

**REPOSITORY.UB.AC.ID**

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK KASAR BUAH MENKUDU (*Morinda citrifolia*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA IN VITRO**

**LAPORAN SKRISPI  
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh :

**NUR WAKI'AH OKTAFIA**

**NIM. 115080500111038**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2015**



**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK KASAR BUAH MENGGUDU (*Morinda citrifolia*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA IN VITRO**

**LAPORAN SKRIPSI  
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan  
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya

Oleh :

**NUR WAKI'AH OKTAFIA**

**NIM. 115080500111038**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2015**

## SKRIPSI

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK KASAR BUAH MENKUDU (*Morinda citrifolia*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA IN VITRO**

Oleh :

**NUR WAKI'AH OKTAFIA**

**NIM. 115080500111038**

Telah dipertahankan di depan penguji  
pada tanggal 06 Mei 2015  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Penguji I

Dr. Ir. M. Fadjar, MSc  
NIP. 19621014 198701 1 001

Tanggal:

Dosen Penguji II

Ir. Ellana Sanoesi, MP  
NIK. 19630924 199803 2 002

Tanggal:

Dosen Pembimbing I

(Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS)  
NIP. 19590807 198601 1 001

Tanggal:

Dosen Pembimbing II

(Ir. Heny Suprastyani, MS)  
NIP. 19620904 198701 2 001

Tanggal:

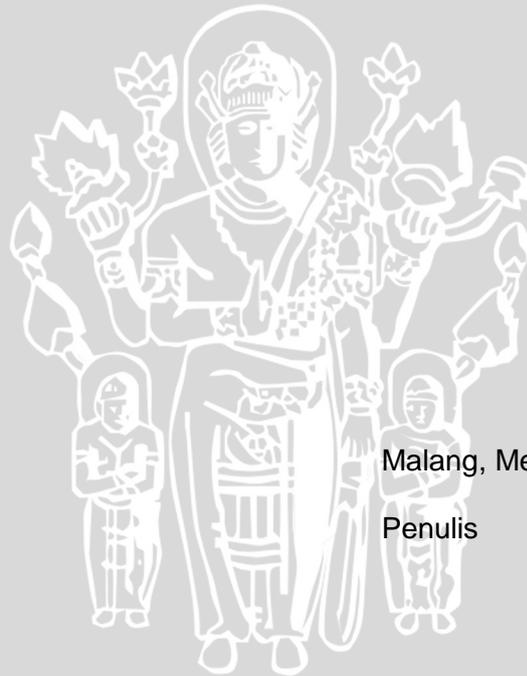
Mengetahui,  
Ketua Jurusan  
Manajemen Sumberdaya Perairan

(Dr. Ir. Arning W. Ekawati, MS)  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal:

## PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.



Malang, Mei 2015

Penulis

NUR WAKI'AH OKTAFIA

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan atas terselesainya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih sebesar besarnya kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan kelancaran dan berbagai kemudahan pada penulis dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
2. Bapak Na'im dan ibu Maniyem selaku kedua orang tua, kakak tercinta Nur Komariyah, Nur Latifah, Nur Aji Santoso, Saroni, Budi Agustianzah dan Nia, terimakasih atas doa, bimbingan dan dukungannya dari awal hingga akhir terselesainya laporan skripsi ini.
3. Mbak Titin dan Mbak Heni selaku laboran Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan yang senantiasa selalu memberikan bantuan dengan ikhlas serta arahan dan saran kepada penulis selama kegiatan penelitian berlangsung
4. Untuk teman seperjuangan Amel, Usna, Nela dan Alvin. Teman rempong Mehek, Meneng dan Pinky. Serta teman asrama Putri dan Aini yang selalu memberikan semangat dan selalu menemani penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Seluruh rekan-rekan tim parasiters yang telah banyak membantu penulis dan selalu memberikan dukungan dan motivasi untuk terselesainya laporan skripsi ini.
6. Teman-teman Aquatic Spartans BP 2011, yang telah ikut serta mendukung penyelesaian skripsi ini dan telah banyak mengukir cerita selama penulis menuntut ilmu..

Malang, Mei 2015

Penulis

## RINGKASAN

**NUR WAKI'AH OKTAFIA.** Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In Vitro*.  
Dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS** dan **Ir. Heny Suprastyani, MS**.

---

Ikan merupakan produk utama dari subsektor perikanan yang merupakan salah satu penghasil protein hewani bagi manusia. Masalah yang sering jadi penghalang dalam usaha perikanan adalah masalah penyakit-penyakit yang sering menyerang ikan. Penyakit ikan adalah segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun tidak langsung. *Pseudomonas fluorescens* adalah salah satu bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada ikan air tawar. Selama ini pencegahan terhadap serangan bakteri pada umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia. Pemberian antibiotik secara terus menerus dapat menyebabkan organisme patogen menjadi resisten, sehingga penggunaan antibiotik menjadi tidak efektif. Oleh karena itu, dibutuhkan adanya pengobatan alternatif yang dapat digunakan untuk menghambat atau membunuh bakteri, salah satunya adalah dengan penggunaan buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) yang memiliki kandungan antibakteri yang mampu menghambat bakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, FPIK UB bulan Januari sampai bulan Maret 2015 dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan dan 3 ulangan yaitu dengan menggunakan dosis 60 ppt (perlakuan A), 65 ppt (perlakuan B), 70 ppt (perlakuan C), dan 75 ppt (perlakuan D). Parameter utama dalam penelitian ini adalah melihat atau mengukur diameter zona bening yang dihasilkan di sekitar kertas cakram yang dihasilkan dari berbagai dosis yang digunakan. Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah lama waktu perendaman yang dilakukan yaitu selama 15 menit.

Hasil penelitian pada uji MIC dengan skala log didapatkan hasil pada dosis 10 ppt dan 100 ppt yang jernih pertama kali, sehingga dilakukan uji MIC yang kedua untuk penentuan dosis, didapatkan pada dosis 60 ppt dan 70 ppt yang mendekati dengan kontrol + sehingga dosis yang digunakan sebesar 60 ppt, 65 ppt, 70 ppt dan 75 ppt. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak kasar buah buah mengkudu memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap bakteri *P. fluorescens*. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan rata-rata diameter daya hambat terbesar yaitu pada dosis 75 ppt yaitu sebesar 14,08 mm dan diameter daya hambat terkecil terdapat pada dosis 60 ppt yaitu sebesar 5,4 mm. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa hasil uji efektifitas antibakterial dengan menggunakan uji cakram menunjukkan semakin tinggi dosis yang diberikan, maka semakin tinggi pula daya hambat yang didapatkan dengan persamaan  $Y = 0.21x - 4.315$  dengan nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,9906. Maka dapat disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar buah (*M. Citrifolia*) secara *in vitro* dengan menggunakan dosis yang lebih tinggi agar mendapatkan dosis yang optimal.

## KATA PENGANTAR

Puji Syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga kami dapat menyusun laporan skripsi dengan judul “ Uji Daya Hambat Ekstrak Kasar Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Terhadap Bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*” dengan baik dan tepat waktu tanpa ada halangan suatu apapun. Skripsi ini merupakan salah satu syarat yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana (S-1) Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Dalam tulisan ini disajikan pokok-pokok bahasan yang secara umum meliputi pemberian ekstrak kasar dengan dosis yang berbeda terhadap daya hambat bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Prof. Dr. Ir Arief Prajitno, MS sebagai dosen pembimbing 1 dan kepada Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS sebagai dosen pembimbing 2 yang selalu memberi saran, motivasi dan dukuingan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun untuk menyempurnakan skripsi ini. Dengan adanya skripsi ini penulis berharap agar bermanfaat dalam ilmu pengetahuan dan memberikan informasi bagi semua pihak yang membutuhkan.

Malang, Mei 2015

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

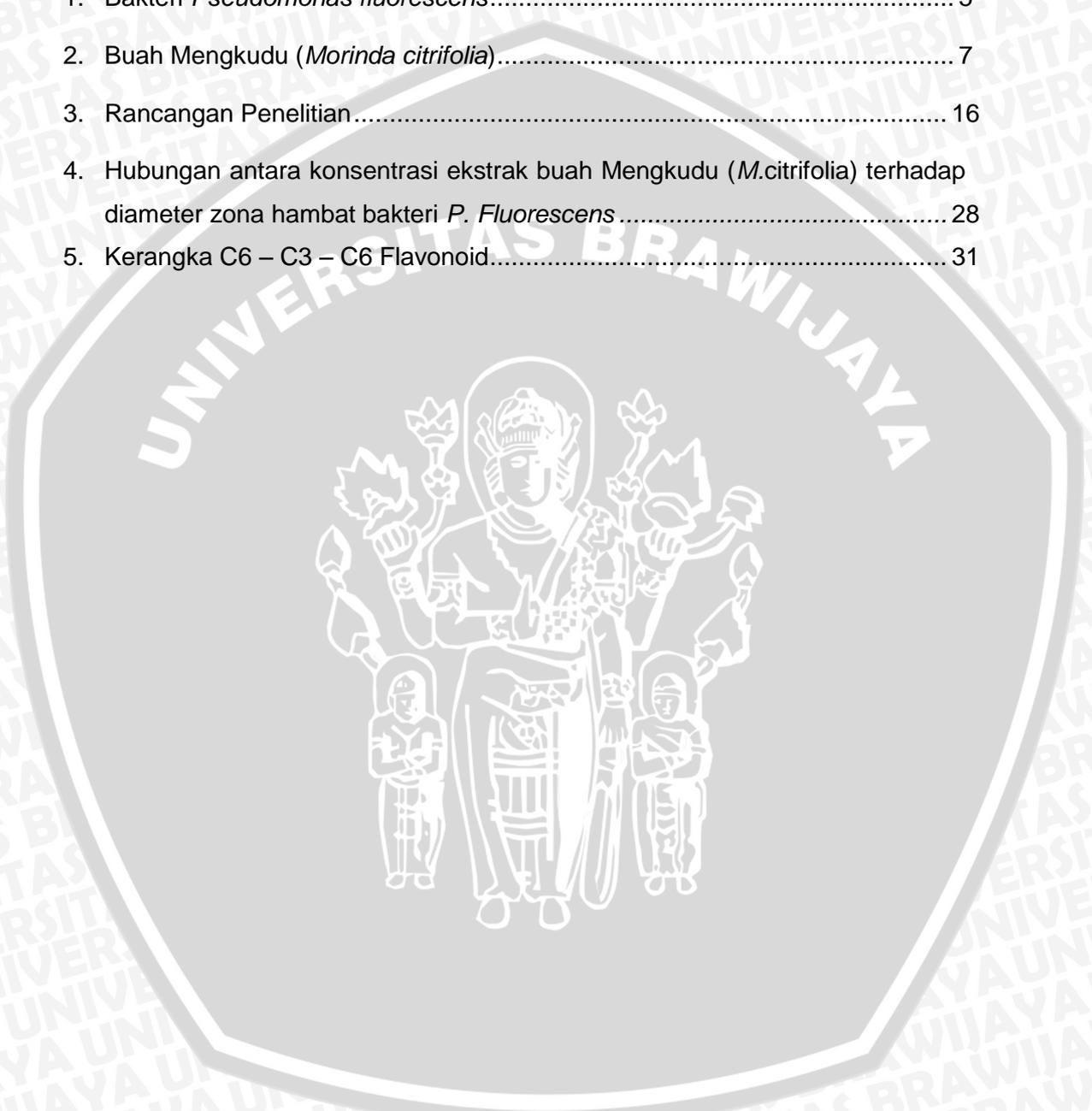
HALAMAN JUDUL.....	I
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
RINGKASAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
<b>1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis.....	3
1.5 Tempat Dan Waktu Pelaksanaan.....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i>	
2.1.1 Klasifikasi Dan Morfologi.....	5
2.1.2 Habitat.....	6
2.1.3 Infeksi Dan Tanda Penyerangan.....	6
2.2 Buah Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> )	
2.2.1 Klasifikasi Dan Morfologi.....	7
2.2.2 Habitat Dan Penyebarannya.....	8
2.2.3 Bahan Aktif Buah Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> ).....	9
2.3 Aktivitas Antimikroba.....	10
2.4 Uji Efektivitas Antibakteri Secara <i>In Vitro</i>	
2.4.1 Uji MIC ( <i>Minimum inhibiting Concentrarion</i> ).....	12
2.4.2 Uji Cakram.....	12
<b>3. METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Materi Penelitian	
3.1.1 Alat Penelitian.....	13
3.1.2 Bahan Penelitian.....	14
3.2 Metode Penelitian.....	15
3.3 Rancangan Penelitian.....	16

3.4	Prosedur Penelitian .....	16
3.4.1	Sterilisasi Alat dan Bahan .....	17
3.4.2	Sterilisasi Tempat Perlakuan .....	17
3.4.3	Pembuatan Ekstrak Kasar Buah Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> )..	17
3.5	Pembuatan Media	
3.5.1	PSA ( <i>Pseudomonas Selective Agar</i> ).....	18
3.5.2	<i>Tryptitone Soy Broth</i> (TSB).....	18
3.6	Pembiakan bakteri <i>P. fluorescens</i> .....	19
3.7	Pelaksanaan Penelitian	
3.8	Uji MIC ( <i>Minimum inhibiting Concentrarion</i> ) .....	19
3.9	Uji Cakram .....	20
3.10	Parameter Uji.....	21
3.11	Analisa Data .....	22
<b>4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1	Identifikasi Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	23
4.2	Daya Antibakteri Ekstrak Kasar Buah Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> )	
4.3.1	Uji MIC ( <i>Minimum Inhibiting Concentration</i> ).....	24
4.3.2	Uji Cakram.....	25
<b>5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1	Kesimpulan .....	33
5.2	Saran .....	33
	<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>34</b>
	<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>38</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	5
2. Buah Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> ).....	7
3. Rancangan Penelitian.....	16
4. Hubungan antara konsentrasi ekstrak buah Mengkudu ( <i>M.citrifolia</i> ) terhadap diameter zona hambat bakteri <i>P. Fluorescens</i> .....	28
5. Kerangka C6 – C3 – C6 Flavonoid.....	31



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat Yang Digunakan Dalam Penelitian.....	13
2. Bahan Yang Digunakan Dalam Penelitian.....	14
3. Hasil Uji MIC ( <i>Minimum Inhibitor Concentration</i> ) skala log .....	20
4. Uji Kimia Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	23
5. Hasil Uji MIC ( <i>Minimum Inhibiting Concentration</i> ) pada Perlakuan Dosis Ekstrak yang Berbeda-beda.....	24
6. Data hasil pengukuran zona hambat.....	26
7. Hasil Analisa Sidik Ragam Diameter Zona Hambat.....	26
8. Hasil Uji Beda Nyata (BNT) Ekstrak Kasar Buah Mengkudu ( <i>M. citrifolia</i> ) terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri <i>P. Fluorescens</i> .....	27



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Foto Alat Penelitian.....	38
2. Kegiatan Penelitian.....	40
3. Proses Ekstraksi Buah Mengkudu ( <i>M. citrifolia</i> ).....	42
4. Penentuan Dosis Ekstrak Buah Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> ).....	43
5. Skema Kerja MIC ( <i>Minimum Inhibiting Concentration</i> ).....	44
6. Skema Kerja Uji Cakram.....	45
7. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>P. fluorescens</i> dari BBPBAP Jepara.....	46
8. Hasil Uji Cakram Ekstrak Kasar Daun Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> ) Pada Daya Hambat Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	49
9. Perhitungan Statistik Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Buah Mengkudu ( <i>M. citrifolia</i> ).....	52



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara dengan luas perairan hampir dua pertiga dari luas wilayahnya yaitu sekitar 70%. Wilayah perairan di Indonesia berdasarkan kandungan kadar garamnya atau salinitas dapat dikelompokkan menjadi tiga jenis perairan, yaitu perairan tawar, perairan payau dan perairan laut. Dari ketiga jenis perairan tersebut dapat dihasilkan suatu produksi perikanan yang memberikan nilai tambah bagi pertumbuhan ekonomi nasional yang dapat meningkatkan kesejahteraan masyarakat Indonesia. Potensi perikanan budidaya secara nasional diperkirakan sebesar 15,59 juta ha yang terdiri dari potensi air tawar 2,23 juta ha, air payau 1,22 juta ha dan budidaya laut 12,14 juta ha (Gusrina, 2007).

Ikan merupakan produk utama dari subsektor perikanan yang merupakan salah satu penghasil protein hewani bagi manusia, terutama dalam bentuk lauk pauk yang digemari oleh masyarakat Indonesia. Masalah yang sering jadi penghalang dalam usaha perikanan adalah masalah penyakit-penyakit yang sering menyerang ikan. Di antara penyakit-penyakit tersebut adalah penyakit infeksi yang diakibatkan oleh parasit, virus, bakteri dan jamur (Rukmana, 1997).

Penyakit ikan adalah segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun tidak langsung. Gangguan terhadap ikan dapat disebabkan oleh organisme lain, pakan maupun kondisi lingkungan yang kurang menunjang kehidupan ikan. Dengan demikian timbulnya serangan penyakit ikan di kolam merupakan hasil interaksi yang tidak serasi antara ikan, kondisi lingkungan dan organisme penyebab penyakit. Interaksi yang tidak sesuai ini dapat menyebabkan ikan stres, sehingga mekanisme pertahanan diri

yang dimilikinya menjadi lemah dan akhirnya mudah terserang penyakit (Prajitno, 2005).

Menurut Cahyono (2001), menyatakan bahwa salah satu penyakit bakterial yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas fluorescens* adalah penyakit merah. Hampir semua tubuh ikan dapat terserang oleh bakteri ini dan serangannya sangat ganas hingga dapat menimbulkan kematian. Biasanya menyerang pada ikan yang masih muda dan ikan yang sudah dewasa.

Selama ini pencegahan terhadap serangan bakteri pada umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia. Pemberian antibiotik secara terus menerus dapat menyebabkan organisme patogen menjadi resisten, sehingga penggunaan antibiotik menjadi tidak efektif. Selain itu, residu dari antibiotik dapat mencemari lingkungan perairan yang mengakibatkan kualitas air menjadi turun. Salah satu alternatif yang digunakan untuk mengatasi permasalahan serangan penyakit adalah mengganti penggunaan antibiotik dengan bahan alami seperti tumbuhan obat yang dapat dijadikan sebagai antibakteri (Rinawati, 2012).

Buah mengkudu (*Morinda citrifolia*, L.) mengandung *scopoletin*, sebagai antiradang. Glikosida, *Alizarin*, *Acubin*, *L. Asperulosid* dan flavonoid sebagai antibakteri. Vitamin C, sebagai antioksidan (Peter, 2005 dalam Dewi, 2010).

Salah satu upaya yang dilakukan untuk pengobatan adalah tanaman pace atau buah mengkudu (*M. citrifolia*). Tanaman ini diketahui bersifat antibakteri. Flavonoid merupakan senyawa yang mempunyai efek antibakteri dan paling banyak terdapat pada buah mengkudu (Djauhariya, 2003). Flavonoid merupakan kelompok dari fitokimia fenolik yang berfungsi sebagai peredam radikal bebas yang sangat kuat dan membantu mencegah penyakit yang berhubungan dengan stres oksidatif serta memiliki aktivitas antimikroba (Rahmawati, 2009 dalam Puspitasari, Sri dan Herawati, 2009).

## 1.2 Rumusan Masalah

Timbulnya penyakit dalam budidaya merupakan salah satu penyebab turunnya produksi budidaya secara intensif. Dimana budidaya secara intensif memiliki tujuan untuk meningkatkan hasil produksi. Penyakit bakterial disebabkan oleh bakteri salah satunya adalah *P. fluorescens*. Aktivitas bakteri ini dapat menimbulkan pendarahan (*haemorrhagic septicemia*) dan bahkan kematian (Kordi, 2004).

Munculnya penyakit bakterial yang menyebabkan kematian pada ikan. Salah satunya disebabkan oleh bakteri *P. fluorescens*. Penggunaan antibiotik yang berlebih juga tidak baik untuk kualitas perairan budidaya dan dapat menimbulkan penyakit. Penelitian ini dilakukan untuk menghambat penyakit yang disebabkan oleh bakteri dengan penambahan ekstrak kasar buah mengkudu (*M.citrifolia*). Berkaitan dengan hal tersebut maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

- Apakah pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) dengan cara uji cakram berpengaruh terhadap daya hambat dari bakteri *P.fluorescens* ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap daya hambat dari bakteri *P. fluorescens* secara *In vitro*

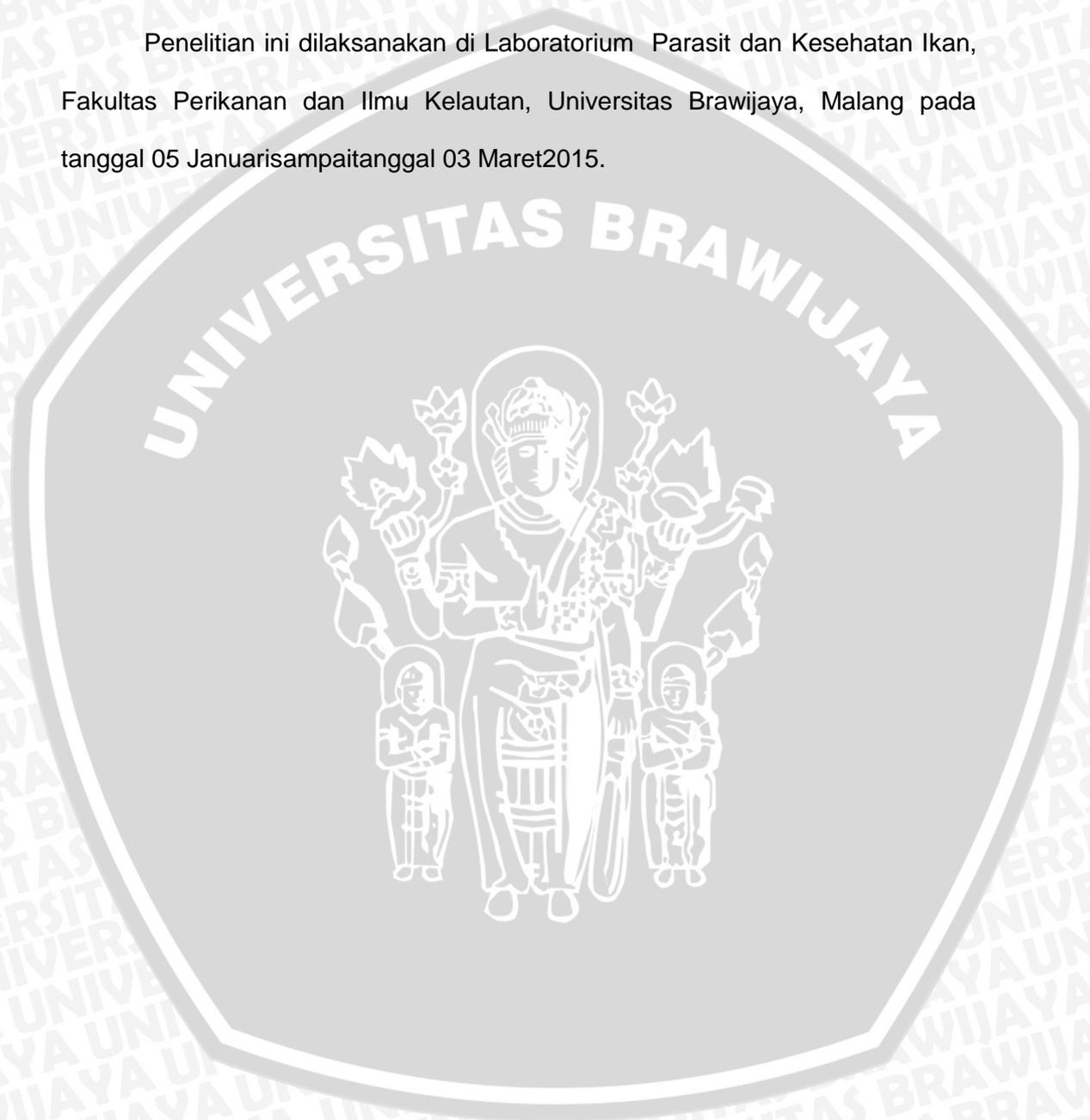
## 1.4 Hipotesis

$H_0$  : Diduga pemberian ekstrak kasar Buah Mengkudu (*M. citrifolia*) dengan dosis yang berbeda tidak mempengaruhi daya hambat dari bakteri *P. fluorescens*

H<sub>1</sub> : Diduga pemberian ekstrak kasar Buah Mengkudu (*M. citrifolia*) dengan dosis yang berbeda dapat mempengaruhi daya hambat dari bakteri *P. fluorescens*

### 1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 05 Januari sampai tanggal 03 Maret 2015.



## 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi *Pseudomonas fluorescens* menurut Kartika (2009), adalah sebagai berikut, untuk gambar Bakteri disajikan pada Gambar 1.

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas fluorescens</i>



Gambar 1. *P. fluorescens* perbesaran (Google image, 2015)

*Pseudomonas* merupakan salah satu genus dari Famili *Pseudomonadaceae*. Bakteri ini berbentuk batang lurus atau lengkung, ukuran tiap sel bakteri 0.5-0.1  $\mu\text{m}$  x 1.5- 4.0  $\mu\text{m}$ , tidak membentuk spora dan bereaksi negatif terhadap pewarnaan Gram, aerob, menggunakan H<sub>2</sub> atau karbon sebagai energinya, kebanyakan tidak dapat tumbuh dalam kondisi asam (pH 4,5) (Kartika, 2009).

Bakteri genus *Pseudomonas* termasuk dalam kelompok Gram-negatif yang tidak menghasilkan spora, berbentuk batang, hampir semuanya bersifat aerobik dan bergerak menggunakan flagella kutub. Anggota genus *Pseudomonas* bersifat fluorescent, bergerak dan mudah beradaptasi secara nutrisi. Menurut Bergey's Manual of Systematic Bacteriology genus ini memiliki lebih dari 40 spesies di antaranya *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. chlororaphis*, *P. cichorii*, *P. viridiflava* dan *P. syringae* (Buckle *et al.*, 1985).

### 2.1.2 Habitat

*Pseudomonas fluorescens* termasuk kedalam bakteri yang dapat ditemukan dimana saja (*ubiquitous*), seringkali ditemukan pada bagian tanaman (permukaan daun dan akar) dan sisa tanaman yang membusuk, tanah dan air (Bradbury, 1986).

Bakteri *P. fluorescens* adalah bakteri yang banyak terdapat di lingkungan perairan. Bakteri *P. Fluorescens* diketahui terdapat pada beberapa macam makanan antara lain salad, daging, sushi, hamburger, susu pasteurisasi, tanah, air laut dan air tawar (Irianto, 2005).

### 2.1.3 Infeksi Dan Tanda Penyerangan

Beberapa contoh gejala klinis akibat serangan bakteri *P. fluorescens* adalah *haemorrhagic septicemia*. Pada saat bakteri tersebut berada dalam aliran darah dan tidak dapat dimusnahkan oleh sistem pertahanan tubuh ikan, maka timbullah penyakit akibat serangan bakteri ini yang ditunjukkan dengan *ulcer* pada sirip dan permukaan tubuh. Kemudian bagian-bagian sirip dan ekor ada yang terlepas. Sedangkan organ-organ dalam ikan sendiri juga terserang. Kematian bisa disebabkan oleh kerusakan ginjal, hati, atau jantung. (Anonymous, 2009).

*P. fluorescens* adalah gram negatif batang panjang 1,6 – 3  $\mu$ , lebar 0,5  $\mu$ , terdapat 2 – 6 flagella, motile dengan polar flagella (kadang non- motile), tumbuh baik pada TSA (*Tryptic Soy Agar*). Sejauh ini bakteri hanya diidolasi dari kulit yang terkena penyakit, tidak dari organ-organ dalam. Penyerangan oleh bakteri tampaknya melemahkan specimen, mengganggu metabolisme tetapi pada beberapa kasus menyebabkan kematian (Suprastyani, 1989).

## 2.2 Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

### 2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Waha (2001), klasifikasi mengkudu adalah, untuk buah mengkudu disajikan pada Gambar 2 :

Filum	: Angiospermae
Sub filum	: Dicotyledones
Divisio	: Lignosae
Family	: Rubiaceae
Genus	: <i>Morinda</i>
Spesies	: <i>citrifolia</i>
Nama Ilmiah	: <i>Morinda citrifolia</i>



Gambar 2. Buah Mengkudu (Widayat, 2006)

Mengkudu termasuk jenis tanaman pohon dan berbatang bengkok, tinggi pohon dapat mencapai 3-8 m. Daun tunggal dengan ujung dan pangkal kebanyakan runcing. Buahnya termasuk buah bongkol, benjol-benjol tidak teratur, berdaging, jika masak daging buah berair. Buah masak berwarna kuning kotor atau putih kekuning-kuningan dengan panjang 5-10 cm, lebar 3-6 cm (Suryowinoto, 1997).

Tanaman mengkudu merupakan jenis tumbuhan yang banyak terdapat di Indonesia. Nama botaninya adalah *M.citrifolia*. Tanaman yang juga dikenal dengan sebutan buah Pace atau Noni ini berwarna hijau di saat muda dan berubah putih kekuningan jika mulai matang. Permukaan kulit buahnya berbintil dan dipenuhi mata berwarna coklat kehitaman, rasanya sangat asam dengan aroma khas sangat tajam ketika tua dan matang. Tanaman yang selama ini dikenal sebagai tumbuhan liar dan berbau busuk, kini berubah menjadi buah "ajaib" yang banyak dicari (Budhie, 2011).

Tanaman mengkudu berbuah sepanjang tahun. Ukuran dan bentuk buahnya bervariasi, pada umumnya mengandung banyak biji, dalam satu buah terdapat >300 biji, namun ada juga tipe mengkudu yang memiliki sedikit biji. Bijinya dibungkus oleh suatu lapisan atau kantong biji, sehingga daya simpannya lama dan daya tumbuhnya tinggi. Dengan demikian, perbanyakannya dengan biji sangat mudah dilakukan (Djauhariya, 2006).

### 2.2.2 Habitat dan Penyebarannya

Mengkudu (*M.citrifolia*) tumbuh baik pada dataran rendah sampai ketinggian 500 m dari permukaan laut. Tanaman ini banyak dijumpai di pantai, hutan, daerah sepanjang aliran sungai, sekitar perkampungan, dan kadang-kadang kadang ditanam di galaman rumah sebagai sayuran atau tanaman obat

keluarga. Di masyarakat pedesaan, daun dan buah mengkudu dimanfaatkan sebagai lalap atau sayuran (Jauhari dan Tirtoboma, 2001).

Mengkudu adalah tanaman liar yang tumbuh di hutan-hutan atau daerah pantai sampai kira-kira 1000 meter di atas permukaan laut dan mempunyai prospek yang baik untuk dikembangkan secara agro bisnis. Tanaman ini menyebar dan ditanam di Malaysia, Australia, New Zealand, Kepulauan Pasifik, Hawaii, Puerto Rico, Karibia dan Kanada, sampai ke Indonesia (Rukmana, 2002).

Terdapat sekitar 80 spesies tanaman yang termasuk dalam genus *Morinda*. Menurut H.B. Guppy, ilmuwan Inggris yang mempelajari Mengkudu sekitar tahun 1900, kira-kira 60 persen dari 80 spesies *Morinda* tumbuh di pulau-pulau besar maupun kecil, di antaranya Indonesia, Malaysia dan pulau-pulau yang terletak di Lautan India dan Lautan Pasifik (Waha, 2001). Mengkudu merupakan tumbuhan asli Indonesia yang kemudian menyebar ke Asia Tenggara, India, Afrika, Amerika dan Australia (Lendri, 2003).

Mengkudu termasuk tumbuhan keluarga kopi-kopian (*Rubiaceae*), yang pada mulanya berasal dari wilayah daratan Asia Tenggara dan kemudian menyebar sampai ke Cina, India, Filipina, Hawaii, Tahiti, Afrika, Australia, Karibia, Haiti, Fiji, Florida dan Kuba (Widayat, 2006).

### 2.2.3 Bahan Aktif Buah Mengkudu (*M. citrifolia*)

Kandungan kimia penting pada sari buah mengkudu adalah asam lemak yang meliputi: asam kaproat, kaprilat, asam palmitat, asam stearat dan asam oleat (Ngakan *et al.*, 2000). Kandungan nutrisi yang terkandung dalam buah mengkudu adalah protein, mineral (Se), vitamin C sebagai antioksidan dan asam lemak rantai pendek yang menyebabkan bau yang menyengat (Amar, Makosim, Magdalena, dan Yulianto, 2004).

Buah mengkudu (*M. citrifolia* L.) mengandung berbagai bahan berkhasiat seperti antrakuinon, scopoletin, morindon, morindin, morindanigrin, monometil eter, damnacanthol, saranjidiol, xeronine, asam glutamat dan bahan lainya yang sangat bermanfaat untuk kesehatan. Dilaporkan bahwa daya antimikroba mengkudu disebabkan oleh adanya senyawa antrakuinon dan scopoletin. Telah dilaporkan pula bahwa antrakuinon dan skopoletin dapat membunuh bakteri patogen seperti *E. coli*, *Salmonella* dan *Staphylococcus aureus* (Darwis, 2005).

Buah mengkudu (*M. citrifolia*, L.) mengandung *scopoletin*, sebagai antiradang. Glikosida, *Alizarin*, *Acubin*, *L. Asperulosidedan* flavonoid sebagai antibakteri. Vitamin C, sebagai antioksidan (Peter, 2005 dalam Dewi, 2010).

Daya antibakteri dari buah mengkudu matang terjadi karena mengkudu mengandung zat antibakteri yaitu senyawa flavonoid, terpenoid, antraquinon, alizarin dan acubin yang dapat melawan bakteri *Stahpylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Protens morganii*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli*. Senyawa antrakuinon, alizarin dan acubin yang terdapat dalam buah mengkudu merupakan golongan dari terpenoid dan turunan dari senyawa fenol (Puspitasari *et al.* , 2009).

Menurut Purwatiningsih, Yustina dan Widodo (2013), menyatakan bahwa buah mengkudu yang matang mempunyai antibakteri alami yang lebih tinggi yaitu fenol dan flavonoid bila dibandingkan dengan buah mengkudu yang mentah dan mengkal, dimana total fenol pada buah matang sebesar 6,18 %, sedangkan untuk buah yang mentah dan mengkal sebesar 2,24 % dan 3,65 %. Buah mengkudu semakin matang maka kandungan total fenol semakin besar.

### 2.3 Aktivitas Antimikroba

Antimikroba ialah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia. Dalam pembicaraan disini, yang dimaksud dengan mikroba terbatas pada jasad renik yang tidak termasuk kelompok parasit. Obat yang

digunakan untuk membasmi mikroba, penyebab infeksi pada manusia, ditentukan harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin. Artinya, obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes. Sifat toksisitas selektif yang absolut belum atau mungkin tidak akan diperoleh (Akhyar, 2010).

Antimikroba merupakan suatu senyawa yang dalam konsentrasi rendah mempunyai kemampuan untuk menghambat atau mencegah proses hidup mikroorganisme atau membunuh mikroorganisme (Rostinawati, 2010).

Menurut Mawaddah (2008), kerja senyawa antimikroba adalah merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan terjadinya kebocoran nutrisi dari dalam sel. Kerusakan dinding sel akan menyebabkan gangguan permeabilitas sel sehingga menyebabkan berkurangnya kemampuan sel dalam menjaga keutuhan struktur sel. Selain itu juga gangguan permeabilitas membran dapat mengganggu kelangsungan metabolisme sel.

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteristatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks *et al.*, 2005 dalam Dewi, 2010).

#### 2.4 Uji Efektivitas Antibakteri Secara *In Vitro*

#### 2.4.1 Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Uji MIC ini pada dasarnya adalah untuk menentukan secara kualitatif konsentrasi terkecil suatu obat yang dapat menghambat pertumbuhan kuman. Pada prinsipnya uji MIC ini adalah penghambatan pertumbuhan kuman dalam tabung pengenceran oleh suatu obat yang dicampur dalam perbenihan. Perbenihan yang dipakai harus merupakan perbenihan yang dapat membunuh kuman secara optimum dan tidak menetralkan obat yang digunakan (Lay, 1994),

#### 2.4.2 Uji cakram

Uji cakram merupakan pengujian untuk mengetahui daya hambat dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terjadi di sekitar kertas cakram yang mengandung bahan antibakteri sesuai dengan konsentrasi perlakuan (Pelczar dan Chan, 1986).

Pada uji cakram lempengan agar disemai dengan mikroorganisme yang diuji, cakram yang berisi antibakteri diletakkan diatas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme yang diuji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antibakteri terlihat sebagai wilayah bening sekitar pertumbuhan mikroorganisme. Uji antibakteri dengan cara cakram adalah untuk mengetahui pada konsentrasi berapa yang bersifat bakteriostatik maupun bakteriosidal (Lay, 1994).

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

### 3 METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1, beberapa foto alat penelitian yang digunakan disajikan pada Lampiran 1.

**Tabel 1. Alat yang digunakan saat penelitian**

Alat	Fungsi
Timbangan sartorius	Sebagai alat untuk menimbang berat ekstrak kasar buah mengkudu, media TSA dan TSB yang dibutuhkan
<i>Cutton Swap</i>	Sebagai alat untuk menggoreskan bakteri pada media TSA saat hendak uji cakram
<i>Autoclave</i>	Sebagai alat untuk mensterilisasi alat dan bahan yang hendak digunakan
Lemari pendingin	Sebagai wadah penyimpanan bahan penelitian
<i>Hotplate</i>	Sebagai alat untuk memanaskan media TSA sehingga homogen
Cawan petri	Sebagai wadah pengkulturan bakteri
<i>Laminar Air Flow</i>	Sebagai tempat pengkulturan bakteri dalam keadaan steril
Inkubator	Sebagai wadah penyimpanan bakteri uji
Toples Kaca	Sebagai wadah perendaman buah mengkudu saat proses maserasi
Tabung reaksi	Sebagai wadah dari larutan
Erlenmeyer	Sebagai wadah dari media TSA dan TSB
Gelas ukur	Sebagai alat untuk mengukur volume larutan
Jarum osse	Sebagai alat untuk mengambil dan mengkultur bakteri pada media TSA
Spatula	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan
<i>Sentrifuse</i>	Sebagai alat untuk memisahkan antara endapan dan cairan
Mikropipet	Sebagai alat untuk mengambil larutan dalam skala mikrometer
Blender	Sebagai alat untuk menggiling buah mengkudu kering

### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ini disajikan pada Tabel 2 sebagai berikut :

**Tabel 2. Bahan yang digunakan saat penelitian**

Bahan	Fungsi
Buah Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> )	Sebagai bahan yang hendak diuji kemampuan daya hambatnya
Bakteri <i>P. fluorescens</i>	Sebagai bahan uji daya hambat
Alkohol 70%	Sebagai bahan pengkondisian aseptis pada tangan
PSA ( <i>Pseudomonas Agar</i> ) untuk uji cakram	Sebagai bahan tumbuh bakteri dalam bentuk agar
TSB ( <i>Triptycase Soy Broth</i> ) untuk uji MIC	Sebagai bahan tumbuh bakteri dalam bentuk cair
Tali kasur	Sebagai bahan untuk mengikat kertas koran pada saat proses sterilisasi
<i>Tissue</i>	Sebagai bahan untuk membersihkan alat yang telah digunakan
Kapas	Sebagai bahan untuk menutup tabung reaksi dan <i>erlenmeyer</i> yang hendak disterilkan
Etanol 96%	Sebagai bahan pelarut daun buah mengkudu pada proses perendaman
Kertas Saring	Sebagai bahan untuk menyaring ekstrak basah buah mengkudu
Akuades	Sebagai bahan pelarut dalam pengenceran bakteri
Alumunium Foil	Sebagai bahan untuk menutup ujung tabung reaksi dan <i>Erlenmeyer</i> pada saat disterilkan
Spiritus	Sebagai bahan bakar dari bunsen
Kertas cakram 6mm	Sebagai bahan untuk mengetahui besar daya hambat ekstrak kasar buah mengkudu

### 3.2 Metode Penelitian

Metode eksperimen menurut Nazir (1988), penelitian eksperimental adalah penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap obyek penelitian serta adanya kontrol. Tujuan penelitian eksperimental adalah untuk menyelidiki kemungkinan saling hubungan sebab-akibat dengan cara mengenakan kepada satu atau lebih kelompok eksperimental, satu atau lebih kondisi perlakuan dan membandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Menurut Hanafiah (2013), Rancangan Acak Lengkap (RAL) merupakan rancangan yang paling sederhana jika dibandingkan dengan rancangan-rancangan lainnya. Dalam rancangan ini tidak terdapat lokal kontrol, sehingga sumber keragaman yang diamati hanya perlakuan dengan galat. Kondisi ini hanya dicapai di ruangan-ruangan terkontrol seperti di laboratorium.

$$Y = \mu + \tau + \varepsilon$$

Keterangan :

$\mu$  = nilai rerata harapan ( *mean* )

$\tau$  = pengaruh faktor perlakuan

$\varepsilon$  = pengaruh galat

Penelitian dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) dengan perlakuan yang diberikan adalah perbedaan konsentrasi ekstrak kasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) terhadap bakteri *P. fluorescens*. Dasar penelitian ini adalah penelitian pendahuluan untuk mengetahui dosis daya hambat yang tepat dalam penggunaan ekstrak kasar buah mengkudu (*M. citrifolia*).

Rancangan Percobaan yang digunakan yaitu menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan kontrol yang masing-masing dilakukan 3 kali ulangan dan 2 kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Denah penelitian yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 3.

<b>K+</b>	<b>A1</b>	<b>D1</b>	<b>B2</b>	<b>A3</b>	<b>D3</b>	<b>B3</b>
<b>B1</b>	<b>C3</b>	<b>A2</b>	<b>C1</b>	<b>D2</b>	<b>C2</b>	<b>K-</b>

**Gambar 3. Denah Penelitian**

Keterangan:

- A :Bakteri *P. fluorescens* ditanam pada media diberi ekstrakkasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) dengan dosis 60 ppt.
- B :Bakteri *P. fluorescens* ditanam pada media diberi ekstrakkasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) dengan dosis 65 ppt.
- C :Bakteri *P. fluorescens* ditanam pada media diberi ekstrakkasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) dengan dosis 70 ppt.
- D :Bakteri *P. fluorescens* ditanam pada media diberi ekstrakkasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) dengan dosis 75 ppt.
- K- :Bakteri *P. fluorescens* ditanam pada media tanpa diberi ekstrakkasar buah mengkudu (*M. citrifolia*).
- K+ :Ekstrak kasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) 100 % tanpa ditanam bakteri *P. fluorescens*

1,2 dan 3 : Sebagai ulangan

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan sabun cuci, dikeringkan kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas dan didikat dengan tali kasur.

- Akuades secukupnya dituang ke dalam *autoclave*, kemudian alat yang telah dibungkus kertas koran dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris.
- Tombol ON dinyalakan, setelah mencapai suhu 121<sup>0</sup>C dan tekanan menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit dengan cara membuka dan atau menutup kran uap yang berada di bagian atas tutup *autoclave*.
- Tombol OFF ditekan, ditunggu beberapa saat sampai suhu menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka kran uap lalu buka penutup *autoclave* dengan cara simetris.
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

#### 3.4.2 Sterilisasi Tempat Perlakuan

Selain alat dan bahan, tempat dan laboran harus steril guna menghindari kontaminan. Tangan laboran yang bersinggungan, meja dan barang disekitar tempat perlakuan harus selalu dalam kondisi aseptis. Sterilisasi tempat dapat dilakukan dengan cara kimia menggunakan alkohol maupun cara fisika dengan pembakaran langsung maupun dengan penyinaran dengan sinar UV. untuk foto kegiatan penelitian disajikan pada Lampiran 2.

#### 3.4.3 Pembuatan Ekstrak Kasar Buah Mengkudu

Pembuatan ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) yang pertama adalah buah mengkudu di cuci sampai bersih. Buah ditiriskan dan dipotong kecil-kecil. Buah yang sudah di potong selanjutnya dilakukan pengovenan dengan suhu 50<sup>0</sup>C selama 48 jam. Buah mengkudu yang kering selanjutnya dibuat

serbuk dengan cara di blender. Sehingga didapatkan ekstrak buah mengkudu berupa serbuk.

Serbuk mengkudu yang dihasilkan dilakukan perendaman (maserasi) dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1 : 7 yaitu setiap 1 gram serbuk mengkudu, dirtendam dalam 7 ml etanol. Serbuk mengkudu sebanyak 300 gr direndam dengan etanol sebesar 2,1 liter. Maserasi dilakukan selama 24 jam. Hasil yang didapatkan disaring dengan kertas saring sehingga didapatkan hasil cair yang kemudian dilakukan rotary evaporator, sehingga didapatkan ekstrak kental buah mengkudu sebesar 71,149 gr dengan nilai rendemen 23,83%. Untuk proses pembuatan ekstrak disajikan pada Lampiran 3.

### 3.5 Pembuatan Media

#### 3.5.1 PSA (*Pseudomonas Selective Agar*)

- PSA dengan dosis 25 gram/l.
- Ditimbang 7 gram PSA.
- Dimasukkan dalam erlenmeyer berisi 280 ml akuades.
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan alumunium foil lalu dibungkus dan diikat dengan tali, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- Media yang akan dipakai dibiarkan dingin.
- Dituang pada cawan petri tunggu dingin dan gunakan atau simpan pada lemari pendingin dengan diberi label.
- Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari pendingin.

#### 3.5.2 Tryptitone Soy Broth (TSB)

- TSB ditimbang 0,6 gram dilarutkan dalam 20 ml akuades dalam erlenmeyer kemudian diaduk hingga larut sempurna dan berwarna kuning.
- Erlenmeyer ditutup kapas dan alumunium foil lalu dibungkus dan diikat, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

- Media yang akan digunakan untuk pembiakan bakteri dibiarkan dingin karena bakteri akan mati bila diinokulasi pada media yang masih panas.

### 3.6 Pembiakan Bakteri *P. fluorescens*

- Larutan TSB disiapkan sebanyak 0,6 gram dalam *erlenmeyer* sebanyak 20 ml.
- Jarum osse dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum ose disentuhkan kebiakan murni *P.flourescens*kemudian dicelupkan ke TSB.
- Larutan TSB dibiarkan 12-24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C.
- Disiapkan petridisk yang berisi media PSA.
- Setelah TSB menjadi keruh, *cutton swap* dicelupkan ke TSB dan digoreskan ke permukaan PSA.
- Digoreskan ke dalam media PSA secara zig-zag.

### 3.7 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.7.1 Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*)

Pengamatan kualitatif terhadap ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri setelah diberi bahan biokontrol pada media cair dilakukan dengan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) berdasarkan Ruangpan dan Kitao (1992) sebagai berikut, untuk alur uji MIC disajikan pada Lampiran 5.

- Membuat larutan ekstrak buah mengkudu sesuai dosis
- Membuat TSB masing-masing 9 ml
- Diambil masing-masing 1 ml ekstrak dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi TSB.
- Diinokulasikan suspensi bakteri *P. flourescens* (setara dengan *Mc Farland Equivalence Turbidity Standard* 1,0) masing-masing  $10^7$  ke dalam tabung reaksi.
- Media uji selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

- Diamati pertumbuhan bakteri pada masing-masing perlakuan dengan melihat tingkat kekeruhannya dan dibandingkan dengan kontrol. apabila tampak keruh maka menandakan bakteri dapat tumbuh, hal ini berarti tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan sebaliknya.
- Bakteri yang tumbuh dapat dibedakan dari yang tidak tumbuh secara visual dan spektrofotometer dengan melihat kejernihan atau kekeruhan media uji MIC.

**Tabel 3. Hasil Uji MIC (*Minimum Inhibitor Concentration*) Skala Log**

Dosis	Hasil Spektrofotometri	Keterangan
0,01 ppt	1,910	Keruh
0,1 ppt	1,689	Keruh
1 ppt	1,455	Keruh
10 ppt	1,721	Jernih
100 ppt	1,570	Jernih
Kontrol +	0,888	Jernih
Kontrol -	0,919	Keruh

Dari hasil uji MIC skala log yang didapatkan, nilai absorbansi yang mendekati kontrol + sebesar 0,888 adalah dosis 10 ppt dan 100 ppt dengan nilai 1,721 dan 1,570, selanjutnya dilakukan uji MIC yang kedua untuk menentukan dosis yang akan digunakan dalam penelitian. Dengan dosis 50 ppt, 60 ppt, 70 ppt, 80 ppt, 90 ppt, dan 100 ppt. Untuk perhitungan dosis ekstrak ditujukan pada Lampiran 4.

### 3.7.2 Uji Cakram

Uji cakram merupakan pengujian untuk antibakteri dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terjadi di sekitar kertas cakram yang

mengandung bahan antibakteri sesuai dengan konsentrasi perlakuan (Pelczar dan Chan, 1986).

Uji cakram digunakan untuk mengetahui pada konsentrasi tertentu yang dapat menghambat bakteri yang bersifat bakteristatik (menghambat bakteri) setelah pengamatan 24 jam. Kertas cakram yang telah direndam dengan zat antibakteri diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme yang diuji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antibakteri terlihat sebagai wilayah yang jernih di sekitar pertumbuhan mikroorganisme. Untuk uji cakram disajikan pada Lampiran 6.

Prosedur pelaksanaan Uji cakram adalah :

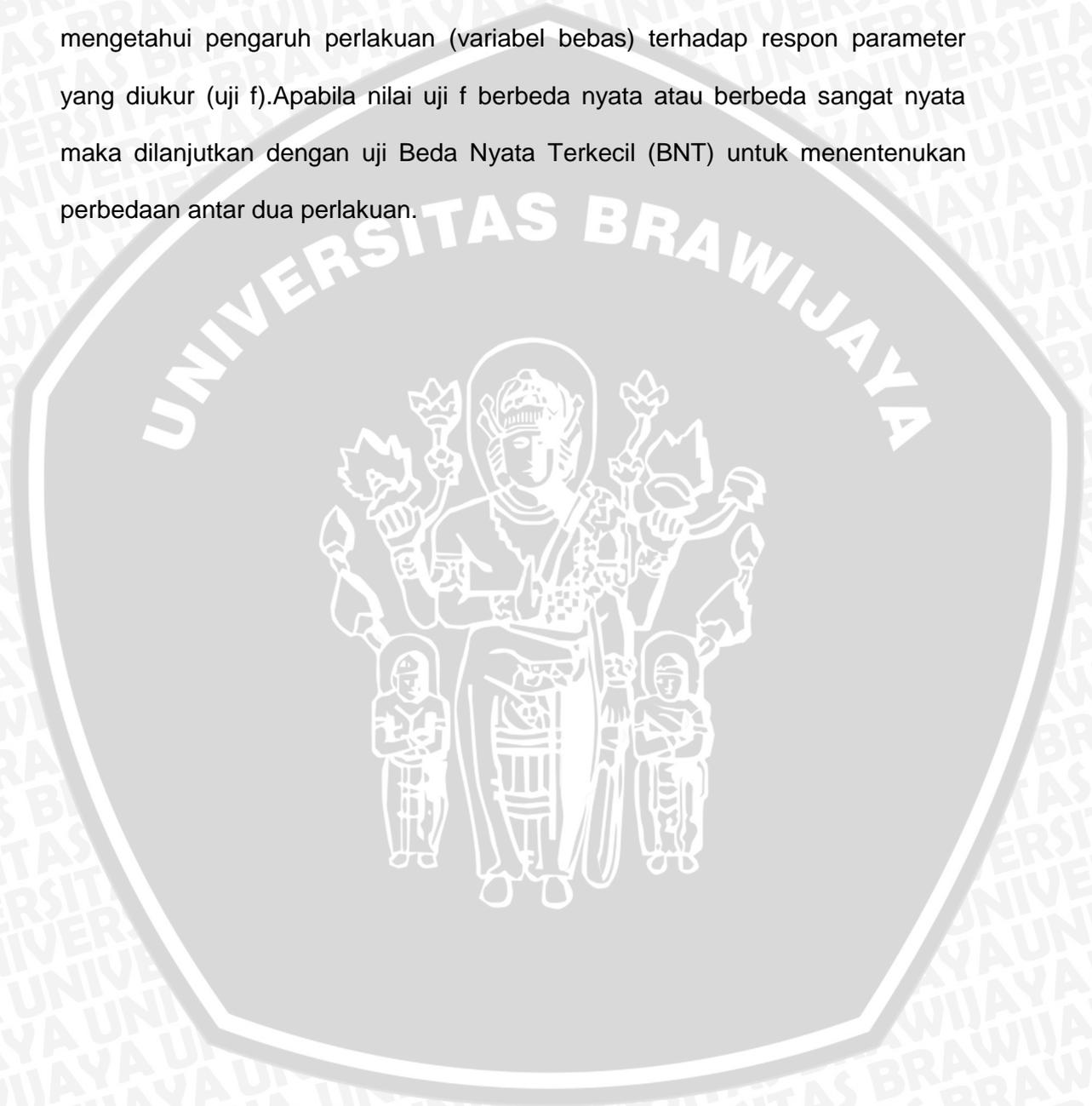
- Disiapkan petridisk yang telah terdapat media PSA .
- Disiapkan konsentrasi ekstrak kasar buah mengkudu untuk uji cakram.
- Kertas cakram direndam ke dalam ekstrak buah mengkudu berdasarkan konsentrasi yang telah ditentukan.
- Kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak kasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) ditiriskan dan diletakkan pada permukaan lempeng agar.
- Dibaca hasil setelah diinkubasi pada suhu ruang 37°C selama 24 jam dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram

### 3.8 Parameter Uji

Parameter utama dalam penelitian ini adalah hasil pengamatan yaitu hasil uji MIC (*Minimum Inhibiting Concetration*) dan zona bening yang terlihat di sekitar kertas cakram yang sudah ditumbuhi oleh bakteri *P. flourescens*. Parameter penunjangnya adalah lama perendaman kertas cakram pada ekstrak kasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) selama 15 menit.

### 3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman atau uji f (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur (uji f). Apabila nilai uji f berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan perbedaan antar dua perlakuan.



## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Identifikasi Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

Bakteri *P. fluorescens* adalah bakteri gram negatif yang berbentuk batang, hidup pada tanah serta air dan dapat tumbuh sampai suhu mencapai 37 °C. Bakteri ini menyerang ikan air tawar seperti ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Selain itu bakteri *P. fluorescens* biasanya menyerang organ – organ dalam dan beberapa kasus dapat menyebabkan kematian.

Pada penelitian ini bakteri yang digunakan adalah isolat murni yang diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau Jepara. Kemudian dilakukan peremajaan bakteri pada media agar miring dengan menggunakan PSA (*Pseudomonas Selective Agar*) dalam peremajaan metode gores dan pada media cair yakni TSB (*Tryptone Soya Broth*). Untuk hasil uji biokimia bakteri *P. flourescens* disajikan pada Tabel 4, dan untuk hasil uji yang resmi disajikan pada Lampiran 7.

**Tabel 4. Uji Kimia Bakteri *Pseudomonas fluorescens***

Uji Bio Kimia	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Bentuk	Batang
Gram	-
Swarming	-
Oxidase	+
Indol	-
Metil Red	-
VP	-
Citrat	+
OF Medium	0
Growth 37°C	+
Pigmen fluorescens	+
Urea Hydrolysis	-

## 4.2 Daya Antibakterial Ekstrak Kasar Buah Mengkudu (*M.citrifolia*)

### 4.2.1 Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*)

Uji MIC dilakukan untuk mengetahui dosis minimum yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *P. flourescens* dengan menggunakan ekstrak kasar buah mengkudu (*M. citrifolia*). *Minimum inhibitory concentration* (MIC) adalah konsentrasi antimikroba terendah yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam. Nilai mic dapat yang terlihat dari ditentukan oleh sejumlah prosedur pengujian standar menurut Wahi, Arti dan Ajit (2011). Hasil dari uji MIC disajikan pada Tabel 5.

**Tabel 5. Hasil Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*) pada Perlakuan Dosis Ekstrak yang Berbeda-beda**

Dosis	Hasil Spektrofotometri	keterangan
50 ppt	0,503	Keruh
60 ppt	0,938	Jernih
70 ppt	0,672	Jernih
80 ppt	0,753	Keruh
90 ppt	0,705	Keruh
100 ppt	0,785	Keruh
Kontrol +	0,888	Jernih
Kontrol -	1,060	Keruh

Dari hasil uji MIC yang menunjukkan jernih pertama kali adalah pada dosis 60 ppt yaitu dengan hasil spektrofotometer sebesar 0,938 dan mendekati nilai kontrol + yaitu sebesar 0,888. Uji MIC dilakukan dengan cara menentukan konsentrasi terendah dari ekstrak buah mengkudu yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji. Kemudian dilakukan pengamatan kualitatif yaitu dengan melihat adanya kekeruhan pada media sebagai indikasi adanya pertumbuhan bakteri setelah 24 jam inkubasi pada suhu 37°C dan bila

mediannya bening diindikasikan tidak ada pertumbuhan bakteri. Kemudian dilakukan pengamatan dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 550 nm untuk mengetahui hasil absorbansi dari tiap dosis perlakuan yang berbeda.

Pada dosis 80 ppt hasil menunjukkan kekeruhan lagi, hal ini disebabkan adanya pertumbuhan bakteri lagi, sehingga dapat diartikan bahwa ekstrak kasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) bersifat menghambat bakteri atau bakteristatik. Selain itu menurut Wardani, Tjahjaningsih dan Raharjda (2012), menyatakan bahwa hasil uji MIC yang dilakukn tidak semua nilai absorbansinya sesuai, dikarenakan warna ekstrak dapat mempengaruhi pembacaan spektrofotometer terhadap perlakuan yang dilakukan.

#### 4.2.2 Uji Cakram

Dalam mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak kasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) maka diperlukan uji daya hambat dengan menggunakan kertas cakram. Menurut Jannata, Achmad dan Tantin (2014), Zona hambat merupakan daerah atau wilayah jernih yang tampak di sekeliling kertas cakram. Semakin besar diameter zonanya, berarti semakin besar daya antibakterinya.

Dari hasil uji MIC, dosis yang digunakan dalam penelitian ini antara lain 60 ppt, 65 ppt, 70 ppt, dan 75 ppt. Dikatakan dengan zona hambat atau zona bening yaitu apabila tidak tumbuhnya bakteri *P. fluorescens* disekitar kertas cakram ukuran 6 mm yang telah direndam dengan ekstrak buah mengkudu sesuai dengan dosis. Untuk mengetahui nilai dari kenormalan data dilakukan uji kenormalan data yang ditunjukkan pada Lampiran 9. Hasil data pengukuran zona bening ditunjukkan pada Tabel 6 dibawah ini.

**Tabel 6. Data Rata – Rata Hasil Pengukuran Zona Bening**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata (mm)
	1	2	3		
A (60)	5,78	5,51	4,92	16,21	5,4033
B (65)	9,85	9,31	9,14	28,3	9,4333
C (70)	10,13	10,98	10,51	31,62	10,5400
D (75)	14,17	14,09	14	42,26	14,0867
Total				118,39	

Hasil dari uji cakram ditunjukkan pada Lampiran 8. Dapat dilihat pada tabel diatas yaitu perlakuan A (60 ppt) didapatkan rata – rata zona bening sebesar 5,4 mm, pada perlakuan B (65 ppt) rata – rata zona bening sebesar 9,4 mm, untuk perlakuan C dengan dosis sebesar 70 ppt didapatkan rata – rata zona bening sebesar 10,5 mm dan untuk perlakuan D dengan dosis 75 ppt didapatkan rata – rata zona bening sebesar 14,0 mm. Semakin lebar zona bening maka semakin kuat pula ekstrak dalam menghambat bakteri *P. fluorescens*. Dari keempat konsentrasi yang diujikan menunjukkan adanya zona bening disekitar kertas cakram yang telah direndam dengan ekstrak kasar buah mengkudu. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak kasar buah mengkudu mampu menghambat bakteri atau bersifat bakteristatik yang ditimbulkan oleh adanya senyawa flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak kasar buah mengkudu. Menurut Davis dan Stout (1971) dalam Ngajow, Jemmy dan Vanda (2012), kriteria kekuatan daya antibakteri berdasarkan diameter yaitu, diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, diameter zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, diameter zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Dari hasil penelitian ini bida dikategorikan dalam zona hambat yang kuat, dimana rata-rata zona hambat paling tinggi sebesar 14,0 mm.

Dari hasil pengukuran zona bening tersebut dilanjutkan dengan perhitungan menggunakan sidik ragam yang bertujuan untuk mengetahui

pengaruh perlakuan. Hasil sidik ragam tentang pengaruh pemberian ekstrak buah mengkudu dengan berbagai konsentrasi terhadap bakteri *P. fluorescens* dapat dilihat pada Tabel 7, sementara perhitungan sidik ragamnya disajikan pada Lampiran 9.

**Tabel 7. Hasil Analisa Sidik Ragam Diameter Zona Hambat**

SK	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	115,113	38,3709	295,502**	4,07	7,59
Acak	8	1,0388	0,12985			
Total	11	116,151				

Keterangan : \*\* = Berbeda sangat nyata

Pada perhitungan sidik ragam diatas menunjukkan pengaruh pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*M. Citrifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* adalah berbeda sangat nyata. Hal ini dapat dilihat dari hasil perhitungan F. Hitung yang lebih besar dari F. Tabel 5 % dan 1%, yaitu F.Hitung sebesar 295,502 lebih besar dari F. Tabel 5% dan 1% sebesar 4,07 dan 7,59. Selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan seperti dilihat pada Tabel 8.

**Tabel 8. Hasil Uji Beda Nyata (BNT) Ekstrak Kasar Buah Mengkudu (*M. citrifolia*) terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *P. fluorescens***

	A	B	C	D	Notasi	
Rerata perlakuan	5,40	9,43	10,54	14,09		
A	5,40	0,00			a	
B	9,43	4,03**	0,00		b	
C	10,54	5,14**	1,11**	0,00	c	
D	14,09	8,68**	4,65**	3,55**	0,00	d

Keterangan :

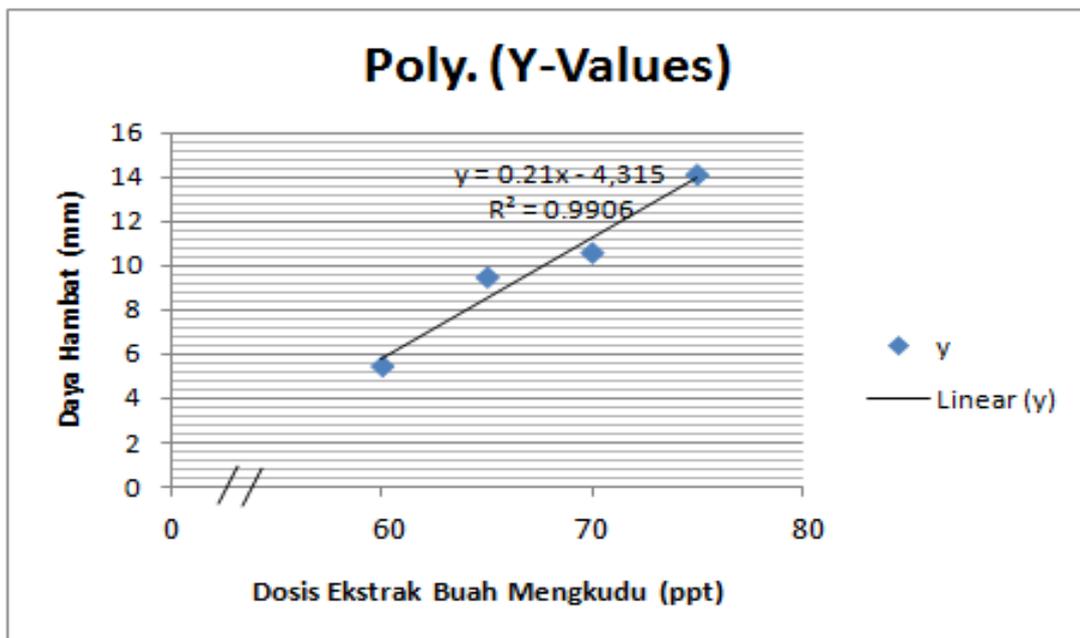
\*) Berbeda nyata

\*\* ) Berbeda Sangat Nyata

Pada Tabel 8 menunjukkan bahwa perlakuan A memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan B, perlakuan C dan perlakuan D sehingga diberi notasi a. sedangkan untuk perlakuan B terhadap perlakuan A memberikan pengaruh berbeda sangat nyata, sehingga diberi notasi b. Perlakuan C memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A,

dan perlakuan C juga memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan B, sehingga diberi notasi c. Dan untuk perlakuan D memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A, perlakuan B dan perlakuan C, sehingga diberi notasi d.

Untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji yaitu daya hambat bakteri *P. fluorescens*, maka dilakukan uji polinomial orthogonal. Hasil uji polinomial orthogonal ditunjukkan pada Gambar 4 dan untuk perhitungan uji polinomial orthogonal pada Lampiran 3.



**Gambar 4. Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak Buah Mengkudu (*M.citrifolia*) Terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *P. fluorescens***

Berdasarkan hasil uji polynomial orthogonal yang ditunjukkan pada Gambar diatas menunjukkan bahwa hubungan antara perbedaan dosis ekstrak buah mengkudu (*M.citrifolia*) terhadap diameter zona hambat bakteri *P. fluorescens* menghasilkan hubungan atau grafik secara linear dengan persamaan  $y = 0.21x - 4.315$  dengan nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,9906. Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa pada dosis 60 ppt sudah dapat

menghambat bakteri *P. fluorescens* yaitu ditandai dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram, dosis tertinggi ekstrak buah mengkudu (*M.citrifolia*) terdapat pada dosis 75 ppt yang artinya bahwa dosis tersebut mampu menghambat bakteri *P. fluorescens* dalam sistem kerja daya hambatnya. Pada dosis 60 ppt hingga 75 ppt tampak pada grafik bahwa tidak ada penurunan daya hambat, hal ini diduga ekstrak kasar buah mengkudu (*M. Citrifolia*) masih mampu menghambat bakteri *P. fluorescens*. Terjadinya peningkatan zona hambat ini diduga karena adanya senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak buah mengkudu (*M. Citrifolia*) dengan dosis yang berbeda. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pelezar dan Chan (1986), bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat pula. Hasil ini didukung oleh pernyataan Prawata dan Dewi (2008) dalam Roslizawaty, Nita, Fakhurrrazi, Herrialfian (2013), bahwa efektivitas suatu zat antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat tersebut. Meningkatnya konsentrasi zat menyebabkan meningkatnya kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuannya dalam membunuh suatu bakteri juga semakin besar. Pada umumnya, diameter zona hambat cenderung meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak.

Untuk mengetahui sifat antibakteri dari ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) maka dilakukan pengamatan setelah inkubasi selama 48 jam. Didapatkan hasil pengamatan setelah 48 jam bahwa daya hambat ekstrak kasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) terhadap bakteri *P. fluorescens* ini masih bersifat bakteristatik (menghambat pertumbuhan mikroba). Hal ini sesuai dengan pendapat Dewi (2010), yang menyatakan bahwa, ekstrak buahmengkudu memiliki aktivitas bakteristatik namun tidak memiliki aktivitasbakterisidal.Diduga adanya daya hambat pada bakteri *P. fluorescens* ini dikarenakan adanya

kandungan bahan aktif senyawa flavonoid di dalam ekstrak kasar buah mengkudu (*M. citrifolia*).

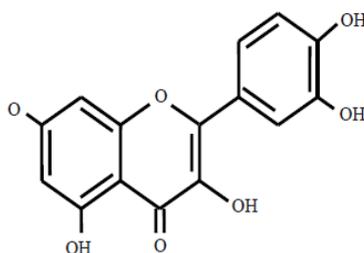
Menurut Dewi (2010), Aktivitas penghambatan pada bakteri gram positif lebih besar daripada bakteri gram negatif karena dalam buah mengkudu senyawa flavonoid merupakan bagian yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid yang nonpolar. Aktivitas penghambatan dari kandungan buah mengkudu pada bakteri Gram positif menyebabkan terganggunya fungsi dinding sel sebagai pemberi bentuk sel dan melindungi sel dari lisis osmotik. Dengan terganggunya dinding sel akan menyebabkan lisis pada sel.

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C<sub>6</sub>) terikat pada suatu rantai propan (C<sub>3</sub>) sehingga membentuk suatu susunan C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yakni 1,3-diarilpropan atau neoflavonoid (Gafur, Ishak dan Nurhayati, 2005).

Senyawa-senyawa flavonoid terdiri dari beberapa jenis tergantung pada tingkat oksidasi dari rantai propane dari sistem 1,3-diarilpropana. Flavon, flavonol dan antosianidin adalah jenis yang banyak ditemukan di alam sehingga sering disebut sebagai flavonoida utama. Banyaknya senyawa flavonoida ini disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi atau glikosilasi dari struktur tersebut. Penggolongan flavonoid berdasarkan penambahan rantai oksigen dan perbedaan distribusi dari gugus hidroksil (Gafur, Ishak dan Nurhayati, 2005)

Berbagai jenis senyawa, kandungan dan aktivitas antioksidatif flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada sereal, sayur-sayuran dan buah, telah banyak dipublikasikan. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Cuppett *et al.*, 1954 dalam Redha, 2010).

Menurut Volk dan Wheeler (1988) dalam Prajitno (2007), menjelaskan bahwa senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan – bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri. Pada perusakan membrane sitoplasma, ion  $H^+$  dan turunanya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membrane sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian.



**Gambar 5. Kerangka C6 – C3 – C6 Flavonoid**

Flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Pelarut polar seperti etanol, metanol, etilasetat,

atau campuran dari pelarut tersebut dapat digunakan untuk mengekstrak flavonoid dari jaringan tumbuhan (Rijke, 2005 dalam Gafur *et al.*, 2005).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Cowan, 1999). Menurut Cushnie dan Lamb (2005), selain berperan dalam inhibisi pada sintesis DNA – RNA dengan interkalasi atau ikatan hidrogen dengan penumpukan basa asam nukleat, flavonoid juga berperan dalam menghambat metabolisme energi. Senyawa ini akan mengganggu metabolisme energi dengan cara yang mirip dengan menghambat sistem respirasi, karena dibutuhkan energi yang cukup untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan untuk biosintesis makromolekul.

Parameter penunjang dari penelitian ini yaitu lama waktu perendaman kertas cakram pada perlakuan ekstrak kasar buah mengkudu (*M. Citrifolia*) dengan dosis yang berbeda. Perendaman kertas cakram yang dilakukan selama  $\pm 15$  menit. Lama waktu perendaman tersebut dilakukan agar bahan aktif dapat meresap ke dalam kertas cakram dan mencegah rusaknya kertas cakram akibat terlalu lama dilakukan perendaman.

Perendaman kertas cakram dilakukan selama 15 menit agar bahan aktif ekstrak yang digunakan dapat meresap ke dalam kertas cakram yang digunakan sehingga mampu menghambat bakteri pada saat perlakuan di dalam penelitian (Wiyanto, 2010).

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang uji daya hambat ekstrak kasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro* diperoleh kesimpulan bahwa pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) berpengaruh sangat nyata terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* serta semakin tinggi dosis yang diberikan, maka semakin tinggi pula daya hambat yang didapatkan dengan persamaan  $Y = 0.21x - 4.315$  dengan nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,9906.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dosis 60 ppt adalah dosis minimal yang dapat menghambat bakteri, sehingga dapat disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar buah (*M. Citrifolia*) secara *in vitro* dengan menggunakan dosis yang lebih tinggi agar mendapatkan dosis yang optimal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akhyar. 2010. Uji Daya Hambat dan Analisis KLT Bioautobiografi Ekstrak Akar dan Buah Bakau (*Rhizophora stylosa* Griff.) Terhadap *Vibrio* Harveyi. Skripsi. Universitas Hasanudin. Makassar. 52 hlm.
- Amar A, Sumarmo L, Makosim S, Magdalena M, dan Yulianto DT. 2004. Analisis mikroorganisme, kandungan alkohol dan asam lemak sari buah mengkudu dengan gas chromatography . Proseding Seminar Nasional dan Kongres Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI) Jakarta. 30 hlm.
- Bijanti, R. 2008. Potensi Sari Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*) Terhadap Kualitas Karkas, Kadar Vitamin C dan Kadar *Malonedialdehyde* (MDA) dalam Darah Ayam Pedaging. *Media Kedokteran Hewan*. **24** (1):43-48.
- Bradbury, J.F. 1986. Guide to Plant Pathogenic Bacteria. CAB International Mycological Institute. Ferry Lane, Kew Surrey, England. 329 pp.
- Buckle, K.A., Edwards, R.A., Fleet, G.H., dan Wootton, M. 1985. Ilmu Pangan (Terjemahan Hari Purnomo dan Adiono). Jakarta : Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. 29 hlm.
- Budhie, D.S. 2011. Potensi Buah Mengkudu Sebagai Pelarut Untuk Memisahkan Gas  $\text{CO}_2$  Dari Gas Alam Melalui Kontaktor Membran Serat Berlubang. Fakultas Teknik Program Studi Teknik Kimia Depok. 21 hlm.
- Cahyono, B. 2001. Budidaya Ikan Di Perairan Umum. Kanisius. Yogyakarta. 43 hlm.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products As Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. **12**(4) : 564–582.
- Cushnie, T.P., and Andrew J.L. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial*. **26**(2005):343–356.
- Darwis, D., Taty, E.B., Lely. H., dan Rahayu, C. 2005. Uji Daya Antimikroba Dan Sifat Fisiko-Kimia Pembalut Luka Hidrogel Steril Radiasi Yang Mengandung Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) . *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*. **1**(1):38-47.
- Dewi, F.K. . 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 38 hlm.
- Djauhariya, E. 2003. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Tanaman Obat Potensial. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. *Pengembangan Teknologi TRO*. **15**(1) : 1-16.

- Raharjo, M., dan Ma'un. 2006. Karakterisasi Morfologi dan Mutu Buah Mengkudu. *Buletin Plasma Nutfah*. **12**(1) : 1-8.
- Efri dan Titik, N.A.2004.Keefektifan Ekstrak Mnegkudu Pada Berbagai Konsentrasi Terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia sp.*Secara In Vitro.*Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan Tapioka*.**4**(2): 83-88.
- Gafur, M.A., Ishak, I., dan Nurhayati, B. 2005. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Jamblang (*Syzygium cumini*). Fakultas MIPA. Universitas Negeri. Gorontalo. 11 hlm.
- Hanafiah, K. A.. 2013. Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi Edisi 3. PT RajaGrafindo Persada. Jakarta. 259 hlm.
- Hariyati, L.F.2010. Aktivitas Antibakteri Berbagai Jenis Madu Terhadap Mikroba Pembusuk (*Pseudomonas Fluorescens* Fnc 0071 Dan *Pseudomonas Putida* Fnc 0070).Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.Surakarta. 35 hlm.
- Hastari, Rizka. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pelepah Dan Batang Tanaman Pisang Ambon (*Musa paradisiaca var.sapientum*)Terhadap *Staphylococcus aureus*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang. 57 hlm.
- Irianto, A. 2005.Patologi Ikan Teleostei. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.256 hlm.
- Jannata, R.H., Achmad, G., dan Tantin, E. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris*Mill.) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. **2** (1):23-28.
- Jauhari, E, dan Tirtoboma. 2001. Mengkudu (*Morinda citrifoli*) Tanaman Tradisional Multi Khasiat Warta Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Industri. **7**(2):1-3.
- Kartika.2009. Teknik Eksplorasi dan Pengembangan Bakteri *P. flouescens*.18 hlm.
- Kordi, M.G.H. 2004. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. PT. Rineka Cipta dan Bina Adiaksara.Jakarta.190 hlm.
- Lay, B.W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 168 hlm.
- Lendri, Sadjim. 2003. Teknik pembibitan mengkudu pada berbagai media. *Buletin Teknik Pertanian* **8**(1).
- Mawaddah, R. 2008. Kajian Hasil Riset Potensi Antimikroba Alami Dan Aplikasinya Dalam Bahan Pangan di Pusat Informasi Teknologi Pertanian .Fateta Ipb. <http://rep ositoryipb.ac.id/ bitstream/handle/1234 56789/1377 8/F08 sma>. 34 hlm.
- Ngajow, M., Jemmy, A., dan Vanda S.K.2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal Mipa Unsrat Online*. **2**(2):128-132.

- Pasaraeng, E ., Jemmy, A., dan Max, R. J. R.2013.Pemanfaatan Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*Val) Dalam Upaya Mempertahankan Mutu Ikan Layang (*Decapterus*sp).*Jurnal Mipa Unsrat Online*. **2** (2):84-87.
- Pelczar, M.J dan E.C.S. Chan. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi I. Universitas Indonesia. Jakarta. 443 hlm.
- Prajitno, A. 2005. Diktat Parasit dan Penyakit Ikan .Fakultas Perikanan.Universitas Brawijaya. Malang. 105 hlm.
- 2007. Penyakit Ikan – Udang: Bakteri. Penerbit Universitas Negeri Malang: Malang. 115 hlm.
- Puspitasari, G., Sri, M., Dan Herawati.2009.Uji Daya Antibakteri Perasan Buah Mengkudu Matang (*Morinda Citrifolia*) Terhadap Bakteri *Methicillin Resistan Staphylococcus Aureus (Mrsa)* M.2036.T Secara *In Vitro*.7 hlm.
- Rahmawati, H., Dede, H. 2012.Strategi Pengembangan Usaha Budidaya Ikan air Tawar.*Jurnal Penelitian Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*.**1**(2).129 hlm.
- Redha, A. 2010. Flavonoid Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis .*Jurnal Belian*.**9**(2) :196 – 202.
- Rinawati, N.D.2012.Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia Cujete* L.) Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticu*.JurusanBiologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam. ITS.Surabaya.13 hlm.
- Roslizawaty, Nita Y.R., Fakhurrizidan Herrialfian.2013.Aktivitas Antibakterial Ekstrak Etanol Dan Rebusan Sarang Semut (*Myrmecodia* Sp.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*.*Jurnal Medika Veterinaria*. **7** (2):91-94.
- Rostinawati , T.2010.Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Tespong (*Oenanthe Javavica* D.C) Terhadap *Eschericia Coli*, *Staphylococcus aureus* Dan *Candida albicans*. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.Jatinangor. 23 hlm.
- Rukamana, H.R. 1997. Ikan Nila Budidaya dan Prospek Agribisnis.Kanisius.Yogyakarta.87 hlm.
- H.R. 2002. Mengkudu Budidaya danProspek Agribisnis. Penerbit Kanisius. 87 hlm.
- Supriadi. 2006. Analisis Risiko Agens Hayati UntukPengendalian Patogen Pada Tanaman. *Jurnal Litbang Pertanian*. **25**(3):75-80.
- Suryowinoto, S. M. 1997. Flora Eksotika, Tanaman Peneduh. Penerbit Kanisius,Yogyakarta.45 hlm.
- Waha, Maria Goretti. 2001. Sehat dengan mengkudu.MSF Group. Jakarta. 44 hlm.

- Wahi,A.K., Arti, S., dan Ajit, K.S. 2011. Determination Of Minimum Inhibitory Concentration (Mic) Of Some Novel Triazole Derivative. *International Journal Of Research In Pharmacy And Chemistry*.1(4) :1108-1114.
- Wardani, R,K., W, Tjahjaningsih dan B, S, Raharjda. 2012. Uji Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Rocatum*) Terhadap Bakteri *AeromonasHydrophila* Secara *In Vitro*. *Jurnal perikanan dan Kelautan*.4(1): 59-64 hlm.
- Widayat, W. 2006. Khasiat Buah Mengkudu.Khasiat Buah Mengkudu.14 hlm.
- Wiyanto,D,B. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Kappaphycus Alvarezii* dan *Eucheuma Denticullatum* Terhadap Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Dan *Vibrio harveyii*. *Jurnal Kelautan*. 3(1): 1-17.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## LAMPIRAN

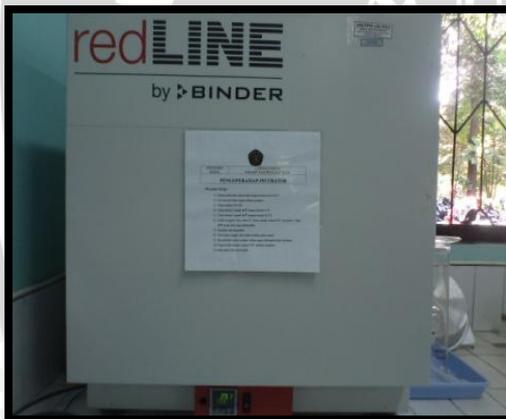
### Lampiran 1. Foto Alat Penelitian



**Kulkas**



**Autoklaf**



**Inkubator**



**Erlenmeyer**

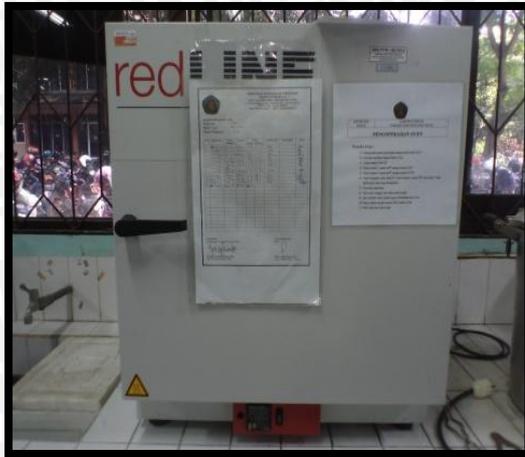


**Laminar Air Flow (LAF)**



**Vortex**

Lampiran 1. (Lanjutan)



Oven



Bunsen



Cawan Petri



Micropipet

## Lampiran 2. Kegiatan Penelitian



Pencucian Mengkudu



Pengovenan Mengkudu



Penimbangan PSA



Pembuatan Media PSA



Penimbangan Ekstrak



Penuangan Media

Lanjutan Lampiran 2. (Lanjutan)



Pengenceran Bakteri



Penumbuhan Bakteri pada Media



Perendaman Kertas Cakram



Peletakan Kertas Cakram



Pengukuran Diameter Zona Hambat



Uji MIC

Lampiran 3. Proses Ekstraksi Buah Mengkudu (*M. citrifolia*)



Buah mengkudu dicuci



Buah dipotong



Buah dioven



Buah dihaluskan



Buah ditimbang



Buah dimaserasi



Dilakukan pemisahan pelarut dengan *Vaccum Rotary Evaporator*



Hasil

#### Lampiran 4. Penentuan Dosis Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

Setelah bahan yang akan digunakan sudah siap kemudian dilakukan persiapan perendaman (maserasi) dimana serbuk buah mengkudu sebanyak 300 gr dimaserasi dalam etanol 96% dengan perbandingan 1 : 7 sebanyak 2,1 L selama 24 jam dan dilakukan dalam suhu kamar. Larutan yang sudah didapat kemudian disaring menggunakan kertas saring kemudian diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak buah mengkudu sebanyak 71,149 gr, selanjutnya dilakukan pengukuran dosis (ppt) untuk menentukan dosis ekstrak kasar buah mengkudu (*M. citrifolia*) dan ditambahkan akuades.

- 60 ppt

Ditimbang ekstrak kasar daun mengkudu sebesar 0,06 gram dan ditambahkan 1 ml dan menghasilkan 1ml ekstrak kasar buah mengkudu dengan konsentrasi 60 ppt.

- 65 ppt

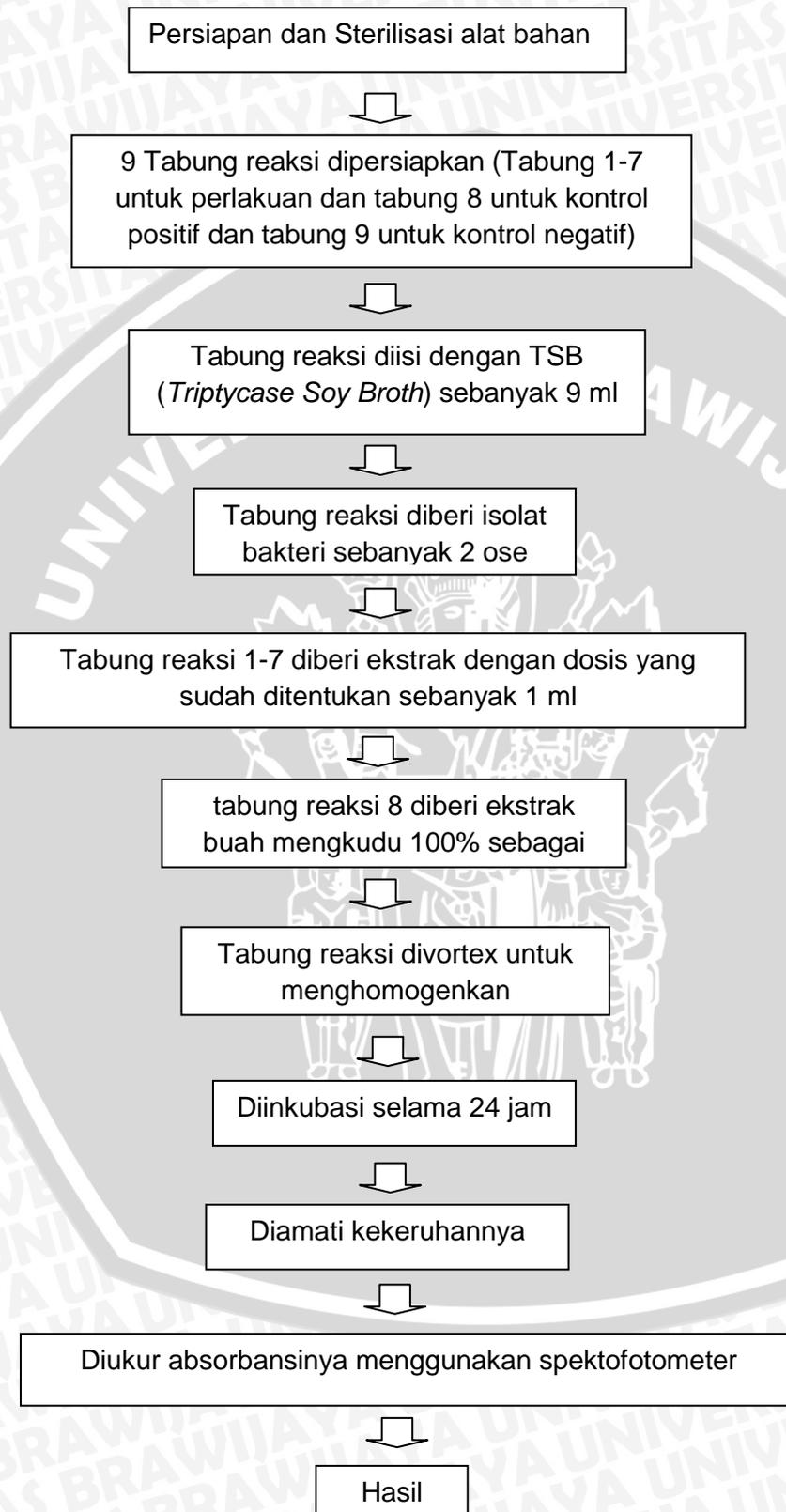
Ditimbang ekstrak kasar daun mengkudu sebesar 0,065 gram dan ditambahkan 1 ml dan menghasilkan 1ml ekstrak kasar buah mengkudu dengan konsentrasi 65 ppt.

- 70 ppt

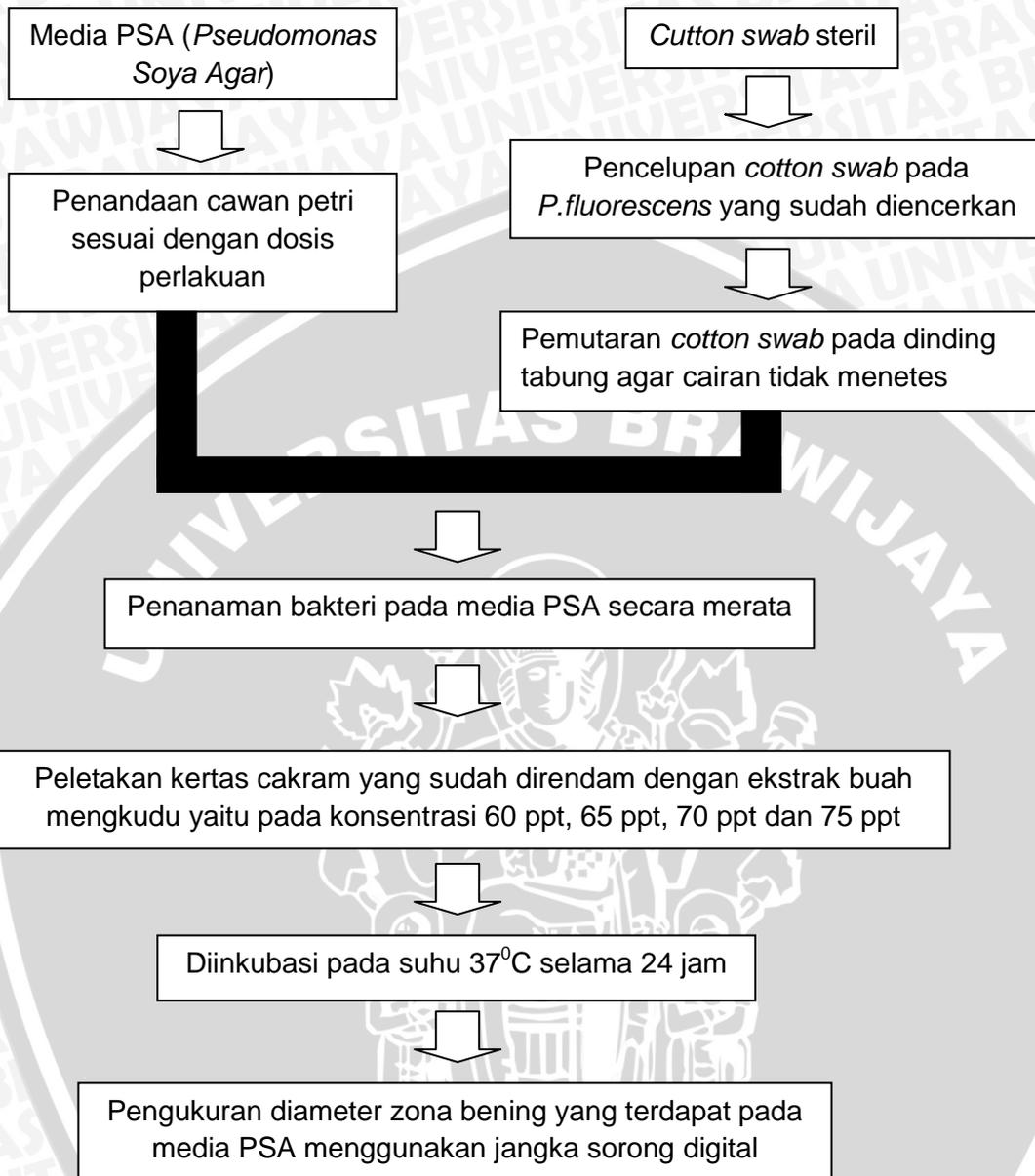
Ditimbang ekstrak kasar daun mengkudu sebesar 0,07 gram dan ditambahkan 1 ml dan menghasilkan 1ml ekstrak kasar buah mengkudu dengan konsentrasi 70 ppt.

- 75 ppt

Ditimbang ekstrak kasar daun mengkudu sebesar 0,075 gram dan ditambahkan 1 ml dan menghasilkan 1ml ekstrak kasar buah mengkudu dengan konsentrasi 75 ppt.

**Lampiran 5. Skema Kerja MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*)**

## Lampiran 6. Skema Kerja Uji Cakram



Lampiran 7. Hasil Uji Biokimia Bakteri *P. fluorescens* dari BBPBAP Jepara

LAPORAN HASIL UJI BIOKIMIA

Hal : Uji biokimia Identifikasi Bakteri  
 Jenis contoh : Isolat bakteri  
 Metode : Lewis (1973)  
 Hasil :

Uji Bio Kimia	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Bentuk	batang
Gram	-
Swaming	-
Oxidase	+
Indol	-
Metil Red	-
VP	-
Citrat	+
OF Medium	O
Growth 37 °C	+
Pigmen fluorescens	+
Urea Hydrolysis	-

Penyelia  
 Laboratorium Mikrobiologi  
 T.PMPB BBPBAP –Jepara



(Sri Marti Astuti, SP.)  
 NIP. 19651106 199103 2001




### Lampiran 7. (Lanjutan)

Dari kultur murni bakteri *Pseudomonas fluorescens* dilakukan identifikasi dengan cara pengujian warna, o/f, motility(indol), gelatine, catalase dan oxidase. adapun uji identifikasi sebagai berikut:

- Pengujian Warna

Untuk pengujian warna bakteri, maka dilakukan pewarnaan dengan metode gram yaitu dengan menggunakan preparat ulas yang difiksasi pada larutan kristal violet, ethyl alkohol, iodine, safranin serta aquades untuk membilas preparat. Untuk membedakan antara gram positif dan negatif maka apabila preparat berwarna ungu gelap maka termasuk kedalam gram positif, tetapi jika preparat berwarna merah atau merah muda maka termasuk kedalam gram negatif.

- Motility

Uji motility ini dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri ini bersifat motil atau tidak, cara yang digunakan adalah menggunakan tabung yang sudah berisi motility sulfide (Difco) , kemudian di inokulasi bakteri pada tabung, ditetesi dengan erlich A dan B sebanyak 3 tetes dan dikocok tabung, lalu di inkubasi selama 24 jam. Bila ada warna putih – putih di luar atau di atas inokulasi, maka bakteri motylity (bergerak).

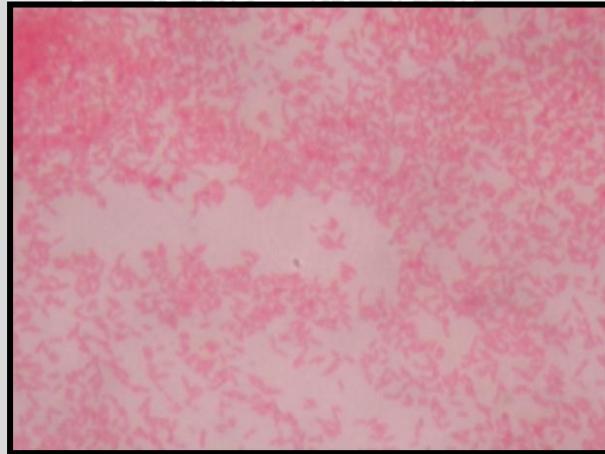
- Aktifitas Oksidasi

Aktifitas oksidatif ini bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri berifat oksidatif , dilakukan dengan menggunakan filter paper yang di letakkan pada petri disk dan di tambahkan dengan regent oksidasi sebanyak 2 – 3 tetes, kemudian di inokulasi bakteri. Apabila kertas berwarna ungu maka termasuk

gram positif, namun apabila kertas berwarna kuning maka termasuk gram negatif.

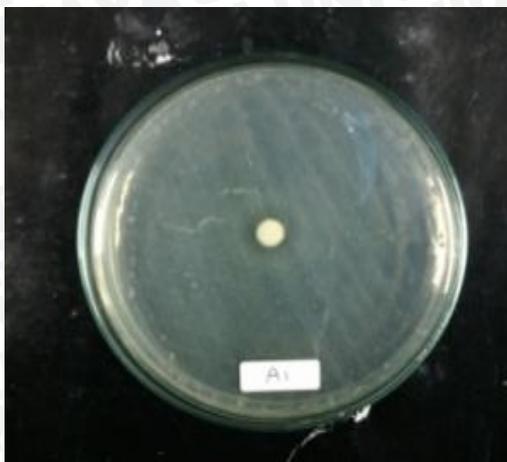
- Aktifitas Oxidase Fermentatif (O/F)

Aktifitas oksidatif bertujuan untuk mengetahui bakteri bersifat oksidatif, fermentatif ataukah non oksidasi fermentatif. Maka dilakukan dengan menggunakan tabung yang berisi O/F dan diinokulasikan bakteri dan ditambahkan parafin cair yang steril, lalu diinkubasi selama 24 jam, apabila hasil warna yang keluar berwarna kuning maka termasuk fermentatif, apabila berwarna kuning/hijau maka termasuk kedalam oksidasi dan apabila berwarna hijau maka termasuk non oksidasi fermentatif.

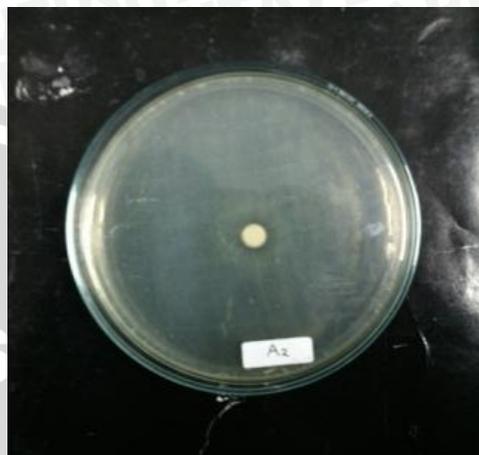


**Bakteri *Pseudomonas fluorescens***

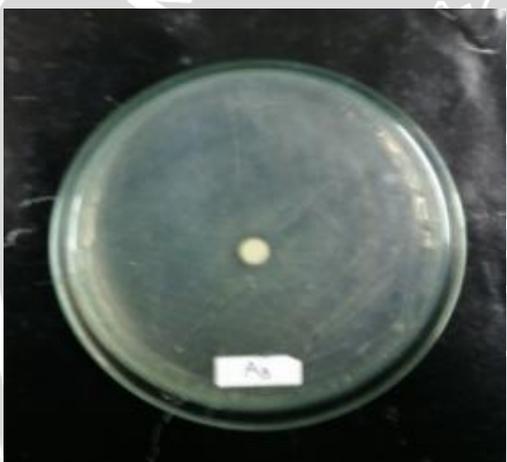
Lampiran 8. Hasil Uji Cakram Ekstrak Kasar Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Pada Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens*



A1



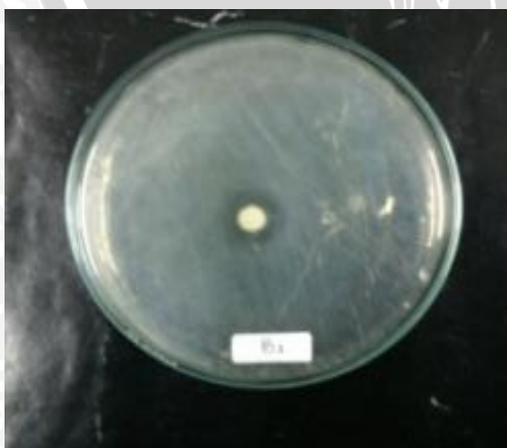
A2



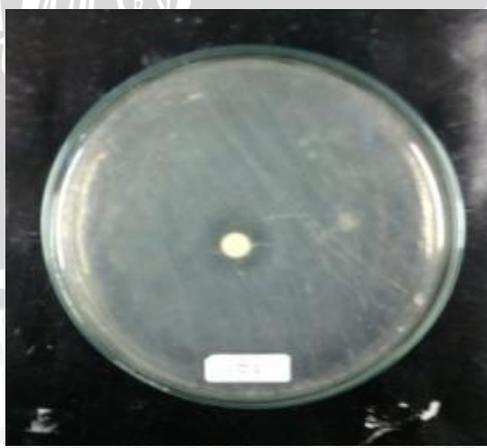
A3



B1



B2

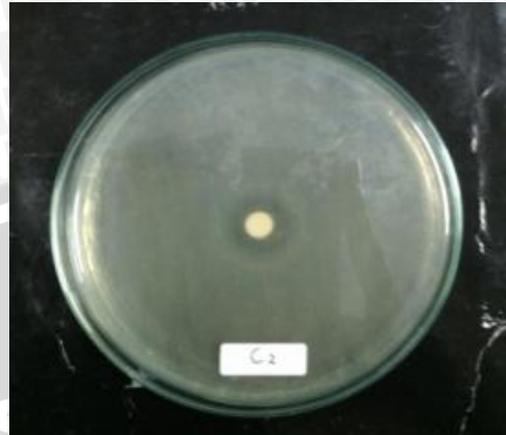


B3

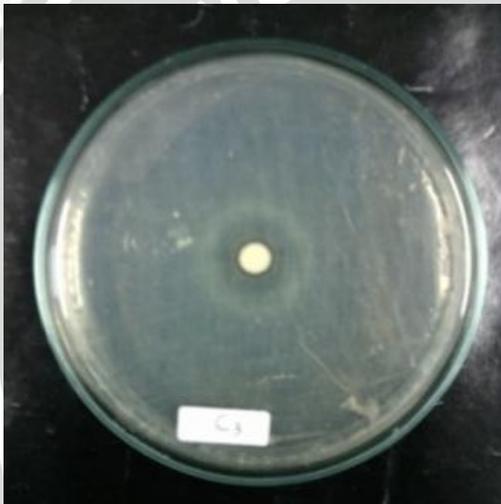
Lampiran 8 (Lanjutan)



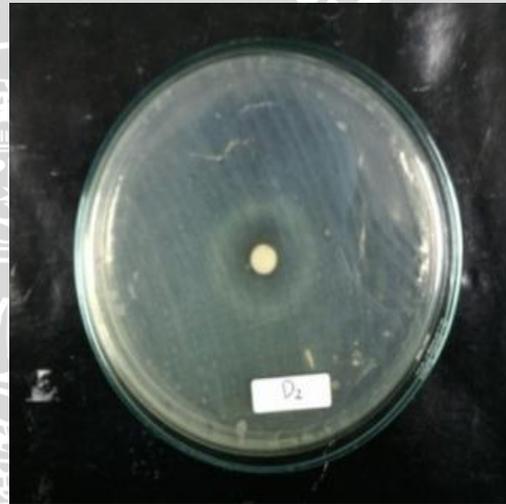
C1



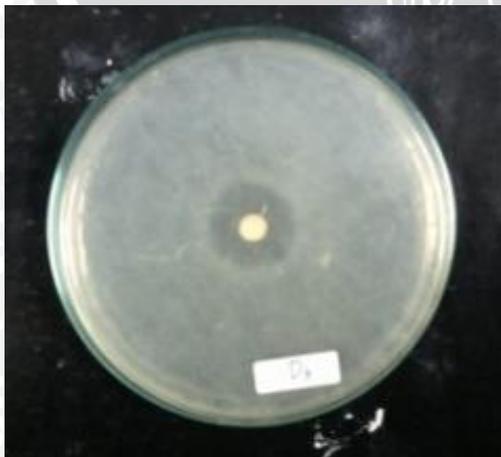
C2



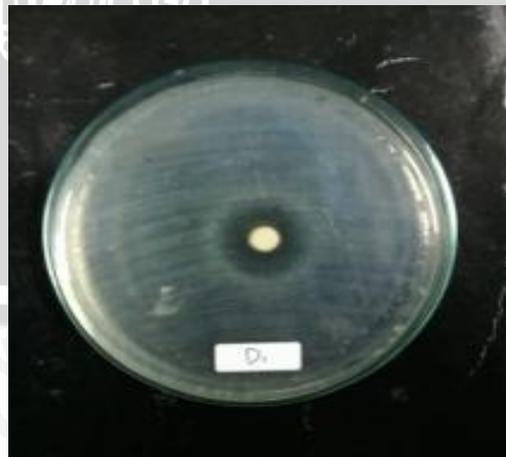
C3



D1



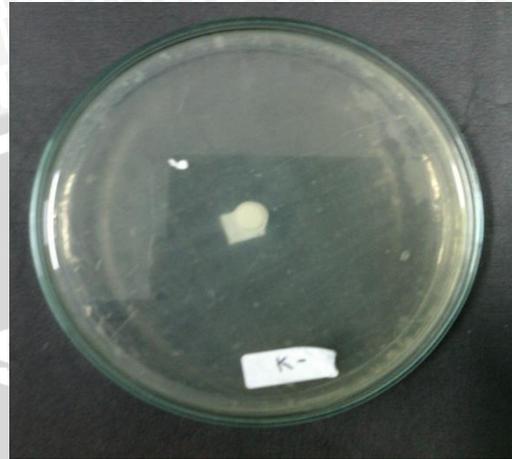
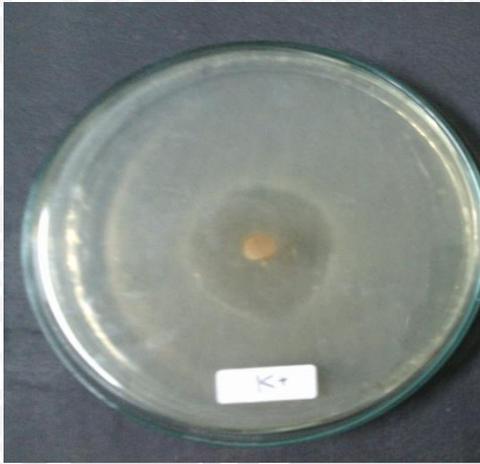
D2



D3

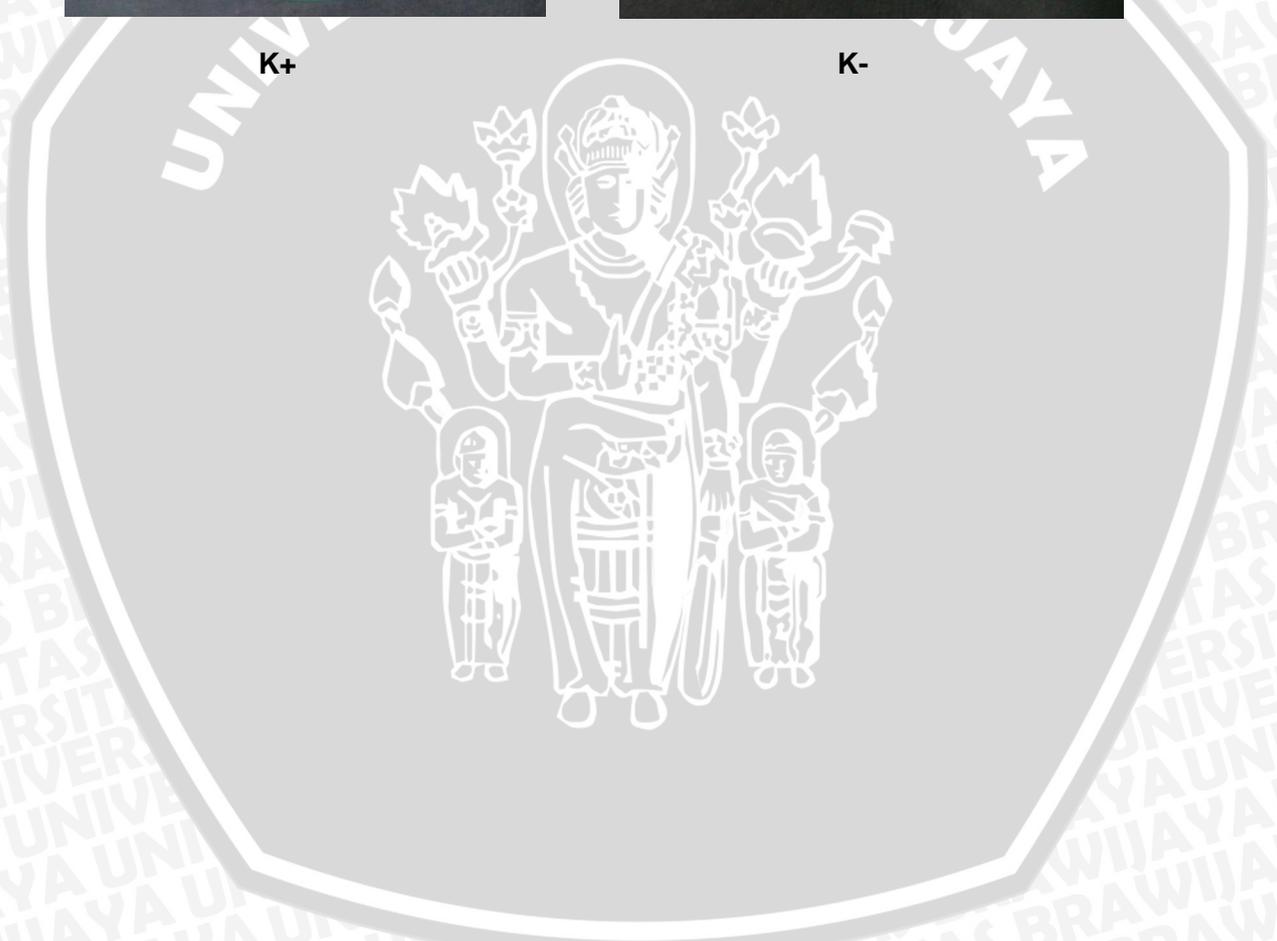


Lampiran 8 (Lanjutan)



K+

K-



Lampiran 9. Perhitungan Statistik Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Buah Mengkudu (*M. citrifolia*)

- Data Rata-Rata Diameter Daya Hambat (mm) Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata (mm)
	1	2	3		
A (60)	5,78	5,51	4,92	16,21	5,4033
B (65)	9,85	9,31	9,14	28,3	9,4333
C (70)	10,13	10,98	10,51	31,62	10,5400
D (75)	14,17	14,09	14	42,26	14,0867
Total				118,39	

- Perhitungan

FK	$\frac{118,39^2}{4 \times 3}$	1168,02
JK Total	$(A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK$	116,151
JK Perlakuan	$\frac{(\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2)}{3} - FK$	115,113
JK Acak	JK Total - JK Perlakuan	1,039
KT	JK/db	

- Analisa Sidik Ragam

SK	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	115,113	38,3709	295,502**	4,07	7,59
Acak	8	1,0388	0,12985			
Total	11	116,151				

F 5% < F.hitung > F 1% = berbeda sangat nyata

Keterangan :

\*\* : berbeda sangat nyata

- UJI BNT

SED	$\sqrt{\frac{2 \times \text{KT acak}}{3}}$	0,29422
BNT 5%	t tabel 5 % (db acak) x SED	0,67847
BNT 1 %	t tabel 1 % (db acak) x SED	0,98711

Lampiran 3. (Lanjutan)

- **Tabel Uji BNT**

		A	B	C	D	Notasi
Rerata perlakuan		5,40	9,43	10,54	14,09	
A	5,40	0,00				a
B	9,43	4,03	0,00			b
C	10,54	5,14	1,11	0,00		c
D	14,09	8,68	4,65	3,55	0,00	d

- **Uji polinomial orthogonal**

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan Ci		
		Linear	Kuadratik	Kubik
A	16,21	-3	1	-1
B	28,3	-1	-1	3
C	31,62	1	-1	-3
D	42,26	3	1	1
Q= $\sum Ci \cdot Ti$		81,47	-1,45	16,09
Kr=( $\sum Ci^2$ )*r		60	12	60
JK=Q <sup>2</sup> /Kr		110,6226817	0,17521	4,3148017
		1,357833333	-0,1208	

- **Grafik Daya Hambat Ekstrak Kasar Buah Mengkudu (*M.citrifolia*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *P. fluorescens* Secara *In Vitro***

