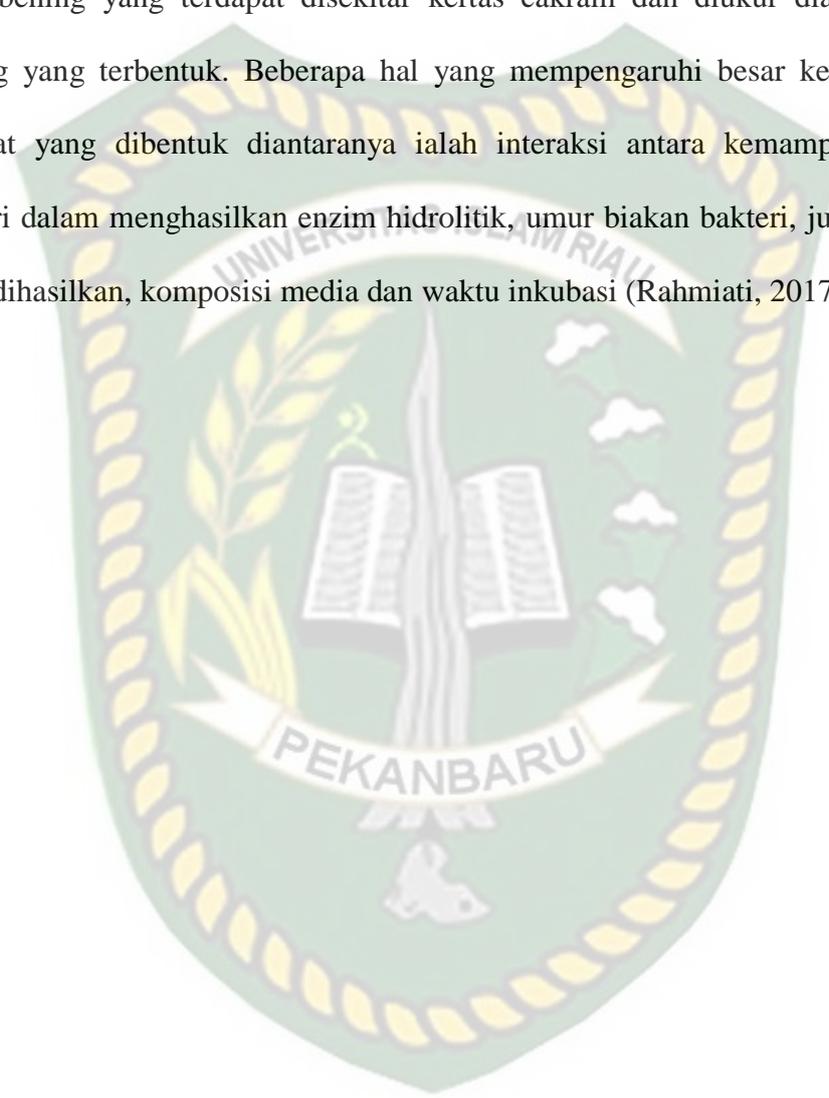
## 2.7. Uji Daya Hambat

Uji daya hambat merupakan pengujian aktifitas terhadap bakteri patogen yang dilakukan dengan metode menurut (Pradana *et al.*, 2015) yaitu metode disc diffusion (tes Kirby-Bauer). Metode difusi cakram merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan antibakteri terhadap suatu antibiotik.

Pada cara ini digunakan suatu cakram kertas saring (paper disk) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Dimana bakteri yang sudah dimurnikan atau diekstrak diambil dan ditanam kedalam media TSA dan diratakan dengan batang L. setelah media yang berisi bakteri pathogen memadat diberi kertas cakram antibiotik (tetracyclin) sebagai kontrol positif, kertas cakram kemudian ditetesi aquades. Sebagai koonrol negative dan kertas cakram yang ditetesi isolat dan dilakukan sebanyak 3 kali. Selanjutnya diinkubasi pada suhu

28°C. Aktivitas antibakteri dinyatakan positif apabila terbentuk zona hambat berupa zona bening disekeliling paper disk

Kemampuan daya hambat ditandai dengan adanya penghambatan berupa zona bening yang terdapat disekitar kertas cakram dan diukur diameter zona bening yang terbentuk. Beberapa hal yang mempengaruhi besar kecilnya zona hambat yang dibentuk diantaranya ialah interaksi antara kemampuan isolate bakteri dalam menghasilkan enzim hidrolitik, umur biakan bakteri, jumlah enzim yang dihasilkan, komposisi media dan waktu inkubasi (Rahmiati, 2017).



### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Balai Benih Ikan (BBI) Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau Pekanbaru dimulai bulan Agustus sampai bulan Desember 2020.

#### 3.2. Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.2.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada saat penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 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 media 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	8 Buah	Wadah untuk kultur bakteri dan pathogen
7	Hot plate	1 Unit	Memanaskan media yang akan digunakan
8	Magnetic stirrer	1 Buah	Mengaduk media saat pemanasan di hot plate
9	Laminary air flow	1 Unit	Tempat menanam dan infeksi bakteri
10	Cawan petri	35 Buah	Tempat media agar
11	Tabung reaksi	16 Buah	Tempat pengenceran isolat ikan sapu-sapu dan tempat media agar miring
12	Gelas ukur 250 ml	1 Buah	Menakar aquades
13	Gelas ukur 25 ml	1 Buah	Menakar agar yang akan dimasukkan ke cawan petri
14	Vortex	1 Unit	Menghomogenkan sampel isolat usus ikan sapu-sapu
15	Alumunium foil	1 Roll	Menutup wadah media
16	Rak tabung reaksi	2 Buah	Tempat meletakkan tabung reaksi
17	Pancing jarring	2 Buah	Alat tangkap ikan sapu-sapu
18	Alat bedah	1 Set	Membedah ikan sapu-sapu
19	Micro pipet 10-100	1 Buah	Meneteskan sampel isolat usus ikan

	µm		sapu-sapu ke media agar
20	Micro pipet 100-1000 µm	1 Buah	Mengambil sampel isolat usus ikan sapu-sapu
21	Jarum ose	2 Buah	Infeksi bakteri dan patogen ke media agardan broth
22	Bunsen	2 Buah	Sterilisasi jarum ose
23	Batang L	1 Buah	Menyebarkan sampel pada media agar
24	Beaker glass 50 ml	1 Buah	Wadah meletakkan batang L
25	Beaker glass 20 ml	7 Buah	Wadah kertas cakram dan cakram antibiotik yang akan digunakan
26	Pinset	1 Buah	Mengambil kertas cakram dan cakram antibiotic
27	Incubator	1 Unit	Tempat inkubasi dan pembiakan bakteri
28	Jangka sorong	1 Buah	Mengukur diameter daya hambat
29	Corong pisah	2 Buah	Memisahkan etil dari ekstrak
30	Rotary evaporator	1 Buah	Mengekstraksi

### 3.2.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada saat penelitian dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Bahan Penelitian.

No	Nama Bahan	Keterangan
1	Nutrien Agar (NA)	Media isolasi, kultur dan pemurnian bakteri dan patogen
2	Nutrien Broth (NB)	Media pemurnian bakteri
3	Aquades	Pelarut media agar dan broth
4	Bakteri <i>B. megaterium</i>	Dari usus ikan sapu-sapu
5	Alkohol	Sterilisasi
6	Spiritus	Bahan bakar Bunsen
7	Bakteri <i>A. hydrophila</i>	Bakteri patogen uji antagonis
8	Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	Bakteri patogen uji antagonis
9	Bakteri <i>V. alginolyticus</i>	Bakteri patogen uji antagonis
10	Kertas cakram	Uji antagonis
11	Kertas cakram antibiotik	Control positif uji antagonis
12	Etil	Menyaring senyawa ekstrak
13	Metanol	Melarutkan ekstrak

### 3.3. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksploratif yang bertujuan untuk mengamati reaksi antagonis dari ekstrak metabolit sekunder

bakteri *B. megaterium* dari usus ikan sapu-sapu (*Hypostomus plecostomus*) terhadap pertumbuhan bakteri patogen (*A. hydrophila*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus*). Metode eksplorasi merupakan metode penelitian dengan melakukan pengamatan pada permasalahan yang terjadi. Sedangkan rancangan yang digunakan yaitu dengan metode disk difusi atau tes Kirby Bauer, terdiri dari satu kertas cakram antibiotik (+), satu kertas cakram kontrol (-) dan dua kertas cakram yang sudah direndam bahan uji (ekstrak metabolit sekunder bakteri dari usus ikan sapu-sapu). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 4.

### 3.4. Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan seperti yang terdapat pada Gambar 2.



Gambar 3. Skema Prosedur Penelitian.

### **3.4.1. Sterilisasi Alat dan Aquades**

Sebelum melakukan penelitian, peralatan yang terbuat dari kaca terlebih dahulu direbus, di cuci dengan sabun dan dibilas dengan air bersih, setelah di cuci alat kaca tersebut dibungkus dengan plastik bening untuk kemudian di masukkan ke dalam autoclave dan di sterilisasi selama 20 menit dengan suhu 121<sup>0</sup>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 alumunium foil dan dimasukkan ke dalam autoclave untuk di sterilisasi selama 20 menit pada suhu 121<sup>0</sup>C.

Sterilisasi dilakukan untuk membersihkan alat sehingga tidak ada mikroba yang tumbuh. 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 yang lebih besar untuk membunuh sel dibanding dengan udara panas. Biasanya untuk mesterilkan media digunakan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit dan alat selama 30 menit (Fardiaz, 1992).

### **3.4.2. Kultur Bakteri pada Media Nutrien Broth (NB) dan (MRSb)**

Isolat bakteri yang sudah di identifikasi dan dihitung daya hambatnya lalu dipilih mana yang memiliki daya hambat terjauh terhadap bakteri pathogen, kemudian bakteri tersebut dikultur pada media NB dan MRSb dengan masing-masing menggunakan elemeyer ukuran 1000 ml dengan aquades sebanyak 500 ml untuk media NB dan media MRSb sebelumnya sudah dilakukan penimbangan media dengan menggunakan timbangan analitik, untuk rumus menimbang media

NB 500 ml (aquades) x 0,008 sedangkan untuk MRRSb 5000 ml (aquades) x 0,0052. Setelah itu homogenkan dan rebus sampai mendidih menggunakan hotplate sambil di shacker. Setelah itu masing-masing media dimasukkan kedalam laminar air flow , setelah media dingin penanaman hasil isolat bakteri dilakukan dengan cara mengambil bakteri pada elemenyer ukuran 50 ml yang sudah berisi media NB yang sudah dikultur bakteri menggunakan pipet tetes kemudian dimasukkan kedalam erlemmyer ukuran 1000 ml yang sudah berisi media NB dan MRSb, aduk sampai homogen dan tutup bagian atasnya menggunakan alumunium foil, kemudian simpan keruangan lembab selama 24 jam.

### 3.4.3. Shaker Bakteri

Bakteri yang sudah dikultur kemudian di shaker dengan cara di guncang guncang setiap hari menggunakan tangan selama 13 hari, penggunncangan dilakukan selama 3 kali sehari yaitu : pagi, siang dan sore, selama 1 jam tiap kali shacker, shacker dilakukan untuk memelihara biakkan dan mempercepat pertumbuhan bakteri, karena sel-sel mikroorganisme dapat efektif meyerap nutrient, pengocokan berkaitan dengan aerasi dan transfer oksigen dalam media. Transfer oksigen dari udara ke permukaan cairan media pertumbuhan harus dilakukan secara kontinu untuk memenuhi kebutuhan oksigen mikroba dalam kultur tersebut (Rintis Manfaati, 2010) shaker dilakukan tiap hari selama 13 hari juga di cek suhu ruangnya pagi dan sore.

#### **3.4.4. Ekstraksi Bakteri Menggunakan RE**

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi yang merupakan salah satu metode yang digunakan untuk ekstraksi. Selain itu juga metode maserasi metode paling praktis dalam ekstraksi (dina *et al.*, 2016).

Setelah dilakukan shacker dan dilakukan pemanenan bakteri selama 13 hari dimana pemanenan mulai dilakukan pada hari ke 9, 11 setelahnya dilakukan proses maserasi dengan mencampur etil asetat sebanyak 1 banding 1 dengan jumlah bakteri yang dikultur yaitu sebanyak 500 ml. Etil asetat merupakan pelarut polar menengah yang volatile (mudah menguap), etil asetat dapat melarutkan air hingga 3% dan pelarut dalam air hingga 8%, selanjutnya media masing-masing dimasukkan kedalam corong pisah untuk dihomogenkan. Homogen bermanfaat untuk membuat atau mengencerkan larutan dengan ketelitian tinggi dan juga untuk memisahkan dua cairan yang tidak bercampur. Proses maserasi dilakukan beberapa kali pengulangan sampai diperoleh filtrate atau hasil maserasi yang bening. Hasilnya kemudian diuapkan menggunakan RE (Rotary Evaporator) pada suhu 40 °C sampai diperoleh ekstrak yang kental, agar ekstrak yang didapat semakin teliti dan juga memisahkannya pelarut etil asetat dan kandungan air yang ada.

#### **3.4.5. Menimbang dan Menghitung Hasil Ekstraksi**

Setelah dilakukan ekstraksi menggunakan RE selanjutnya hasil ekstrak didiamkan beberapa jam agar hasil ekstrak bisa kering dan kandungan air semakin hilang selanjutnya ekstrak ditimbang dan dihitung, penghitungan menggunakan alat timbangan analitik, menghitung dengan cara menimbang masing-masing botol pial kosong yang digunakan untuk memasukkan ekstrak lalu dikurangi

dengan botol pial yang sudah terisi ekstrak. Maka didapatkan hasil akhir ekstrak dari isolat usus ikan sapu-sapu.

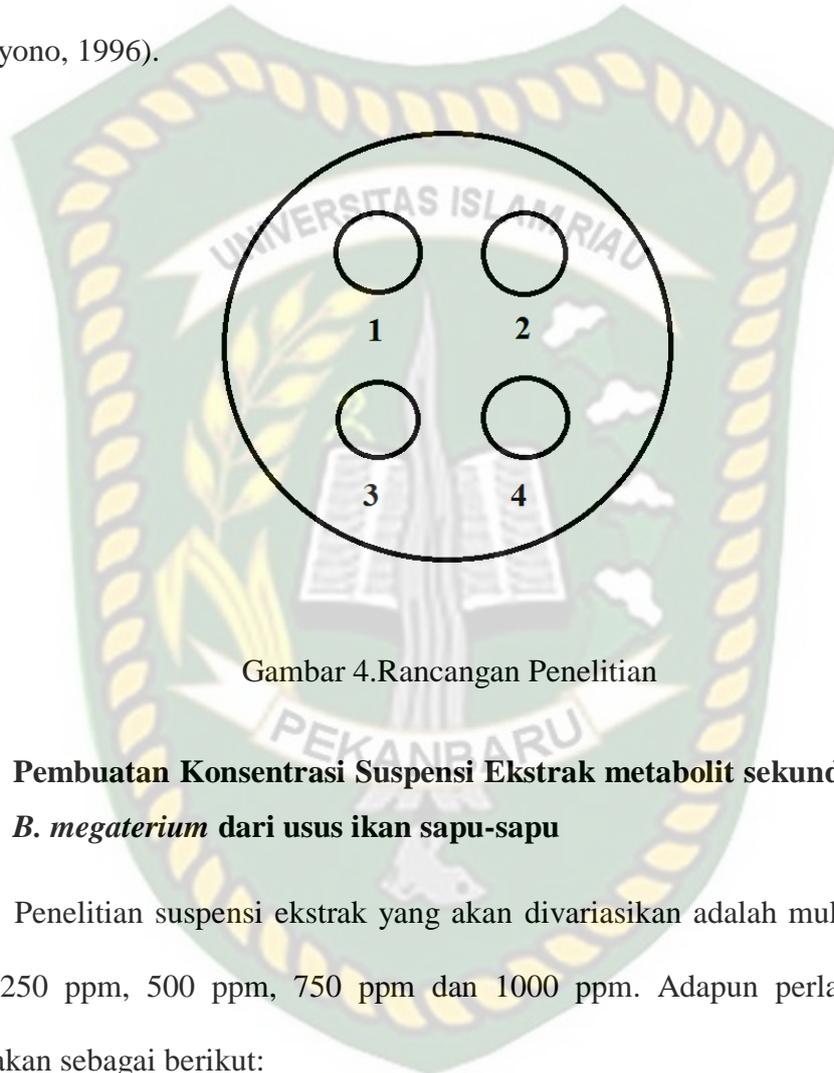
#### **3.4.6. Uji Daya Hambat Bakteri dan Uji Fikomia**

Uji daya hambat dilakukan dengan cara meletakkan kertas cakram yang sudah diendapkan ekstrak metabolit sekunder bakteri dari usus ikan sapu-sapu ke media nutrient agar (NA) yang sudah disebarkan bakteri patogen sebanyak 30 µm, kemudian dimasukkan kedalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 30 °C. Uji daya hambat untuk mengetahui kekuatan isolat bakteri yang sudah di ekstrak terhadap bakteri pathogen, dengan menggunakan media Nutrient Agar (NA). Menurut Rahmiati (2017) besar kecilnya zona hambat dipengaruhi oleh kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim hidrolitik, umur biakkan bakteri, jumlah enzim yang dihasilkan, komposisi media dan waktu inkubasi. selanjutnya Pengujian fitokimia dapat dilakukan ekstrak yang diperoleh.

Pengujian fitokimia ini bertujuan untuk mengetahui secara kualitatif kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel. Sampel dikeringkan dengan menggunakan oven bersuhu 40 °C hingga kadar airnya kurang dari 10 %. Setelah kering sampel dihaluskan. Sampel telah halus dan menjadi serbuk selanjutnya diuji fitokimia. Uji fitokimia terdiri dari alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid/triterpenoid. Menurut Robinson (1991) alasan melakukan uji fitokimia adalah untuk menentukan ciri senyawa aktif penyebab efek racun atau efek yang bermanfaat, yang ditunjukkan oleh ekstrak bila diuji dengan sistem biologis.

Pemanfaatan prosedur uji fitokimia telah mempunyai peranan yang mapan dalam semua cabang ilmu. Meskipun cara ini penting dalam semua telah kimia

dan biokimia juga telah dimanfaatkan dalam kajian biologis. Analisis fitokimia merupakan bagian dari ilmu farmakognosi yang mempelajari metode atau cara analisis kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan atau hewan secara keseluruhan atau bagian-bagiannya, termasuk cara isolasi atau pemisahannya (Moelyono, 1996).



Gambar 4. Rancangan Penelitian

### 3.5. Pembuatan Konsentrasi Suspensi Ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* dari usus ikan sapu-sapu

Penelitian suspensi ekstrak yang akan divariasikan adalah mulai dari 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm dan 1000 ppm. Adapun perlakuan yang digunakan sebagai berikut:

P1 = Pemberian ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* konsentrasi 100 ppm.

P2 = Pemberian ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* konsentrasi 250 ppm.

P3 = Pemberian ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* konsentrasi 500 ppm.

P4 = Pemberian ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* konsentrasi 750 ppm.

P5 = Pemberian ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* konsentrasi 1000 ppm.

### 3.6. Hipotesis dan Asumsi

Dalam penelitian ini hipotesa yang akan diajukan adalah:

H0 = Hasil ekstraksi metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* tidak bersifat antagonis terhadap bakteri patogen ( *A. hydrophila*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus* )

Hi = Hasil ekstraksi metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* bersifat antagonis untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen ( *A. hydrophila*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticu* ).

Hipotesis di atas diajukan dengan asumsi sebagai berikut:

1. Tingkat virulensi bakteri patogen ( *A. hydrophila*, *P. aeruginosa* dan *V. Alginolyticus* ) di anggap sama.
2. Keadaan lingkungan dan kebersihan alat laboratorium dianggap sama.
3. Tingkat keterampilan dan ketelitian peneliti dianggap sama.

### 3.7. Analisis Data

Data yang diamati selama dilakukannya penelitian berupa aktifitas daya hambat ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* dari usus ikan sapu-sapu terhadap pertumbuhan bakteri patogen ( *A. hydrophila*, *P. aeruginosa* dan *V. alginolyticus* ) dan uji fitokimia ekstrak metabolit sekunder bakteri dari usus ikan sapu-sappu. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan didukung studi literatur.

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Uji Fitokimia

Uji ini untuk menentukan golongan utama senyawa-senyawa aktif yang memiliki aktivitas mikroba. Data hasil pengamatan uji fitokimia ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* dari usus ikan sapu-sapu dengan parameter kandungan senyawa aktif fitokimia meliputi flavonoid, fenolid, terpenoid, alkaloid, dan saponin dapat kita lihat dalam tabel 3. berikut ini :

Tabel 3. Data Hasil Pengamatan Uji Fitokimia

Kandungan Senyawa Aktif	Hasil uji
Saponin	+
Fenolid	-
Terpenoid	+
Alkaloid	-
Flavonid	-

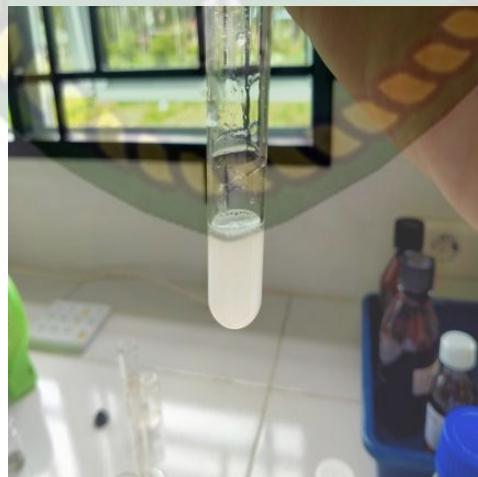
Keterangan: (+) = mengandung senyawa (-) = tidak mengandung senyawa

Dari Tabel 3. di atas dapat dilihat hasil uji fitokimia terhadap ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium*, positif mengandung senyawa aktif dari golongan saponin dan terpenoid. Sedangkan untuk hasil uji golongan senyawa fenolid, terpenoid, alkaloid dan flavonid memberikan hasil negatif. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* hanya memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa terpenoid dan saponin. Sebagian besar senyawa terpenoid dan saponin yang dihasilkan oleh bakteri, berhubungan dalam sistem pertahanan selnya terhadap kondisi lingkungan yang tidak mendukung untuk kehidupannya.

#### 4.1.1. Saponin

Uji saponin menunjukkan hasil positif, ditandai dengan adanya buih yang terbentuk setelah pengocokan bertahan lama. Saponin berasal dari kata Latin yaitu *sapo* yang berarti mengandung busa stabil bila dilarutkan dalam air, kemampuan busa dari saponin disebabkan oleh kombinasi dari sapogenin yang bersifat hidrofobik (larut dalam lemak) dan bagian rantai gula yang bersifat hidrofilik (larut dalam air) (Naoumkina *et al.*, 2010). Saponin sendiri memiliki glikosil sebagai gugus polar serta gugus steroid atau triterpenoid sebagai gugus nonpolar sehingga bersifat aktif permukaan dan membentuk misel saat dikocok dengan air.

Saponin merupakan bentuk glikosida dari sapogenin sehingga akan bersifat polar. Saponin adalah senyawa yang bersifat aktif di permukaan dan dapat menimbulkan busa jika dilakukan pengocokan dalam air (Kristanti dkk., 2008). Pada struktur misel gugus polar menghadap keluar sedangkan gugus nonpolar menghadap ke dalam dan keadaan inilah yang tampak seperti busa (Sangi *et al.*, 2008).



Gambar 5. Hasil uji saponin

Pada gambar 5. diatas menunjukkan timbulnya busa pada uji saponin, hal itu menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk

membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana dkk., 2005). Saponin sebagai deterjen alami yang mempunyai sifat aktif permukaan, dimana struktur molekulnya terdiri dari aglikon steroid atau triterpen yang disebut dengan sapogenin dan glikon yang mengandung satu atau lebih rantai gula (Vincken *et al.*, 2007).

Senyawa saponin tersebut akan cenderung tertarik oleh pelarut yang bersifat semi polar seperti metanol. Khasiat dari saponin yaitu memiliki aktifitas sebagai anti mikroba dan anti peradangan sehingga dapat menyembuhkan penyakit (Arief *et al.*, 2008). Hasil penelitian aktivitas antibakteri dan antifungi menggunakan metode disc diffusion test juga menunjukkan hasil bahwa saponin memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen maupun fungi (Maatalah *et al.*, 2012).

#### **4.1.2. Terpenoid**

Terpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang dibangun oleh dua atau lebih unit atom C<sub>5</sub> yang disebut unit isopren (2-metil-1,3-butadiena). Unit-unit isopren tersebut saling keterkaitan secara teratur dalam molekul, di mana “kepala” dari unit yang satu berikatan dengan “ekor” dari unit yang lain. Keteraturan mengenai struktur terpenoid disebut kaidah isopren (Harborne, 1987). Berdasarkan jumlah unit isopren yang membangunnya, senyawa terpenoid dapat dibagi atas beberapa golongan yaitu : monoterpenoid, sesquiterpenoid, diterpenoid, triterpenoid, tetraterpenoid dan politerpenoid (Harborne, 1987).

Terpenoid mencakup sejumlah besar senyawa yang berasal dari unit molekul yang sama. Terpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder, yang kerangka strukturnya dibangun oleh dua atau lebih unit C<sub>5</sub> yaitu unit isopren (2-

metil- 1,3-butadiena) yang menyebabkan terbentuknya keanekaragaman struktur terpenoid. Berdasarkan sejarah, nama terpenoid diberikan kepada hidrokarbon yang ditemukan dalam minyak terpenin (Brunetton, 1999). Semua terpenoid diduga dibangun dari penggabungan sejumlah unit 5-karbon 2-metilbutadiena. Wallach (1887) telah memperkirakan bahwa terpenoid dibangun dari sejumlah unit isopren dan beberapa tahun kemudian Ruzicka (1953) menyatakan hipotesis tentang kaidah pembentukan terpenoid. Kaidah tersebut menyatakan bahwa tiap-tiap kelompok terpenoid berasal dari penggabungan secara kepala ke ekor berselang-seling sejumlah unit isopren. Perbedaan struktur tiap kelompok terpenoid terbukti melibatkan beberapa reaksi, seperti siklisasi, perubahan gugus fungsi, dan penataan ulang (Mann, 1994; Brunetton, 1999).

Adanya Senyawa ini ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi merah-kecoklatan pada larutan uji fitokimia, senyawa ini memiliki struktur siklik pigmen karotenoid yang relatif rumit. Kelompok senyawa terpenoid dihasilkan oleh organisme melalui jalur biogenetik asam mevalonat. Biosintesis terpenoid menggunakan prazat "*precursor*" asetil koenzim-A. Selanjutnya melalui asam mevalonat membentuk isopren sebagai senyawa antara, untuk menghasilkan molekul terpen dan selanjutnya menghasilkan terpenoid.

Uji terpenoid menggunakan metode Liebermann-Bouchard yaitu ekstrak dilarutkan dalam kloroform kemudian ditambah pereaksi Liebermann-Bouchard (asam asetat anhidrat- $H_2SO_4$ ), menunjukkan hasil positif dengan adanya perubahan warna menjadi coklat-kemerahan. Menurut Robinson (1995), ketika senyawa terpenoid diberi pereaksi Lieberman-Burchard maka akan memberikan reaksi

terbentuknya warna cincin merah-kecoklatan. Hasil uji terpenoid dapat kita lihat pada gambar 6.



Gambar 6. Hasil uji triterpenoid

Reaksi terpenoid dengan pereaksi Liebermann-Burchard menghasilkan warna merah-kecoklatan. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa terpenoid membentuk warna oleh  $H_2SO_4$  dalam pelarut asam asetat anhidrid. Perbedaan warna yang dihasilkan oleh terpenoid disebabkan oleh perbedaan gugus pada atom C-4 (Marliana, 2011). Senyawa terpenoid mewakili kelompok besar phytochemical yang mempunyai aktivitas antimikroba (Widyawati *et al*, 2017). Mahzian *et al.*, (2019) menyatakan bahwa, beberapa terpenoid dan turunannya terbukti menjadi agen antimikroba yang kuat, terhadap pertumbuhan bakteri patogen yang resisten terhadap obat terutama dari golongan bakteri patogen.

Senyawa terpenoid mempunyai mekanisme atau cara kerja antibakteri dengan cara pengerusakan membran sel bakteri. Kerusakan membran sel dapat terjadi ketika senyawa aktif anti bakteri bereaksi dengan sisi dari membran atau dengan melarutkan konstituen lipid dan meningkatkan permeabilitasnya (Simoes *et al.*, 2009).

Membran sel bakteri terdiri dari fosfolid dan molekul protein. Adanya peningkatan permeabilitas, menyebabkan senyawa antibakteri dapat masuk ke

dalam sel dan dapat melisis membran sel atau mengkoagulasi sitoplasma dari sel bakteri.

#### 4.2. Uji Daya Hambat

Uji daya hambat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Uji difusi cakram dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak (Hermawan *et al.*, 2007). Hasil uji daya hambat ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen (*V. alginolyticus*, *A. hydrophila* dan *P. aeruginosa*) ditunjukkan dengan adanya zona hambat yang terbentuk di sekeliling kertas cakram. Hasil daya hambatnya dapat kita lihat pada tabel 4 dibawah ini.

Tabel 4. Rata-rata Daya Hambat Ekstrak Metabolit Sekunder *B. megaterium*

Perlakuan	Rata-rata Daya hambat (mm) terhadap bakteri patogen		
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>Vibrio</i>
P1	5	5,5	5
P2	7	6,75	5,5
P3	9	8,25	7,25
P4	10	9,5	9
P5	12	11,5	11
Kontrol +	36	36	36
Kontrol -	0	0	0

Pada Tabel di atas menunjukkan hasil uji ekstrak metabolit sekunder *B. megaterium* terhadap bakteri *P. aeruginosa* pada konsentrasi 100 ppm menghasilkan zona hambat sebesar 5 mm, konsentrasi 250 ppm sebesar 7 mm masuk ke dalam (kategori rendah), konsentrasi 500 ppm sebesar 9 mm, konsentrasi 750 ppm sebesar 10 mm (kategori sedang) dan konsentrasi 1000 ppm sebesar 12 mm (kategori kuat).

Untuk uji ekstrak metabolit sekunder *B. megaterium* terhadap bakteri *A. hydrophila* dengan konsentrasi 100 ppm menghasilkan zona hambat sebesar 5,5 mm, konsentrasi 250 ppm sebesar 6,75 mm, konsentrasi 500 ppm sebesar 8,25 mm masuk ke dalam (kategori rendah), konsentrasi 750 ppm sebesar 9,5 mm (kategori sedang) dan konsentrasi 1000 ppm sebesar 11,5 mm (kategori kuat).

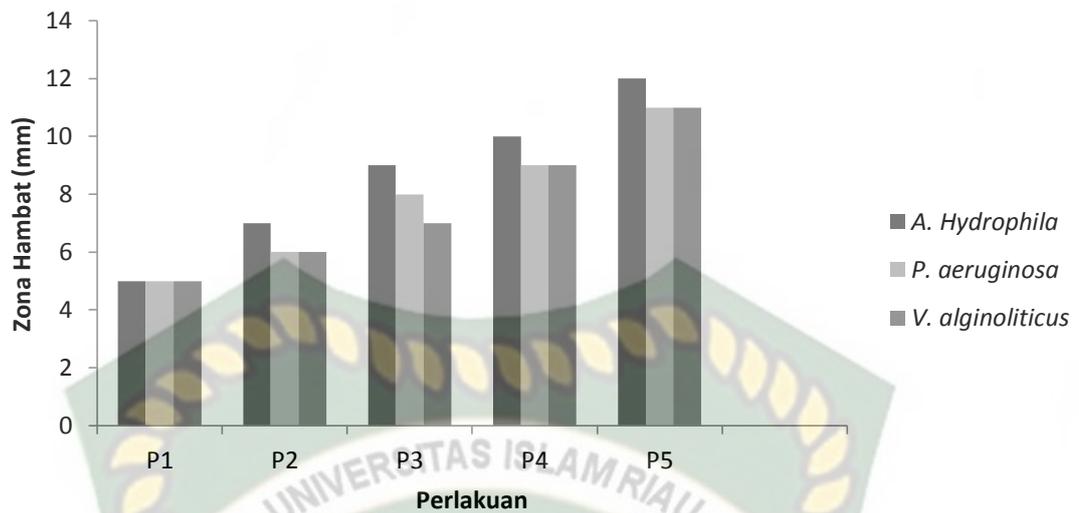
Pada bakteri *V. alginolyticus*, uji ekstrak metabolit sekunder *B. megaterium* pada konsentrasi 100 ppm menghasilkan zona hambat sebesar 5 mm, konsentrasi 250 ppm sebesar 5,5 mm, konsentrasi 500 ppm sebesar 7,25 mm masuk ke dalam (kategori rendah), konsentrasi 750 ppm sebesar 9 mm (kategori sedang) dan konsentrasi 1000 ppm sebesar 11 mm (kategori kuat).

Pada kontrol positif menunjukkan adanya perbedaan yang nyata, karena menghasilkan aktivitas antibakteri yang paling besar dengan zona hambat sebesar 26 mm, karena pada kontrol positif mengandung antibiotik oksitrasiklin, Oksitrisiklin merupakan antibiotik spektrum luas, aktif melawan berbagai macam bakteri atau sebagai anti bakteri, Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta kerusakan bahan oleh mikroorganisme (Sulistyo, 1971). Pada kontrol negatif tidak terdapat zona hambat. Kontrol negatif yang digunakan yaitu metanol, metanol menunjukkan tidak adanya zona hambat pada pengujian terhadap bakteri patogen. Hal ini mengindikasikan bahwa kontrol negatif (metanol) yang digunakan tidak berpengaruh pada uji antibakteri, sehingga daya hambat yang terbentuk tidak dipengaruhi oleh pelarut melainkan karena

aktivitas senyawa yang ada pada ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* yang berasal dari usus ikan sapu-sapu. Penggunaan metanol sebagai kontrol negatif diperkuat dengan penelitian sebelumnya oleh Ginting (2010), yang menyatakan bahwa kontrol negatif (metanol) pada uji antibakteri tidak menunjukkan adanya aktivitas sehingga dapat dipastikan bahwa metanol tidak berpengaruh terhadap aktivitas yang terbentuk pada uji daya hambat pada bakteri patogen. Pan *et al.*, (2018) menyatakan bahwa zona hambat dibagi menjadi 3 yaitu < 9mm potensi rendah, 9-11 mm potensi sedang, dan >11 mm potensi tinggi. Rachmawati *et al.*, (2005) menyatakan bahwa zona hambat terbentuk karena aktifitas senyawa mikroba yang bersifat bakterisidal berupa asam organik, yang dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri patogen.

Senyawa anti mikroba yang bersifat bakterisidal tersebut terdapat dalam ekstrak metabolit sekunder yang berasal dari bakteri *B. megaterium*. Ekstrak metabolit sekunder yang didapatkan dari bakteri *B. megaterium* kultur secara masal, kemudian diekstraksi menggunakan etil asetat. Pelarut etil asetat ini berguna untuk mengikat senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh bakteri *B. megaterium*, sehingga kandungan senyawa yang terkandung pada ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* seperti terpenoid dan saponin akan terpisah dari bahan-bahan lain.

Dapat kita lihat bahwa setiap perlakuan memperlihatkan perbedaan daya hambat, jika diberikan konsentrasi ekstrak yang berbeda terhadap bakteri patogen. Kemampuan suatu ekstrak dalam menghambat pertumbuhan mikroba tergantung konsentrasi dari ekstrak tersebut (Schlegel, 1994). Untuk lebih jelasnya bisa dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Diameter Daya Hambat Ekstrak Metabolit Sekunder Bakteri *B. megaterium* dari ikan Sapu-sapu pada Bakteri Patogen

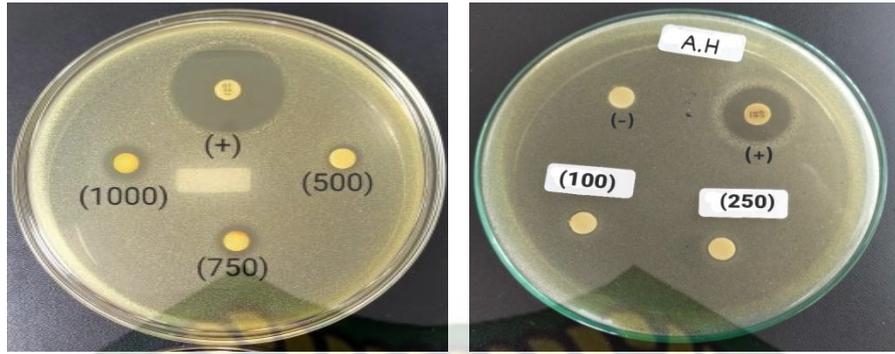
Pada gambar di atas dapat kita lihat bahwa terjadi peningkatan daya hambat ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka, semakin kuat kemampuan ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* melawan bakteri patogen. Konsentrasi terbaik dimulai pada perlakuan P4 konsentrasi 750 ppm dengan kategori sedang dan perlakuan P5 konsentrasi 1000 ppm dengan kategori kuat.

Hal ini membuktikan bahwa pemberian konsentrasi ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* yang semakin tinggi akan menyebabkan zona hambat yang semakin besar (Lingga dan Rustama, 2005). Terjadinya perbedaan daya hambat oleh ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* disebabkan, karena jumlah konsentrasi ekstrak yang diberikan berbeda, sebagai senyawa antimikroba yang kandungan daya hambat juga berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Rastina *et al.*, (2015) menyatakan Kemampuan senyawa antimikroba dalam menghambat mikroorganisme tergantung pada

konsentrasi bahan antimikroba dan jenis bahan antimikroba yang dihasilkan. Angelia *et al.*, (2015) menambahkan, aktivitas antibakteri dapat dipengaruhi dalam 3 hal yaitu kandungan senyawa bakteri, jumlah konsentrasi ekstrak dan jenis bakteri penghambat.

Terbentuknya zona hambat pada media kultur bakteri patogen mengindikasikan bahwa, bakteri *B. megaterium* dapat menghasilkan metabolit sekunder berupa zat antimikroba seperti antibiotik atau senyawa lainnya. Zona hambat yang terbentuk ini disebabkan oleh aktifitas senyawa yang terdapat pada ekstrak, yaitu dengan cara menekan pertumbuhan bakteri patogen (Setiaji, 2021). Menurut Lewis (2005), yang menyebabkan terjadinya penghambatan karena adanya senyawa yang mengganggu keutuhan membran sel, menghambat kerja enzim, mengganggu sintesis protein dan asam nukleat, serta menghambat sintesa dinding sel.

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, denaturasi protein sel dan perusakan sistem metabolisme di dalam sel dengan cara penghambatan kerja enzim intraseluler (Pelczar dan Reid, 1972). Indikasi penghambatan ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* tersebut dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 8. Hasil Uji Daya Hambat

Pada gambar di atas terlihat bahwa setelah dilakukan uji ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* terhadap pertumbuhan bakteri patogen (*A. hydrophila*, *P. aeruginosa*, *V. alginolyticus*), menunjukkan adanya zona hambat disekeliling kertas cakram. Terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metabolit sekunder *B. megaterium* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan senyawa bioaktif saponin dan terpenoid yang terdapat pada ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium*. Senyawa saponin dan terpenoid merupakan senyawa-senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuh bakteri.

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin dapat menjadi anti bakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Saponin dengan sifat deterjennya dapat mempengaruhi substans yang larut dalam lemak pada pencernaan, meliputi pembentukan misel campuran yang mengandung garam empedu, asam lemak, digliserida, vitamin yang larut dalam lemak dan dengan mineral (Cheeke, 20011). Berdasarkan sifat-sifat tersebut,

senyawa saponin memiliki kegunaan yang sangat luas, antara lain sebagai detergen, pembentuk busa pada alat pemadam kebakaran, pembentuk busa pada industri sampo dan digunakan dalam industri farmasi serta dalam bidang fotografi (Prihatman, 2001). Sedangkan terpenoid sebagai zat anti bakteri diduga melibatkan kerusakan membran oleh senyawa lipofilik pada bakteri patogen (Xiu *et al.*, 2017). Mekanisme kerja terpenoid dapat bereaksi dengan porin pada membran luar dinding sel bakteri, Terpenoid dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, serta mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri. membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel bakteri kekurangan nutrisi dan pertumbuhan bakteri patogen bisa terhambat atau mati (Graca *et al.*, 2015).

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* dari usus ikan sapu sapu (*H. Plecostomus*) menghasilkan senyawa aktif saponin dan terpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (*V. alginolyticus*, *A. hydrophila* *P. aeruginosa*).

### 5.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang penggunaan ekstrak metabolit sekunder bakteri *B. megaterium* terhadap pada bakteri patogen yang lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1986. Kimia Organik Bahan Alam. Penerbit Karunika, Jakarta.
- Anam. (2010). Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale*) Kajian dari Ukuran Bahan, Pelarut, Waktu dan Suhu. Jurnal Pertanian MAPETA, ISSN : 1411-2817, Vol. XII. No. 2. April 2010 : 72.
- Angelina, M., M. Turnip dan S. Khotimah. 2015. Uji aktifitas antibakteri ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Protobiont*. 4(1): 184-189
- Anonima. 2012. "Identifikasi Senyawa Bahan Alam Serta Uji Antioksidan Ekstrak Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*)"(online) (<http://chittaputri.blogspot.com/2012/01/identifikasi-senyawa-bahanalam-serta.html>, diakses tanggal 1 November 2020).
- Whitten, A.J. 1996. *Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi: Addition and Corrections*. Periplus Edition. Hong Kong.
- Cowan, S.T., G.I. Barrow K.J., Steel R.K.A, Feltham 1974. *Cowan and steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria*. (2nd ed.). Cambridge : Cambridge University Press
- Darmadi, 2008, *Infeksi Nosokomial Problematika dan Pengendaliannya*, 5, Jakarta, Salemba medika.
- Demain, A. 1998. ' Induction of Microbial Secondary Metabolism'. Springer-Verlag Iberica (1), 259-264.
- Departemen Kesehatan, R.I. 1995, *Farmakope Indonesia Edisi IV*, 551, 713. Jakarta.
- Depkes, R.I. 2015. Penggunaan antibiotik bijak dan rasional kurangi beban penyakit infeksi, Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Tersedia di:<http://www.depkes.go.id/article/view/15081100001/penggunaan-antibiotik->.
- Dhika. L. R. munandar 2013. Kandungan Logam Berat Kadmi-um (Cd) dalam Daging Ikan Sapu-sapu (*Pterygoplichthys pardalis*) di Sungai Ciliwung. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor. 16p.
- Dina, E. B. Rompas. Max. R. J. Runtuwane 2016. Analisis Kandungan Fitokimia dan Uji Aktifitas Antioksidan dari Tanaman Lire (*hemigraphis repanda*), Unsrat Manado. 36-39 Hal
- Effendi. 1998. *Mikrobiologi Laut*. Fakultas Perikanan Universitas Riau. Pekanbaru: 119 hal.

- Faruque, S.M. G., Nair. 2008, *Vibrio Cholerae*, di akses 12 September 2020, .
- Graca, A.P., F. 2015. The Antimicrobial Activity of Heterotrophic Bacteria Isolated from the Marine Sponge *Erylus deficiens* (Astrophorida, Geodiidae). *Frontiers in Mocrbiology*. 6(389): 1-14
- Gudbjarnason, S. 1999. Bioactive Marine Natural Product. *Rit Fiskideilar* 16:107-110.
- Hardi, 2013. Analisis Kandungan Logam Berat Merkuri (Hg) pada Daging Ikan Sapu-sapu (*Pterygoplichthys pardalis*) di Sungai Ciliwung. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor. 18 hlm.
- Hartono, 1998. Deteksi Bakteri Patogen *Vibrio* pada Beberapa Hasil Laut di Perairan Pantai Pasir Panjang Pulau Rupa Propinsi Riau. Skripsi Faperika UNRI. Pekanbaru.
- Hill, A.M. dan D.M. Lodge. 1999. Replacement of Resident Crayfishes by an Exotic Crayfish: the roles of competition and predation. *Ecol. App.* 9(2):678-690
- Istanti, I. 2005. Pengaruh Lama Kehidupan terhadap Karakteristi Ikan Sapu-sapu (*Hyposarcus pardalis*). Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor. 92 hlm.
- Jawetz, E.J. Melnick E. Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*. Jakarta: Salemba Medika.
- Jawetz, E.J.L. Melnick, E.A. Adelberg. 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Salemba Medika, Jakarta.
- J.L. Melnick & E.A. Adelberg, 2005. *Buku 1 Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika, Jakarta.
- Kasper, 2015. *Harrison's Principles Of Internal Medicine, 19e.* , Mcgraw-hill, USA, pp. 1044.
- Kordi, M.G.H. Tancung AB. 2005. *Pengelolaan Kualitas Air Dalam Budidaya Perairan*. PT Rineka Cipta. Jakarta. Kordi MGH. 2004. *Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan*. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Kirk, R.E. & D.F. Othmer. 1983, *Encyclopedia of Chemical Technology*, 3rd Edition, A Wiley Inter Science Publisher Inc., New York.
- Khotimah, K. 2016. *Skrining Fitokimia dan Identifikasi Metabolit Sekunder Senyawa Karpain pada Ekstrak Metanol*.
- Kottelat, M., S.N. WhittenAJ. Kartikasari and Wirjoatmodjo. 1993. *Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi*. Periplus Edition Hong Kong.

- Krieg, N.R. dan J.G. Holt 1984. *Bergey`s Manual of Systematic Bacteriology* Edisi ke-1. United States of America Baltimore; Williams & Wilkins Company.
- Larian, M. G.. 1959, “Fundamental of Chemical Engineering Operation”. Merusen Co. Ltd, Tokyo, Jepang.
- Mallet, J. 2007. Hybrid speciation. *Nature* 446:279-283.
- Muaja, A. D. H. S. J. 2013. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun suyogik (*Sauria Bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *J. Mipa Unsrat Online*. 2:115-118.
- Nico, L.G. dan R.T. Martin. 2001. The South American armored catfish, *Pterygoplichthys anisitsi* (Pisces: Loricariidae), in Teas, with comment on foreign fish introduction in the American Southwest. *The Southwestern Naturalist* 46(1):98-104
- Parjitno, 1995. Primadona Penyakit Udang Windu di Tambak. Makalah Penelitian Nasional Keterampilan dan Bina Usaha Mandiri bidang Budidaya Air Payau dan tawar. Malang: Mahasiswa Pemuda Pedesaan Brawijaya. Malang. 17 hal.
- Pelczar, M. J., J.r. and E. C. S. Chan.1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi. (diterjemahkan dari bahasa Inggris oleh Hadioetomo, R.S., T. Imas, S.S. Tjitrosomo & S.L. Angka). Volume ke1,2. UI Press, Jakarta.
- Pradana, A., P. D. Putri & A. Munif. (2015) Eksplorasi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Adam Hawa dan Potensinya sebagai Agens Hayati dan Pemacu Pertumbuhan Tanaman Padi. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 11 (3), 73-78. doi:10.14692/jfi.11.3.73.
- Pratiwi, S.T. 2008. Mikrobiologi farmasi. Erlangga Medical series. Jakara. 119-192.
- Pratiwi, P., M. Suzery dan B. Cahyono 2010. Total Fenolat dan Flavonoid dari Ekstrak dan Fraksi Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) Jawa Tengah serta Aktivitas Antioksidannya. *J. Sains & Matematika* vol. 18 no.4.
- Prihardhyanto, A. 1995. Beberapa Aspek Biologi Ikan Sapu-sapu (*Hypostomus sp*). Tujuan Ringkas. Universitas Indonesia ; Depok.
- Putri, A. A., R. Rasyid dan Rahmatini. 2014. Perbedaan Sensitivitas Kuman *Pseudomonas Aeruginosa* Penyebab Infeksi Nosokomial Terhadap Beberapa Antibiotika, *Jurnal Kesehatan Andalas*, 3(December 2013).
- Rahmiati, (2017). Eksplorasi Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik dan Potensinya dalam Menghambat Bakteri Patogen. *Elkwanie*, 3 (2), 141– 150.

- Rao, M.B., Tanksale A.M. Ghatge and V.V. Deshpande. 1998. Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Protease. *Microb. Mol. Biol. Rev.* 62: 1092-2172.
- Riadi, Muchlisin. 2016. Pertumbuhan Bakteri. <https://www.kajianpustaka.com>. Diakses 14 Agustus 2018.
- Rintis Manfaati. (2010). Kinetika dan Variabel Optimum Fermentasi Asam Laktat dengan Media Campuran Tepung Tapioca dan limbah Cair Tahu oleh *Rhizopus Oryzae*. Universitas Diponegoro Semarang 2010.
- Saragih A.A., H. Syawal I. Lukistyowati 2015. Identifikasi Bakteri Patogen Pada Ikan Selais (*Ompok hypoptalmus*) Yang Tertangkap di Sungai Kampar Desa Teratak Buluh Provinsi Riau. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Perikanan dan Ilmu Kelautan* Vol 2, No 2.
- Schlegel Hans, g, 1994. Mikrobiologi Umum. Penterjemah Tedjo Baskoro. Edisi keenam Gajah Mada University Press: Yogyakarta.
- Sembiring, B. 2007. Teknologi Penyiapan Simplisia Terstandar Tanaman Obat. Balitro. Bogor. vol 13(2).
- Setiadji, 2021. Potensi Metabolit Sekunder Bakteri Heterotrofik Laut Penghambat Bakteri Patogen. Pekanbaru. 70-71.
- Siegrist, J. 2010 , *Pseudomonas a Commuincative Bacteria*, *Mircrobiology Focus*, Vol 2(4) , pp.2
- Sinulingga, I.S.D. 2015. 'Efektivitas Antibakterial Madu In Vitro terhadap *Pseudomonas Aeruginosa* Atcc 27853'. Available at: Madu-In-Vitro-Terhadap-Pseudomonas-Aeruginosa-ATCC-27853.
- Sumino, A. Supriyadi, Wardiyanto. 2013. Efektivitas Ekstrak untuk Pengobatan Infeksi *Aeromonas salmonicida* pada Ikan. *JURNAL SAINS VETERINER*. JSV 31 (1), ISSN: 0126 – 0421.
- Tabarez, M.R. 2005. Discovery of the new Antimicrobial Compound 7-o-Malonyl macrolactin a. Dissertation Van Der Gemeinsamen Naturwissenschaftlichen Fakultat. Jerman: Universitat Carolo-Wilhelmina.
- Triastuti, J., L. Sulmartiwi, dan Y. Dhamayanti. 2009. Buku Ajar Ichtyologi. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Voigt, R. 1995, Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Diterjemahkan oleh Soendani N. S., UGM Press, Yogyakarta.
- Lingga, M. A. dan M. M., Rustama. 2005. Uji Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak Air dan Etanol Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif yang Diisolasi dari Udang Dog.

- Liu, C.C. dan S.M. Lin. 2011. Identification of Exotic Sailfin Catfish species (Pterygoplichthys, Loricariidae) in Taiwan based on morphology and mtDNA sequences.
- Watson, A.K., H. Kaspar, M.J. Lategan & L. Gibson. 2008. Probiotic in aquaculture: The need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, 274: 1-14.
- Widiastuti. 2014. Skrining Fitokomia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian ( *Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia IV. Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP. UNS: Surakarta.
- Widyawati, 2016. Potensial of Terpenoid Isolated from *Myrmecodia* Pendans AS antibacterial againt *Streptococcus mutans* ATCC 2517. *International Journal of Development Research*. 6 (10): 10350-10354
- Wilson, I. D. et al, 2000, *Encyclopedia of Separation Science*, Academic-Press, New York.
- Xia, P., R. Liu, D. Zhang and C. Sun. 2017. Pumilacidin Like Lipopeptides derived from Marine Bacterium *Bacillus sp.* Strain 176 suppres The motility of *Vibrio alginolyticus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 83(12): 1-1