



AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA IN VITRO

SKRIPSI

Oleh :
AMIRA NUR ANISA
NIM. 165080500111009



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG
2020**



AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

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

Oleh :

AMIRA NUR ANISA
NIM. 165080500111009



PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2020



SKRIPSI

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA *IN VITRO*

Oleh :
AMIRA NUR ANISA
NIM. 165080500111009

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 29 Juni 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Pembimbing I

(Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS)
NIP. 19550213 198403 1 001
Tanggal: 7 / 20 / 2020

Menyetujui,

Dosen Pembimbing II

(Budianto, S.Pi., MP., M.Sc)
NIP. 2013048 50718 1 001
Tanggal: 7 / 20 / 2020

Mengetahui,
Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan



(Dr. Ir. M. Firdaus, MP)
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal: 7/20/2020



IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Bidara
(*Ziziphus mauritiana*) terhadap Bakteri *Pseudomonas fluorescens* secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Amira Nur Anisa

NIM : 165080500111009

Program Studi : Budidaya Perairan

Penguji Pembimbing:

Pembimbing 1 : Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS

Pembimbing 2 : Budianto, S.Pi, MP, M.Sc

Penguji Bukan Pembimbing:

Dosen Penguji 1 : Muhammad Fakhri, S.Pi, MP

Dosen Penguji 2 : Rani Yuwanita, S.Pi, MP

Tanggal Ujian : 29 Juni 2020

RINGKASAN

Amira Nur Anisa. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap Bakteri *Pseudomonas fluorescens* secara *In Vitro* (di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS** dan **Budianto, S.Pi., MP., M.Sc.**).

Indikator keberhasilan dalam usaha budidaya ikan adalah kondisi kesehatan ikan. Oleh karena itu, masalah penyakit merupakan masalah yang sangat penting untuk ditangani secara serius. Salah satu contoh serangan penyakit yang disebabkan bakteri pada ikan air tawar ialah bakteri *P. fluorescens* menyebabkan bisul pada ikan. pengendalian yang sering dilakukan untuk mengatasi serangan *P. fluorescens* yakni menggunakan antibiotik. Namun penggunaan antibiotik akan menyebabkan bakteri menjadi resisten. Penggunaan bahan alami sebagai pengganti antibiotik merupakan alternatif yang aman untuk menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroba serta ramah lingkungan. Salah satu alternatif untuk pengobatan dari alam yang memiliki aktivitas antibakteri adalah daun bidara (*Z. mauritiana*).

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Budidaya Ikan Divisi Parasit Dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada bulan Desember 2019-Februari 2020. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas daya hambat ekstrak daun bidara terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *In Vitro*.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yang dilaksanakan dengan memberikan variabel bebas secara kepada objek penelitian untuk diketahui akibatnya di dalam variabel terikat. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Percobaan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan dengan dosis perlakuan (A) 10 ppm ; (B) 60 ppm ; (C) 110 ppm ; (D) 160 ppm dan (E) 210 ppm serta kontrol positif dan kontrol negatif. Perlakuan kontrol positif menggunakan antibiotik *tetracycline* 30 ppm.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak daun bidara terhadap bakteri *P. fluorescens* berbeda sangat nyata yaitu pada pengamatan diameter zona bening didapatkan nilai tertinggi pada perlakuan E dengan rata-rata $10,47 \pm 0,21$ mm, sedangkan rerata zona bening terendah pada perlakuan A dosis 10 ppm dengan hasil $7,33 \pm 0,89$ mm. Hubungan zona bening antar perlakuan ekstrak daun bidara terhadap bakteri *P. fluorescens* menunjukkan perpotongan garis secara linear dengan persamaan $y = 7,90 + 0,01336x$ dan koefisien $R^2 = 0,844$. Artinya 84,4% pemberian ekstrak daun bidara berpengaruh terhadap zona bening yang terbentuk. Berdasarkan hasil penelitian tentang aktivitas antibakteri ekstrak kasar daun bidara terhadap bakteri *P. fluorescens* diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak kasar daun bidara memberikan hasil yaitu memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. fluorescens* yang bersifat bakteriostatik.





KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas berkah, karunia serta ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi dengan judul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Bidara (*Z. mauritiana*) terhadap Bakteri *P. fluorescens* secara *In Vitro*”. Saya mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing dan semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan laporan ini.

Saya menyadari bahwa masih banyak kekurangan yang mendasar pada laporan ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun saya. Kritik konstruktif dari pembaca sangat penulis harapkan untuk penyempurnaan laporan selanjutnya agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Demikian penulis sampaikan, terima kasih.

Malang, Juni 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Hipotesis.....	5
1.5 Kegunaan.....	5
1.6 Waktu dan Tempat Pelaksanaan.....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tanaman Bidara (<i>Z. mauritana</i>).....	6
2.1.1 Klasifikasi.....	6
2.1.2 Morfologi.....	6
2.1.3 Habitat dan Penyebaran.....	7
2.1.4 Senyawa Aktif.....	7
2.2 Ekstrak.....	8
2.3 Antibakteri.....	9
2.4 Biologi Bakteri <i>P. fluorescens</i>	11
2.4.1 Klasifikasi.....	11
2.4.2 Morfologi.....	11
2.4.3 Habitat.....	12
2.4.4 Infeksi Bakteri <i>P. fluorescens</i>	12
2.5 Metode <i>In Vitro</i>	13
3. METODE PENELITIAN	15
3.1 Materi Penelitian.....	15
3.1.1 Alat Penelitian.....	15
3.1.2 Bahan Penelitian.....	16
3.2 Kerangka Konsep.....	17
3.3 Metode Penelitian.....	18
3.4 Rancangan Penelitian.....	18
3.5 Prosedur Penelitian.....	20
3.5.1 Persiapan Penelitian.....	20
3.6 Pelaksanaan Penelitian.....	24
3.6.1 Identifikasi Bakteri.....	24
3.6.2 Uji Daya Hambat.....	26
3.7 Parameter Uji.....	27





	ix
3.8 Analisis Data.....	27
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
4.1 Identifikasi Bakteri <i>P. fluorescens</i>	28
4.2 Uji Daya Hambat.....	30
4.3 Mekanisme Antibakteri.....	35
4.4 Suhu Inkubasi <i>P. fluorescens</i>	37
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
5.1 Kesimpulan.....	39
5.2 Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN.....	46



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Peralatan Penelitian.....	15
2. Bahan Penelitian.....	16
3. Data hasil pengukuran zona bening 24 Jam	30
4. Analisa Sidik Ragam.....	31
5. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).....	31



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun Bidara (<i>Z. mauritiana</i>).....	7
2. Bakteri <i>P. fluorescens</i>	12
3. Kerangka Konsep Penelitian.....	17
4. Denah Rancangan Penelitian	19
5. Pewarnaan Gram Bakteri <i>P. fluorescens</i> dengan perbesaran 1000x	28
6. Hasil Uji Cakram.....	30
7. Grafik Zona Bening Daun Bidara	31
8. Reaksi Kimia Flavonoid	39



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Dokumentasi Alat Penelitian	46
2. Dokumentasi Bahan Penelitian	50
3. Kegiatan Penelitian	53
4. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>P. fluorescens</i>	57
5. Hasil Uji Fitokimia Daun Bidara.....	58
6. Hasil Foto Uji Daya Hambat.....	59
7. Perhitungan Dosis	60
8. Analisis Data Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bidara.....	61



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Akuakultur atau perikanan budidaya (budidaya perairan) merupakan bentuk pemeliharaan dan penangkaran berbagai macam hewan atau tumbuhan perairan yang menggunakan air sebagai komponen pokoknya. Kegiatan dalam perikanan budidaya adalah budidaya ikan, budidaya udang, budidaya tiram, dan budidaya rumput laut (alga). Di Indonesia, kegiatan budi daya yang paling umum dilakukan di kolam, tambak, tangki, karamba, serta karamba apung (Dewi, 2017).

Indikator keberhasilan dalam usaha budidaya ikan adalah kondisi kesehatan ikan. Oleh karena itu, masalah penyakit merupakan masalah yang sangat penting untuk ditangani secara serius. Penyakit pada ikan merupakan salah satu masalah yang sering dijumpai dalam usaha budidaya ikan (Wiyanto, 2010). Timbulnya wabah penyakit tersebut pada dasarnya sebagai akibat terjadinya gangguan keseimbangan dan interaksi antara ikan, lingkungan yang tidak menguntungkan ikan dan berkembangnya patogen penyebab penyakit (Kordi dan Ghufron, 2004).

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri merupakan penyakit yang paling umum menyerang ikan yang dibudidayakan. Bakteri sendiri merupakan jasad renik yang sangat kecil dengan ukuran sekitar 20 kali lebih kecil daripada sel – sel jamur, protozoa atau sel daging ikan. Bakteri sangat banyak terdapat di lingkungan alam semesta dan sebagian besar bakteri itu sendiri sebenarnya tidak menyebabkan penyakit. Namun, karena bakteri mampu memperbanyak diri sangat cepat, maka jika tidak ditanggulangi dan terdapat dalam tubuh ikan dapat menyebabkan penyakit (Murtidjo, 2002).

Salah satu contoh serangan penyakit yang disebabkan bakteri pada ikan air tawar ialah bakteri *P. fluorescens* yang menyebabkan bisul pada ikan. Gejala



yang dialami ialah mempunyai bisul pada kulit, sirip, rongga perut dan organ-organ dalam. Aktivitas bakteri *P. fluorescens* dapat menyebabkan anemia dan kematian masal (Kordi dan Ghufro, 2004). Bakteri *P. fluorescens* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang dan berukuran 0,8 x 2,5 µm. Bakteri ini bersifat motil dan berflagel tunggal atau flagel lopotrich. Bakteri ini biasanya tak membentuk kapsul, hanya beberapa di antaranya membentuk kapsul, demikian juga tidak berbentuk spora (Nur, 2019). Bakteri *Pseudomonas* merupakan bakteri saprofit yang dapat hidup di air tawar, payau, dan asin. Beberapa diantaranya bersifat patogen pada ikan (Afrianto, Liviawaty, Jamaris, dan Hendi, 2015).

Nur (2019) menyatakan bahwa pengendalian yang sering dilakukan untuk mengatasi serangan *P. fluorescens* yakni menggunakan antibiotik seperti streptomisin. Hardi (2018) menambahkan antibiotik yang bisa digunakan untuk mengatasi bakteri *P. fluorescens* yaitu ciprofloaxcin, nitroflorantion, dan oxytetracycline. Feliatra (2018) mengungkapkan bahwa penggunaan antibiotik dalam waktu yang lama untuk mengobati organisme target, maka akan ada organisme target yang masih hidup dan untuk membasminya membutuhkan dosis antibiotik yang lebih tinggi dari sebelumnya. Apabila kondisi tersebut terus terjadi, maka organisme target akan menjadi resisten terhadap antibiotik. Hal ini sangat berbahaya bagi organisme budidaya yang terserang mikroba. Selain itu, masalah lainnya adalah bahaya yang ditimbulkan terhadap lingkungan sekitarnya, ikan yang bersangkutan dan manusia yang mengkonsumsinya (Mulyani, Bachtar, dan Agung, 2013).

Salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk menghindari serangan bakteri tersebut adalah penggunaan antibakterial lain yang bersifat alami dan efektif untuk membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri, ramah lingkungan dan mudah terurai di perairan (Mulyani, Bachtar, dan Kurnia, 2013).

Penggunaan bahan alami sebagai pengganti antibiotik merupakan alternatif cara yang aman untuk menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroba serta ramah lingkungan. (Sivasankari dan Sankaravadivoo, 2015). Sianturi, Prajitno, dan Sanoesi (2019) telah melakukan penelitian tentang sensitivitas ekstrak kasar batang ciplukan (*Physalis angulata*) terhadap bakteri *P. fluorescens* yang diuji secara *in vitro*. Bahan aktif juga berperan penting dalam menghambat *P. fluorescens*. Batang ciplukan (*Physalis angulata*) mengandung senyawa antibakteri seperti flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Moningga, Kojong, dan Sudewi (2015) menambahkan daun ekor kucing (*Acalypha hispida* Burm. F.) juga bersifat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Senyawa yang diduga bersifat sebagai antibakteri dalam ekstrak daun ekor kucing ialah tanin, saponin, minyak atsiri, flavonoid, dan acalyphin.

Bahan alami lainnya yang dapat dijadikan sebagai pengganti antibiotik adalah daun bidara. Haeria, Dhuha, dan Habra (2018) menyatakan bahwa ekstrak daun bidara memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti saponin, tanin, alkaloid, senyawa fenolik, terpenoid dan flavonoid. Pengujian telah dilakukan oleh Haeria, Dhuha, dan Habra (2018) bahwa ekstrak daun bidara menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Abdallah, Elsharkawy, dan Ad-dra (2016) menyatakan bahwa ekstrak daun bidara bersifat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Proteus vulgaris* dan *Klebsiella pneumonia*. Lebih lanjut Upadhyay, Mishra, Srivastava, Upadhyay, Ghosh, dan Singh (2015) menambahkan bahwa ekstrak daun bidara dapat menghambat bakteri *Bacillus subtilis* dan *P. aeruginosa*. Berdasarkan informasi tersebut sifat antibakteri pada daun bidara diduga dapat menghambat pertumbuhan *P. fluorescens*, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk





mengetahui tentang aktivitas antibakteri ekstrak kasar daun bidara terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Indikator keberhasilan dalam usaha budidaya ikan adalah kondisi kesehatan ikan. Timbulnya wabah penyakit tersebut pada dasarnya sebagai akibat terjadinya gangguan keseimbangan dan interaksi antara ikan, lingkungan yang tidak menguntungkan ikan dan berkembangnya patogen penyebab penyakit. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri merupakan penyakit yang paling umum menyerang ikan yang dibudidayakan. Salah satu contoh serangan penyakit yang disebabkan bakteri pada ikan air tawar ialah bakteri *P. fluorescens* yang menyebabkan bisul pada ikan. Gejala yang dialami ialah mempunyai bisul pada kulit, sirip, rongga perut dan organ-organ dalam. Pengendalian yang sering dilakukan untuk mengatasi serangan *P. fluorescens* yakni menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik secara berkepanjangan dapat menyebabkan organisme target akan menjadi resisten terhadap antibiotik, residu terhadap lingkungan sekitarnya, ikan yang bersangkutan dan manusia yang mengkonsumsinya. Penggunaan bahan alami sebagai pengganti antibiotik merupakan alternatif cara yang aman untuk menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroba serta ramah lingkungan. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai antibakteri adalah daun bidara. Berdasarkan uraian diatas dapat diperoleh rumusan masalah yakni:

Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak kasar daun bidara terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *In vitro*?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kasar daun bidara terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *In vitro*.



1.4 Hipotesis

H_0 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun bidara tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*.

H_1 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun bidara memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*.

1.5 Kegunaan

Penelitian ini berguna untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kasar daun bidara dengan dosis yang berbeda terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*.

1.6 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2019 – Februari 2020 di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Bidara (*Z. mauritana*)

2.1.1 Klasifikasi

Adapun klasifikasi dari daun bidara menurut Backer dan Brink, (1965), adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Rosales
Famili : Rhamnaceae
Genus : Ziziphus
Spesies : *Z. mauritana*

2.1.2 Morfologi

Tanaman bidara adalah semak pohon berduri dengan tinggi hingga 15 m, diameter batang 40 cm atau lebih. Kulit batang abu-abu gelap atau hitam, pecah-pecah tidak beraturan. Morfologi daun bidara yakni daun tunggal dan berselang-seling, memiliki panjang 4-6 cm dan lebar 2,5-4,5 cm. Tangkai daun berbulu dan pada pinggiran daun terdapat gigi yang sangat halus (Goyal, Nagori, dan Sasmal, 2012).

Daun bidara memiliki susunan yang selang-seli, ringkas dan berbentuk bulat membujur. Panjang daun berkisar antara 2 – 9 cm dengan lebar 1,5 – 5 cm.

Daun ini memiliki permukaan atas yang licin dan dan berkilau. Bagian bawah daun ini banyak bulu putih, terlihat jelas tiga urat memanjang. Panjang tangkai daun bidara 8 – 15 mm (Chooi, 2004). Morfologi daun bidara disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Daun Bidara (*Z. mauritiana*) (Abdallah, Elsharkawy, dan Ad-dra, 2016).

2.1.3 Habitat dan Penyebaran

Tanaman bidara adalah tumbuhan semak tropis yang berasal dari anak benua India, Asia Tenggara, Iran dan beberapa daerah di Afrika (Abdallah, Elsharkawy, dan Ad-dra, 2016). Tanaman bidara (*Z. mauritiana*) memiliki sifat toleran terhadap perubahan lingkungan yang cukup ekstrim (Goyal, Nagori, dan Sasmal, 2012).

Tanaman bidara adalah sejenis pohon kecil yang selalu hijau, penghasil buah yang tumbuh di daerah afrika utara dan tropis serta asia barat, tumbuh di Israel di lembah-lembah sampai ketinggian 500 mdpl. Khususnya di Indonesia tanaman ini banyak tumbuh di daerah sumbawa (Nusa Tenggara Barat) (Bintoro, Ibrahim, dan Situmeang, 2017).

2.1.4 Senyawa Aktif

Tanaman bidara memiliki kandungan fenolat dan flavonoid yang kaya akan manfaat. Diantara manfaatnya, terdapat manfaat biologi yaitu; antioksidan, antiinflamasi, antimikroba. Berdasarkan dari kandungan fenolat dari daun bidara ini salah satunya berfungsi untuk mencegah tumbuhnya bakteri (Marfu'ah, Ramadhani, dan Hasanah, 2019). Berdasarkan analisis fitokimia ekstrak akar tanaman bidara mengandung senyawa aktif antara lain alkaloid, flavonoid,

triterpenoid dan tannin (Sameera dan Mandakini, 2015). Haeria, Dhuha, dan Habra (2018) menyatakan bahwa ekstrak daun bidara memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti saponin, tanin, alkaloid, senyawa fenolik, terpenoid dan flavonoid.

Kemampuan senyawa alkaloid sebagai antibakteri dilakukan dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel pada bakteri tersebut (Alamsyah dan Kurniawan 2014).

Akiyama, Yamasaki, Oono, dan Iwatsuki (2011) menjelaskan bahwa tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati.

2.2 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau sebagian pelarut diuapkan dan serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditentukan (Rinidar, Isa, Armansyah, dan Hasan, 2017). Salah satu contoh ekstrak nabati adalah ekstrak daun kersen yang memiliki kadar fenolik (Puspitasari dan Prayogo, 2017), ekstrak daun ekor kucing (Moningka, Kojong, dan Sudewi, 2015), dan ekstrak rumput laut (Siregar, Sabdono dan Pringgenies, 2012).

Metode ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain metode infusa, soxhlet dan maserasi. Metode infusa adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut air pada temperatur 90 °C selama 15 – 20 menit. Metode soxhletasi dilakukan dengan cara meletakkan bahan yang akan diekstraksi ke dalam kertas saring di dalam sebuah alat ekstraksi yang bekerja



secara kontinu. Maserasi adalah metode ekstraksi dengan cara merendam simplisia dalam cairan pelarut selama waktu tertentu dan disimpan di dalam toples dalam keadaan tanpa ada cahaya yang masuk (Najib, 2018). Didapatkan ekstrak daun bidara dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol 80%. Metode maserasi bertujuan untuk mendapatkan senyawa aktif yang terkandung di dalam daun bidara seperti flavonoid, saponin, tanin dan fenol (Abdallah, Elsharkawy, dan Ad-dra, 2016). Selain itu, Bintoro, Ibrahim, dan Situmeang (2017) juga mendapatkan hasil ekstraksi daun bidara dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Pelarut etil asetat dipilih sebagai pelarut karena sifatnya yang semipolar namun cenderung lebih banyak menarik zat aktif yang bersifat polar. Saponin merupakan senyawa aktif yang bersifat polar.

2.3 Antibakteri

Suatu antibakteri adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Rosyidah, Nurmuhammad, Komari, dan Astuti, 2010). Berdasarkan cara kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi bakterisidal dan bakteriostatik. Antibakteri bakteriostatik adalah zat yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan antibakteri bakterisidal adalah zat yang bekerja mematikan bakteri (Siregar, Sabdono, dan Pringgenies, 2012). Prajitno (2007), menyatakan mekanisme kerja antibakteri antara lain dengan jalan merusak dinding sel, merusak membran sitoplasma, mendenaturasi protein sel dan menghambat kerja enzim dalam sel.

Hardi (2018) menambahkan terdapat antibiotik yang bisa digunakan untuk mengatasi bakteri *P. fluorescens* yaitu ciprofloaxcin, nitroflorantion, dan oxytetracycline. Menurut Saporito (2009), pengobatan pada ikan yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens* dapat menggunakan beberapa antibiotik seperti





oksitetrasiklin dengan perendaman selama 24 jam dengan konsentrasi 2-5 mg/l.

Pengobatan melalui makanan bisa menggunakan teramisin dengan konsentrasi 50 mg/kg ikan/hari selama minimal 6 hari berturut-turut. Ginovyan, Hovsepyan, Sargsyan, Grigoryan, dan Thrchunyan (2017) menambahkan bahwa *P. fluorescens* memberikan respon yakni sensitif terhadap antibiotik *tetracycline* dengan dosis 30 ppm.

Moningka, Kojong, dan Sudewi (2015) menambahkan bahwa daun ekor kucing (*Acalypha hispida* Burm. F.) merupakan bahan alam yang bersifat sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Senyawa yang diduga bersifat sebagai antibakteri dalam ekstrak daun ekor kucing ialah tanin, saponin, minyak atsiri, flavonoid, dan acalyphin. Selain itu Rastina, Sudarwanto, dan Wientarsih (2015) menambahkan bahwa daun kari (*Murraya koenigii*) juga memiliki senyawa antibakteri seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan fenolik.

Tanaman bidara memiliki kandungan fenolat dan flavonoid yang kaya akan manfaat. Diantara manfaatnya, terdapat manfaat biologi yaitu; antioksidan, antiinflamasi, antimikroba. Berdasarkan dari kandungan fenolat dari daun bidara ini salah satunya berfungsi untuk mencegah tumbuhnya bakteri (Marfu'ah, Ramadhani, dan Hasanah, 2019). Haeria, Dhuha, dan Habra (2018) menambahkan bahwa ekstrak daun bidara memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti saponin, tanin, alkaloid, senyawa fenolik, terpenoid, dan flavonoid. Ekstrak daun bidara memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Sejalan dengan itu Abdallah, Elsharkawy, dan Ad-dra (2016) menambahkan ekstrak daun bidara memiliki kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, tanin dan fenol yang bersifat sebagai antibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa*.



2.4 Biologi Bakteri *P. fluorescens*

2.4.1 Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *P. fluorescens* menurut pernyataan dari Siegrist, 2010 adalah:

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gamma Proteobacteria

Order : Pseudomonadales

Family : Pseudomonadaceae

Genus : *Pseudomonas*

Species : *P. fluorescens*

2.4.2 Morfologi

Manurung dan Susantie (2017) menyatakan *Pseudomonas* sp. termasuk bakteri gram negatif. Bakteri ini bersifat aerob dan memiliki bentuk batang pendek. Bakteri *Pseudomonas* merupakan patogen oportunistik yang menyerang ikan air tawar dan digolongkan ke dalam kelompok bakteri perusak sirip. Selain itu Austin (2007), menambahkan bahwa *P. fluorescens* bergerak menggunakan flagela, tumbuh pada suhu 4°C dan memiliki pigmen fluorescent.

Spesies *P. fluorescens* berasal dari bahasa latin yang berarti berpendar atau bersinar. Bakteri *P. fluorescens* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang dan berukuran 0,8 x 2,5 µm. Bakteri ini bersifat motil dan berflagel tunggal atau flagel lopotrich. Bakteri ini biasanya tak membentuk kapsul, hanya beberapa di antaranya membentuk kapsul, demikian juga tidak berbentuk spora (Nur, 2019). Morfologi bakteri *P. fluorescens* disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Bakteri *P. fluorescens* (Scales, Dickson, Lipuma dan Huffnagle, 2014).

2.4.3 Habitat

Bakteri *P. fluorescens* adalah bakteri yang dominan hidup pada ekosistem air tawar (Mastan, 2013). Kemampuan metabolisme *P. fluorescens* yang sangat fungsional membuat bakteri ini memiliki kemampuan untuk bertahan dalam berbagai lingkungan di luar inang mamalia, termasuk tanah, rizosfer dan permukaan tanaman. Tumbuh pada pH 4 sampai 8 (Scales, Dickson, Lipuma dan Huffnagle, 2014). Nursyirwani dan Amolle (2007) menyatakan bahwa bahwa bakteri *P. fluorescens* dapat tumbuh optimal pada kisaran suhu 30-35 °C dan pertumbuhannya terhambat apabila suhu di atas 41 °C.

2.4.4 Infeksi Bakteri *P. fluorescens*

Bakteri *P. fluorescens* merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang, dan motil dengan flagella. *P. fluorescens* menyerang ikan air tawar dan merupakan patogen oportunistik. Secara umum tanda-tanda klinis infeksi *P. fluorescens* mirip dengan *Aeromonas hydrophila* antara lain terjadi 25 hemoragik septicemia, hemoragik pada insang dan ekor serta borok pada kulit (Irianto 2005).

Bakteri tersebut dapat menyebabkan pembengkakan dan kerusakan pada hati, ginjal dan limpa pada ikan dan juga menyebabkan kematian massal pada semua spesies ikan air tawar pada berbagai tahapan pertumbuhan. Bakteri

patogen dapat menginfeksi ke dalam tubuh ikan melalui insang dan kulit yang terluka dan dapat menimbulkan gejala penyakit seperti pembengkakan pada kulit, pembengkakan perut, luka kemerahan, nekrosis, borok/luka, dan septicemia (Budianto dan Suprastyani, 2017).

Hal ini berkaitan dengan pernyataan Sianturi, Prajitno, dan Sanoesi, (2019), bahwa salah satu contoh serangan penyakit yang disebabkan bakteri pada ikan air tawar ialah bakteri *P. fluorescens* menyebabkan bisul pada ikan. Gejala yang dialami ialah mempunyai bisul pada kulit, sirip, rongga perut dan organ-organ dalam. Aktivitas bakteri *P. fluorescens* dapat menyebabkan anemia dan kematian masal. Penyakit bisul yang disebabkan oleh bakteri ini juga sering disebut *hemorrhagic septicemia*.

Cahyono (2001) menyatakan gejala yang tampak pada ikan terinfeksi bakteri jenis ini adalah ikan berwarna gelap (kusam), nafsu makan berkurang atau sama sekali tidak ada nafsu makan, ikan bergerombol didekat pintu pengeluaran air, luka pada kulit, sirip dan sisik rusak, perdarahan pada tubuh ikan, insang rusak berwarna keputih-putihan dan timbul luka borok. Faktor-faktor yang menunjang berkembangnya penyakit ini adalah kualitas perairan yang buruk, kandungan bahan organik di perairan yang tinggi dan perubahan musim kering (kemarau) ke musim penghujan.

2.5 Metode *In Vitro*

Harti (2015) menyatakan bahwa pengukuran aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode *in vitro* untuk menentukan potensi suatu zat antibakteri dalam larutan, konsentrasi suatu zat antibakteri terhadap cairan badan atau jaringan dan kepekaan suatu bakteri terhadap konsentrasi yang dikenai. Penentuan kepekaan bakteri terhadap antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan dilusi.



Uji patogenitas secara *in vitro* dilakukan oleh Budiando dan Suprastyani (2017) untuk membuktikan bakteri *B. subtilis* memiliki senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. iniae* dan *P. fluorescens*. Adanya aktivitas antibakteri pada *B. subtilis* terhadap bakteri uji disebabkan oleh genus *Bacillus* memiliki senyawa bakteriosin dengan karakter yang spesifik. Gram, Melchiorson, Spanggaard, Huber, dan Nielsen (1999) juga telah melakukan uji *in vitro* untuk membuktikan sifat patogenitas *P. fluorescens* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio anguillarum*.

Uji secara *in vitro* telah dilakukan oleh Moningga, Kojong, dan Sudewi (2015) untuk mengetahui aktivitas antibakteri daun ekor kucing (*Acalypha hispida* Burm. F.) terhadap terdahap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Lebih lanjut, Sianturi, Prajitno, dan Sanoesi (2019) telah melakukan penelitian tentang sensitivitas ekstrak kasar batang ciplukan (*P. angulata*) terhadap bakteri *P. fluorescens* yang diuji secara *in vitro*.





3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1 dan

Lampiran 1.

Tabel 1. Peralatan Penelitian

No.	Alat	Fungsi
1.	Autoklaf	Sebagai alat untuk mensterilisasi alat dan bahan yang digunakan
2.	<i>Beaker glass</i>	Sebagai tempat untuk pembuatan media
3.	Botol film	Sebagai tempat pengenceran ekstrak
4.	Botol kaca	Sebagai alat untuk maserasi
5.	Bunsen	Sebagai alat untuk mencegah kontaminasi saat perlakuan
6.	Cawan petri	Sebagai tempat untuk uji cakram
7.	<i>Colony counter</i>	Sebagai alat untuk menghitung kepadatan bakteri
8.	Erlenmeyer 100 ml dan 250 ml	Sebagai tempat pembuatan media
9.	Gelas ukur 10 ml, 100 ml dan 250 ml	Sebagai alat untuk mengukur larutan yang digunakan
10.	<i>Hot plate</i>	Sebagai alat untuk memanaskan media
11.	Inkubator	Sebagai alat untuk menginkubasi
12.	Jangka sorong	Sebagai alat untuk mengukur zona bening
13.	Jarum ose	Sebagai alat untuk inokulasi bakteri
14.	<i>Laminar air flow (LAF)</i>	Sebagai tempat untuk dilakukannya perlakuan
15.	Lemari pendingin	Sebagai tempat menyimpan media
16.	Mikropipet 100 μ l - 1000 μ l	Sebagai alat untuk mengambil bahan yang berbentuk cairan
17.	Oven	Sebagai alat untuk mengeringkan cawan petri
18.	Pinset	Sebagai alat untuk membantu mengambil kertas cakram pada perlakuan
19.	Pipet volume	Sebagai alat untuk mengambil larutan
20.	Rak tabung reaksi	Sebagai tempat tabung reaksi
21.	<i>Rotary vacum evaporator</i>	Sebagai alat untuk evaporasi
22.	Sendok bahan	Sebagai alat untuk mengambil sampel
23.	Spatula	Sebagai alat untuk menghomogenkan media

No.	Alat	Fungsi
24.	Spektrofotometer	Sebagai alat untuk mengukur absorbansi
25.	<i>Sprayer</i>	Sebagai wadah alkohol 70%
26.	Tabung reaksi	Sebagai alat untuk pengenceran bakteri, kultur bakteri
27.	Timbangan analitik	Sebagai alat untuk menimbang sampel dengan ketelitian 10^{-3}
28.	Timbangan digital	Sebagai alat untuk menimbang sampel dengan ketelitian 10^{-2}
29.	<i>Triangle</i>	Sebagai alat untuk meratakan bakteri pada media
30.	<i>Vortex mixer</i>	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan
31.	<i>Washing bottle</i>	Sebagai tempat akuadest

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 2 dan Lampiran 2.

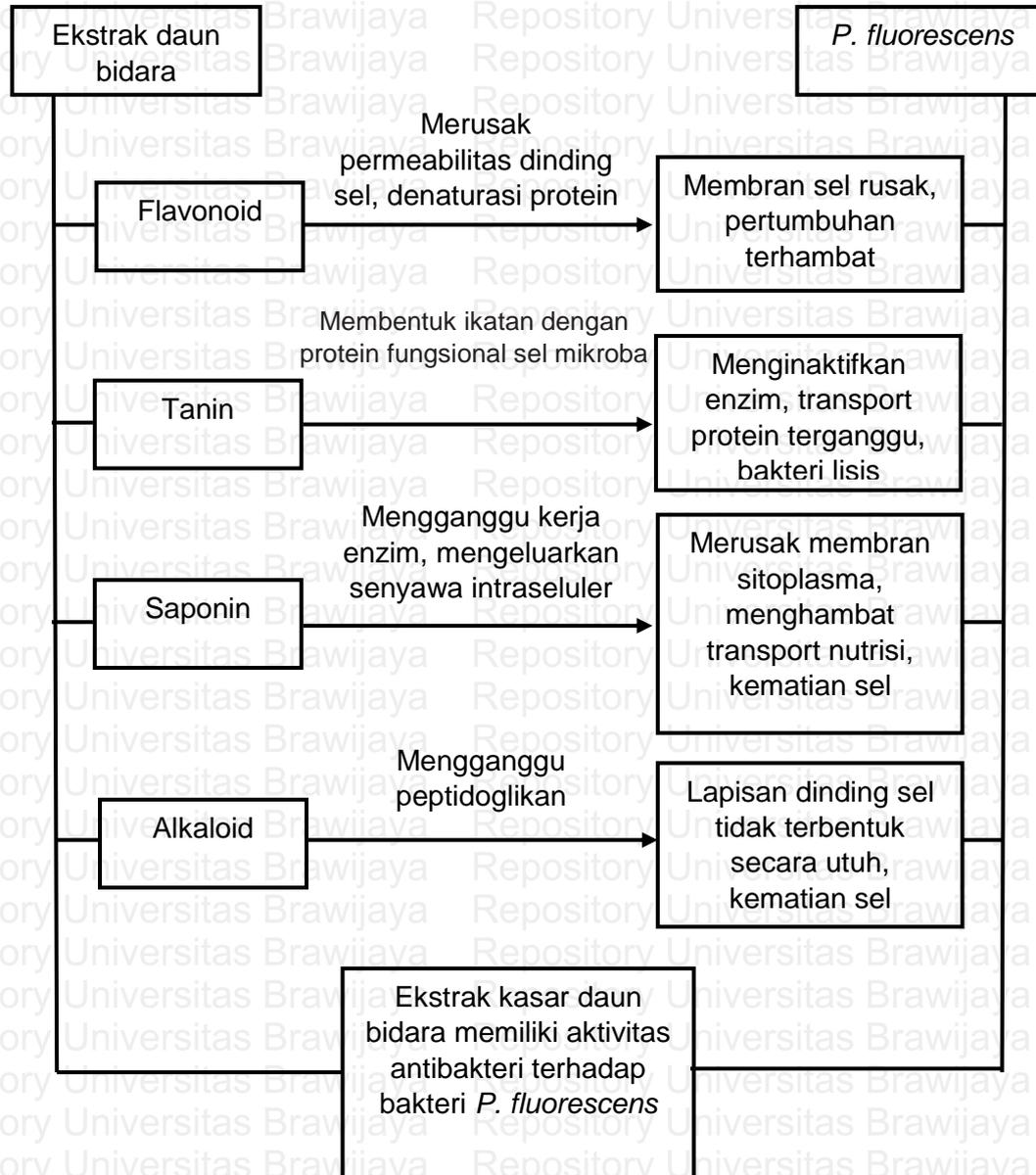
Tabel 2. Bahan Penelitian

No.	Bahan	Fungsi
1.	Alkohol 70%	Sebagai bahan untuk desinfeksi dan sterilisasi
2.	Aluminium foil	Sebagai bahan untuk membungkus peralatan yang akan disterilisasi
3.	<i>Pseudomonas Selective Agar (PSA)</i>	Sebagai media pertumbuhan bakteri
4.	Media <i>Tryptitone Soy Broth (TSB)</i>	Sebagai media reinokulasi bakteri
5.	Akuadest	Sebagai bahan untuk bahan pelarut pada perlakuan
6.	<i>Blue tip</i> dan <i>yellow tip</i>	Sebagai bahan untuk mengambil larutan dalam volume tertentu
7.	Ekstrak Daun Bidara	Sebagai objek yang akan diuji
8.	Metanol	Sebagai bahan untuk proses maserasi
9.	Sarung tangan	Sebagai bahan untuk pelindung tangan
10.	Isolat bakteri <i>P. fluorescens</i>	Sebagai bakteri untuk perlakuan uji
11.	Kapas	Sebagai bahan untuk menutupi alat yang disterilisasi
12.	Kertas cakram	Sebagai bahan untuk uji difusi
13.	Kertas label	Sebagai bahan untuk memberi tanda
14.	Kertas timbang	Sebagai bahan untuk membantu penimbangan
15.	Masker	Sebagai bahan untuk menghindari kontaminasi
16.	NaCl	Sebagai bahan untuk pembuat NaFis



3.2 Kerangka Konsep

Kerangka konsep dalam penelitian ini disajikan pada bagan Gambar 3 berikut ini.



Gambar 3. Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan:

→ : mekanisme kerja

Flavonoid bekerja dengan cara denaturasi protein. Proses ini juga menyebabkan gangguan dalam pembentukan sel sehingga merubah komposisi komponen protein. Fungsi membran sel yang terganggu dapat menyebabkan

peningkatan permeabilitas sel, diikuti dengan terjadinya kerusakan sel bakteri (Saputra dan Anggraini, 2016).

Aktivitas saponin dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan mengganggu kerja enzim dan merusak membrane sitoplasma yang berakibat pada terhambatnya transport nutrisi yang pada akhirnya menyebabkan kematian bakteri. Tanin mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, sehingga sintesis protein bakteri akan terganggu karena diduga tannin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik (Siregar, Sabdono, dan Pringgenies, 2012). Polifenol atau fenol dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat aktivitas enzim protease, menghambat enzim pada protein transport selubung sel bakteri dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Anisah, Khotimah, dan Yanti, 2014).

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Pada dasarnya metode eksperimen yang dilakukan untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat dua variabel atau lebih, dengan mengendalikan pengaruh variabel yang lain. Metode eksperimen dilaksanakan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja (bersifat induce) kepada objek penelitian untuk diketahui akibatnya di dalam variabel terikat. Jadi, penelitian eksperimen harus mengandung unsur kelompok kontrol, kelompok perlakuan dan intervensi perlakuan (Zulnaldi, 2007).

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan yaitu menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 2 kontrol dan 5 perlakuan yang dilakukan 3 kali ulangan. Sastrosupadi (2000), mengatakan bahwa Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat

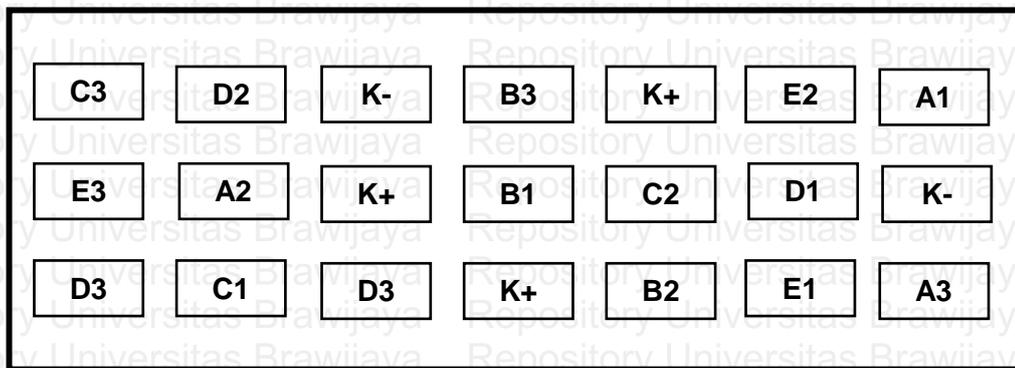


percobaan yang seragam atau homogen, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan laboratorium, rumah kaca, dan peternakan. Adapun model untuk RAL adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

- Keterangan :
- Y** : Respon
 - μ** : Nilai tengah umum
 - T** : Pengaruh perlakuan
 - ϵ** : Pengaruh galat percobaan

Penelitian ini menggunakan variabel bebas berupa pemberian ekstrak daun bidara dengan konsentrasi yang berbeda. Dasar penelitian ini adalah penelitian pendahuluan untuk mengetahui pengaruh dosis yang diberikan terhadap daya hambat yang tepat dalam penggunaan daun bidara. Adapun penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan 2 kontrol terdiri dari kontrol positif dan kontrol positif. Berikut disajikan denah penelitian pada Gambar 4.



Gambar 4. Denah Rancangan Penelitian

- Keterangan :
- K+ : Kontrol positif.
 - K- : Kontrol negatif.
 - A : Ekstrak daun bidara dosis 10 ppm.
 - B : Ekstrak daun bidara dosis 60 ppm.
 - C : Ekstrak daun bidara dosis 110 ppm.
 - D : Ekstrak daun bidara dosis 160 ppm.
 - E : Ekstrak daun bidara dosis 210 ppm.

Perlakuan kontrol positif yaitu dengan pemberian antibiotik *tetreacycline*

30 ppm. Kontrol negatif yaitu hanya kertas cakram tanpa pemberian ekstrak daun bidara. Kontrol positif berfungsi untuk mengetahui kemampuan daya hambat yang antibiotik *tetreacycline* terhadap bakteri *P. fluorescens*. Sedangkan kontrol negatif untuk melihat bahwa tidak terdapat antibiotik tertentu pada kertas cakram yang digunakan untuk metode difusi pada penelitian ini dan tidak berpengaruh terhadap zona bening yang terbentuk.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

A. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan penelitian dilakukan pada pada laboratorium menggunakan autoklaf. Proses sterilisasi digunakan untuk menghilangkan atau mengurangi mikroba yang tidak diinginkan pada bahan pembawa. Teknik sterilisasi media yang umumnya digunakan adalah sterilisasi autoklaf. Metode sterilisasi pemanasan (panas lembab) biasanya menggunakan autoklaf yang memanfaatkan panas dalam suatu ruangan bertekanan dengan temperatur 121 °C selama 60 menit. Sterilisasi merupakan tahap yang harus dilakukan sebelum penginokulasian agar alat dan bahan bebas dari mikroba (Nurrobifahmi, Anas, Setiadi, dan Ishak, 2017).

• Sterilisasi Tempat Perlakuan

Selain alat dan bahan, tempat dan laboran harus steril untuk menghindari kontaminan. Tangan laboran yang bersinggungan dengan meja dan barang di sekitar tempat perlakuan harus selalu dalam kondisi aseptis. Sterilisasi tempat dapat dilakukan dengan cara kimia menggunakan alkohol 70% maupun secara cara fisika yaitu dengan pembakaran langsung serta dapat dengan penyinaran

sinar UV. Pada penelitian ini sterilisasi tempat dilakukan dengan menggunakan sinar UV yang terdapat pada LAF.

B. Persiapan Sampel

1. Daun Bidara

Daun bidara didapatkan dari persawahan warga di daerah Pesanggrahan, Kecamatan Batu, Batu, Jawa Timur. Daun bidara didapatkan sebanyak 10 kg berat basah dan setelah dikeringkan beratnya menjadi 7 kg.

2. Bakteri *P. fluorescens*

Isolat bakteri *P. fluorescens* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi, Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP), Jepara, Jawa Tengah.

Isolat bakteri yang didapatkan ditanam pada media agar miring PSA dalam tabung reaksi.

C. Pembuatan Ekstrak Daun Bidara

Proses ekstraksi daun Bidara dilakukan dengan metode maserasi, menurut pendapat Abdallah, Elsharkawy, dan Ad-dra, (2016) yakni untuk melakukan ekstraksi daun bidara menggunakan larutan metanol 80% dengan perbandingan 1:5. Waktu perendaman dilakukan selama 3 hari. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring Wattman No. 41 dan dievaporasi dengan suhu 45°C.

Proses ekstraksi daun bidara menggunakan metode maserasi menurut Chairunnisa, Wartini, dan Suhendra (2019) dengan sedikit modifikasi yaitu dilakukan dengan menimbang 500 gram bubuk daun bidara dan dimasukkan ke dalam toples, kemudian ditambahkan pelarut methanol sebanyak 2,5 liter dan dibungkus aluminium foil, kemudian didiamkan selama 3 hari. Selama proses maserasi, dihomogenkan secara manual dengan cara digoyangkan setiap 12 jam selama 5 menit, sehingga diperoleh ekstrak yang masih tercampur dengan pelarut. Selanjutnya ekstrak disaring menggunakan kertas saring Whatman No.



1. Ekstrak yang diperoleh dimasukkan ke dalam labu evaporator untuk dihilangkan pelarut yang terdapat dalam ekstrak sehingga didapatkan ekstrak kental. Ekstraksi dengan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak. Proses pembuatan ekstrak kasar daun bidara disajikan pada Lampiran 3.

D. Pembuatan Media

Media yang dapat digunakan untuk menjamin dan menumbuhkan bakteri tersebut yaitu media PSA dan media TSB.

- **PSA untuk Agar Miring**

Media PSA digunakan untuk peremajaan bakteri, adapun prosedur pembuatannya ialah media PSA ditimbang sebanyak 0,48 gr. Selanjutnya media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 10 ml kemudian dipanaskan dengan *hot plate* bertujuan agar media homogeny kemudian dituangkan ke tabung reaksi. Tabung reaksi ditutup kapas dan dilapisi alumunium foil serta diikat oleh tali. Kemudian distrerilisasi dengan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit. Selanjutnya tabung reaksi yang berisi media PSA dimiringkan dengan kemiringan 30 ° (Sianturi, Prajitno, dan Sanoesi, 2019).

- **TSB untuk Kultur Bakteri**

Media TSB digunakan sebagai reinokulasi bakteri *P. fluorescens*, adapun prosedur pembuatannya adalah media TSB ditimbang sebanyak 0,3 gr. Selanjutnya media dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 10 ml kemudian dipanaskan dengan hot plate bertujuan agar media homogen. Media yang sudah homogen ditutup kapas dan dilapisi alumunium foil serta diikat oleh tali. Kemudian distrerilisasi dengan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit. Media TSB yang telah dingin dapat digunakan untuk reinokulasi bakteri dari PSA miring ke media cair (Sianturi, Prajitno, dan Sanoesi, 2019).

- **PSA untuk Uji Cakram**

Media PSA digunakan sebagai media agar dalam melakukan uji cakram.

Media PSA ditimbang 4,84 gr dengan menggunakan timbangan digital. Media dimasukkan kedalam erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 ml dan dihomogenkan. Media yang dihomogenkan dalam erlenmeyer ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil serta diikat dengan tali.

Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Media ditunggu hingga hangat kuku atau hingga suhu ± 30 °C dituang ke dalam cawan petri dengan masing-masing cawan diisi ± 20 ml yang dilakukan didalam LAF untuk menghindari kontaminasi dari bakteri lain, ditunggu hingga memadat. Media yang tidak langsung digunakan dapat disimpan dalam lemari pendingin (Sianturi, Prajitno, dan Sanoesi, 2019).

E. Peremajaan Bakteri *P. fluorescens*

Peremajaan bakteri dilakukan dalam keadaan steril, dengan menginokulasi kembali isolat bakteri *P. fluorescens* menggunakan jarum ose bulat yang telah dipanaskan diatas bunsen dan digores pada media agar miring secara zig-zag dalam kondisi yang steril kemudian diinkubasi pada suhu 32 °C selama 24 jam. Prosedur peremajaan bakteri menggunakan metode yang dilakukan oleh Maftuch, Suprastyana, dan Setyawan (2018) dengan sedikit modifikasi. Proses peremajaan bakteri *P. fluorescens* disajikan pada Lampiran 3.

F. Kultur Bakteri

Prosedur dalam kultur bakteri yaitu biakan bakteri yang sudah diremajakan pada media agar miring diambil dengan menggunakan jarum ose sebanyak 1 gores dalam keadaan steril. Kemudian ose yang berisi bakteri dicelupkan pada media TSB yang sudah dipersiapkan. Media disimpan pada

inkubator dengan suhu 32 °C selama 24 jam (Sianturi, Prajitno, dan Sanoesi, 2019).

G. Pengenceran Bakteri *P. fluorescens*

Metode pengenceran bakteri berdasarkan pendapat Moningga, Kojong, dan Sudewi (2015) dengan sedikit modifikasi yaitu proses suspensi bakteri menggunakan NaCl 0,9% dengan prosedur kerja sebagai berikut: Disuspensikan bakteri uji dengan larutan NaCl 0,9% sebanyak 1 mL, kemudian suspensi bakteri ini dibuat disetarakan kekeruhannya dengan larutan standar Mc. Farland.

Adapun bakteri yang digunakan untuk uji daya hambat bakteri setelah pemberian ekstrak daun bidara adalah bakteri dengan kepadatan 10^7 sel/ml.

3.6 Pelaksanaan Penelitian

3.6.1 Identifikasi Bakteri

Uji Biokimia adalah suatu cara untuk mengidentifikasi bakteri melalui sifat-sifat fisiologinya. Kismiyati, Subekti, Yusuf, dan Kusdarwati, (2009), menyatakan uji biokimia antara lain: uji O/F, uji oksidase, uji katalase, uji motilitas, produksi indol, uji TSIA, uji gula.

- Uji Katalase

Tujuan uji katalase adalah untuk mengetahui sifat bakteri dalam menghasilkan enzim katalase. Cara kerja dari uji katalase yaitu larutan H₂O₂ 3% diteteskan pada obyek, kemudian suspensikan koloni bakteri dengan ose.

- Uji Oksidase

Tujuan uji oksidase adalah untuk mengetahui ada tidaknya enzim oksidase pada bakteri dengan menggunakan *paper oksidase* yang dapat dilihat perubahan warna yang terjadi pada *paper oksidase*.



- Uji Oksidatif/Fermentatif

Uji O/F medium (Oksidatif/Fermentatif) bertujuan untuk mengetahui sifat oksidasi atau fermentasi bakteri terhadap glukosa dengan menggunakan dua tabung media yang salah satunya ditutup dengan parafin, sehingga diharapkan di dalam media tidak terdapat udara yang dapat mendukung terjadinya fermentasi.

- Uji Motilitas

Uji motilitas bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut motil atau tidak dan untuk mengetahui produksi indol dari Tryptophane. Uji ini menggunakan media MIO (*Motility Indole Ornitin*).

- Uji TSIA

Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) bertujuan untuk membedakan jenis bakteri berdasarkan kemampuan memecahkan dextrose, laktosa, sukrosa dan pembebasan sulfida, selain itu uji TSIA berfungsi untuk mengetahui apakah bakteri tersebut menghasilkan gas, H₂S atau tidak. Media yang digunakan mempunyai dua bagian, yaitu *slant* (miring) dan *butt* (tusuk).

- Uji Gula

Uji gula bertujuan untuk mendeterminasi kemampuan bakteri dalam mendegradasi gula dan menghasilkan asam organik yang berasal dari tiap jenis gula, yaitu glukosa, sukrosa, maltosa, arabinosa, manitol dan inositol.

Selain dengan uji biokimia, identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan melakukan pewarnaan gram. Pewarnaan gram bertujuan untuk menentukan apakah bakteri tersebut termasuk di dalam kelompok bakteri gram positif atau kelompok bakteri gram negatif. Cara kerja dari pewarnaan gram yaitu suspensikan bakteri dengan ose, kemudian letakkan pada obyek dan difiksasi, tetesi dengan larutan gram A yang mengandung kristal violet, kemudian ditetesi



dengan akuades, kemudian tetesi dengan larutan gram B yang mengandung lugol, tetesi dengan larutan gram C yang mengandung alkohol, dan yang terakhir tetesi dengan larutan gram D yang mengandung safranin (Kismiyati, Subekti, Yusuf, dan Kusdarwati, 2009).

Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan melakukan pewarnaan gram.

Pewarnaan gram bertujuan untuk menentukan apakah bakteri tersebut termasuk di dalam kelompok bakteri gram positif atau kelompok bakteri gram negatif. Cara kerja dari pewarnaan gram yaitu suspensikan bakteri dengan ose, kemudian letakkan pada obyek dan difiksasi, tetesi dengan larutan gram A yang mengandung kristal violet, kemudian ditetesi dengan akuades, kemudian tetesi dengan larutan gram B yang mengandung lugol, tetesi dengan larutan gram C yang mengandung alkohol, dan yang terakhir tetesi dengan larutan gram D yang mengandung safranin (Kismiyati, Subekti, Yusuf, dan Kusdarwati, 2009).

3.6.2 Uji Daya Hambat

Uji daya hambat dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari pemberian ekstrak kasar daun bidara yang dilihat dari zona bening di sekeliling kertas cakram. Metode uji daya hambat berdasarkan pendapat Rustanti (2016) dengan sedikit modifikasi yaitu larutan agar dituang dalam cawan petri dan dibiarkan memadat, kemudian ditambahkan dengan 0,1 mL larutan bakteri *P. fluorescens*, dari hasil pengenceran, kemudian diratakan dengan *triangle*. Kertas cakram yang telah dipreparasi diletakkan di atas permukaan media bakteri dan diinkubasi pada suhu 32 °C selama masa pertumbuhan optimum bakteri yakni 24-48 jam. Selanjutnya, diukur diameter zona beningnya menggunakan jangka sorong digital merk . Diameter zona bening adalah diameter yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar kertas cakram. Preparasi kertas cakram yaitu merendam kertas cakram ke dalam ekstrak daun bidara sesuai dosis perlakuan dengan variasi



sampel selama 10 – 15 menit. Kontrol positif dibuat dengan merendam kertas cakram dalam *tetracycline* 30 ppm sedangkan kontrol negatif hanya menggunakan kertas cakram tanpa perlakuan apapun. Kertas cakram yang digunakan memiliki diameter 5,85 mm. Pelaksanaan uji daya hambat disajikan pada Lampiran 3.

3.7 Parameter Uji

Parameter uji dalam penelitian ini ada 2 yaitu parameter utama dan parameter penunjang. Parameter utama dalam penelitian ini adalah hasil pengamatan yaitu zona bening yang terlihat disekitar kertas cakram. Parameter penunjang yaitu suhu inkubasi yang digunakan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* selama penelitian.

3.8 Analisis Data

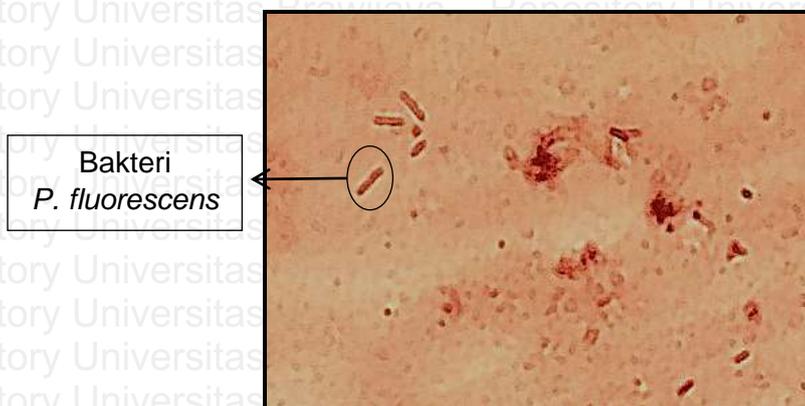
Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar daun bidara terhadap bakteri *P. fluorescens* dilakukan menggunakan analisa keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan selang kepercayaan 95%. Uji ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon zona bening yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi Bakteri *P. fluorescens*

Pengidentifikasian bakteri bertujuan untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *P. fluorescens*. Proses identifikasi pada penelitian ini menggunakan metode pewarnaan gram. Pewarnaan gram adalah metode yang digunakan untuk mengetahui morfologi sel bakteri serta untuk membedakan bakteri gram positif dan gram negatif. Hasil pewarnaan gram bakteri *P. fluorescens* disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Pewarnaan Gram Bakteri *P. fluorescens* dengan perbesaran 1000x (Dokumentasi Pribadi, 2020).

Hasil dari pewarnaan menunjukkan bahwa bakteri *P. fluorescens* termasuk bakteri gram negatif dilihat dari warna yang dihasilkan yaitu warna merah. Hal ini dikarenakan bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis, lipid yang tebal dan permeabilitas yang cukup tinggi sehingga mudah melepas zat warna kristal violet dan bakteri hanya menyerap zat warna safranin. Ciri-ciri bakteri *P. fluorescens* jika dilihat dari hasil pewarnaan yaitu memiliki bentuk tubuh seperti batang berantai pendek dan hidup berkoloni.

Perbedaan warna pada bakteri gram positif dan gram negatif menunjukkan bahwa adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua jenis bakteri tersebut. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan



kandungan petidoglikan yang tebal sedangkan bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi (Fitri dan Yasmin, 2011).

Kegiatan penelitian ini dilakukan uji biokimia terhadap bakteri *P. fluorescens* oleh pihak Laboratorium Uji Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Jepara. Hasil uji biokimia yang dilakukan di Laboratorium Uji BPBAP Jepara dapat disajikan pada Lampiran 4.

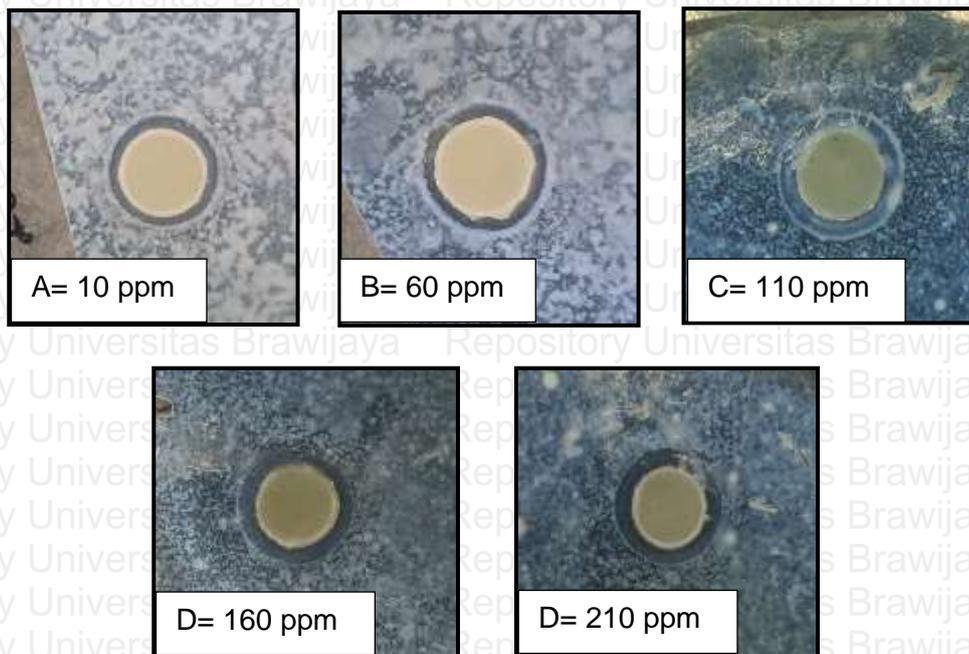
Bakteri *P. fluorescens* merupakan bakteri aerob yang bersifat gram negatif, berbentuk batang dengan ukuran $0,5 - 1 \times 1,5 - 4 \mu\text{m}$ serta mampu membentuk siderofor (pigmen kuning kehijauan) pada media yang kekurangan ion Fe seperti King's B. Koloni bakteri ini berbentuk bulat, rata dan fluidal. Tumbuh baik pada kisaran suhu $20 - 41 \text{ }^\circ\text{C}$, dengan pH optimum pada kisaran $6 - 7$ dan suhu optimum pada $30 \text{ }^\circ\text{C}$. (Arwiyanto, Maryudani, dan Azizah, 2007).

Hasil uji biokimia dari bakteri *P. fluorescens* pada penelitian ini yaitu bersifat gram negatif, berbentuk batang, katalase positif, oksidase positif, H_2S negatif, indol negatif dan dapat hidup pada suhu $37 \text{ }^\circ\text{C}$ dan memiliki pigmen fluorescens. Hasil ini sesuai dengan uji biokimia bakteri *P. fluorescens* yang dilakukan oleh Suyono dan Salahudin (2011) yang menunjukkan bahwa *P. fluorescens* adalah bakteri gram negatif dan memiliki sifat biokimia yakni katalase positif dan glukosa negatif.

Wahyuni, Lianto dan Khaeruni (2014) menyatakan bahwa uji biokimia merupakan salah satu uji untuk identifikasi bakteri, uji-uji tersebut digunakan untuk mengetahui aktivitas metabolisme mikroorganisme. Sifat metabolisme bakteri dalam uji biokimia diamati dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen-reagen kimia dan kemampuannya menggunakan senyawa tertentu sebagai sumber karbon dan sumber energi.

4.2 Uji Daya Hambat

Ekstrak kasar daun bidara memiliki sifat antibakteri terhadap *P. fluorescens* yang dapat dilihat dengan terbentuknya zona bening di sekeliling kertas cakram. Zona bening yang dihasilkan oleh aktivitas antibakteri daun bidara disajikan pada Gambar 6 sedangkan hasil uji daya hambat untuk semua perlakuan dan ulangan disajikan pada Lampiran 6. Hasil uji dengan lima perlakuan dan tiga kali ulangan didapatkan rata-rata zona bening setelah dilakukan pengamatan selama 24 jam disajikan pada Tabel 3. Uji analisa sidik ragam untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan disajikan pada Tabel 4. Untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang disajikan pada Tabel 5.



Gambar 6. Hasil Uji Cakram (Dokumentasi Pribadi, 2020).

Tabel 3. Data hasil pengukuran zona bening ekstrak bidara terhadap bakteri *P. fluorescens* setelah 24 Jam

Perlakuan	Ulangan (mm)			Total (mm)	Rerata ± STDEV
	1	2	3		
A	6,86	6,77	8,35	21,98	7,33 ± 0,89
B	9,13	10,02	9,23	28,38	9,46 ± 0,49
C	9,42	10,41	9,35	29,18	9,73 ± 0,59
D	9,86	9,76	9,96	29,58	9,86 ± 0,10

E	10,7	10,3	10,4	31,4	10,47 ± 0,21
Total				140,52	

Tabel 4. Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	17,259	4,314	15,088**	3,48	5,99
Acak	10	2,859	0,285			
Total	14					

Keterangan: (**) berbeda sangat nyata

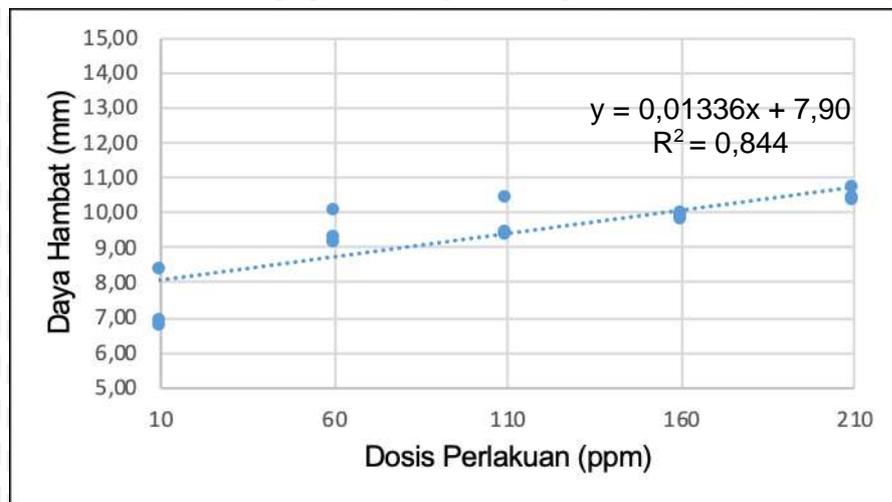
Tabel 5. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	E	Notasi
		7,33	9,46	9,73	9,86	10,47	
A	7,33	-					a
B	9,46	2,13*	-				b
C	9,73	2,40*	0,27 ^{ns}	-			bc
D	9,86	2,53*	0,40 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-		bc
E	10,47	3,14*	1,01*	0,74 ^{ns}	0,61 ^{ns}	-	c

Keterangan :

Ns : tidak berbeda nyata

* : berbeda nyata



Gambar 7. Grafik Zona Bening Daun Bidara

Uji daya hambat dilakukan dengan menggunakan 5 dosis ekstrak daun bidara yaitu dosis 10 ppm, 60 ppm, 110 ppm, 160 ppm, 210 ppm, kontrol positif dan kontrol negatif. Dosis yang digunakan dimulai dari 10 ppm merupakan hasil dari penelitian pendahuluan yang didukung dengan jurnal dimana kertas cakram yang direndam dalam ekstrak dosis 10 ppm memiliki daya hambat. Penelitian yang dilakukan oleh Asimuddin, Shaik, dan Fathima (2020) menunjukkan hasil

pada penggunaan ekstrak daun bidara dengan konsentrasi 7 ppm sudah memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa* dan *E. coli*. Perhitungan dosis perlakuan disajikan pada Lampiran 7. Kontrol positif menggunakan antibiotik *tetracycline* 30 ppm yang digunakan sebagai perbandingan. Sedangkan kontrol negatif hanya menggunakan kertas cakram tanpa adanya perendaman ekstrak daun bidara.

Data yang tersaji pada Tabel 3 menunjukkan bahwa diameter zona bening pada setiap dosis memiliki ukuran yang berbeda. Zona bening yang dihasilkan pada dosis 10 ppm sebesar $7,33 \pm 0,89$ mm; dosis 60 ppm sebesar $9,46 \pm 0,49$ mm; dosis 110 ppm sebesar $9,73 \pm 0,59$ mm; dosis 160 ppm sebesar $9,86 \pm 0,10$ mm dan dosis 210 ppm sebesar $10,47 \pm 0,21$ mm. Hasil yang didapatkan selama penelitian yakni setiap dosis perlakuan memiliki zona bening yang berbeda. Diameter zona bening yang terbentuk salah satunya dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak daun bidara yang digunakan dalam penelitian. Data hasil penelitian yang lebih rinci disajikan pada Lampiran 8.

Perhitungan pada tabel 4 dapat dilihat bahwa perlakuan E dosis 210 ppm memiliki rerata zona bening tertinggi sebesar $10,47 \pm 0,21$ mm dan rerata zona bening terendah pada perlakuan A dosis 10 ppm dengan hasil $7,33 \pm 0,89$ mm. Tingginya dosis yang diberikan menunjukkan semakin banyak bahan aktif yang terdapat pada ekstrak tersebut. Jumlah pasta ekstrak yang diberikan pada dosis 210 ppm lebih banyak dibandingkan dosis 10 ppm, maka dapat diartikan bahwa kandungan bahan aktif pada dosis 210 ppm lebih banyak dibandingkan dengan dosis 10 ppm. Rerata zona bening pada perlakuan A dosis 10 ppm, perlakuan B dosis 60 ppm, perlakuan C dosis 110 ppm, perlakuan D dosis 160 ppm diklasifikasikan dalam respon hambat "sedang". Perlakuan E dosis 210 ppm diklasifikasikan dalam respon "kuat".

Hasil perhitungan sidik ragam menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun bidara memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. fluorescens* dan memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata. Hal tersebut terlihat dari nilai F hitung (15,088) yang lebih besar dibandingkan dengan F 5% (3,48). Dapat diambil kesimpulan yakni H₀ ditolak sedangkan H₁ diterima yang artinya adalah pemberian ekstrak kasar daun bidara memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. fluorescens*.

Berdasarkan grafik terlihat bahwa penambahan dosis pada perlakuan ekstrak daun bidara terhadap zona bening menunjukkan pola linier dengan persamaan $y = 7,90 + 0,01336x$ dan koefisien $R^2 = 0,844$. Nilai R^2 menunjukkan bahwa 84,4% penggunaan ekstrak daun bidara dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap zona bening yang terbentuk. Pada dosis 10 ppm hingga 210 ppm grafik mengalami peningkatan pada hasil zona bening. Peningkatan zona bening dipengaruhi oleh bertambahnya dosis atau konsentrasi yang diberikan pada setiap perlakuan.

Penelitian yang dilakukan Taufiq (2018) menunjukkan hasil bahwa ekstrak daun bidara pada konsentrasi 10%, 30% dan 90% memiliki aktivitas antibakteri yang semakin meningkat terhadap *E. Coli*. Sesuai pendapat Rastina, Sudarwanto, dan Wientarsih (2015) penjelasan kemampuan suatu bahan antimikroba dalam meniadakan kemampuan hidup mikroorganisme tergantung pada konsentrasi bahan antimikroba itu. Berdasarkan hasil penelitian membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, maka semakin besar pula diameter zona bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram.

Dari hasil penelitian selama 24 jam menunjukkan bahwa ekstrak daun bidara yang baik digunakan berdasarkan kekuatan daya hambat yaitu pada perlakuan E dengan dosis 210 ppm. Ekstrak daun bidara bersifat bakteriostatik



terhadap bakteri *P. fluorescens* karena hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri, hal tersebut dilihat dari data hasil pengamatan 48 jam yang disajikan pada Lampiran 8 dimana zona bening semakin menurun.

Rahmawati, Sudjarwo, dan Widodo (2014) menjelaskan bahwa diameter zona bening terlihat dari zona bening di sekitar lubang. Jika semakin luas zona bening maka semakin besar suatu bahan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Siregar, Sabdono, dan Pringgenies (2012) mengungkapkan bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi ukuran daerah penghambatan yaitu sensitivitas organisme, medium kultur, kondisi inkubasi, dan kecepatan difusi agar. Faktor-faktor yang mempengaruhi kecepatan difusi agar, yaitu konsentrasi mikroorganisme, komposisi media, suhu inkubasi, dan waktu inkubasi.

Moningka Kojong dan Sudewi (2015) menyatakan bahwa terdapat ketentuan daya antibiotik-antibakteri yaitu daerah hambatan 20 mm atau lebih termasuk kategori sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm kategori kuat, daerah hambatan 5-10 mm kategori sedang, dan daerah hambatan 5 mm atau lebih termasuk kategori lemah.

Siregar, Sabdono, dan Pringgenies (2012) memberikan pernyataan berdasarkan cara kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi bakterisidal dan bakteristatik. Antibakteri bakteristatik adalah zat yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan antibakteri bakterisida adalah zat yang bekerja mematikan bakteri. Aktivitas senyawa antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar *paper disc*.

Angelina, Turnip, dan Khotimah (2015) menunjukkan hasil penelitian bahwa penurunan diameter zona bening dari inkubasi 24 jam sampai dengan inkubasi 48 jam diduga akibat adanya viskositas ekstrak yang dapat mempengaruhi kemampuan berdifusi ekstrak kedalam media agar sehingga mempengaruhi daya hambat. Lebih lanjut Mustafidah, Shaleh dan Alimudin



(2015) menambahkan bahwa penurunan zona bening ini diduga karena bakteri mengalami mekanisme resistensi non genetik yaitu bakteri dalam keadaan istirahat (inaktivasi metabolik) biasanya keadaan ini tidak dipengaruhi oleh antibakteri. Apabila bakteri berubah menjadi aktif kembali, maka bakteri kembali bersifat sensitif terhadap antibakteri seperti semula.

Penelitian yang dilakukan oleh Priyanka, Kumar, Bankar dan Karthik (2014) menunjukkan hasil ekstrak daun bidara dengan konsentrasi 100 ppm efektif bersifat sebagai antibakteri terhadap *P. aeruginosa*. Ekstrak daun bidara juga bersifat antibakteri terhadap *P. vulgaris* dengan dosis 100 ppm.

4.3 Mekanisme Antibakteri

Ekstrak daun bidara mengandung senyawa aktif yang mampu berperan sebagai antibakteri. Uji fitokimia daun bidara yang dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica menunjukkan hasil bahwa daun bidara positif mengandung flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, dan fenol. Hasil uji fitokimia disajikan pada Lampiran 5. Mekanisme kerja senyawa antibakteri dibedakan menjadi dua, yaitu bakteristatik dan bakteriosidal. Antibakteri tergolong bakteristatik apabila bersifat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan jika bersifat membunuh bakteri maka termasuk bakteriosidal. Mekanisme kerja dari senyawa aktif sebagai antibakteri antara lain dengan cara merusak membran sel bakteri, mengganggu aktivitas enzim serta denaturasi protein.

Yahaya, Shehu, Isah, Oladele, dan Shemishere (2019) melakukan uji fitokimia secara kuantitatif terhadap ekstrak daun bidara. Hasil uji fitokimia tersebut menunjukkan bahwa kandungan senyawa alkaloid memiliki persentase paling besar dibandingkan senyawa lainnya yang terdapat dalam ekstrak daun bidara. Persentase alkaloid sebesar 7,80% sedangkan tannin sebesar 2.85%; flavonoid sebesar 0.66%, dan saponin sebesar 1.90%. Maka dapat dikatakan



bahwa senyawa yang paling aktif bekerja sebagai antibakteri dalam ekstrak daun bidara adalah alkaloid.

Wahdaningsih, Untari, dan Fauziah (2016) menyatakan bahwa mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri secara umum dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA. Hal ini akan menyebabkan terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri.

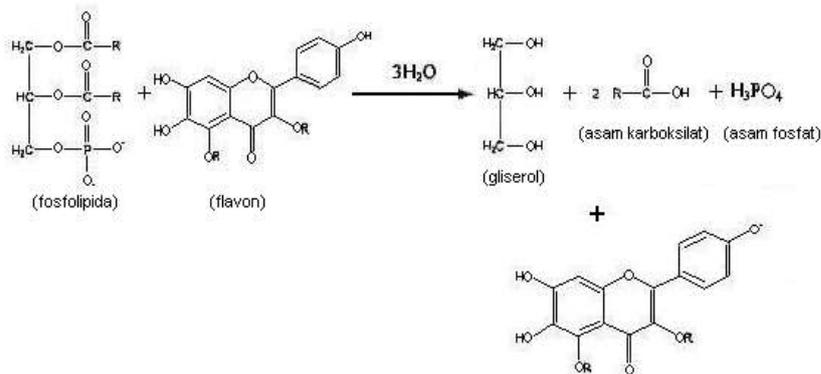
Heni, Arreneuz, dan Zahara (2015) menambahkan senyawa alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu, alkaloid juga menghambat pembentukan sintesis protein sehingga dapat mengganggu metabolisme bakteri.

Berdasarkan penelitian Heni, Arreneuz, dan Zahara (2015) mengenai mekanisme antibakteri senyawa alkaloid yakni bekerja dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri serta menghambat sintesis enzim. Senyawa alkaloid dalam ekstrak daun bidara diketahui bersifat bakteristatik, karena dalam penelitian ini zona bening mengalami penurunan pada waktu 48 jam yang berarti hanya bersifat menghambat bakteri *P. fluorescens*. Pernyataan tentang mekanisme alkaloid disampaikan oleh Oktaviana, Mursiti, dan Wijayati (2019) bahwa alkaloid memiliki kemampuan sebagai zat antibakteri. Kemampuan alkaloid sebagai antibakteri dikarenakan



alkaloid dapat menghambat kerja enzim dalam mensintesis protein bakteri, sehingga metabolisme bakteri terganggu. Alkaloid juga dapat menyebabkan kematian pada sel bakteri dengan merusak komponen penyusun peptidoglikan.

Gambar 8 menunjukkan reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon. Pada perusakan membran sitoplasma, ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya (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 membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian (Prajitno,2007).



Gambar 8. Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon (Prajitno, 2007)

Siregar, Sabdono, dan Pringgenies (2012), menambahkan berdasarkan cara kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi bakterisidal dan bakteriostatik. Antibakteri bakteriostatik adalah zat yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan antibakteri bakterisida adalah zat yang bekerja mematikan bakteri.

4.4 Suhu Inkubasi *P. fluorescens*

Parameter penunjang dari penelitian ini yaitu suhu selama inkubasi. Proses pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan salah

satunya yaitu suhu. Suhu inkubasi yang digunakan selama penelitian ini adalah 32 °C. Suhu tersebut masih berada dalam kisaran optimal untuk mendukung pertumbuhan *P. fluorescens*. Setiap spesies bakteri dapat tumbuh pada kisaran suhu optimal yang berbeda.

Nursyirwani dan Amolle (2007) menyatakan bahwa bahwa bakteri *P. fluorescens* dapat tumbuh optimal pada kisaran suhu 30-35 °C dan pertumbuhannya terhambat apabila suhu diatas 41 °C. Sesuai dengan pendapat Sembiring dan Sriwuryandari (2000) bakteri *P. fluorescens* dapat hidup optimal berada pada kisaran suhu 30-34 °C. Suyono dan Salahudin (2011) menambahkan sifat morfologi dari bakteri *Pseudomonas* sp. adalah bentuk sel batang, termasuk kelompok bakteri gram negatif, motil. Pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* sp. pada suhu 20-40 °C obligat aerobik.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Nursyirwani dan Amolle (2007) dapat disimpulkan bahwa suhu inkubasi *P. fluorescens* selama penelitian ini berada dalam kisaran optimal. Apabila suhu inkubasi di luar batas optimal bakteri yakni di atas 41 °C maka akan menghambat pertumbuhan bahkan menyebabkan kematian pada bakteri tersebut.





5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang aktivitas antibakteri ekstrak kasar daun bidara terhadap bakteri *P. fluorescens* diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak kasar daun bidara memberikan hasil yaitu memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. fluorescens* yang bersifat bakteriostatik.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian tentang aktivitas antibakteri ekstrak kasar daun bidara terhadap bakteri *P. fluorescens* perlu dilakukan penelitian lebih lanjut serta uji *in vivo* untuk mendapatkan dosis yang optimal serta membuktikan keefektifan ekstrak daun bidara pada organisme budidaya.



DAFTAR PUSTAKA

- Abdallah, E.M., E.R. Elsharkawy and A. Ed-dra. 2016. Biological activities of methanolic leaf extract of *Ziziphus mauritiana*. *Biosci Biotech Res Comm*. **9** (4): 605-614.
- Afrianto, E. dan E. Liviawaty. 1992. Hama dan Penyakit Ikan. Kanisius. Yogyakarta. Hlm: 43.
- Afrianto, E., E. Liviawaty, Z. Jamarina dan Hendi. 2015. Penyakit Ikan. Penebar Swadaya. Jakarta. Hlm: 92.
- Akiyama, H.K. Fujii. O. Yamasaki., T. Oono and K. Iwatsuki. 2001. Antibacterial action of several tannin against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **48**: 487 – 491.
- Alamsyah dan Kurniawan H. 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut (J.G. Agardh) dari perairan Pulau Pajang Jepara terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermis*. *Jurnal Of Marine Research*. **3**: 60-78.
- Angelina, M., M. Turnip dan S. Khotimah. 2015. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Protobiont*. **4** (1): 184-189.
- Anisah, S. Khotimah dan A.H. Yanti. 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Protobiont*. **3** (3) : 1- 5.
- Ariyadi, T dan S.S. Dewi. 2009. Pengaruh sinar ultra violet terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus* sp. sebagai bakteri kontaminan. *Jurnal Kesehatan*. **2** (2): 20-25.
- Arwiyanto, T., Y.M.S Maryudani dan N.A. Azizah. 2007. Sifat-sifat fenotipik *Pseudomonas fluoresen*, agensia pengendalian hayati penyakit lintat pada tembakau temanggung. *Biodiversitas*. **8**: 147-151.
- Asimuddin, M., M. R. Shaik, N. Fathima, M. Afreen, S. F. Adil, M. R. H. Siddiqui , K. Jamil, and M. Khan. 2020. Study of antibacterial properties of *Ziziphus mauritiana* based green synthesized silver nanoparticles against various bacterial strains. *Sustainability*. **12**: 1-14.
- Austin, B and D.A. Austin. 2007. Bacterial Fish Pathogen: Disease of Farmed and Wild Fish. Praxis Publishing. Germany. 575 pg.
- Backer, A and Van Den Brink, B. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Volume I. N.V.P. The Netherlands. Noordhoff-Groningen.
- Bintoro, A., A.M. Ibrahim dan B. Situmeang. 2017. Analisis dan identifikasi senyawa saponin dari daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.). *Jurnal ITEKIMIA*. **2** (1): 84-94.
- Budianto dan H. Suprastyani. 2017. Aktivitas antagonis *Bacillus subtilis* terhadap *Streptococcus iniae* dan *Pseudomonas fluorescens*. *Jurnal Veteriner*. **18** (3) : 409-415.

- Cahyono, B. 2001. Budi Daya Ikan di Perairan Umum. Kanisius Jakarta. 95 hlm.
- Chairunnisa, S., N.M. Wartini dan L. Suhendra. 2019. Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) Sebagai sumber saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. **7**(4): 551-560.
- Chooi, O. H. 2004. Buah Khasiat Makanan dan Ubatan. Utusan Publication & Distributors Sdn Bhd. Kuala Lumpur. 167 pg.
- Dewi, N.W.Y. dan G.A.R.S. Dewi. 2017. Analisis sistem akuntansi aset biologis perusahaan akuakultur. *Proceeding SENARI*. **5**: 758-766.
- Fatimah, S., F. Nadifah dan U.L. Azizah. 2017. Pemeriksaan angka kuman pada daging ayam dengan pemberian parutan rimpang lengkuas pith (*Alpinia galanga*Linn Swartz). *Jurnal Teknologi Laboratorium*. **6** (1): 1-7.
- Feliatra. 2018. Probiotik: Suatu Tinjauan Keilmuan Baru Bagi Pakan Bud Daya Perikanan. Kencana. Jakarta. 2012 hlm.
- Fitri, L Dan Y. Yasmin. 2011. Isolasi dan pengamatan morfologi koloni bakteri kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*. **3** (2) : 20-25.
- Goyal, M., B.P. Nagori and D. Sasmal. 2012. Review on ethnomedicinal uses, pharmacological activity and phytochemical constituents of *Ziziphus mauritiana* (*Z. jujuba* Lam., non Mill). *Spatula DD*. **2** (2):107-116.
- Gram, L., J. Melchiorsen, B. Spanggaard, I. Huber and T.F. Nielsen. 1999. Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible probiotic treatment of fish. *Appl. Environ. Microbiol.* **65** (3): 969-973.
- Ginovyan, M., Hovsepyan, V., Sargsyan, M., Grigoryan, K. and Thrchunyan, A., 2017. Antibiotic resistance of *Pseudomonas* species isolated from Armenian fish farms. *Труды ВНИРО*. **167**: 162-172.
- Haeria, Dhuha, N dan Habra R. 2018. Aktivitas antibakteri fraksi-fraksi daun bidara (*Ziziphus mauritiana*). *ad-Dawaa'J.Pharm.Sci*. **1** (2): 94-102.
- Hardi, E.H. 2018. Bakteri Patogen pada Ikan Air Tawar. Mulawarman University Press. Samarinda. 111 hlm.
- Harti, A.S. 2015. Mikrobiologi Kesehatan. ANDI. Yogyakarta. 280 hlm.
- Heni, S. Arreneuz dan T.A. Zaharah. 2015. Efektivitas antibakteri ekstrak kulit batang belimbing hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. **4** (1): 84-90.
- Irianto A. 2005. Patologi Ikan Teleostei. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Kismiyati, Subekti, S., R.W.N. Yusuf dan R. Kusdarwati. 2009. Isolasi Dan Identifikasi bakteri gram negatif pada luka ikan maskoki (*Carassius auratus*) akibat infestasi ektoparasit *Argulus* Sp. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **1** (2): 129-134.



- Kordi, K dan Ghufron, H. 2004. Penanggulangan Hama Penyakit Ikan. Rineka Cipta Bina Adi Aksara. Jakarta. 194 hlm.
- Kusmini, I.I., R. Gustiano, V.A. Prakoso dan M.H.F. Ath-thar. 2016. Budidaya Ikan Gabus. Penebar Swadaya. Jakarta. 221 hlm.
- Maftuch, H. Suprastyani, dan F.H. Setyawan. 2018. Uji daya hambat ekstrak *Chaetoceros calcitrans* terhadap bakteri *Aeromonas salmonicida*. *Journal of Fisheries and Marine Research*. **2** (1): 39-46.
- Manurung, U.N., D. Susantie. 2017. Identifikasi bakteri patogen pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di lokasi budidaya ikan air tawar Kabupaten Kepulauan Sangihe. *Budidaya Perairan*. **5** (3): 1-17.
- Marfu'ah, N., Ramadhani, C.A dan A.M. Hasanah. 2019. Uji efektivitas ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) terhadap pertumbuhan *Propionibacterium acne*. *Pharmasipha*. **3** (1): 1-5.
- Mastan, S.A. 2013. Pseudomonas septicemia in *Labeo rohita* (ham.) and *Cyprinus carpio* (linn.) in andhra pradesh—natural occurrence and artificial challenge. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. **5** (2): 564-568.
- Moningka, K.C., N.S. Kojong dan S. Sudewi. 2015. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun ekor kucing (*Acalypha hispida* burm. F.) Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in-vitro*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **4** (3): 193-202.
- Mulyani, Y., E. Bachtiar dan M.U.K. Agung. 2013. Peranan senyawa metabolit sekunder tumbuhan mangrove terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L). *Jurnal Akuatika*. **6** (1): 1-9.
- Murtidjo, B, A. 2002. Budi Daya dan Pembenihan Bandeng. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 111 hlm.
- Mustafidah, C. Saleh dan Alimuddin. 2015. Uji fitokimia, toksisitas dan aktivitas antibakteri dari ekstrak berbagai fraksi daun mahang (*Macaranga apruina* (Miq.) Mull. Arg.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kimia Mulawarman*. **12** (2) : 83-88.
- Najib, A. 2018. Ekstraksi Senyawa Bahan Alami. Deepublish. Yogyakarta. 58 hlm.
- Ngajow, M., J. Abidjulu dan V.S. Kamu. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Jurnal Mipa Unsrat Online*. **2** (2): 128-132.
- Nur, I. 2019. Penyakit Ikan. Deepublish Publisher. Yogyakarta. 237 hlm.
- Nurrobifahmi, I. Anas., Y. Setiadi, dan Ishak. 2017. Pengaruh metode sterilisasi radiasi sinar gamma co-60 dan autoklaf terhadap bahan pembawa, viabilitas spora *gigaspora margarita* dan ketersediaan Fe, Mn, dan Zn. *Jurnal Tanah dan Iklim*. **41** (1): 1-8.
- Nursyirwani dan K.C. Amolle. 2007. Isolasi dan karakterisasi bakteri hidrokarbonoklastik dari perairan dumai dengan sekuen 16S rDNA. *Ilmu Kelautan*. **12** (1): 12-17.



- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan – Udang (Bakteri). Universitas Negeri Malang Press. Malang. 115 hlm.
- Prajitno, A. 2007. Uji sensitifitas flavonoid rumput laut (*Eucheuma cottonii*) sebagai bioaktif alami terhadap bakteri *Vibrio harveyi*. *Jurnal Protein*. **15** (2): 66-71.
- Priyanka, C., P. Kumar, S.P. Bankar and L. Karthik. 2014. *In vitro* antibacterial activity and gas chromatography–mass spectroscopy analysis of *Acacia karoo* and *Ziziphus mauritiana* extracts. *Journal of Taibah University for Science*. **9**: 13–19.
- Puspitasari, A.D dan L.S. Prayogo. 2017. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar fenolik total ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*). *Cendekia Eksakta*. **2** (1): 1-8.
- Putri, R.R., R.Hasanah dan I. Kusimaningrum. 2016. Uji Aktivitas antibakteri dan uji fitokimia ekstrak daun mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Sains Dan Teknologi Akuakultur*. **2** (1): 43-50.
- Rahayu, A. 1986. Penyakit-penyakit pada ikan-ikan laut. *Oseana*. **11** (3) : 101-110.
- Rahman, F.A., T. Haniastuti dan T.W. Utami. 2017. Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Kedokteran Gigi Indonesia*. **3** (1): 1-7.
- Rahmawati N., E. Sudjarwo dan E. Widodo. 2014. Uji aktivitas antibakteri ekstrak herbal terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. **24** (3): 24 – 31.
- Rastina, M. Sudarwanto dan I. Wientarsih. 2015. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas* sp. *Jurnal Kedokteran Hewan*. **9** (2): 185-188.
- Rinidar, M. Isa, T. Armansyah dan M. Hasa. 2017. Prospek Wedelia Biflora. Syiah Kuala University Press. Banda Aceh. 127 hlm.
- Roosevelt, A and Ghari, A.L.S., 2018. Identifikasi senyawa kimia daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam) dari Kabupaten Timor Tengah Selatan Provinsi NTT secara kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom. *Jurnal Farmasi Sandi Karsa*, **4** (7): 5-10.
- Rosyidah, K., S.A. Nurmuhaimina, N. Komari dan M.D. Astuti. 2010. Aktivitas antibakteri saponin dari kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera casturi*). *Alchemy*. **1** (2): 53-103.
- Rustanti, E. 2016. Efektivitas antibakteri senyawa katekin dari ekstrak daun teh (*Camelia sinensis* L. var *assamica*) terhadap bakteri *Pseudomonas fluorescens*. *LICHEMY: Journal of Chemistry*. **5** (1): 19-25.



- Sameera, N.S and B.P. Mandakini. 2015. Investigations into the antibacterial activity of *Ziziphus mauritiana* Lam. and *Ziziphus xylopyra* (Retz.) willd. *International Food Research Journal*. **22** (2): 849-853.
- Saparinto, C. 2009. Budidaya Ikan di Kolam Terpal. Penebar Swadaya. Jakarta. 101 hlm.
- Saputra, O dan N. Anggraini. 2016. Khasiat belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) terhadap penyembuhan *Acne Vulgaris*. *Majority*. **5** (1): 76-80.
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Kanisius. Yogyakarta. 242 hlm.
- Scales, B.S., R.P. Dickson, J.J. Lipuma and G.B. Huffnagle. 2014. Microbiology, genomics, and clinical significance of the *Pseudomonas fluorescens* species complex, an unappreciated colonizer of humans. *Journals American Society for Microbiology*. **27** (4): 927-948.
- Sembiring, T. dan L. Sriwuryandari. 2000. Bioeograoasi senyawa aromatic oleh *Pseudomonas* sp isolat I₄ dari tablet bakteri. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. **10** (2): 30-36.
- Sianturi, I.T., A. Prajitno, dan E. Sanoesi. 2019. Uji sensitivitas ekstrak kasar batang ciplukan (*Physalis angulata*) terhadap bakteri *Pseudomonas fluorescens* secara *In Vitro*. *Samakia : Jurnal Ilmu Perikanan*. **10** (1) : 24-30.
- Siegrist, J. 2010. *Pseudomonas* a communicative bacteria. *Microbiology Focus*. **2** (4) : 1-8.
- Siregar, A.F., A. Sabdono dan D. Pringgenies. 2012. Potensi antibakteri ekstrak rumput laut terhadap bakteri penyakit kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Micrococcus luteus*. *Jurnal Of Marine Research*. **1** (2): 152-160.
- Sivasankari, M and Sankaravadivoo, A. 2015. Studies on antimicrobial activity of *Ziziphus mauritiana*. *International Journal of Ayurveda and Pharma Research*. **3** (7), 52–55.
- Sukadi, M.F. 2002. Peningkatan teknologi budidaya perikanan. *Jurnal Iktiologi Indonesia*. **2** (2) : 61-66.
- Taufiq. 2018. Aktifitas efek antimikroba ekstrak etanol daun bidara laut (*Ziziphus mauritiana* lam.) Terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dan *Escherichia coli*. *Junal Kesehatan*. **2** (1): 1-8.
- Upadhyay, S., A. Mishra, S. Srivastava, P. Upadhyay, A.K. Ghosh and V. Singh. 2015. Antibacterial potency of *Ziziphus mauritiana* (Fam-Rhamnaceae) roots. *Drug Development and Therapeutics*. **6** (1): 44-46.
- Wahyuni, S., Lianto dan A. Khaeruni. 2014. Isolasi dan karakterisasi bakteri manolitikasal bonggol pohon sagu. *Jurnal Agroteknos*. **4** (3): 174-179.
- Wardahningsih, S., E.K. Untari dan Y.Fauziah. 2016. Antibakteri fraksi *n*-heksana kulit *Hylocereus polyrhizus* terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. *Pharm Sci Res*. **1** (3): 180-193.



Wiyanto, D.B. 2010. Uji Akti vitas antibakteri ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Euचेuमा denticullatum* terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyii*. *Jurnal Kelautan*. **3** (1) : 1-17.

Yahaya, T., K. Shehu, H. Isah, E. Oladele and U. Shemishere. 2019. Toxicological evaluation of the leaves of *Guiera senegalensis* (J.F. Gme), *Cassia occidentalis* (Linn), and *Ziziphus mauritiana* (Lam). *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. **8**:14

Zulnaidi. 2007. Metode Penelitian. Universitas Sumatera Utara. Medan. Hal 27-31.





LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Alat Penelitian



Autoklaf



Laminary Air Flow



Inkubator



Kulkas



Destruktor



Rotary evaporator



Timbangan analitik



Timbangan digital

Lampiran 1. Dokumentasi Alat Penelitian (Lanjutan)



Toples



Mikroskop



Vortex mixer



Hot plate



Colony counter



Jangka sorong



Pipet volume

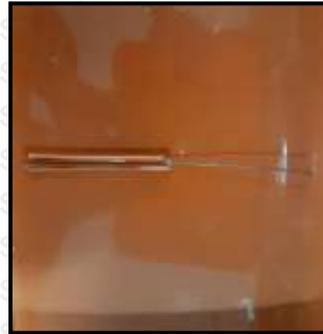


Bunsen

Lampiran 1. Dokumentasi Alat Penelitian (Lanjutan)



Triangel



Jarum ose



Blue tip



Pinset



Cawan petri



Beaker glass



Mikropipet



Botol kecil

Lampiran 1. Dokumentasi Alat Penelitian (Lanjutan)



Rak tabung reaksi dan tabung reaksi



Erlenmeyer



Gelas ukur



Object glass dan cover glass



Corong



Spatula



Lampiran 2. Dokumentasi Bahan Penelitian

50



Bakteri *P. fluorescens*



Antibiotik *Tetracycline*



Media TSB



Media PSA

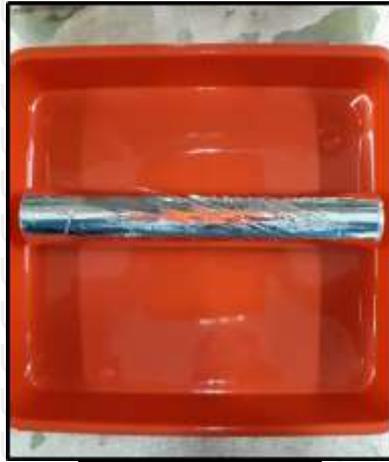


Alkohol



Akuades

Lampiran 2. Dokumentasi Bahan Penelitian (Lanjutan)



Alumunium foil



Plastik wrap



Lateks



Masker



Spiirtus



Kertas

Lampiran 2. Dokumentasi Bahan Penelitian (Lanjutan)



NaCl



DMSO



Kristal violet



Iodine



Safranin

Lampiran 3. Kegiatan Penelitian

A. Pembuatan Ekstrak Daun Bidara (*Z. mauritiana*)



Daun bidara dikeringkan



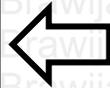
Dihaluskan dengan blender



Ditimbang serbuk daun bidara



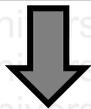
Proses maserasi selama 3 hari



Dicampur metanol 80%



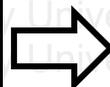
Dimasukkan ke dalam toples



Hasil maserasi disaring



Evaporasi



Didapatkan ekstrak kasar daunbidara

Lampiran 3. Kegiatan Penelitian (Lanjutan)

B. Peremajaan Bakteri *P. fluorescens*



Media PSA
ditimbang



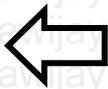
Dimasukkan ke
dalam
erlenmeyer



Dilarutkan
dengan
akuades



Disterilisasi



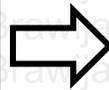
Dimasukkan ke
dalam tabung
reaksi



Media PSA
dipanaskan



Dimiringkan
30° dan
ditunggu
hingga padat



Diambil 1 ose
isolat bakteri
P. fluorescens



Digoreskan
pada media
miring yang
baru



Lampiran 3. Kegiatan Penelitian (Lanjutan)



Diinkubasi
selama 24 jam

Lampiran 3. Kegiatan Penelitian (Lanjutan)

C. Pelaksanaan Uji Daya Hambat



Media PSA
dituang ke
cawan petri



Pengenceran
bakteri pada
media TSB



Dimasukkan
bakteri dan
diratakan dengan
triangle



Kertas cakram
diletakkan pada
cawan berisi
bakteri



Kertas cakram
direndam ekstrak
selama 15 menit



Pembuatan dosis
ekstrak daun
bidara



Diberi *plastic wrap*
dan diinkubasi
selama 24-48 jam



Didapatkan hasil,
diukur zona
bening dan
didokumentasi

Lampiran 4. Hasil Uji Biokimia Bakteri *P. fluorescens*


KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN
DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA
BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA AIR PAYAU
LABORATORIUM UJI BBPAP JEPARA
 Alamat surat: PO Box 1, Jepara, Kantor: Jl. Cik Larang – Batu Jepara 59418
 Telp. : (0291) 591125, Faksimil : (0291) 591724
www.bbapajepara.ditp.kp.go.id ; Email: bbpapjpr@gmail.com

HASIL UJI BIOKIMIA

Hal : Uji biokimia Identifikasi Bakteri
 Asal : Lab. Mikrobiologi
 Alamat : BBAPAP Jepara
 Metode : Cowan and stell's, Manual for Identification of medical bacteria
 Hasil :

Uji Bio Kimia	Isolat
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Gram	—
Bentuk	Batang
Katalase	+
Oksidase	+
H ₂ S	—
Indol	—
Citrate	+
OF medium	Oksidatif
VP	—
MR	—
TSIA	A/A
Urea	—
Glukosa	+
Sukrosa	—
37° C	+
Pigment flourecent	+

Lab. Mikrobiologi BBPAP Jepara
 Pengetia

 Sri Murti Astuti, SP.

Lampiran 5. Hasil Uji Fitokimia Daun Bidara (*Z. mauritiana*)



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA
 Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396 Batu
KOTA BATU 65313

Nomor : 074 / 18D / 102.7 / 2020
 Sifat : Biasa
 Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon
 Nama : Septia Dwi Listiya
 NIM : 165080501111058
 Instansi : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
 Alamat Instansi : Malang
2. Identitas Sampel
 Nama daerah sampel : Bidara
 Nama latin : *Ziziphus mauritiana*
 Bagian sampel : Daun
 Bentuk sampel : Ekstrak
 Pelarut : Metanol
 Tanggal penerimaan : 10 Februari 2020
 Tanggal pemeriksaan : 13 Februari 2020

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Jingga, Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Positif
2.	Alkaloid	Meyer	Endapan Putih
		Dragendrof	Endapan Jingga
		Bouchardat	Endapan Cokelat
3.	Tanin	Cokelat Kehitaman, Biru Kehitaman	Positif
4.	Saponin	Busa Permanen	Positif
5.	Fenol	Cokelat Kehitaman, Biru Kehitaman	Positif

4. Lampiran

Nama Sampel	Flavonoid	Alkaloid		
		Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Ekstrak Daun Bidara (<i>Ziziphus mauritiana</i>)				
Nama Sampel	Tanin	Saponin	Fenol	
Ekstrak Daun Bidara (<i>Ziziphus mauritiana</i>)				

5. Pustaka

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1978. "Materia Medika Indonesia", Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

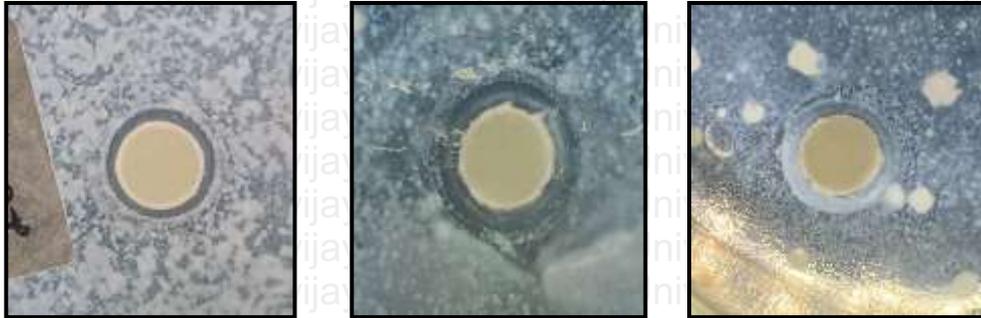
Batu, 17 Februari 2020
 An. Ka. UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu
 Kepala Seksi Penyelidikan Laboratorium Herbal


 Suci Qibla Rizki, S.Farm., Apt.
 NIP. 19900430 201403 2 002

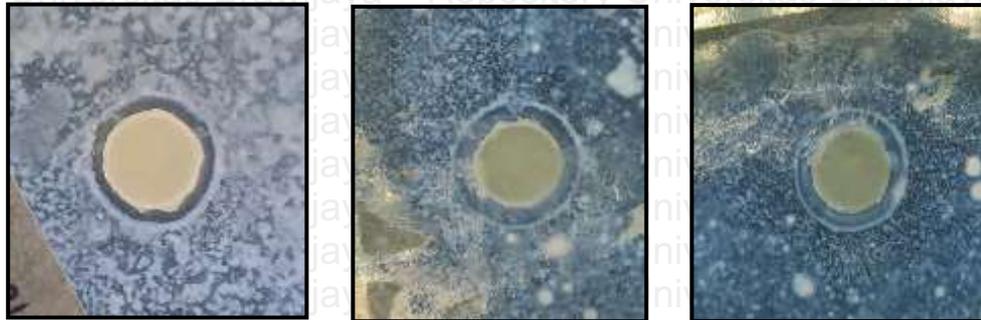
Lampiran 6. Hasil Foto Uji Daya Hambat

• Hasil Foto Uji Daya Hambat selama 24 Jam

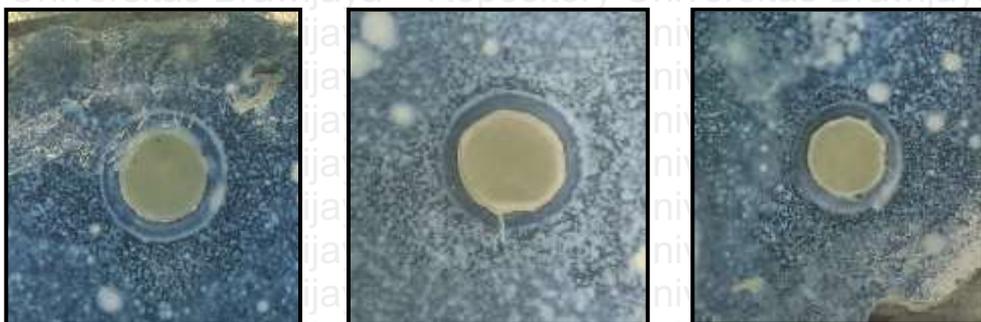
1. Perlakuan A dosis 10 ppm



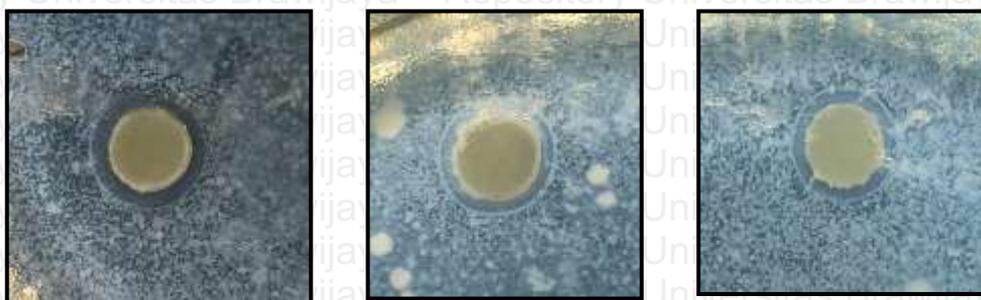
2. Perlakuan B dosis 60 ppm



3. Perlakuan C dosis 110 ppm



4. Perlakuan D dosis 160 ppm

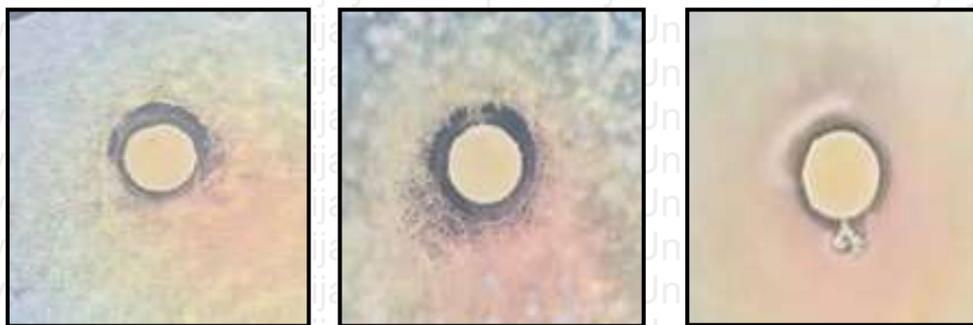


Lampiran 6. Hasil Foto Uji Daya Hambat (Lanjutan)

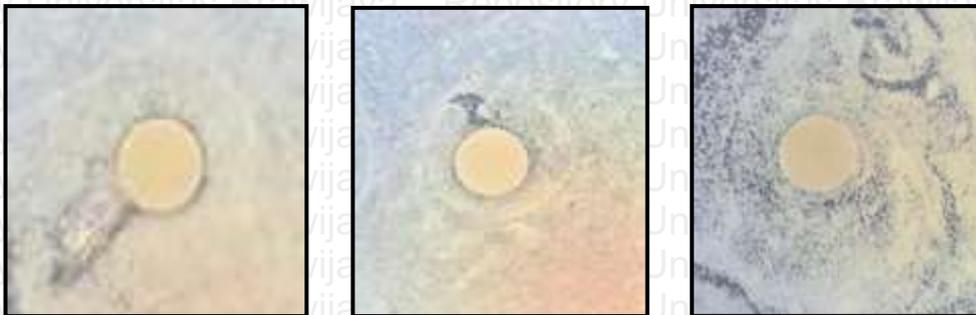
5. Perlakuan E dosis 210 ppm



6. Kontrol positif



7. Kontrol negatif



• Hasil Foto Uji Daya Hambat selama 48 Jam

1. Perlakuan 10 ppm





2. Perlakuan B dosis 60 ppm



3. Perlakuan C dosis 110 ppm



4. Perlakuan D dosis 160 ppm



5. Perlakuan E dosis 210 ppm



Lampiran 7. Perhitungan Dosis

Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak dosis uji yaitu DMSO 10%, adapun perhitungan dosis yang digunakan sebagai berikut:

a. Dosis 5000 ppm

Pembuatan dosis 5000 ppm merupakan dosis stok ekstrak kasar daun bidara tertinggi yang digunakan dalam pembuatan dosis 10 – 210 ppm.

Pembuatan stok ekstrak sebesar 5000 ppm dengan rumus berikut:

$$5000 \text{ ppm} = \frac{25 \text{ mg ekstrak kasar}}{5 \text{ ml (0,5 DMSO 100\% + 4,5 aquades steril)}}$$

b. Dosis 10 ppm

$$\begin{aligned} V1 \times N1 &= V2 \times N2 \\ 1,5 \text{ ml} \times 10 &= V2 \times 5000 \\ V2 &= 0,003 \text{ ml} \\ \text{DMSO 10 \%} &= 1,5 \text{ ml} - 0,003 \text{ ml} = 1,497 \text{ ml} \end{aligned}$$

c. Dosis 60 ppm

$$\begin{aligned} V1 \times N1 &= V2 \times N2 \\ 1,5 \text{ ml} \times 60 &= V2 \times 5000 \\ V2 &= 0,018 \text{ ml} \\ \text{DMSO 10 \%} &= 1,5 \text{ ml} - 0,018 \text{ ml} = 1,482 \text{ ml} \end{aligned}$$

d. Dosis 110 ppm

$$\begin{aligned} V1 \times N1 &= V2 \times N2 \\ 1,5 \text{ ml} \times 110 &= V2 \times 5000 \\ V2 &= 0,033 \text{ ml} \\ \text{DMSO 10 \%} &= 1,5 \text{ ml} - 0,033 \text{ ml} = 1,467 \text{ ml} \end{aligned}$$

d. Dosis 160 ppm

$$\begin{aligned} V1 \times N1 &= V2 \times N2 \\ 1,5 \text{ ml} \times 160 &= V2 \times 5000 \\ V2 &= 0,048 \text{ ml} \\ \text{DMSO 10 \%} &= 1,5 \text{ ml} - 0,048 \text{ ml} = 1,452 \text{ ml} \end{aligned}$$

e. Dosis 210 ppm

$$\begin{aligned} V1 \times N1 &= V2 \times N2 \\ 1,5 \text{ ml} \times 210 &= V2 \times 5000 \\ V2 &= 0,063 \text{ ml} \\ \text{DMSO 10 \%} &= 1,5 \text{ ml} - 0,063 \text{ ml} = 1,437 \text{ ml} \end{aligned}$$



Lampiran 8. Analisis Data Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bidara

- Data hasil pengukuran zona bening ekstrak kasar bidara terhadap bakteri *P. fluorescens* setelah 24 Jam

Perlakuan	Ulangan (mm)			Total (mm)	Rerata ± STDEV
	1	2	3		
A	6,86	6,77	8,35	21,98	7,33 ± 0,89
B	9,13	10,02	9,23	28,38	9,46 ± 0,49
C	9,42	10,41	9,35	29,18	9,73 ± 0,59
D	9,86	9,76	9,96	29,58	9,86 ± 0,10
E	10,5	10,3	10,4	31,4	10,47 ± 0,21
Total				140,52	

- Data hasil pengukuran zona bening ekstrak kasar bidara terhadap bakteri *P. fluorescens* setelah 48 jam

Perlakuan	Ulangan (mm)			Total (mm)	Rerata ± STDEV
	1	2	3		
A	6,21	6,02	7,32	19,55	6,52 ± 0,70
B	8,87	9,65	8,83	27,35	9,12 ± 0,46
C	9,03	9,71	8,77	27,51	9,17 ± 0,49
D	9,33	9,16	9,21	27,7	9,23 ± 0,09
E	9,88	9,57	10,05	29,5	9,83 ± 0,24
Total				131,61	

Perhitungan

- Faktor Koreksi (FK) $= \frac{G^2}{N}$
 $= \frac{140,52^2}{15}$
 $= 1316,39$
- Jumlah Kuadrat (JK total) $= \sum x_{ij}^2 - FK$
 $= (A^2 + A^2 + A^2 + \dots + E^2) - FK$
 $= (6,86^2 + 6,77^2 + 8,35^2 + \dots + 10,4^2) - 1316,39$
 $= 20,12$
- JK Perlakuan $= \frac{\sum (\sum x_i)^2}{r} - FK$
 $= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2 + TE^2)}{r} - FK$
 $= \frac{21,98^2 + 28,38^2 + 29,18^2 + 29,58^2 + 31,4^2}{3} - 1316,39$

$$= 17,26$$

- JK galat = JK Total - JK Perlakuan

$$= 20,12 - 17,26$$

$$= 2,86$$

- db Total = $(n \times r) - 1$

$$= (5 \times 3) - 1$$

$$= 14$$

- db Perlakuan = $n - 1$

$$= 5 - 1$$

$$= 4$$

- db Galat = db Total - db Perlakuan

$$= 14 - 4$$

$$= 10$$

- **Analisa Sidik Ragam dengan Uji F tabel aktivitas antibakteri ekstrak kasar daun bidara terhadap bakteri *P. fluorescens* selama 24 jam**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	17,259	4,314	15,088**	3,48	5,99
Acak	10	2,859	0,285			
Total	14					

Keterangan: (**) berbeda sangat nyata

Berdasarkan tabel di atas didapatkan hasil bahwa aktivitas ekstrak kasar daun bidara terhadap bakteri *P. fluorescens* memberikan pengaruh berbeda sangat nyata. Hal ini dikarenakan nilai F. Hitung sebesar 15,088 lebih besar daripada nilai F 5% dan F 1%. Maka nilai H₀ ditolak yang berarti perlakuan yang diberikan terhadap bakteri memiliki hasil berbeda sangat nyata, dan penggunaan ekstrak kasar daun bidara dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*.

Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

Lampiran 8. Analisa Data Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bidara (Lanjutan)

• Hasil Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	E	Notasi
		7,33	9,46	9,73	9,86	10,47	
A	7,33	-					a
B	9,46	2,13*	-				b
C	9,73	2,40*	0,27 ^{ns}	-			bc
D	9,86	2,53*	0,40 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-		bc
E	10,47	3,14*	1,01*	0,74 ^{ns}	0,61 ^{ns}	-	c

Keterangan:

ns : Tidak berbeda nyata

* : Berbeda nyata

$$\begin{aligned} \bullet \text{ SED} &= \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{\text{ulangan}(r)}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \times 0,285}{3}} \\ &= 0,44 \end{aligned}$$

$$\bullet \text{ BNT } 5\% = t_{(0,05;dbG)} \text{ SED} = 2,28 \times 0,44 = 0,97$$

➤ Tabel Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A	21,98	-2	2	-1	1
B	28,38	-1	-1	2	-4
C	29,18	0	-2	0	6
D	29,58	1	-1	-2	-4
E	31,4	2	2	1	1
Q= Σ(ci*Ti)		20,04	-9,56	7,02	-3,38
Hasil Kuadrat		10	14	10	70
Kr= (Σci^2)*r		30	42	30	210
JK=Q^2/Kr		13,39	2,2	1,64	0,05
Total JK Regresi	15,56				

Lampiran 8. Analisa Data Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bidara (Lanjutan)

➤ Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	15,56			5,41	12,06
Linier	1	13,39	13,39	46,81**		
Kuadratik	1	2,18	2,18	7,61*		
Kubik	1	1,64	1,64	5,74*		
Kuartik	1	0,05	0,05	0,19 ^{ns}		
Acak	10	2,86	0,29	1 ^{ns}		
Total	14	35,68				

Keterangan :

** = Berbeda sangat nyata

ns = Tidak berbeda nyata

$$\begin{aligned}
 1. \text{ KT Linier} &= \frac{JK \text{ Linier}}{db \text{ linier}} \\
 &= \frac{13,39}{1} \\
 &= 13,39
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ KT Kuadratik} &= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{db \text{ kuadratik}} \\
 &= \frac{2,18}{1} \\
 &= 2,18
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ KT Kubik} &= \frac{JK \text{ Kubik}}{db \text{ kubik}} \\
 &= \frac{1,64}{1} \\
 &= 1,64
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ KT Kuartik} &= \frac{JK \text{ Kuartik}}{db \text{ kuartik}} \\
 &= \frac{0,05}{1} \\
 &= 0,05
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ F Hitung Kuadratik} &= \frac{KT \text{ Kuadratik}}{KT \text{ Acak}} \\
 &= \frac{2,18}{0,29} \\
 &= 7,61
 \end{aligned}$$



Lampiran 8. Analisa Data Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bidara (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 6. \text{ F Hitung Kubik} &= \frac{KT \text{ Kubik}}{KT \text{ Acak}} \\
 &= \frac{1,64}{0,29} \\
 &= 5,74
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 7. \text{ F Hitung Kuatrik} &= \frac{KT \text{ Kuatrik}}{KT \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,05}{0,29} \\
 &= 0,19
 \end{aligned}$$

Dari hasil sidik ragam terlihat bahwa regresi linier berbeda sangat nyata, berarti regresi yang sesuai untuk kurva respon ini adalah regresi linier dimana koefisien determinasinya sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &: 0,824 \\
 R^2 \text{ Kuadratik} &: 0,432 \\
 R^2 \text{ Kubik} &: 0,365
 \end{aligned}$$

Hasil sidik ragam polinomial orthogonal diatas menunjukkan bahwa nilai F hitung linier berbeda sangat nyata terhadap nilai F hitung 5% dan 1% yaitu 46,81.

- Mencari persamaan linier $y = a + bx$

X	Y	XY	X ²
10	6,86	68,6	100
10	6,77	67,7	100
10	8,35	83,5	100
60	9,13	547,8	3600
60	10,02	601,2	3600
60	9,23	553,8	3600
110	9,42	1036,2	12100
110	10,41	1145,1	12100
110	9,35	1028,5	12100
160	9,86	1577,6	25600
160	9,76	1561,6	25600
160	9,96	1593,6	25600
210	10,7	2247	44100
210	10,3	2163	44100
210	10,4	2184	44100
$\sum x=1650$	140,52	16459,2	256500
Rerata=110	9,37		



Lampiran 8. Analisa Data Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bidara (Lanjutan)

$$a = \frac{(\sum xy) - \frac{(\sum x \cdot \sum y)}{n}}{(\sum x^2) - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$= \frac{(16459,2) - (1650 \times 140,52)/15}{(256500) - \frac{(1650)^2}{15}}$$

$$= 0,01336$$

$$b = \frac{(\sum y)}{n} - (b_1 \cdot \frac{(\sum x)}{n})$$

$$= \frac{140,52}{15} - (0,01336 \cdot \frac{1650}{15})$$

$$= 7,90$$

Persamaan Linier $y = b_0 + b_1x$
 $y = 7,90 + 0,01336x$

$$10 = 7,90 + 0,01336 (10)$$

$$= 7,90 + 0,1336$$

$$= 8,03$$

$$60 = 7,90 + 0,01336 (60)$$

$$= 7,90 + 0,8016$$

$$= 8,70$$

$$110 = 7,90 + 0,01336 (110)$$

$$= 7,90 + 1,4696$$

$$= 9,37$$

$$160 = 7,90 + 0,01336 (160)$$

$$= 7,90 + 2,1376$$

$$= 10,04$$

$$210 = 7,90 + 0,01336 (210)$$

$$= 7,90 + 2,8056$$

$$= 10,70$$

Lampiran 8. Analisa Data Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bidara (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 R^2 &= \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{13,39}{13,39 + 2,86} \\
 &= 0,844766 \\
 r &= \sqrt{R} \\
 &= \sqrt{0,844766} \\
 &= 0,919112
 \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan a dan b, maka didapatkan persamaan linier sebagai berikut : $y = 7,90 + 0,01336x$

➤ **Grafik Hubungan Zona Bening antar Perlakuan Ekstrak Daun Bidaraterhadap Bakteri *P. fluorescens***

