



TUGAS AKHIR - SB141510

HIDROEKSTRAKSI DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) SEBAGAI PENGENDALI PENYAKIT ICE-ICE PADA BUDIDAYA *Kappaphycus alvarezii*

**NI WAYAN SUTRAENI RAHAYU
NRP. 1512100007**

**Dosen Pembimbing:
Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT.
Isdiantoni, SP., MP.**

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2016**



TUGAS AKHIR - SB 141510

HIDROEKSTRAKSI DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) SEBAGAI PENGENDALI PENYAKIT ICE-ICE PADA BUDIDAYA *Kappaphycus alvarezii*

NI WAYAN SUTRAENI RAHAYU
NRP. 1512100007

Dosen Pembimbing:
Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT.
Isdiantoni, SP., MP.

Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2016



FINAL PROJECT - SB141510

HYDROEXTRACTION KETAPANG LEAVES (*Terminalia catappa* L.) TO CONTROL ICE-ICE DISEASE FOR *Kappaphycus alvarezii* CULTIVATION

NI WAYAN SUTRAENI RAHAYU
1512100007

Advisor Lecturer :
Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT.
Isdiantoni, SP., MP.

Departement of Biology
Faculty of Mathematics and Sains
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2016

**LEMBAR PENGESAHAN
LAPORAN TUGAS AKHIR**

**HIDRO EKSTRAKSI DAUN KETAPANG
(*Terminalia catappa L.*) SEBAGAI PENGENDALI
PENYAKIT ICE-ICE PADA BUDIDAYA
*Kappaphycus alvarezii***

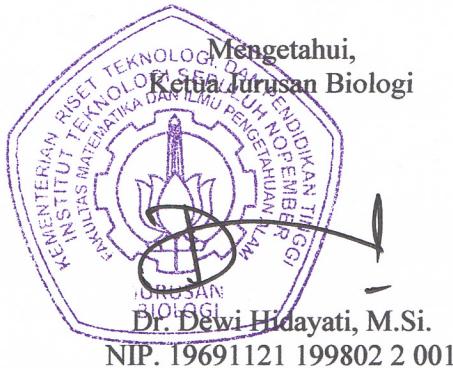
Oleh :

**NI WAYAN SUTRAENI RAHAYU
NRP. 1512 100 007**

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir :

Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, M.T. *[Signature]* (Pembimbing I)
Isdiantoni, SP., MP. *[Signature]* (Pembimbing II)

Surabaya, 8 April 2016



HIDROEKSTRAKSI DAUN KETAPANG
(Terminalia cattapa L.) SEBAGAI PENGENDALI PENYAKIT
*ICE-ICE PADA BUDIDAYA *Kappaphycus alvarezii**

Nama Mahasiswa : Ni Wayan Sutraeni Rahayu

NRP : 1512 100 007

Jurusan : Biologi

**Dosen Pembimbing : Dr.techn. Endry Nugroho P., MT.
Isdiantoni, SP., MP.**

Abstrak

*Ice-ice merupakan penyakit yang menyerang rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang menyebabkan perubahan warna thallus menjadi putih, menurunkan kualitas karaginan serta biomassa rumput laut. Daun ketapang diketahui memiliki sifat antimikroba. Ekstraksi daun ketapang dilakukan dengan metode rebus dan kukus. Aktivitas mikroba ice-ice diuji dengan metode difusi cakram dilanjutkan dengan pencarian konsentrasi minimum ekstrak dalam menghambat dan membunuh mikroba, ekstrak dengan konsentrasi terbaik akan dilanjutkan dengan uji klinis di Desa Palasa Pulau Poteran, Kabupaten Sumenep*

Tujuan dari penelitian ini adalah membandingkan tingkat antimikroba yang dihasilkan dari ekstrak daun ketapang dengan teknik perebusan dan kukusan sehingga diperoleh hasil ekstrak yang efektif dan ekonomis untuk menanggulangi penyakit ice-ice.

*Hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun ketapang yang paling efektif terhadap *Vibrio alginolyticus* adalah ekstrak daun ketapang yang direbus, dengan suhu 40°C dibuktikan dengan dihasilkan diameter zona hambat terbesar yaitu 17.27 mm dan tergolong dalam kategori kuat. Esktrak daun ketapang metode rebus pada suhu 40°C memiliki nilai konsentrasi hambat minimum sebesar 60% bersifat bakteriostatik yaitu menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Hasil uji klinis menunjukkan ekstrak daun ketapang metode rebus suhu 40°C dapat menyembuhkan penyakit ice-ice, ditandai luas bercak*

putih yang berkurang bahkan hilang pada hari ketiga setelah perendaman dengan esktrak daun ketapang.

Kata kunci : Ekstrak daun Ketapang, Kappaphycus alvarezii, penyakit ice-ice

HYDROEXTRACTION KETAPANG LEAVES
(*Terminalia catappa* L.) TO CONTROL ICE-ICE DISEASE
FOR *Kappaphycus alvarezii* CULTIVATION

Student Name : Ni Wayan Sutraeni Rahayu

NRP : 1512 100 007

Departement : Biology FMIPA ITS

**Supervisor : Dr. techn. Endry Nugroho P., MT.
Isdiantoni, SP., MP.**

Abstract

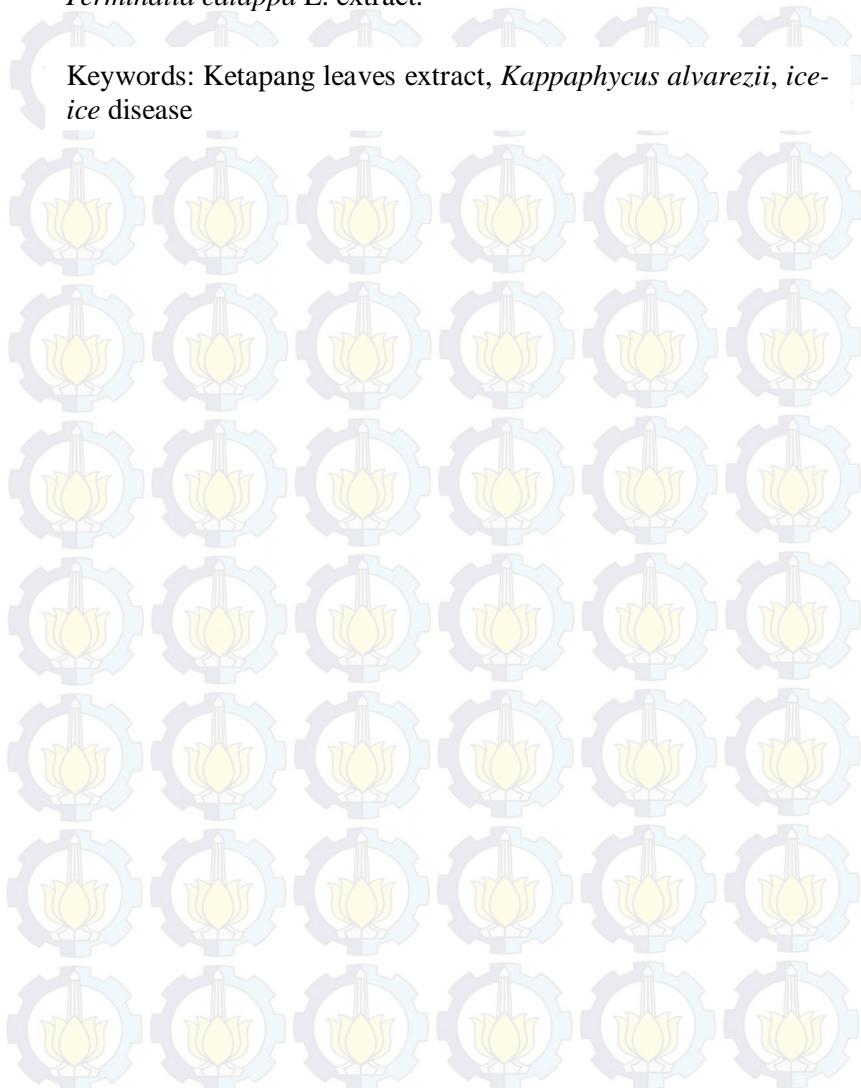
Ice-ice is a disease condition of seaweed on *Kappaphycus alvarezii*. This disease decreases seaweed production by reducing carragenan quality and seaweed biomass. Ketapang (*Terminalia catappa* L.) contains antimicrobial substance that control and reduce *ice-ice* disease. This research aims to compare *Terminalia catappa* L. antimicrobial level extract use boiling and steaming method.

Terminalia catappa L. was extracted by boiling method (40°C, 50°C, 60°C) and steaming method (90°C). The extract was tested by using disk diffusion method for ice-ice microbial in *Kappaphycus alvarezii*, then it was calculated the Minimal Inhibitory Concentration, and Minimum Bactericidal Concentration. The highest antimicrobial activity was applied for *K. alvarezii* cultivation clinic test in Palasa village, Poteran island, Sumenep using float raft method. The result was analyzed descriptively.

The research was able to get the most effective *Terminalia catappa* L. extract from boiling method in 40°C to inhibit *Vibrio alginolyticus* which had 17,27 mm in diameter zone have classified strong category. Ketapang leaf extract method boiled at a temperature of 40°C has a minimum inhibitory concentration value of 60% is bacteriostatic which inhibits the growth of bacteria *V. alginolyticus*. Clinic test showed that extract from boiling method 40°C can recover *ice-ice* diseases. The white

spot in thallus decreased after three days treatment using *Terminalia catappa* L. extract.

Keywords: Ketapang leaves extract, *Kappaphycus alvarezii*, ice-ice disease



KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa yang senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul **Hidroekstraksi Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebagai Pengendali Penyakit *Ice-ice* pada Budidaya *Kappaphycus alvarezii*.** Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2015 – Maret 2016. Penyusunan Tugas Akhir ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 1 (S1) pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Penelitian dan penyusunan Tugas Akhir ini telah melibatkan bimbingan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terimakasih kepada Bapak Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo M.T. dan Bapak Isdiantoni, SP., MP. selaku pembimbing, Bapak Dr. Nurul Jadid, M.Sc. dan Ibu N. Dwianita Kuswytasari, S.Si., M.Si. selaku tim penguji. Penulis juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada ayahanda I Wayan Yasa, ibunda Ni Wayan Runing, dan adik-adik atas segala doa restu dan kasih sayangnya. Penulis juga mengucapkan terimakasih atas dukungan teman-teman angkatan 2012 serta kelompok petani rumput laut Desa Palasa, Pulau Poteran Kabupaten Sumenep.

Walaupun penulis menyadari masih banyak kekurangan namun besar harapan Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi semua pihak dan dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya

Surabaya, 8 April 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
Abstrak	iv
<i>Abstract</i>	vi
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Batasan Masalah.....	3
1.5 Manfaat.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 <i>Kappaphycus alvarezii</i>	5
2.1.1 Morfologi dan karakteristik.....	5
2.1.2 Habitat dan penyebaran.....	6
2.1.3 Faktor mempengaruhi pertumbuhan <i>K. alvarezii</i> ..	7
2.2 Penyakit <i>Ice-Ice</i>	8
2.3 Mikroba Penyebab Penyakit <i>Ice-Ice</i>	10
2.3.1 Mekanisme infeksi penyakit <i>Ice-ice</i>	11
2.4 Ketapang (<i>Terminalia catappa</i> L.).....	12
2.4.1 Senyawa antimikroba dalam daun Ketapang....	13
2.5 Uji Aktivitas Antimikroba.....	14
2.7 Hidroekstraksi.....	16

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Klasifikasi Respon Hambatan untuk Bakteri....	15
Tabel 2.2 Klasifikasi Respon Hambat untuk Kapang.....	16
Tabel 4.3 Data Fisika Perairan Pantai Desa Palasa Pulau Poteran.....	31

DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 2.1	<i>K. alvarezii</i>	6
Gambar 2.2	<i>Thallus K. alvarezii</i>	9
Gambar 2.3	Tanaman <i>T. catappa</i> L.	12
Gambar 4.1	Uji Difusi Cakram Ekstrak Daun Ketapang terhadap Pertumbuhan <i>V.alginolyticus</i>	24
Gambar 4.2	Diameter Zona Hambat pada Variasi Metode Ekstrak Daun Ketapang terhadap <i>V. aglinoliticus</i>	24
Gambar 4.3	Grafik Hubungan antara Diameter Zona Hambat pada Jam ke-18, ke-24, dan 48 dengan Tipe Metode Ekstrak.....	26
Gambar 4.4	Uji Difusi Cakram Ekstrak Daun Ketapang terhadap Pertumbuhan <i>Aspergillus sp.</i>	27
Gambar 4.5	Aktivitas Ekstrak Daun Ketapang terhadap Mikroba Penyebab Penyakit <i>ice-ice</i> yaitu <i>Aspergillus sp.</i>	28
Gambar 4.6	Kekeruhan Terjadi pada Medium sebagai Penentu Konsentrasi Hambat Minimum.....	30
Gambar 4.7	Uji Klinis Perendaman <i>K. alvarezii</i> oleh Esktrak Daun Ketapang pada Pemulihan Penyakit <i>ice-ice</i>	32

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian.....	49
Lampiran 2. Dokumentasi Kegiatan Pembuatan Ekstrak.	51
Lampiran 3. Komposisi Medium.....	53
Lampiran 4. Metode Dilusi.....	54
Lampiran 5. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak.....	55
Lampiran 6. Komposisi Standard Mc Farland 0,5.....	56
Lampiran 7. Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang Metode Rebus <i>V.alginolyticus</i>	57
Lampiran 8. Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang Metode kukus <i>V.alginolyticus</i>	58
Lampiran 9. Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang Metode Rebuss <i>Aspergillus sp</i> ...	59
Lampiran 10 Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang Metode kukus <i>Aspergillus sp</i>	60
Lampiran 11 Dokumentasi Hasil Metode Difusi pada <i>Vibrio alginolyticus</i>	61
Lampiran 12 Dokumentasi Hasil Metode Difusi pada <i>Aspergillus sp</i>	65
Lampiran 13 Hasil Uji KHM.....	68
Lampiran 14 Dokumentasi Hasil KHM.....	69
Lampiran 15 Foto Pengamatan KBM	72
Lampiran 16 Dokumentasi Hasil Uji Klinis.....	73

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kappaphycus alvarezii merupakan anggota dari alga merah (*Rhodophyceae*) dapat dimanfaatkan untuk bahan makanan yang berguna sebagai antiradikal bebas (Hotchkiss, 2007; Gerung, 2002; Hernani, 2006). Selain itu, *K. alvarezii* menjadi komoditas ekspor karena mengandung kappa karaginan yang penting untuk stabilisator, bahan pengental, pembentuk gel dan pengemulsi dengan teknik budidayanya yang relatif mudah dan murah (Jimenez-Escríg, *et al.*, 2001; Sulistijo, 1996). Pada tahun 2002 produksi karaginan Indonesia mencapai 3.896 ton dengan kapasitas ekspor sampai 3.156 ton (DKP, 2007). Salah satu penghasil rumput laut *K. alvarezii* di Indonesia adalah Desa Palasa, Sumenep, Jawa Timur. Petani rumput laut di Desa Palasa telah mengandalkan *K. alvarezii* sebagai salah satu komoditas untuk meningkatkan pendapatan mereka selain memancing.

Budidaya *K. alvarezii* akhir-akhir ini mengalami penurunan kualitas dan kuantitas lebih dari 50% karena salah satunya akibat penyakit *ice-ice* yang dipicu oleh buruknya kondisi lingkungan (Largo *et al.*, 1995; Widiastuti, 2009; FAO, 2007). Penyakit *ice-ice* ditandai dengan gejala pemutihan dan kelembekan *thallus* yang menyebabkan nekrosis (kematian jaringan), fragmentasi *thallus*, dan menurunnya biomassa rumput laut (Uyenco *et al.*, 1977; Trono, 1974; Fresco, 2012). Penyakit ini disebabkan oleh bakteri patogen dari kelompok *Vibrio* dan *Cytophaga-Flavobacterium* (Largo, 1995) serta dari kelompok fungi (*Aspergillus sp.* dan *Phoma sp.*) (Solis *et al.*, 2010).

Ketapang (*Terminalia catappa* L.) merupakan salah satu tanaman yang dapat tumbuh di tanah yang kurang nutrisi dan tersebar sangat melimpah di Desa Palasa. Selama ini masyarakat di Desa Palasa hanya mengenal tanaman ketapang sebagai tanaman peneduh dan belum banyak dimanfaatkan sehingga nilai ekonomisnya masih rendah (Handoko, 2011). Ekstrak daun

ketapang (*T. catappa* L.) diketahui memiliki sifat antimikroba karena mengandung senyawa flavonoid, saponin, triterpen, diterpen, fenolik dan tanin (Pauly, 2001; Luthfiyah, 2015; Hardhiko *et al.*, 2004; Neelavathi, 2013). Ekstrak daun ketapang menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol dapat menghambat 70% bakteri Gram positif dan 63 % bakteri Gram negatif (Lutfiyah, 2015). Penggunaan daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebagai ekstrak dalam skala besar tidak akan menimbulkan persaingan dengan pemenuhan kebutuhan pangan masyarakat (Handoko, 2011).

Teknik ekstraksi terhadap daun ketapang secara maserasi, soxhlet, dan hidrodistilasi menghasilkan antimikroba yang sangat efektif, tetapi teknik ini memerlukan pelarut yang sangat mahal. Teknik ekstraksi yang lebih ekonomis sangat diperlukan untuk mengurangi biaya produksi sehingga dapat dengan mudah diaplikasikan khususnya bagi petani pembudidaya rumput laut skala kecil (Dandu, 2009).

Salah satu alternatif ekstraksi yang mudah dilakukan adalah hidroekstraksi menggunakan air panas dengan cara perebusan dan kukusan. Metode hidroekstraksi merupakan cara yang sangat sederhana dan ekonomis sehingga dapat diaplikasikan oleh pembudidaya rumput laut (Ahmed, 2005). Menurut Neelavathi *et al.* (2013) aktivitas antibakteri daun *T. catappa* L. pada teknik ekstraksi air panas dengan temperatur 40-50°C menghasilkan hambatan pertumbuhan bakteri gram positif .

Oleh karena itu, dilakukan perbandingan tingkat antimikroba yang dihasilkan dari ekstrak daun ketapang dengan teknik hidroekstraksi melalui perebusan dan kukusan. Ekstrak yang dihasilkan diharapkan mampu mengontrol penyakit *ice-ice* pada budidaya rumput laut.

1.2 Rumusan Masalah

Pembudidaya rumput laut skala kecil memerlukan teknik ekstraksi yang lebih ekonomis untuk mengurangi biaya produksi agar dapat dengan mudah diaplikasikan. Sehingga dalam

penelitian ini dirumuskan permasalahan perbandingan tingkat antimikroba yang dihasilkan dari ekstrak daun ketapang dengan teknik rebus dan kukus untuk menanggulangi penyakit *ice-ice*.

1.3 Batasan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini dibatasi pada :

1. Penelitian ini menggunakan dua jenis perlakuan yaitu *in vitro* dan *in vivo*.
2. Pada perlakuan *in vitro* digunakan pengamatan Difusi Cakram, KHM dan KBM.
3. Ekstrak daun ketapang yang digunakan yaitu ekstraksi dengan cara perebusan dengan suhu 40°C, 50°C, dan 60°C dan kukusan dengan suhu 90°C ditunggu selama 30 menit
4. Pada perlakuan *in vivo* *K. alvarezii* yang diamati berada di Desa Palasa (Pulau Poteran, Madura) yang dibudidayakan dengan teknik rakit apung.

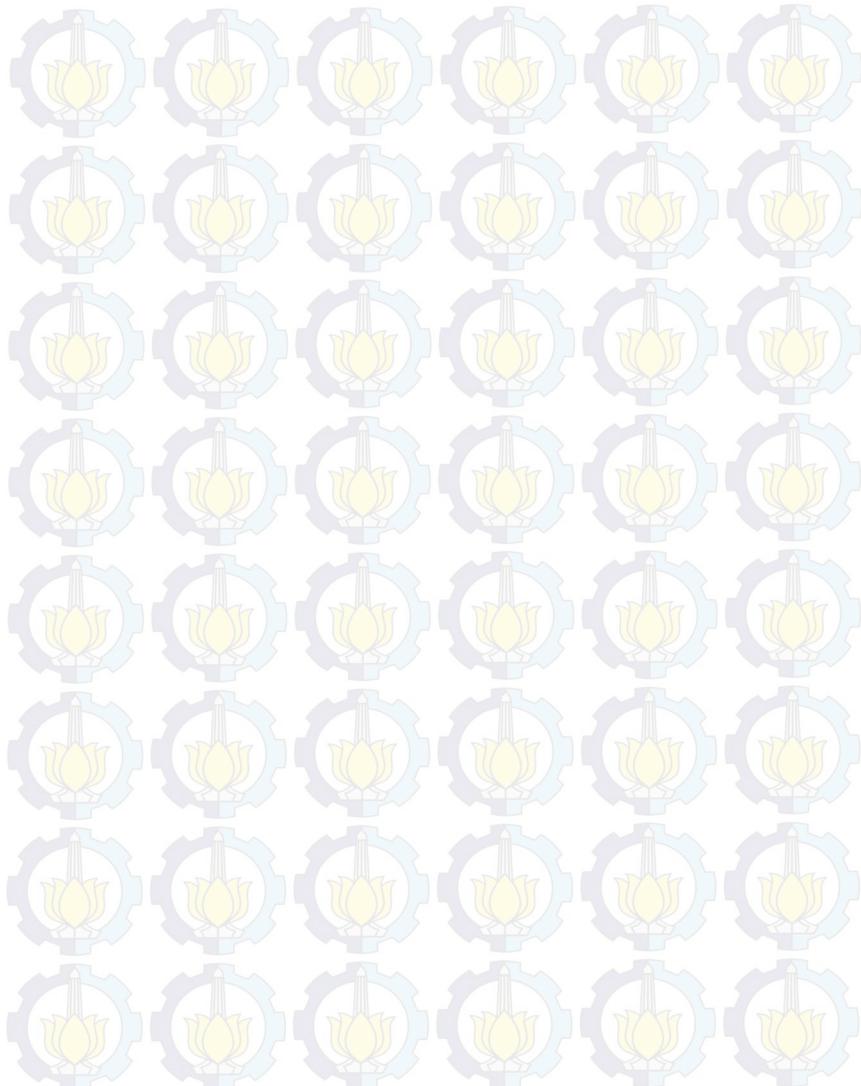
1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah membandingkan tingkat antimikroba yang dihasilkan dari ekstrak daun ketapang dengan teknik perebusan dan kukusan sehingga diperoleh hasil ekstrak yang efektif dan ekonomis untuk menanggulangi penyakit *ice-ice*.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini yaitu dapat dijadikan bahan masukan yang berguna bagi Pemerintah Kabupaten Sumenep yang berkaitan dengan upaya peningkatan produksi rumput laut.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Kappaphycus alvarezii*

K. alvarezii merupakan salah satu jenis alga merah (*Rhodophyceae*) Doty (1985), kaya akan pigmen fotosintesis dan pigmen lainnya seperti klorofil a, α -karoten, β -karoten, fikobilin, neozantin dan zeanthin (Luning, 1990). Klasifikasi *K. alvarezii* menurut Larsen (1996) adalah sebagai berikut :

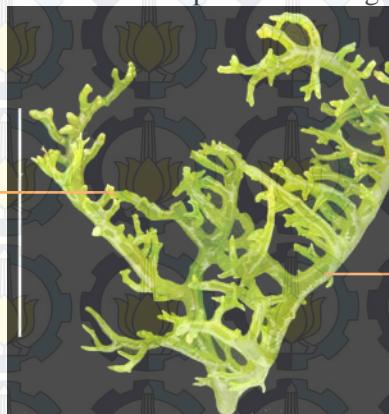
Kindom	:	Plantae
Divisi	:	Phodophyta
Kelas	:	Rhodophyceae
Ordo	:	Gigartinales
Famili	:	Solieriaceae
Genus	:	<i>Kappaphycus</i>
Spesies	:	<i>Kappaphycus alvarezii</i>
(Larsen ,1996)		

Kappaphycus alvarezii merupakan spesies rumput laut yang banyak dibudidayakan di perairan Indonesia. Hal tersebut dikarenakan manfaat pikokoloidnya yang besar yaitu karaginan dan agar serta teknik budidayanya yang relatif mudah dan murah. (Luning, 1990).

2.1.1 Morfologi dan Karakteristik

Karakteristik *K. alvarezii* yaitu memiliki *thallus* berbentuk silinder, duri-duri pada *thallus* runcing memanjang, agak jarang-jarang dan tidak bersusun melingkari *thallus*, permukaan licin, cartilagineus (menyerupai tulang rawan/muda) (Anggadireja,*et al.*,2008) cabang multiaxial yang lemah atau tegak (Sahoo,2010) serta memiliki diameter 20-30 cm (Martin, 2000). Percabangan bersifat *dichotomus* (percabangan dua-dua) atau *trichotomus* (sistem percabangan tiga-tiga) (Anggadireja,*et al.*,2008).

Meskipun *K. alvarezii* merupakan salah satu jenis alga merah (*Rhodophyceae*) (Doty, 1985), namun warna *K. alvarezii* tidak selalu tetap dikarenakan faktor lingkungan dan merupakan proses adaptasi kromatik yaitu penyesuaian antara proporsi pigmen dengan berbagai kualitas pencahayaan, *K. alvarezii* kadang-kadang berwarna hijau, hijau kuning, abu-abu atau merah (Aslan, 2005). Gambar 2.1 merupakan morfologi *K. alvarezii*.



Gambar 2.1. *K. alvarezii* (Trono, 1974)

Keterangan gambar: (a) Thallus (b) duri pada thallus

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

K. alvarezii mempunyai habitat khas berupa daerah yang memperoleh aliran air laut yang tetap, variasi suhu yang kecil, dan substrat batu karang mati (Aslan, 1998). Habitat rumput laut *K. alvarezii* memerlukan sinar matahari untuk proses fotosintesis. Oleh karena itu, rumput laut jenis ini hanya mungkin hidup pada kedalaman sejauh sinar matahari masih mampu mencapainya. Rumput laut jenis ini tumbuh di dataran terumbu karang dangkal sampai kedalaman 6 m, melekat di batu karang, cangkang kerang, dan benda keras lainnya. Rumput laut jenis ini akan hidup baik bila jauh dari muara sungai (Anggadiredja dkk., 2008). Faktor yang sangat berpengaruh pada pertumbuhan jenis ini yaitu arus yang cukup dengan salinitas yang stabil, yaitu berkisar 28–34 per

14 mil. Rumput laut ini tumbuh mengelompok dengan berbagai jenis rumput laut lainnya yang memiliki keuntungan dalam hal penyebaran spora (Aslan,2006). *K. alvarezii* ini asal mulanya didapat dari perairan Sabah (Malaysia) dan Kepulauan Sulu (Filipina). Selanjutnya dikembangkan ke berbagai negara sebagai tanaman budidaya. Lokasi budidaya rumput laut jenis ini di Indonesia antara lain Lombok, Madura, Bali, Sumba, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tengah, Lampung, Kepulauan Seribu, dan Perairan Pelabuhan Ratu (Atmadja, 2011).

2.1.3 Faktor-Faktor Mempengaruhi Pertumbuhan *K. alvarezii*

Lokasi dan lahan budidaya untuk pertumbuhan rumput laut jenis *K. alvarezii* di wilayah pesisir dipengaruhi oleh berbagai faktor ekologi oseanografis yang meliputi parameter lingkungan fisik, biologi dan kimiawi perairan (Puslitbangkan,1991).

a. *Kedalaman Air*

Kedalaman air yang baik untuk pertumbuhan *K. alvarezii* adalah antara 20 cm sampai 15 m saat air laut surut terendah. Dengan kedalaman tersebut, rumput laut juga dapat memperoleh sinar matahari secara optimal saat air laut pasang (Ditjenkan Budidaya, 2004).

b. *Kecerahan Air*

Kondisi air yang jernih dengan tingkat transparansi sekitar 1,5 meter cukup baik bagi pertumbuhan rumput laut. Intensitas cahaya yang diterima secara sempurna oleh *thallus* merupakan faktor utama dalam proses fotosintesis (Soenardjo, 2003).

c. *Kondisi Substrat Perairan*

Dasar perairan yang paling baik untuk pertumbuhan *K. alvarezii* adalah yang stabil, terdiri dari patahan karang mati (pecahan karang), dan pasir kasar serta bebas dari lumpur (Ditjenkan Budidaya, 2004).

d. Arus

Kecepatan arus yang dianggap cukup untuk budidaya rumput laut kira-kira 20-40 cm per detik (Winarno, 1996).

e. Suhu

Kisaran suhu perairan yang baik untuk rumput laut *K. alvarezii* adalah 27-30°C dengan fluktuasi harian 4°C (Setiyanto *et al.*, 2008). Kenaikan suhu yang tinggi akan mengakibatkan *thallus* rumput laut menjadi pucat kekuning-kuningan dan tidak sehat (Soenardjo, 2003).

f. pH

pH perairan yang baik untuk organisme laut ialah 6,5-8,5 (Aslan, 2005).

g. Salinitas

Salinitas yang cocok untuk budidaya *K. alvarezii* ialah antara 28-34 ppt (Parenrengi *et al.*, 2007)

2.2 Penyakit *Ice-Ice*

Ice-ice merupakan penyakit indikasi cekaman (*stress*) pada rumput laut yang sering terlihat di lokasi budidaya *K. alvarezii* ditandai dengan timbulnya bintik/bercak-bercak merah pada sebagian *thallus* yang lama kelamaan menjadi kuning pucat dan akhirnya berangsur-angsur menjadi putih dari jaringan yang mati akhirnya menjadi hancur atau rontok (Aditya dan Ruslan, 2003; Aji dan Murdjani, 1986; Imardjono *et al.*, 1989; Trensongrusmee dkk., 1986; Runtuboy, 2004 ; Uyenco *et al.*, 1981; Trono, 1974). Rumput laut yang terkena penyakit ini tidak dapat melakukan fotosintesis secara maksimal dan kandungan pigmen menurun (Ganzon-Fortes *et al.* 1993). Konsep dari *ice-ice* sendiri berasal dari tekstur dan warna dari area *thallus* yang terinfeksi dan terlihat mirip seperti es (Collén *et al.*, 1995). Bagian *thallus* muda

dari rumput laut *K. alvarezii* relatif lebih banyak terserang *ice-ice* dibandingkan dengan *thallus* yang relatif tua hal ini dikarenakan *thallus* muda merupakan bagian titik tumbuh rumput laut dan memiliki lapisan epidermis yang tipis sehingga mudah terserang bakteri dan sensitif terhadap perubahan lingkungan (Hamsah, 2012). Arisandi (2011) di lapangan menunjukkan bahwa gejala awal infeksi *ice-ice* mulai terlihat setelah masa pemeliharaan sekitar 25 hari. Penyakit *ice-ice* dapat menyebar secara vertikal (dari bibit) atau horizontal melalui perantaraan air (Musa, 2008).

Faktor utama pemicu timbulnya penyakit *ice-ice* adalah faktor abiotik yaitu kondisi perairan laut yang fluktuatif dan cenderung ekstrim yaitu perubahan salinitas, suhu air, dan intensitas cahaya mengakibatkan rumput laut mengalami stres (Vairappan, 2006) ketika rumput laut mengalami stres akan memudahkan infeksi patogen (Imardjono *et al.*, 1989; Hurtado and Agbayani, 2000; Mintardjo, 1990; Kaas and Perez, 1990). Dalam keadaan stres, rumput laut (seperti: *Gracilaria* atau *Kappaphycus*) akan membebaskan substansi organik yang menyebabkan *thallus* berlendir dan diduga merangsang banyak bakteri tumbuh di sekitarnya (Trono, 1974; Aji dan Murdjani, 1986; Kaas and Perez, 1990; Uyenco *et al.* 1981). Morfologi *thallus* *K. alvarezii* memutih dikarenakan penyakit *ice-ice* dapat dilihat pada gambar 2.2



Gambar 2.2 *Thallus K. alvarezii* (Dokumentasi pribadi, 2015)

Keterangan gambar: *Thallus K. alvarezii* memutih dikarenakan penyakit *ice-ice*

Faktor biotik penyebab *ice-ice* adalah bakteri patogen yaitu *Vibrio* dan *Cytophaga-Flavobacterium* (Largo *et al.*, 1995) serta fungi, fungi yang diketahui dapat menginduksi penyakit *ice-ice* ialah *Aspergillus ochraceus*, *A. terreus* dan *Phoma sp.* (Solis *et al.*, 2010). Faktor pemicu lain infeksi *ice-ice* dan epifit pada *K. alvarezii* adalah hama, seperti ikan baronang (*Siganus spp.*), penyu hijau (*Chelonia midas*), bulu babi (*Diadema sp.*) dan bintang laut (*Protoneostes sp.*) yang dapat menyebabkan luka pada *thallus* (Djokosetiyyanto *et al.*, 2008). Luka memudahkan terjadi infeksi sekunder oleh bakteri (Largo *et al.*, 1995).

2.3 Mikroba Penyebab Penyakit *Ice-Ice*

Mikroba penyebab penyakit *ice-ice* dapat berupa fungi (jamur) maupun bakteri. Bakteri yang termasuk dalam kategori bakteri penginfeksi rumput laut penyebab penyakit *ice-ice* adalah *Vibrio-alginolyticus* dan *Cytophaga-Flavobacteria* (Fresco, 2004). Jenis fungi laut yang dapat menginduksi gejala *ice-ice* yang mempengaruhi aktivitas *carrageenolytic* dan selulosa yaitu *Aspergillus sp.* dan *Phoma sp.* (Hurd, 2014).

Vibrio merupakan organisme akuatik, ditemukan di laut, payau atau habitat perairan tawar (Madigan *et al.*, 2012) yang merupakan bakteri dari famili Vibrionaceae, kelas Proteobacteria, Gram negatif, bentuk batang yang melengkung (Madigan *et al.*, 2012 ; Bergey *et al.*, 1957). Secara umum, bakteri vibrio bersifat aerob, tetapi ada pula yang bersifat anaerob fakultatif (Feliatra, 1999). Bakteri *Vibrio* tumbuh pada pH 4 - 9 dan tumbuh optimal pada pH 6, 5 - 8, 5 (Baumann *et al.*, 1984). Bakteri *Vibrio alginolyticus* memiliki tingkat patogenisitas tertinggi terhadap *thallus* rumput laut *K. alvarezii* (Aris ,2011). *Vibrio alginolyticus* merupakan bakteri Gram negatif, memiliki batang pendek, bersifat fakultatif anaerob (Costinar *et al.*, 2010). *Vibrio* merupakan bakteri yang motil karena memiliki flagella (Thompson *et al.*, 2005). Penempelan pada *thallus* oleh adanya flagel ini merupakan faktor penting yang berperan dalam mekanisme infeksi (Largo, 1999).

Aspergilus sp. adalah jenis mikroorganisme yang termasuk dalam fungi (jamur) dan mikroorganisme eukariotik salah satu mikoba penginduksi penyakit *ice-ice* pada rumput laut (Solis, 2010). *Aspergilus* sp. memiliki hifa bersepta dan bercabang, konidiofora muncul dari *foot cell* membawa stigmata dan akan tumbuh konidia yang membentuk rantai berwarna hijau, coklat atau hitam (Fardiaz, 1992).

2.3.1 Mekanisme Infeksi Penyakit *Ice-Ice*

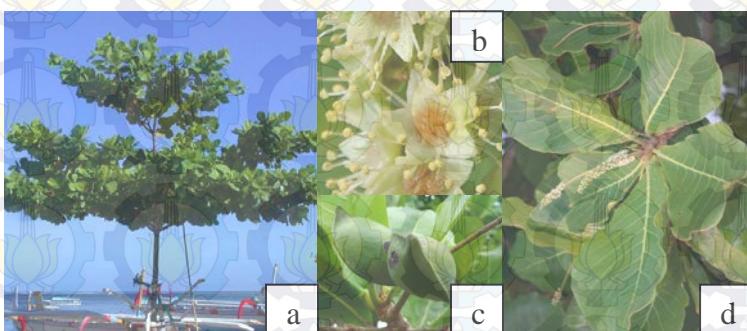
Mekanisme infeksi bakteri pada penyakit *ice-ice* diketahui dari aktivitas *Vibrio* sp. yang dapat menempel pada permukaan *thallus* (Largo, 1999). Tahap pertama infeksi yaitu penempelan bakteri pada *thallus* untuk mengawali penyakit *ice-ice*, dimana bakteri *Vibrio* menempel pada *thallus* rumput laut yang stres kemudian berkembang biak pada dinding sel dengan memanfaatkan polisakarida (karagenan) sebagai media atau sumber karbonnya. Karaginan merupakan senyawa paling besar yang ditemukan pada matriks dinding sel (Santos, 1989). Karagenan adalah kelompok pembentuk gel dan polisakarida pengental dan umumnya digunakan sebagai pemanat, penebal, dan agen penstabil terutama pada produksi makanan, berbeda dengan agar (Necas, 2013). Agar atau agarose merupakan senyawa kompleks polisakarida yang dapat membentuk jeli, digunakan secara luas di laboratorium sebagai pemanat kemikalia dalam percobaan dan biakan mikroba. Setelah 2 – 3 hari bakteri *Vibrio* masuk ke dalam jaringan sampai pada lapisan medula dengan cara menghidrolisa enzim karaginase akibatnya warna *thallus* menjadi pucat, jaringannya lembek serta *thallus* mudah terputus (Weinberger, 2007). Kloroplas banyak ditemukan pada lapisan sel epidermis rumput laut. Aktivitas hidrolitik bakteri menyebabkan degradasi epidermis yang dilanjutkan dengan rusaknya kloroplas, dan berakhir pada pemutihan *thallus* rumput laut yang terinfeksi (Solis et al., 2010).

2.4 Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

Ketapang berasal dari Asia Tenggara dan sudah dikenal secara umum di Indonesia terdistribusi secara luas di daerah tropis dan subtropis di Asia dan Amerika Selatan (Hutchinson, 1972). Ekstrak tumbuhan dapat dijadikan bahan antimikroba (Neelavathi, 2003). Budidaya daun *T. catappa* L. telah digunakan untuk penyembuhan luka terhadap infeksi bakteri dan jamur serta infeksi parasit, *T. catappa* L. menghasilkan tanin hydrolyzable ketika mereka tenggelam dalam air (Chitmanat *et al.*, 2005). Morfologi *T. catappa* dapat dilihat pada gambar 2.3

Klasifikasi *T. catappa* menurut Tjitosoepomo (1993) adalah sebagai berikut :

Kingdom	:	Plantae
Divisi	:	Spermatophyta
Kelas	:	Dicotyledonae
Ordo	:	Myrales
Famili	:	Combretaceae
Genus	:	<i>Terminalia</i>
Spesies	:	<i>Terminalia catappa</i> L.



Gambar 2.3 Tanaman *T. catappa* L. (Dokumentasi pribadi, 2015)
Keterangan gambar: (a) pohon *T. catappa* L. (b) bunga *T. catappa* L.
(c) buah *T. catappa* L (d) daun *T. catappa* L.

T. catappa L. memiliki batang berdiameter sampai 1,5 m, dengan cabang panjang dan mendatar, bunga berukuran sangat kecil, berwarna putih dan tidak bermahkota, buah berbentuk bulat telur, waktu muda berwarna hijau dan setelah matang berwarna merah Lemmens dan Soedjipto (1999). *T. catappa* L. memiliki helaihan daun bundar telur terbalik. Helaian dipangkal berbentuk jantung, ujung daun meruncing, pangkal daun juga berbentuk meruncing, dan tepi daun yang rata.

2.4.1 Senyawa Antimikroba dalam Daun Ketapang

Kandungan daun Ketapang berdasarkan analisis fitokimia dengan ekstrak etanol dan air (akuades) terbukti adanya alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, senyawa fenolik, triterpenoid, *phytosterols*, *fixed oil* dan lemak, protein, karbohidrat, glikosida, dan resin (Neelavathi, 2013).

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan didalam jaringan tanaman (Rajalakshmi dan S. Narasimhan, 1985). Senyawa flavonoid mampu menghambat fungsi membran sitoplasmik bakteri dengan cara mengurangi fluiditas membran sel dan merusak ikatan hidrogen pada asam nukleat sehingga menghambat sintesis DNA dan RNA (Cushnie dan Lamb, 2005).

Saponin merupakan senyawa aktif yang menimbulkan busa ketika dikocok dalam air. Saponin mudah larut dalam air dan etanol, namun tidak larut dalam eter (Robinson, 1995). Saponin bersifat sebagai antimikroba yang aktif pada kedua organisme prokariotik dan eukariotik, tetapi dalam kepadatan sel yang rendah daya racun saponin terhadap jamur berhubungan dengan kemampuan senyawa ini untuk membentuk kompleks dengan sterol membran, dan menyebabkan pembentukan rongga. Perkecambahan spora dihambat oleh senyawa ini. Apabila senyawa saponin yang dikandung ekstrak bereaksi dengan sterol membran dari sel jamur menyebabkan pembentukan rongga pada

membran sel jamur yang akhirnya mengakibatkan kerusakan pada membran sel jamur, selain itu saponin juga berperan sebagai antiparasit, antimolusca, aktif dalam haemolisis darah, anti radang, antiyeast, antiviral, sitotoksik atau anti tumor, dan lain-lain (Sparg, *et al.*, 2004).

Secara struktural tanin adalah suatu senyawa fenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa gugus yang bersangkutan seperti karboksil untuk membentuk kompleks kuat yang efektif dengan protein dan beberapa makromolekul (Horvart, 1981). Tanin adalah senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada beberapa tanaman. Menurut Rinasari (2002) sifat utama tanin yaitu mempunyai sifat bakteristatik dan fungistatik, tanin dapat larut dalam air, kelarutannya besar dan akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas. Suksmawan dkk., (2004) melaporkan ekstrak etanol dan ekstrak air dari daun gugur dan daun hijau Ketapang memiliki aktivitas terhadap bakteri, namun aktivitasnya lebih baik pada daun gugur dibandingkan daun hijau.

2.5 Uji Aktivitas Antimikroba

Pengukuran aktivitas antimikroba secara *in vitro* dapat dilakukan 2 metode, yaitu metode pengenceran (*Tube Dillution Test*) dan metode difusi lempeng agar (*Disk Diffusion Test*). Uji difusi menggunakan cakram yang direndam pada antibiotik yang jumlahnya sudah diketahui dan diletakkan di atas medium agar yang telah diinokulasikan bakteri yang diketahui atau menggunakan suatu silinder tidak beralas atau dengan membuat liang (sumuran) dan diisi dengan antibiotik dalam jumlah tertentu. Setelah masa inkubasi, aktivitas antibiotik dihitung sebagai lebar zona yang tidak menunjukkan pertumbuhan disekitar cakram antibiotik. Lebarnya zona penghambatan berhubungan dengan ketahanan mikroorganisme antibiotik (Boyd, 1995).

Uji kepekaan antimikroba dapat digolongkan menjadi 2 kategori yaitu uji kualitatif menggunakan cakram hambat dan uji

kuantitatif untuk menentukan nilai konsentrasi hambat dan bunuh mikroorganisme (Gillaspie, 1994). Antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba sebagai aktivitas bakteri statik dan yang bersifat membunuh mikroba dikenal sebagai aktivitas bakteri. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) digunakan untuk mengetahui konsentrasi minimal dari suatu larutan antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri tertentu (Lay, 1994). Sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) atau *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) digunakan untuk mengetahui konsentrasi bahan antibakteri terendah yang mampu membunuh 99,9% persen inokulum bakteri (Gillespie, 1994). Metode pengenceran (*Broth Dilution Test*) dapat digunakan untuk menunjukkan nilai KHM dan KBM (Murray, et.al, 2007). Standar inokulum dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril yang berisi kaldu dengan konsentrasi bertingkat antimikroba. Setelah 24 jam masa inkubasi, nilai KHM dapat ditentukan dengan melihat mulai jernihnya tabung. Hal tersebut menunjukkan pada konsentrasi tersebut pertumbuhan bakteri mulai dihambat. Sedangkan nilai KBM ditentukan dengan mengsubkultur media dari tabung yang telah menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri lagi kedalam tabung kaldu tanpa antimikroba (Boyd, 1995). Apabila bakteri tidak tumbuh lagi atau berkurang 99,9% dari inokulum awal dapat diartikan sebagai nilai KBM (Gillespie, 1994). Tabel 2.1 dan 2.2 menggambarkan Klasifikasi respon hambatan pada bakteri dan klasifikasi respon hambatan untuk kapang.

Tabel 2.1 Klasifikasi respon hambatan untuk bakteri (David dan Stout 1971)

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
>20 mm	Sangat Kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah

Tabel 2.2 Klasifikasi respon hambatan untuk kapang (*mold*) (termasuk diameter cakram) (Vilas, 2011)

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
<12 mm	Tidak ada
<20-12 mm	Lemah
≥20 mm	Kuat

2.6 Hidroekstraksi

Ekstraksi merupakan peristiwa pemindahan massa zat aktif yang semula berada dalam sel ditarik oleh pelarut sehingga terjadi larutan zat aktif dalam pelarut tersebut (Ahmed, 2005). Hidroekstraksi merupakan proses ekstraksi padat-cair menggunakan pelarut air (Matina dan Witono, 2014). Ekstraksi padat-cair jika substansi yang diekstraksi terdapat di dalam campurannya yang berbentuk padat. Proses ini paling banyak ditemui di dalam usaha untuk mengisolasi suatu substansi yang terkandung di dalam suatu bahan alam. Metode ini merupakan metode yang sangat umum karena merupakan metode yang paling ekonomis dan nyaman meskipun kadang hasil dan kualitas ekstrak yang diperoleh kurang akibat kurangnya dalam pengaturan suhu.

Beberapa penelitian telah dilakukan mengenai ekstraksi daun *T. catappa* L. salah satunya menggunakan teknik *Aquoeus ekstration* Neelavathi (2013) melakukan penelitian aktivitas antibakteri *T. catappa* L. pada ekstraksi menggunakan air sebagai pelarut dengan temperatur 40°-50°C yang menghasilkan aktivitas antibakteri positif yang diuji dengan difusi cakram terhadap mikroorganisme gram positif dan negatif yang efektif dalam menghambat aktivitas bakteri pada konsentrasi 300 mg/ml. Pada penelitian Ting-Fu Ko (2003) senyawa yang terdapat pada *T. cattapa* L. masih dalam keadaan baik ketika berada dibawah suhu 60°C 50°C 40°C dan tekanan (4000, 3000, dan 2000 psi) dan ketika suhu dinaikkan senyawa tidak terdeteksi.

BAB III

METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan dari Desember 2015 hingga Maret 2016. Perlakuan secara *in vitro* dan analisis data dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya, untuk pengujian secara *in vivo* dilakukan di Desa Palasa, Sumenep, Jawa Timur.

3.2 Metode yang Digunakan

3.2.1 Ekstraksi Daun *Terminalia catappa* L. dengan Metode Rebus dan Metode Kukus

Daun *T. catappa* L. kering diperoleh dari Desa Palasa, Sumenep, Jawa Timur. Proses ekstraksi daun *T. catappa* L. dilakukan dengan metode rebus dan metode kukus. Pembuatan ekstrak dimulai dengan memilih beberapa daun ketapang yang sudah gugur dari pohonnya, daun dicuci dengan air bersih, kemudian ditiriskan pada suhu ruang sampai daun mudah dipatahkan. Setelah kering, daun dipotong-potong kecil kurang lebih 0,5 cm, daun yang telah dipotong kemudian ditimbang hingga berat 100 gram. Perlakuan pada metode rebus disiapkan air sebanyak 100 ml kemudian dipanaskan pada *waterbath* dengan pengaturan suhu 40°C, 50°C, dan 60°C serta ditambahkan 100 gram daun ketapang yang telah dipotong, tunggu selama 30 menit lalu disaring menggunakan plastik kasa untuk penyaringan pertama kemudian disaring kembali menggunakan kertas saring. Perlakuan dengan metode kukus, disiapkan air secukupnya pada dandang yang telah dilubangi pada bagian penutup dan dimasukkan termometer pada bagian yang dilubangi tersebut untuk pengaturan suhu, dimasukkan daun kering sebanyak 200 gram, panaskan pada kompor dengan suhu 90°C, tunggu kurang lebih 30 menit hingga didapatkan ekstrak lalu disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh kemudian dilakukan *freeze drying*.

3.2.2 Isolat Mikroba Penyebab *Ice-ice*

Isolat bakteri yang digunakan adalah bakteri *Vibrio alginolyticus* diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara serta Isolat kapang diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya yaitu kapang *Aspergillus* sp.

3.2.3 Kultur Mikroba Penyebab *ice-ice*

Isolat bakteri *Vibrio alginolyticus* diambil menggunakan jarum ose steril kemudian diinokulasikan ke dalam medium *Sea Water Complete* (Ilmiah et al., 2012) lalu diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 30°C selama 24 jam (Rinawati, 2011).

Isolat kapang *Aspergillus* sp. diambil dengan jarum tanam tajam dan diinokulasikan pada *slant agar SDA (Sabouraud Dextrose Agar)* kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari (Dewi, 2009).

3.2.4 Pembuatan Standar Mc-Farland 0,5

Larutan 0,5 *Mc Farland* digunakan sebagai pembanding kekeruhan biakan bakteri. Pada kekeruhan larutan 0,5 Mc Farland diperkirakan setara dengan jumlah bakteri yang digunakan sebesar 5×10^8 CFU/ml (Schwalbe, 2007). Larutan 0,5 Mc Farland dibuat dengan mencampurkan 1% BaCl₂ dan 1% H₂SO₄ dengan perbandingan 0,5 : 9,5 (Cappuccino, 2001). Biakan bakteri dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam tabung berisi larutan NaCl 0,9% hingga mencapai kekeruhan yang sama dengan larutan 0,5 Mc Farland. Suspensi bakteri yang telah distandardkan dengan larutan 0,5 Mc Farland kemudian diencerkan 1:1000 untuk mendapatkan jumlah bakteri 5×10^5 CFU/ml (Murray et al., 2007).

3.2.5 Uji Aktivitas Ekstrak *Terminalia catappa* L. secara *in Vitro*

Aktivitas ekstrak *T. catappa* L. terhadap mikroba penyebab *ice-ice* di uji secara *in vitro* menggunakan metode difusi cakram, KHM (Konsentrasi Hambat Minimal), dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal).

a. Difusi Cakram

Pengujian daya antibakteri didasarkan pada pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yang terbentuk di sekeliling kertas cakram. Kertas cakram dengan diameter 5 mm direndam dalam ekstrak Ketapang dengan konsentrasi 100% selama 15 menit, sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan aquades dan kontrol positif menggunakan kloramfenikol. Uji difusi cakram menggunakan metode Kirby-Bauer yaitu *cotton bud* (*cotton swab*) dicelupkan dalam biakan bakteri (MC Farland) kemudian tekan kapas ke sisi tabung agar air tiris. *Cotton swab* diusapkan pada seluruh permukaan cawan Mueller-Hinton Agar secara merata. Cawan dibiarkan selama 5 menit. Kertas cakram dicelupkan dalam sampel uji lau diangkat, biarkan sejenak agar tiris, selanjutnya diletakkan kertas cakram pada permukaan agar. Kertas cakram ditekan menggunakan pinset supaya menempel sempurna di permukaan agar. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 18, 24 dan 48 jam pada suhu kamar $\pm 30^{\circ}\text{C}$, setelah diinkubasi diukur diameter zona hambat yang terbentuk.

Aktivitas antifungi diuji dengan tes difusi cakram terhadap *Aspergillus* sp. Kertas cakram dengan diameter 5 mm direndam dalam ekstrak Ketapang dengan konsentrasi 100% selama 15 menit, sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan aquades dan kontrol positif menggunakan ketoconazole 10 ml mg/ml. Kertas cakram diletakkan di atas permukaan cawan petri berisi media agar SDA kemudian disuspensikan fungi *Aspergillus* sp. secara *swab*. Diameter zona hambat diukur dengan penggaris (dalam mm) dan diinkubasi selama 48 jam (Hasan, 2009).

b. Metode Penentuan KHM (Konsentrasi Hambat Minimal)

Tabung reaksi yang sudah steril disiapkan dan dimasukkan 4,5 ml medium TSB (*Trypticase (Tryptic) Soy Broth*) pada masing-masing tabung reaksi. Ekstrak daun dengan berbagai konsentrasi (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%) ditambahkan sebanyak 0,5 ml kedalam masing-masing tabung reaksi. Kemudian ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 0,25 ml (dari cara kerja Pembuatan Larutan 0,5 Mc Farland) dan divortex hingga homogen (Murray, *et al.*, 2007). Inkubasi pada suhu kamar $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam. Hasil ditunjukkan dengan adanya kekeruhan. Tabung yang mulai jernih menunjukkan nilai KHM (Boyd, 1995).

Pada pengujian aktivitas antifungi dengan dilusi digunakan medium *Sabouraud Dextrose* cair kemudian dimasukkan ekstrak berbagai konsentrasi. Kemudian pada masing-masing tabung reaksi dimasukkan 0,1 ml (umur 3-5 hari) suspensi *Aspergillus* sp. dengan konsentrasi fungi 10^6 CFU/ml dalam media *Sabouraud Dextrose* cair (Olajuyigbe *et al.*, 2012). Pembacaan KHM diambil pada jam ke 48 (untuk fungi filamentous) (Therese *et al.*, 2006).

c. Metode Penentuan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal)

Uji KBM dilakukan dengan mengambil 0,1 ml suspensi bakteri dari kultur tabung yang mulai jernih (pada Metode penentuan KHM (Konsentrasi Hambat Minimal)). Kemudian ditumbuhkan pada medium TSA dengan cara *spread plate*. Kultur diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Setelah diinkubasi, dihitung jumlah koloni yang tumbuh dengan *total plate count*.

Uji KBM pada jamur dilakukan dengan mengambil satu ose suspensi jamur dari kultur tabung yang mulai jernih pada Metode penentuan KHM (Konsentrasi Hambat Minimal). Selanjutnya, goreskan pada media padat SDA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. KBM ditentukan dengan mengamati ada tidaknya koloni fungi yang tumbuh pada media padat SDA setelah diinkubasi (Atlas *et al.*, 1984).

3.2.6 Uji Secara *In Vivo*

Uji *in vivo* dilakukan di Desa Palasa, Pulau Poteran, Kabupaten Sumenep, Madura, dengan metode budidaya yang digunakan adalah Metode Rakit Apung. Kedalaman perairan pada lokasi penelitian ini adalah 150 cm. Penanaman bibit *K. alvarezii* dengan metode rakit ini menggunakan rakit apung yang terbuat dari bambu berukuran antara $2,5 \times 2,5 \text{ m}^2$ hingga $7 \times 7 \text{ m}^2$, untuk penahanan supaya rakit tidak hanyut terbawa arus, digunakan jangkar sebagai penahan atau diikat pata patok kayu yang ditancapkan di dasar laut. Konsentrasi ekstrak daun Ketapang paling efektif hasil uji *in vitro* dicampur dengan air laut dengan takaran konsentrasi paling efektif hasil uji *in vitro*. Rumput laut yang sudah terjangkit penyakit *ice-ice* kira-kira seberat 5 gram kemudian didokumentasikan bintik putih pada rumpun sebagai gejala penyakit *ice-ice* kemudian diikat dengan tali raffia sebagai penanda. Rumput laut direndam dengan campuran ekstrak daun Ketapang dengan air laut selama 5 menit. Setiap 5 gram rumput laut diikat pada sarana (tali) budidaya dengan jarak satu ikatan dengan lainnya adalah 25 cm, perlakuan dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Pengamatan klinis dengan mendokumentasikan *thallus* pada setiap rumpun untuk dilihat perkembangan *thallus* setelah dilakukan perendaman. Pengamatan *thallus* secara klinis dilakukan setiap dua hari sekali selama tujuh hari.

3.2.7 Pengukuran Kualitas Air

a. Pengukuran Suhu air

Pengamatan suhu menggunakan thermometer, diawali dengan dengan kalibrasi thermometer, kemudian ujung thermometer dicelupkan sekitar 15 cm kedalam permukaan air laut selama 3 menit (Middleton, 2002).

b. Pengukuran Salinitas

Pengukuran salinitas dilakukan dengan menggunakan *hand refraktometer*, dengan cara meneteskan air laut pada

kaca refraktometer, kemudian dilihat skala salinitasnya dan dicatat.

c. Pengukuran pH

Pengukuran derajat keasaman (pH) dilakukan dengan menggunakan pH digital yang dicelupkan ke dalam air, ditunggu sampai nilai konstan.

d. Kecepatan Arus

Kecepatan arus air laut ditentukan secara manual menggunakan gabus (*styrofoam*) yang dikaitkan dengan benang berukuran 1 meter, selanjutnya gabus dilepas di perairan air laut. Waktu yang ditempuh gabus untuk mencapai jarak 1 meter ditentukan menggunakan *timer*. Kecepatan arus kemudian dicatat dalam satuan cm/detik.

e. Kecerahan

Kecerahan air laut diukur menggunakan *secchi disc*. Secara perlahan-lahan, *secchi disc* dimasukkan dalam air laut hingga tidak terlihat perbedaan warna hitam dan putih pada piringan *secchi disc*. *Secchi disc* ditarik perlahan ke permukaan dan diukur serta dicatat panjang tali yang terendam dalam satuan meter sebagai nilai kecerahan.

3.3 Analisa Data

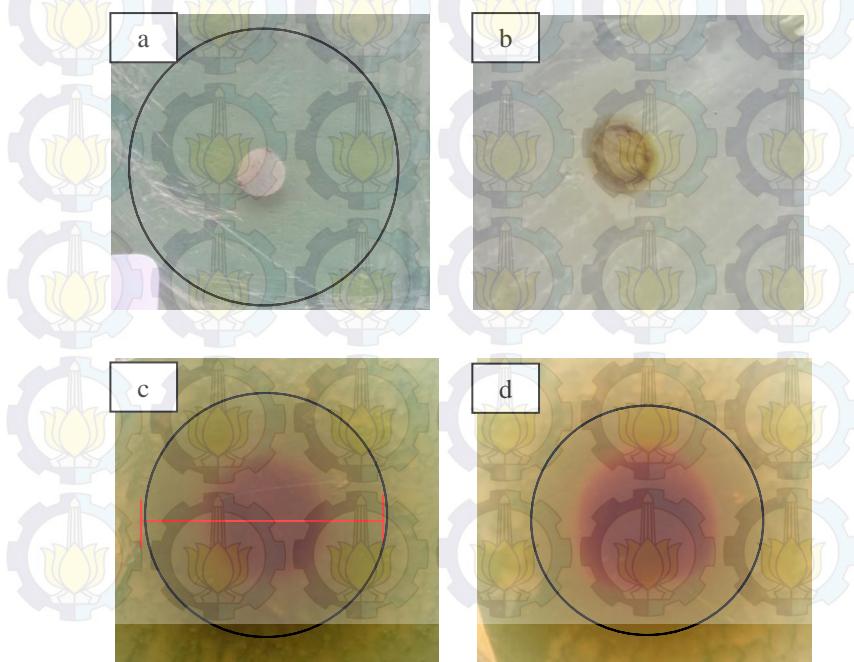
Pada penelitian ini menggunakan analisis deskriptif untuk uji aktivitas metode difusi cakram mikroba *ice-ice* serta perubahan morfologi *thallus* setelah dilakukan perendaman pada ekstrak daun ketapang.

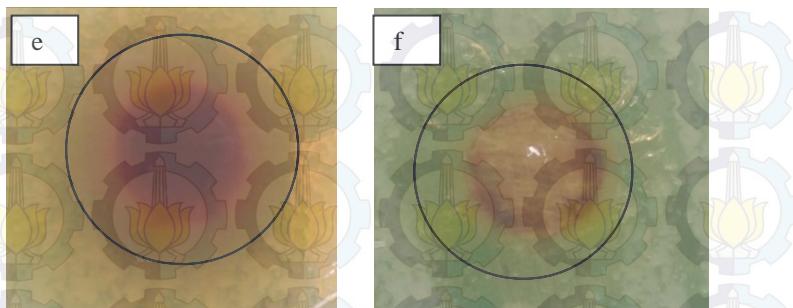
BAB VI

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Aktivitas Antimikroba pada Ekstrak Daun Ketapang

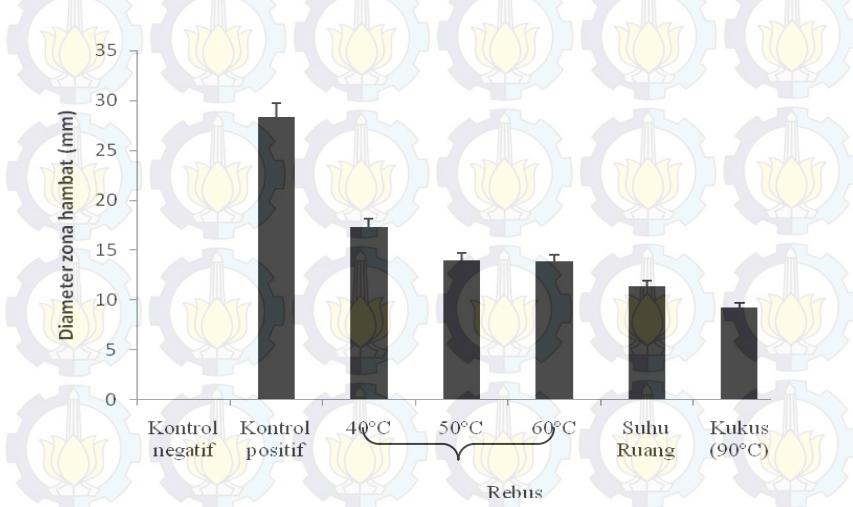
Aktivitas antimikroba *T. catappa* L. ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening yang merupakan hambatan pertumbuhan mikroba oleh senyawa antimikroba pada beberapa macam ekstrak. (Gambar 4.1) Pada Gambar 4.1 (b) tampak bahwa kelompok control negatif tidak memiliki zona hambat dibandingkan dengan kelompok uji, hal ini membuktikan bahwa keberadaan senyawa ekstrak menghambat pertumbuhan mikroba. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nadirah *et al* (2013), yaitu ekstrak daun ketapang kering dengan metode perebusan mampu memperlihatkan aktivitas antibakteri terhadap *V. alginolyticus*.





Gambar 4.1 Uji difusi cakram ekstrak daun ketapang terhadap pertumbuhan *V. alginolyticus*, (a.Kontrol positif, b.Kontrol negatif, c. Metode rebus suhu 40°C; d. Metode rebus suhu 60°C; e. Metode rebus suhu 50°C f. Metode Kukus)

Diameter zona hambat *V.alginolyticus* terhadap ekstrak daun ketapang pada teknik ekstraksi yang berbeda ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Diameter zona hambat pada variasi metode ekstrak daun ketapang terhadap *V. alginolyticus*

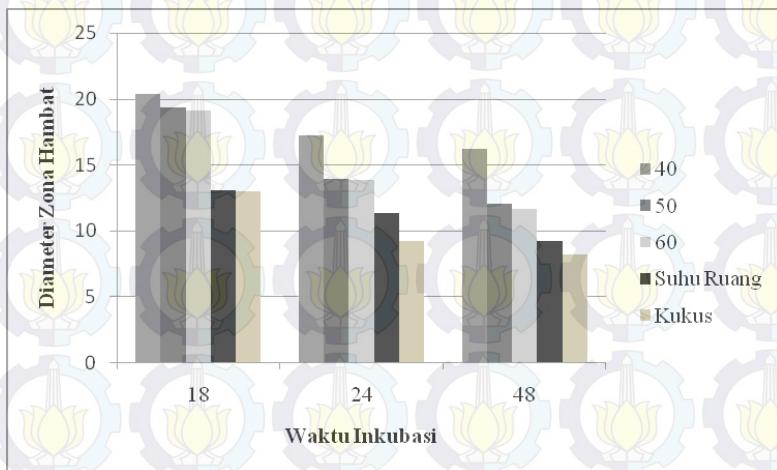
Pada Gambar 4.2 dapat dilihat bahwa semakin tinggi suhu yang digunakan untuk proses ekstraksi akan mengakibatkan semakin kecilnya diameter zona hambat. Hal ini kemungkinan besar disebabkan kandungan antimikroba berupa senyawa flavonoid, saponin, tannin, dan fenolik tidak tahan terhadap perlakuan suhu tinggi (Neelavathi, 2013). Namun ketika suhu terlalu rendah senyawa yang terdapat pada daun ketapang tidak dapat keluar hal ini dapat dilihat pada gambar 4.2 kecilnya zona hambat yang dihasilkan pada ekstrak daun ketapang yang direndam pada suhu ruang.

Diameter zona hambat terbesar dihasilkan oleh ekstrak daun ketapang metode rebus dengan suhu 40°C sebesar 17.27 mm dan diameter zona hambat terkecil dimiliki oleh ekstrak daun ketapang metode kukus sebesar 9.27 mm. Menurut David dan Stout (1971) zona hambat tergolong kuat jika berukuran 10-20 mm dan memiliki respon hambat sedang jika berukuran 5-10 mm. Kloramfenikol sebagai kontrol positif sangat berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan *V. alginolyticus* dengan diameter zona hambat sebesar 28.34 mm. Diameter zona hambat tergolong sangat kuat jika berukuran >20 mm (David dan Stout 1971). Kontrol negatif menggunakan aquades menunjukkan tidak adanya penghambatan pertumbuhan *V. alginolyticus* yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona bening pada uji cakram.

Hidroekstraksi dengan suhu yang diatur dapat menarik senyawa-senyawa flavonoid, tannin dan saponin pada daun ketapang sehingga ekstrak memiliki potensi antimikroba terhadap bakteri Gram negatif (Ting-Fu Ko, 2003) Perbedaan respon hambat antara metode rebus dengan suhu tertentu serta metode kukus yang digunakan dapat disebabkan oleh perbedaan konsentrasi kandungan senyawa pada masing-masing daun. Semakin besar suhu yang digunakan mengakibatkan terjadinya penguraian senyawa menjadi bentuk senyawa lain yang memiliki sifat berbeda dari sebelumnya, hal ini didukung oleh penelitian telah dilakukan mengenai ekstraksi daun *T. catappa L.* salah

satunya menggunakan teknik *Aquoeus ekstration* Neelavathi (2013) melakukan penelitian aktivitas antibakteri *T. catappa* L. pada ekstraksi menggunakan air sebagai pelarut dengan temperatur 40°-50°C yang menghasilkan aktivitas antibakteri positif yang diuji dengan difusi cakram terhadap mikroorganisme gram positif dan negatif yang efektif dalam menghambat aktivitas bakteri. Pada penelitian Ting-Fu Ko (2003) senyawa yang terdapat pada *T. catappa* L. masih dalam keadaan baik ketika berada dibawah suhu 60°C, 50°C, dan 40°C dan ketika suhu dinaikkan senyawa tidak terdeteksi. Pada penelitian Rivai dkk (2009), menyatakan bahwa pemanasan menggunakan suhu 60°C pada daun jambu biji menyebabkan terjadinya degradasi senyawa fenol, sehingga mampu menurunkan senyawa fenol. Aktivitas antibakteri dari daun ketapang diduga karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti, polifenol, flavonoid dan tanin. (Tiwari, et al, 2011).

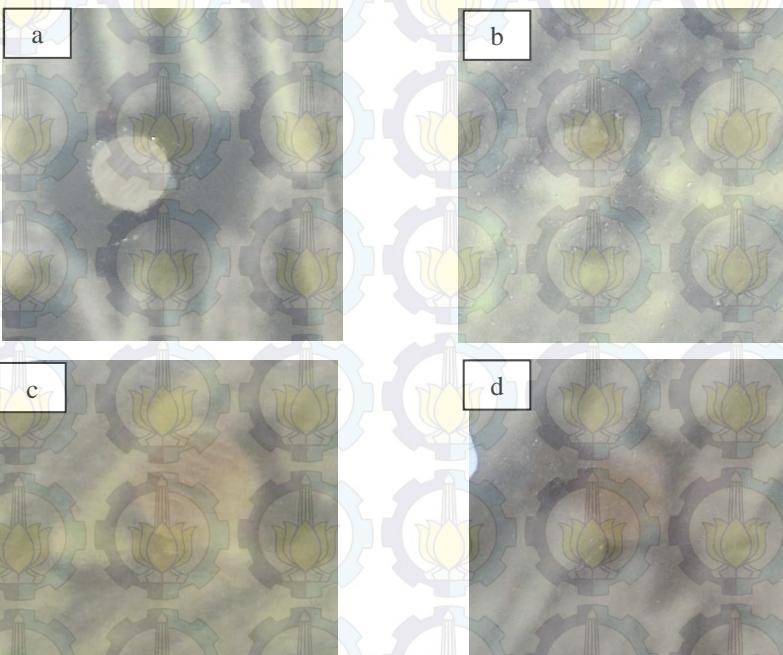
Diameter zona hambat jam ke-18, 24, dan 48 ditunjukkan pada Gambar 4.3.

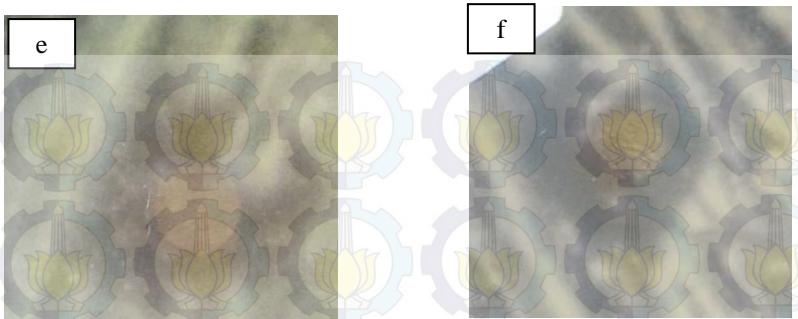


Gambar 4.3 Grafik hubungan antara diameter zona hambat pada jam ke-18, ke-24, dan ke-48 dengan tipe metode ekstrak.

Zona hambat yang dihasilkan pada masa inkubasi 18 dan 24 jam lebih besar dibandingkan dengan masa inkubasi 48 jam. Menurut Davidson *et al.* (2005), waktu inkubasi merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi ukuran zona hambat. Selama waktu inkubasi *V. alginolyticus* mengalami penghambatan pertumbuhan sel, namun tidak sampai mematikan bakteri tersebut (*bactericidal*). Hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun ketapang bersifat bakteriostatik yaitu menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* (Garba *et al.*, 2013).

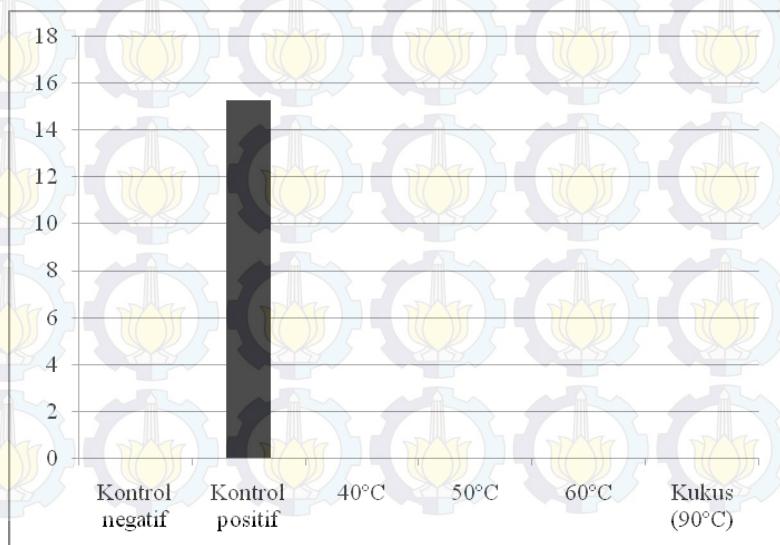
Uji difusi cakram ekstrak daun ketapang terhadap pertumbuhan *Aspergillus* sp. ditunjukkan pada Gambar 4.4.





Gambar 4.4 Uji difusi cakram ekstrak daun ketapang terhadap pertumbuhan *Aspergillus* sp.(a. Kontrol positif, b. Kontrol Negatif, c.Metode rebus suhu 40°C; d. Metode rebus suhu 60°C; e. Metode rebus suhu 50°C f. Metode Kukus

Aktivitas ekstrak daun ketapang terhadap mikroba penyebab penyakit *ice-ice* yaitu *Aspergillus* sp. ditunjukkan pada Gambar 4.5.

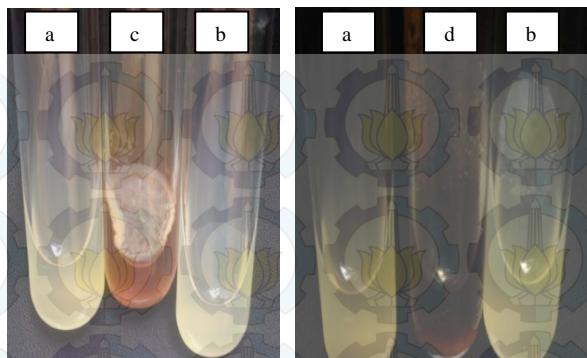


Gambar 4.5 Diameter zona hambat pada variasi metode ekstrak daun ketapang terhadap *Aspergillus* sp.

Pada Gambar 4.4 (a) ekstrak daun ketapang gugur tidak menghasilkan zona hambat sama sekali. Hal ini dimungkinkan karena daun ketapang gugur tidak mampu menghambat *Aspergillus* sp. karena rendahnya kandungan saponin. Menurut CIBA Foundation (1990) semakin tua umur daun dan pertahanan struktural tanaman berkembang maka tanaman akan mengalami penurunan kandungan saponin. Saponin berfungsi sebagai pertahanan terhadap serangan fungi (Hoffman *et al.*, 2003). Saponin sebagai antifungal membentuk kompleks dengan sterol pada sel membran fungi mengakibatkan terbentuknya pori sehingga mengurangi integritas membran sel (Turk, 2005). Skala pengukuran untuk kapang (termasuk diameter cakram) adalah lebih dari ≥ 20 mm tergolong kuat ; $<20-12$ mm tergolong lemah dan <12 mm tidak ada respon hambat (Vilas *et al.*, 2011). Pada Gambar 4.4. ekstrak daun gugur dengan metode rebus dan kukus tidak memiliki zona hambat sama sekali (0 mm).

4.2 Konsentrasi Minimum pada Ekstrak Daun Ketapang

Hasil uji antimikroba daun ketapang melalui metode difusi cakram menunjukkan bahwa metode ekstrak rebus dengan suhu 40°C memiliki respon antimikroba terbesar. Oleh karena itu, penentuan konsentrasi aplikasi yang tepat perlu dilakukan pada hasil terbaik tersebut dengan metode konsentrasi hambat minimum (KHM) (Madigan *et al.*, 2012). Hasil konsentrasi hambat minimum pada ekstrak metode rebus suhu 40°C menunjukkan kekeruhan medium pada konsentrasi 10% sampai dengan 50%, dengan demikian konsentrasi hambat minimum terjadi pada konsentrasi 60% (Gambar 4.6 dan Lampiran.).



Gambar 4.6 Kekeruhan terjadi pada medium sebagai penentu konsentrasi hambat minimum (a. Kontrol Positif, b. Kontrol Positif , c.Ekstrak Konsentrasi 10%, d.Ekstrak konsentrasi 60%.

Konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi menyebabkan tingginya kandungan zat antimikroba yang terdapat dalam larutan juga tinggi, sehingga memberikan daya kerja yang lebih efektif pada pertumbuhan mikroba, sehingga nilai KHM semakin rendah (Vilas, 2011).

Penentuan sifat bakterostatik dan bakteriosida dalam esktrak metode rebus 40°C konsentrasi 60% dilakukan dengan cara pengujian lanjutan berupa uji konsentrasi bunuh minimum (KBM) (Boyd,1995). Hasil uji KBM menunjukkan bahwa ekstrak daun ketapang metode rebus 40°C tidak bersifat bakteriosida karena masih ditemukannya koloni pada kultur semisolida *V.aglinoliticus*. Aktivitas antibakteri dari daun ketapang diduga karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti, polifenol, flavonoid dan tanin. Senyawa Folifenol dan flavonoid merupakan senyawa golongan dari fenol (Hasan., 2009). Menurut Singh (2005) dan Handa (2005), senyawa fenol memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein (enzim) pada membran sel, tanin memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan cara merusak membran sel, tannin dapat

mengkerutkan dinding sel atau membran sel bakteri, akibatnya terjadi permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan dapat mengakibatkan kematian sel.

4.3 Uji Klinis Hasil Ekstrak Daun Ketapang

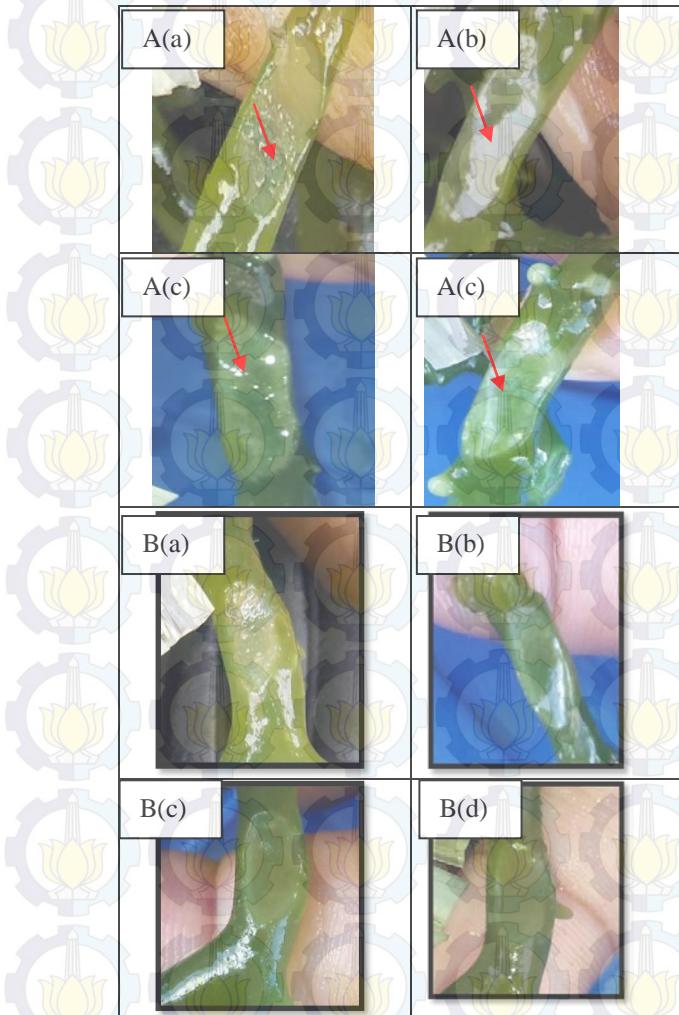
Uji klinis hasil ekstrak daun ketapang terhadap penyakit *ice-ice* dilakukan pada budidaya *K. alvarezii* yang berusia 10 hari setelah tanam (HST), karena pada usia tersebut rumput laut sangat rentan terhadap penyakit *ice-ice*. Perendaman dilakukan selama lima menit karena *thallus* rumput laut memiliki daya serap yang tinggi (Yulianto,2006). Pada saat uji klinis, pengamatan terhadap faktor fisika dan kimia perairan seperti suhu, salinitas, pH, kecerahan, kedalaman, dan laju arus juga dilakukan (Tabel 4.3).

Tabel 4.3 Data fisika perairan pantai desa Palasa-Pulau Poteran Tanggal 28 Februari – 7 Maret

Parameter	Nilai	Nilai optimum
Suhu	28-30°C	27°C-30°C (Setiyanto, 2008)
pH	8,5 - 9	8-8.9 (Aslan ,1998)
Salinitas	30-31 ppt	28-34 ppt (Parenrengi <i>et al.</i> ,2007)
Arus	0,2 - 0,4 m/s	0,2-0,4m/s (Indriani, 1991)
Kedalaman	40 cm-150 cm	20 cm surut, 150 pasang (Ditjenken Budidaya, 2004).
Kecerahan	68 cm - 136 cm	1,5 m (Soenardjo, 2003)

Berdasarkan Tabel 4.3 kondisi suhu, pH, salinitas, arus dan kedalaman perairan tergolong baik dan optimum bagi pertumbuhan rumput laut (Setiyanto, 2008; Aslan, 1998 ; Parenrengi et al.,2007; Indriani, 1991; Ditjenken Budidaya, 2004; Soenardjo, 2003).

Penampakan morfologi hasil uji klinis ekstrak daun ketapang melalui perendaman *K. alvarezii* dapat diamati pada Gambar 4.7.

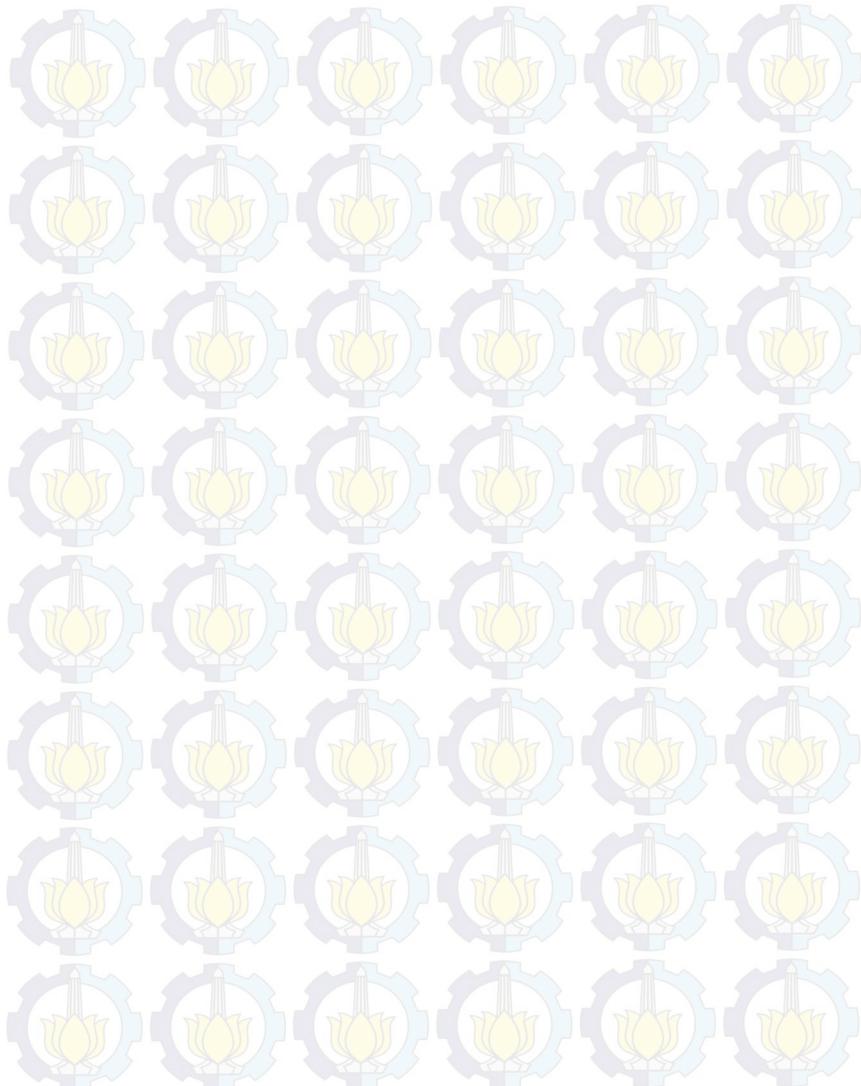


Gambar 4.7(A) Uji klinis tanpa perendaman *K. alvarezii* oleh esktrak daun ketapang pada pemulihan penyakit ice-ice, (B) Uji klinis dengan perendaman *K. alvarezii* oleh esktrak daun ketapang pada pemulihan penyakit ice-ice (a. Tanggal 1 Maret 2016; b. Tanggal 3 Maret 2016; c. Tanggal 5 Maret 2016 ; d. Tanggal 7 Maret 2016)

Gambar 4.7 adalah visualisasi dari gejala klinis serangan penyakit *ice-ice*. Gambar 4.6 A adalah gejala klinis tanpa penambahan ekstrak daun ketapang (kontrol) sedangkan Gambar 4.7 B adalah visualisasi klinis setelah ditambahkan ekstrak daun ketapang. Gambar 4.7 A (a-d) menunjukkan perubahan morfologi *thallus* yang menandakan berkembangnya penyakit *ice-ice* dengan ciri bercak putih yang melebar, sebaliknya pada Gambar 4.7 B (a-d) terjadi perubahan morfologi serangan penyakit *ice-ice* yang menurun dengan ciri luas bercak putih berkurang bahkan hilang.

Penurunan infeksi penyakit *ice-ice* setelah dilakukan perendaman terjadi pada hari ketiga (Gambar 4.7 B-b), hal ini dimungkinkan karena masa pemulihan *thallus* telah tercapai (Mubarak, 1990). Selain itu, fungsi dari ekstrak daun ketapang adalah memperbaiki struktur klorofil dan sel dari *thallus* sehingga bercak putih pada rumput laut yang terjangkit penyakit *ice-ice* berangsut mengalami perubahan menjadi hijau (Gambar 4.7 B-c). Sutedjo (2008) dan Nelson (1982) menyatakan bahwa unsur hara yang dimiliki oleh daun ketapang seperti nitrogen dan mineral berfungsi bagi pertumbuhan dan perbaikan sel yang telah rusak.

“Halaman ini Sengaja Dikosongkan”



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri esktrak daun ketapang metode rebus lebih efektif daripada metode kukus. Aktivitas antibakteri esktrak daun ketapang yang paling efektif terhadap *Vibrio alginolyticus* adalah ekstrak daun ketapang yang direbus dengan suhu 40°C dibuktikan dengan dihasilkannya diameter zona hambat terbesar yaitu 17.27 mm dan tergolong dalam kategori kuat. Esktrak daun ketapang metode rebus pada suhu 40°C memiliki nilai konsentrasi hambat minimum sebesar 60% namun ekstrak daun ketapang kering tidak memiliki sifat antifungal terhadap *Aspergillus* sp. Dibuktikan dengan tidak adanya zona hambat pada uji. Ekstrak daun ketapang metode rebus suhu 40°C bersifat bakteriostatik yaitu menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Pada ekstrak daun ketapang metode kukus tidak menghasilkan aktivitas antibakteri dan antifungi hal ini dibuktikan dengan tidak adanya zona hambat pada masing-masing uji. Hasil uji klinis menunjukkan ekstrak daun ketapang metode rebus suhu 40°C dapat menyembuhkan penyakit *ice-ice*, ditandai luas bercak putih yang berkurang bahkan hilang pada hari ketiga setelah perendaman dengan esktrak daun ketapang.

5.2 Saran

Pada uji *in vitro* menggunakan metode yang lebih presisi seperti *microbroth dilution* sehingga nilai MIC yang didapatkan lebih akurat. Pada uji *In vivo* perlu digunakan kontrol positif yaitu pupuk NPK agar didapatkan hasil yang lebih akurat.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- [DKP] Dinas Kelautan dan Perikanan. 2007. **Statistik Perikanan Budidaya Indonesia.** Jakarta : Direktorat Jendral Perikanan Budidaya.
- Aditya, T.W dan Ruslan. 2003. **Rekayasa Teknologi Produksi Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii*).** Laporan Tahunan Balai Budidaya Laut Tahun Anggaran 2003.95-97 p.
- Ahmed, S. M., Swamy, V., Dhanapal, P. G. R. dan Chandrashekara, V. M., 2005, Anti Diabetic Activity of *Terminalia catappa* Linn Leaf Extracts in Alloxan Induced Diabetic Rats, **Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics** 4 (1): 36
- Aji, N dan Murdjani, M. 1986. **Budidaya Rumput Laut.** INFIS Manual Seris No.32. Direktorat Jenderal Perikanan dan International Development Research Centre.
- Anggadiredja, J.T., Z. Achmad, P. Heri, dan I. Sri. 2008. **Rumput Laut Pembudidayaan, Pengolahan dan Pemasaran yang Potensial.** Jakarta: Penebar Swadaya.
- Aris, M. 2011. Identifikasi, Patogenisitas Bakteri dan Pemanfaatan Gen 16S-Rrna Untuk Deteksi Penyakit *Ice-Ice* Pada Budidaya Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii*). **Tesis.**Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Arisandi, A., Marsoedi, Nusyam, H., dan Sartimbul, A. 2011. Kecepatan dan Presentase Infeksi Penyakit *Ice-Ice* pada *Kappaphycus alvarezii* di Perairan Bluto Sumenep. **Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan**(3):47-51.
- Aslan, Laode M., 2005. **Budidaya Rumput Laut.** Cetakan 6. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 105 halaman.

Aslan, L.M. 2006. **Budidaya Rumput Laut.** Kanisius, Jakarta, 97 hlm.

Aslan, L.M. 1998. **Budidaya Rumput Laut.** Yogyakarta: Kanisius.

Atlas, M.A., Brown,A.E., Dobra, K.W., Miller, L., 1984, **Experimental Microbiology Fundamentals and 60 Jurnal Ilmiah Kefarmasian**, Vol. 1, No. 2, 2011 : 51 -62 Applications, Macmillan Publ. Co., New York. p. 267

Atmadja, W. S., A, Kadi., Sulistijo dan Rahmani (Ed). 2011. **Identifikasi, Patogenisitas Bakteri dan Pemanfaatan Gen 16s-rRNA Untuk Deteksi Penyakit Ice-Ice Pada Budidaya Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii*).** Jakarta: Puslitbang Osean Aris, M.

Baumann, P., A.L. Furniss and J.V. Lee. 1984. **Genus Vibrio.** Page 528-550 in N.R. Krieg and J.G. Holt, editors. Bergey's

Bergey, D.H., dan Breed, R. S., 1957. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Seventh Edition.** Baltimore: The William And Wilkins Company.

Boyd, R. F.1995. **Basic Medical Microbiology Fifth Edition.** Little brown Company, USA.

Cappuccino, J.G. and N. Sherman. 2001. **Microbiology: A Laboratory Manual.** Benjamin Cummings Publishing: USA.

Chitmanat, Chanagun, Kitiwan Tongdonmuan, and Wichan Nunsong, 2005, **The Use of Crude Extracts from Traditional Medicinal Plants to Eliminate *Trichodina* sp. in Tilapia (*Oreochromis niloticus*),** Fingerlings Songkranakarin J. Sci. Technol., 27(1) :359-364

Collén, J., Mtolera, M., Abrahamsson, K., Semesi, A. dan Pedersén, M. 1995. **Farming and physiology of the red algae**

Eucheuma: growing commercial importance in East Africa. Ambio. Vol. 24 No. 7-8.

Costinar, L., Herman, V., Pascu, C., dan Faur, B. 2010. **Isolation and Characterization of *Vibrio alginolyticus* and *Pasteurella* spp. from Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*)**. Lucrari Stiinifice Medicina Veterinara 43(1).

Cushnie,T.P., dan Lamb,A.J.2005. Antimicrobial Activity Of Flavonoids.**International Journal of Antimicrobial Agents** 26 :343–356.

CIBA Foundation.1990. **Bioactive Compounds from Plants.** Inggris: John Wiley and Sons Ltd.

Dandu, A.M., dan Inamdar, N.M. 2009. **Evaluation of Beneficial Effectsof Antioxidant Properties of Aqueous Leaf Extract of Andrographis Paniculata in STZ induced diabetes.** J.Pharm Sci.22(1):49-52.

Davis & Stout. 1971. Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay. **Journal Of Microbiology**. Vol 22 No 4.

Davidson, P.M., Sofos, J.N., dan Branen, A.L.2005. **Antimicrobilas in Food, Third Edition**.US:CRC Press.

Ditjenkan Budidaya, 2005. **Profil Rumput Laut Indonesia.** Direktorat Perikanan Budidaya, Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta

Djokosetyianto D ,Sunarma, WidanarniA. 2006. Perubahan ammonia (NH₃-N), nitrit (NO₂-N) dannitrat (NO₃-N) pada media pemeliharaan ikan nilamerah (*Oreochromis* sp.) di dalam sistem resirkulasi. **Jurnal Akuakultur Ind.** 5:13-20

Doty, M..S. dan J. N. Norris. 1985. *Eucheuma* species (Solieriaceae, Rhodophyta) that are major sources of carrageenan. In: **Taxonomy of economic seaweeds with reference to some**

Pacific and Caribbean species. (Abbott, I.A. & Norris, J.N. Eds), pp. 47-61. La Jolla: California Sea Grant College Program

Ekawati, C. 2008. Identifikasi Penyebab Penyakit *Ice-ice* pada Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales Rhodophyta) dengan Metode Long Line di Desa Puasana Kecamatan Moramo Kabupaten Konawe Selatan. **Skripsi**. Program Pendidikan S1 Jurusan Perikanan, Universitas Haluoleo.

FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 2007. **Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Sixty-Eight Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives**. Switzerland: World Health Organization.

Fardiaz,S. 1992. **Mikrobiologi Pangan**. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.

Feliatra 1999. **Identifikasi bakteri patogen *Vibrio* sp. di perairan Nongsa Batam propinsi Riau.** J Natur Indones 11(1):28-33.

Fresco, M. C. O. 2012. “*Ice-ice*” algae pose threat on Zamboanga’s seaweeds. **Bureau of Agricultural Research**.

Fresco,M.C. 2004. Water Pollution, *Ice-Ice* Rough Up Zamboanga's Seaweed Industry. <<http://sntpost.stii.dost.gov.ph/frames/jantomar04/pg27b.htm>> [20 September 2014].

Handoko.T dan Imam G. 2011. Pengolahan Buah Tancang sebagai Sumber Bioetanol dan Karbon Aktif, **Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuungan**, Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia ISSN 1693

Garba, L., Isa, S., dan Hafsat G.L.2013.Bacteriostatic effect of *Terminalia catappa* leaves extract on clinical isolates of Gram negative bacteria.**Asian Journal of Applied Sciences** 1(4).

Ganzon-Fortes, E.T. dan Trono, G.C., dan (1988). Philippine Seaweeds. **Nat ional Book Store**, Inc. Manila. Pages 174-175.

Gerung, G. 2002. **Seaweeds Resources of Indonesia**. Artikel ilmiah. Sam Ratulangi University, Faculty of Fisherias and Marine Science. Manado.

Gillespie, S.H. 1994. **Medical Microbiology Illustrated**. Butterwrth Heinemann: London.

Guava fruit (*Psidium guajava*L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 49, 5489–5493.

Handa, S. Swami, S.P Singh, Gennaro Longo, D.D Rakesh. 2008. The determination of antibacterial and antifungal activities of *Polygonum hydropiper*L. root extract. **Biological Research** 3 (1-2): 53-56.

Hamsah dan Patadjai, R.S.2012. **Identifikasi *Vibrio* sp. yang diisolasi Dari Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* yang Terserang Penyakit Ice-Ice**. Agriplus 22: 51-54.

Harborne, JB. 1996. Metode Fitokimia :**Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan**, Terbitankedua hal.123-129. ITB: Bandung.

Hardhiko, R.S., Suganda, A.G dan Sukandar, E.Y. (2004) **Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol, Ekstrak Air Daun yang Dipetik dan Daun Gugur Pohon Ketapang (*Terminalia cattapa* L.)**. Acta Pharamaceutica Indonesia. XXIX :129-133.

Hernani dan Raharjo, M.,2006, **Tanaman Berkhasiat Antioksidan**, Penebar Swadaya, Jakarta.

Hotchkiss, S. 2007. Seaweed rediscovered. **Healthy hydrocolloids and beyond**. Nutritrional seaweed. Cybercolloid LTD. Carrigaline

Hurd, C.L., Harrison, P.J., Bischof, K., Lobban, C.S. 2014. **Seaweed Ecology and Physiology.** United Kingdom: Cambridge University Press.

Hurtado, A.Q., Critchley, A.T., Trespoey, A., dan Lhonneur, G.B. 2006. Occurrence of Polysiphonia epiphytes in *Kappaphycus* farms at Calaguas Is., Camarines Norte, Philippines. **Journal of Applied Phycology** 18:301-06.

Hoffman, D. 2003. **Medical Herbalism: The Science and Practice of Herbal Medicine.** Vermont: Healing Arts Press.

Horvath, P.J.(1981). The Nutrional and Ecological Significance of Acer Tanins and Related Polyphenols. **Thesis.** New York: Cornell University.

Hutchinson, J., and Dalziel, J.M. 1972. **Flora of West Tropical Africa.** London: Government and Administrations

Imardjono, S., Yuwono, S. K and Hermawan, A. 1989. **The Important Species of Seaweed Culture in Indonesia. The Training on Laminaria (Seaweed) Polyculture with Molluscs.** Qing Dao. People's Republic of China 15 June-31 July 1989.

Indriani, H., dan Sumiarsih, E. 1991. **Budidaya, Pengolahan dan Pemasaran Rumput Laut.** Jakarta : Penebar Swadaya.

Jimenez-Escriv M, Rincon M, Pulido R, Saura-Calixto F. Guava fruit (*Psidium guajava L.*) as a new source of antioxidant dietary fiber .2001. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 2001; 49(11): 5489–5493.

Kaas, R and Perez, R. 1990. Study of the Intensive Culture of Undaria on the Coast of Brittany. **Regional Workshop on the Cultured and Utilization of Seaweed.** Philippines. 31-33 p.

Largo, D. B., K. Fukami and T. Nishijima. 1999. Time-dependent attachment mechanism of bacterial pathogen during *ice-ice*

infection in *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales, Rhodophyta). **Journal of Applied Phycology.** 11: 129–136.

Largo, D.B. 2002. 'Recent Developments In Seaweed Diseases'. In: A.Q. Hurtado, N.G. Guanzon, Jr., T.R. de Castro-Mallare, & M.R.J. Luhan (Eds.). **Proceedings of the National Seaweed Planning Workshop.** Tigbauan , 2-3Agustus. Tigbauan: SEAFDEC Aquaculture Department.

Largo, D.B., Fukami, K., Nishijima, T., and Ohno, M. 1995. Laboratory-induced development of the "ice-ice" disease of the farmed red algae *Kappaphycus alvarezii* and *Eucheuma denticulatum* (Solieriaceae, Gigartinales, Rhodophyta). **Journal of Applied Phyciology**7: 539-543.

Larsen , P.F. 1996. **"Carrageenan Product and Method of Producing Same"** Copenhagen : Freepatent.

Lay, B.W. 1994. **Analisis Mikroba di Laboratorium.** PT Raja Grafindo Persada: Jakarta.

Lemmens, R.H.M.J., Soetjipto, N.W., 1999, Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 3: **Tumbuh-Tumbuhan Penghasil Pewarna dan Tannin**, Prosea Indonesia, Bogor, hal.139-142.

Luning, K. 1990. **Seaweed Their Environment**, Biogeography and Ecophysiology. New York: John Wiley and Sons.

Madigan,M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V., dan Clark, D.P.2012. **Brock Biology of Microorganisms 13th Edition.** San Fransisco: Pearson Education Inc. Manual of Systematic Bacteriology Vol. 1. William and Wilkins, Baltimore, Maryland.

Martin, R.E., Carter, E.P., Flick, G.J., dan Davis, L.M.2000. **Marine And Freshwater Products Handbook.** USA:Technomic Publishing Company,Inc

Masduki. (1996). **Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu*) terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.** Jakarta: Penerbit Cermin Dunia Kedokteran. Hal. 23

Matrtina, M.T dan Witono M.App.Sc. 2014. **Pemurnian Garam dengan Hidroekstraksi Batch.** Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat. Parahyangan

McHugh, D. J. 2003. **A guide to the seaweed industry.** FAO Fisheries Technical Paper 441. Roma: FAO.

Murray,R.P., e al. 2007. **Manual of Clinical Microbiology** 9th Edition. ASM Press: USA.

Musa, N., dan Wei, L.S. 2008. Bacteria attached on cultured seaweed Gracilaria changii at MangabangTelipot,Terengganu. **Academic Journal of Plant Sciences** 1 (1):01-04.

Mubarak H., Ilyas S., Ismail W., Wahyuni I., Hartati S., Pratiwi E., Jangkaru Z. dan Arifudin R. 1990 **Petunjuk Teknis Budidaya Rumput Laut.**, PHP/KAN/PT/13/1990, Jakarta.

Nadirah, M.,Wee, T.L., dan Najiah.2013. Differential responses of *Vibrio* sp. to young and mature leaves extracts of *Terminalia catappa* L. **International Food Research Journal** 20(2): 961-966.

Neelavathi, P., Venkatalakshmi, P.,and Brindha, P., 2013, Antibacterial Activities of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Terminalia catappa* Leaves and Bark against Some Pathogenic Bacteria, **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, ISSN-0975-1491, 114-120

Nelson, W. L., 1982.**Interactions of Potassium With Mositure and Temperature.** Potash Review. Berne. Switzerland

Necas,J. dan Bartosikova, L.2013. Carrageenan: **A review.** Veterinarni Medicina58 (4): 187–205.

OlaJuyigbe, O.O. dan Afolayan, A.J. 2012. Antimicrobial potency of the ethanolic crude bark extract of *Ziziphus mucronata* Willd. subsp. *mucronata* Willd. **African Journal Of Pharmacology** 6(10):724-730.

Pauly, G., 2001, “Cosmetic, Dermatological and Pharmaceutical Use of an Extract of *Terminalia catappa*”, United States Patent Application no. 20010002265: 1% 2.

Pitt, J.I., dan Hocking, A.D. 1997. **Fungi and Spoilage**.London: Blackie Academic and Professional.

Puslitbangkan, 1991. **Budidaya Rumput Laut (*Eucheuma sp*) Dengan Rakit dan Lepas Dasar**. Pusat penelitian dan Pengembangan Perikanan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Jakarta.

Parenrengi, A., E. Suryati, & R. Syah. 2007. Penyediaan Benih dalam Menunjang Kebun Bibit dan Budidaya Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*. **Makalah Simposium Nasional Riset Kelautan dan Perikanan**. Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta. 12 hal.

Rajalakshmi, D dan S. Narasimhan. (1985). Food Antioxidants: **Sources and Methods of Evaluation** dalam D.L.Madhavi: Food Antioxidant, Technological, Toxilogical and Health Perspectives. Marcel DekkerInc., Hongkong: 76-77

Runtuboy, N dan Sahrur. 2001. Rekayasa Teknologi Budidaya Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii*). **Laporan Tahunan Balai Budidaya Laut Tahun Anggaran 2000**. Balai Budidaya Laut. 112-117 p.

Rinawati, N.D.2011.Uji Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete* L.) Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. **Skripsi**. Surabaya: S1 Jurusan Biologi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Risnasari, I.2002. **Tanin.** USU Digital Library. diakses 18 Mei 2010

Robinson, T. 1995. **Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi.** Edisi ke-4 Terjemahan Kosasih Padmawinata. ITB Press. Bandung.

Ketut R, Rivai M, Sampurno,2000. **Paramaeter standar mutu ekstrak tumbuhan obat.** Jakarta : Departemen Kesehatan

Suksmawan, R., Gana, A., dan Elin, Y.,2004, Uji Potensi Antimikroba Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa*L.), **Skripsi**, Departemen Farmasi Institut Teknologi Bandung, Bandung.

Sahoo,D.2010.**Common Seaweeds of India.**New Delhi: I.K. International Publishing House.

Samsuari. 2006. **Penelitian Pembuatan Karaginan dari Rumput Laut *Eucheuma Cottonii* Di Wilayah Perairan Kabupaten Jeneponto propinsi Sulawesi Selatan.** Bogor: Institut Pertanian Bogor

Santos, G.A. 1989. **Carrageenan of species of *Eucheuma* J. Agardh and *Kappaphycus* Doty (Solieriaceae, Rhodophyta).** *Aquat. Bot.* 36: 55–67.

Shinde, S.L., Junne, S.B., Wadje, S.S. and Baig, M.M.V. 2009. The diversity of antibacterial compounds of *Terminalia* species (Combretaceae). **Pakistan Journal of Biological Sciences** 12: 1483-1486.

Siti L. dan Prasetyo E. N. 2015. Potensi Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebagai Antimikroba Penyakit *Ice-ice* pada *Eucheuma cottonii*. **skripsi.** Surabaya : S1 Jurusan Biologi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Sievanen, L., Crawford, B., Pollnac, R., and Lowe, C. 2005. Weeding through assumptions of live lihood approaches in

ICM: Seaweed farming in the Philippines and Indonesia.
Ocean and Coastal Management 48(3-6):297-31.

Soenardjo N., 2003. **Membudidayakan Rumput laut**, Balai Pustaka Semarang.

Sutedjo, M. M, 2008. **Pupuk dan Cara Pemupukan**. Rineta Cipta. Jakarta

Solis, M.J.L.,Draegerdan, S.,dan Edison, T.2010. **Marine-Derived Fungi From *Kappaphycus alvarezii* and *K. striatum*as Potential Causative Agents of Ice-Ice Disease in Farmed Seaweeds**.Botanica Marina 53(6).

Sulistijo.,dan W.S. Atmadja.1996. **Perkembangan Budidaya Rumput Laut di 89 Omni-Akuatika** Vol. XI No.15 November 2012: 78-90 Indonesia. Puslitbang Oseanografi LIPI.Jakarta, Indonesia

Schwalbe,R., Lynn, S.M.,danC.G., Avery. 2007. **Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols**. NewYork:CRC Press.

Setiyanto D., Efendi, I., dan Antara, K.J.2008. Pertumbuhan *Kappaphycus salvarezii* var Maumare, var Sacoldan *Eucheuma cottonii* di Perairan Musi Buleleng. **Jurnal Ilmu Kelautan**.13 (3):171-176

Sparg, S.G., Light, M.E. & van Staden, J. 2004. **Biological Activities and Distributionof Plant Saponins.** J. Ethnopharmacol. 94:219-243.

Tiwari, P., et al, 2011, Phytochemical Screening and Extraction : A Review, *Internationale Pharmaceutica Sciencia*, 1 (1), 98-106

Tisera, W.L., dan Naguit, M.R.A. 2009. ***Ice-ice* disease occurence in seaweed farms in Bais Bay, Negros oriental and Zamboanga del norte**.The Threshold 4: 1-16.

Thompson F.L., Gevers D, Thompson CC, Dawyndt P, Naser S, Hoste B, Munn CB, Swings J. 2005. **Phylogeny and Molecular Identification of Vibrios on the Basis of Multilocus Sequence Analysis.** Applied and Environmental Microbiology. 71 (9): 5107–5115.

Ting-Fu KO, Yih-Ming Weng, Shwu-Bin Lin, A Rnd Obin Y.-Y. Chiou. 2003. Antimutagenicity of Supercritical CO₂ Extracts of *Terminalia catappa L.* Leaves and Cytotoxicity of the Extracts to Human Hepatoma Cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** J. Agric. Food Chem. 51, 3564-3567 Department of Laboratory MedicineNational Taiwan University, Taipei, Taiwan.

Tjitrosoepomo, G. 1993. **Taksonom (Spermatophyta).** Yogyakarta: UGM Press

Trensongrusmee, B., Pontjoprawiro, S dan Soedjarwo, I. 1986. Pengusaha Kecil Budidaya Rumput Laut Merah *Eucheuma*. Paket Teknologi untuk Budidaya Rumput Laut. Proyek Pengembangan Teknik Budidaya Laut. **Seafarming Development Project** INS/81/008. 13 p.

Trono, G.C.Jr. 1974. ***Eucheuma Farming in The Philippines.*** Universityof The Philippines and Natural Science Research Center. Quezon City. Philippines.

Turk, F.M.2006.Saponin versus plant fungal pathogen. **Journal of Cell and Molecular Biology**(5):13-17.

Therese, K.L., Bagyalakshmi,R., Madhavan, H.N., dan Deepa, P. In-vitro susceptibility testing by agar dilution method to determine the minimum inhibitory concentration of amphotericin b, flucanozole and ketoconazole against ocular fungal isolates. **Indian Journal Of Medical Microbiology** 24(4):273-9.

Uyenco, F. R, L. S. Saniel, E. D. Gomez.1977. **Microbiology of diseased *Eucheuma striatum* Schmitz.** J. Phycol.13:70 (Abstract only).

Vairappan C.S., dan S.C., Chong. 2006. Seasonal occurrences of epiphytic algae in the commercially cultivated red alga *Kappaphycus alvarezii* (Solieraceae, Gigartinales, Rhodophyta). **Journal of Applied Phycology** 18:611-617.

Vilas, A.M. 2011. **Science and Technology Against Microbial Pathogens: Research, Development.** Singapore:World Scientific Publishing Co.Pte.Ltd.

Wahjuningrum; Ashry, Nuryati. 2008. The use of *Cattapa* Leaves *Terminalia cattapa* as Preventive and Curative Methods in Patin Catfish Pangasianodon hypophthalmus Infected With *Aeromonas hydrophila*. **Jurnal Aquakultur Indonesia.** Departemen Budidaya Perairan. Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

Widiastuti, I.G.A.A. 2009. **Petani Rumput Laut** : Bertahan di Tengah Perubahan Iklim.Salam(Bali).

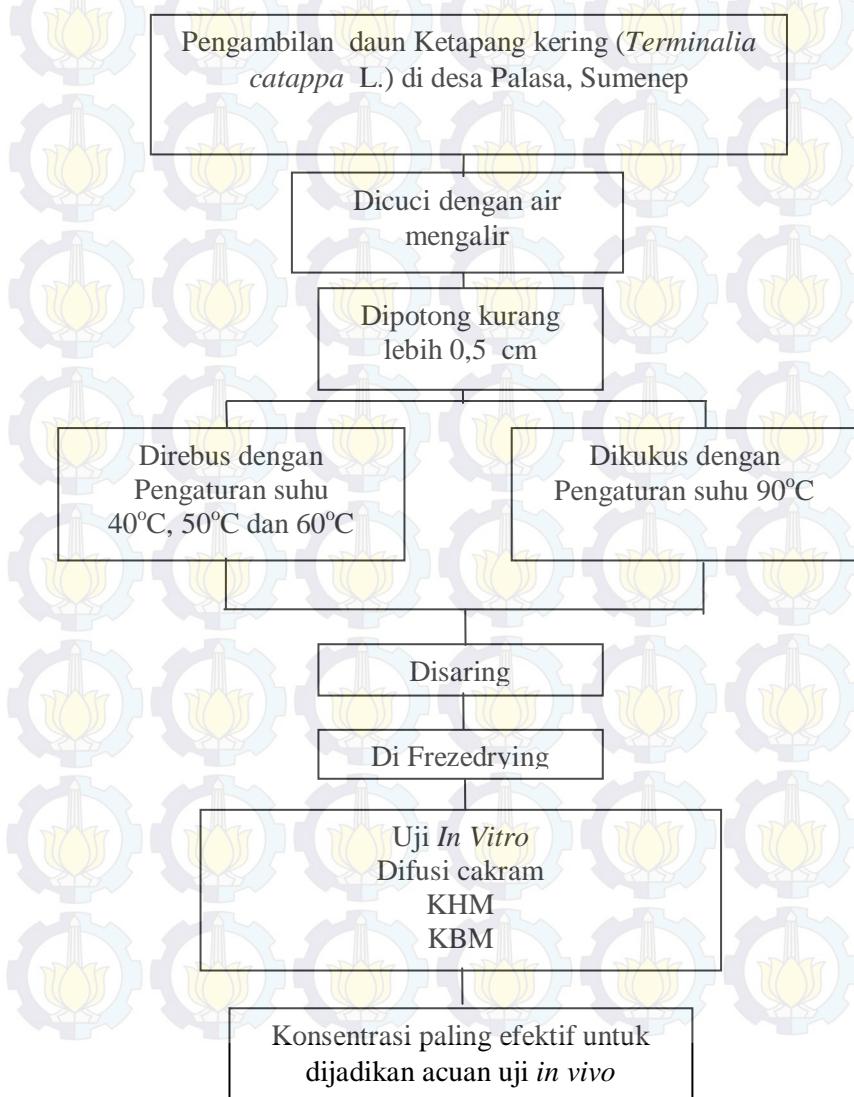
Winarno. 1996. **Teknologi Pengolahan Rumput Laut.** Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.

Weinberger,F.2007.Pathogen-Induce Defense an Innate Immunity in Macroalgae.**Biol.Bull**213:290-302.

Yulianto,Bambang;Ario,Raden;Triono,Agung .2006. **Daya Serap Rumput Laut (Gracilaria sp) Terhadap Logam Berat Tembaga (Cu) Sebagai Biofilter.**ISSN 0853 - 7291 Ilmu Kelautan FPIK Universitas Diponegoro Semarang 50239

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian



Gambar 1. Bagan alir percobaan *in vitro*

Konsentrasi esktrak paling efektif hasil *in vitro* dicampur dengan air laut dengan takaran 400 gram :
600 ml air laut

Perendaman rumput laut yang terjangkit *ice-ice* selama 5 menit

Peletakan rumput laut pada rakit apung

Pengamatan *thallus* secara klinis setiap dua hari sekali selama 7 hari

Gambar 2. Bagan alir percobaan *in vivo*

Lampiran 2: Dokumetasi Kegiatan Pembuatan Ekstrak

Pengambilan daun Ketapang



Pengeringan daun Ketapang



Daun Ketapang diblender



Daun Ketapang dipotong



Hasil blenderan daun Ketapang



Penimbangan daun Ketapang 100 gram



Perebusan Daun Ketapang



Pemasangan termometer



Penyaringan (1)



Pengukusuan daun Ketapang



Penyaringan (2)



Ekstrak daun Ketapang

Lampiran 3: Komposisi Medium

Pengaringan (2)	<i>Dextrose Agar</i> (pH 5,6)
Rendaman Kentang	: 200 g
Dekstrosa	: 20 g
Agar	: 15 g
Akuades*	: 1 L

(Harley dan Prescott, 2002)

2. *Mueller-Hinton Agar* (pH 7.4)

Beef, infusion	: 300 g
Asamkasamino	: 17.5 g
Pati	: 1.5 g
Agar	: 17 g
Akuades	: 1 liter

(Cavalieriet *et al.*, 2005)

3. *Sabouraud (Dextrose) Agar* (pH 5.6)

Pepton	: 10 g
Dekstrosa	: 40 g
Agar	: 15 g
Akuades	: 1 L

(Cavalieriet *et al.*, 2005)

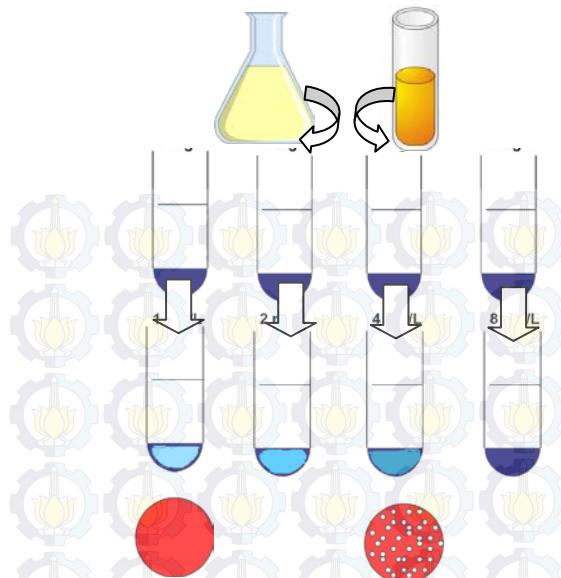
4. *Trypticase (Tryptic) Soy Broth* (pH 7.3)

Tripton	: 17 g
Soytone	: 3 g
Dekstrosa	: 2.5 g
Sodium klorida	: 5 g
Dipotasium fosfat	: 2.5 g
Akuades	: 1000 ml

5. Medium Sea Water Complete

Agar *)	: 15 g agar
Air laut	: 1000 ml

(Hu *et al.*, 2008)

Lampiran 4: Metode Dilusi

Keterangan Gambar:

- A. Tabung yang diisi dengan larutan medium dan konsentrasi mikroorganisme
- B. Tabung yang diisi dengan larutan medium dan konsentrasi mikroorganisme yang kemudian ditambah dengan konsentrasi obat. Dari hasil ditas menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi obat semakin jernih larutan medium dalam tabung.
- C. Dari Tabung yang jernih kemudian dituang dalam medium agar dalam cawan petri, dan hasil menunjukkan nilai KHM pada cawan 1 dan KBM pada cawan 2.

Lampiran 5. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Daun Ketapang Metode Rebus Suhu 40°C, 50°C,60°C dan Metode Kukus

Contoh peritungan konsentrasi :

- Dibuat stok konsentrasi 100%
- Konsentrasi 90%

$$M_1.V_1 = M_2.V_2$$

$$100.V_1 = 90.05$$

$$V_1 = 45/100$$

$$= 0.45 \text{ ml}$$

0% : Tanpa ekstrak hanya menggunakan aquades sebagai control negatif

10% : 0,05 gram dalam 0,45 ml aquades

20% : 0,1 gram dalam 0,4 ml aquades

30% : 0,15 gram dalam 0,35 ml aquades

40% : 0,2 gram dalam 0,3 ml aquades

50% : 0,25 gram dalam 0,25 ml aquades

60% : 0,3 gram dalam 0,2 ml aquades

70% : 0,35 gram dalam 0,15 ml aquades

80% : 0,4 gram dalam 0,1 ml aquades

90% : 0,45 gram dalam 0,05 ml aquades

1000 : 0,5 gram dalam 0,05 ml aquades

Lampiran 6: Komposisi Standard Mc Farland 0,5

Standard Mc Farland

1. Standar Mc Farland 0,5

BaCl₂ 1% : 0,5 mL

H₂SO₄ 1% : 99,5 mL

(Cavalieriet *et al.*, 2005)

Lampiran 7 : Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang Metode Rebus *V. alginolyticus*

Lampiran 8 : Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang Metode Kukus pada *V. alginolyticus*

Lampiran 9 : Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang Metode Rebus pada *Aspergillus* sp.

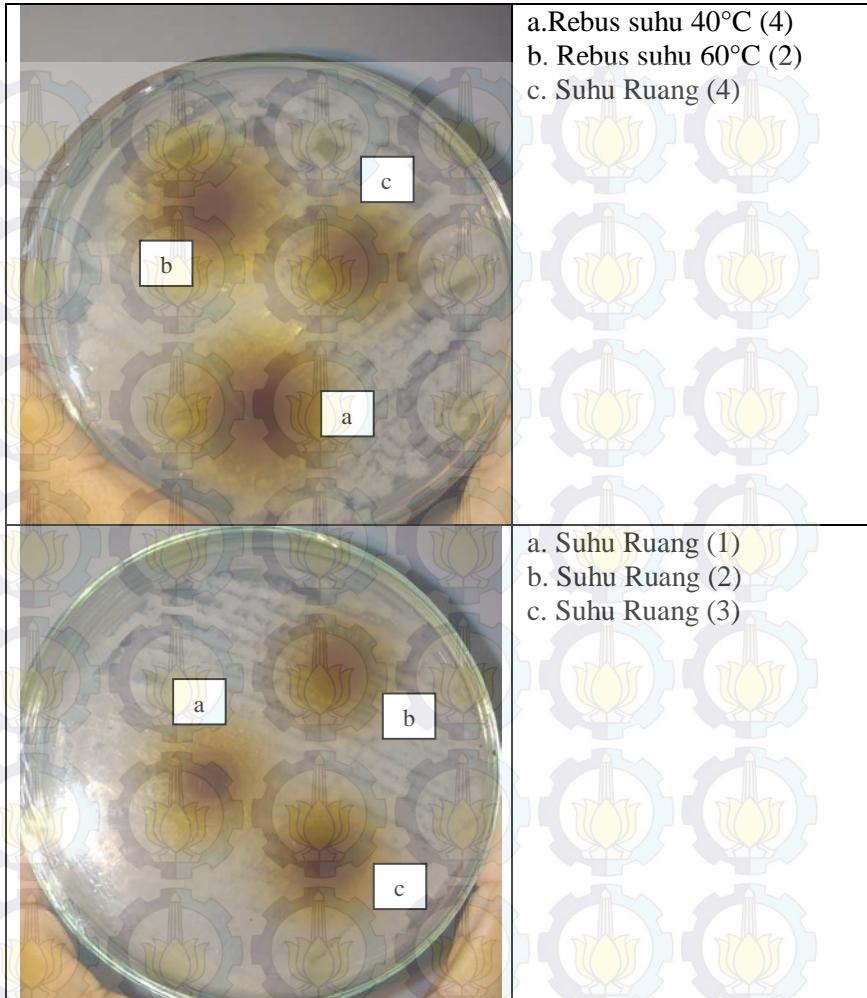
Diameter zona bening (mm)			
Jam ke-48			
Pengulangan	1	2	3
40°C	0	0	0
Rata-Rata		0	
Respon Hambatan	Tidak ada		
50°C	0	0	0
Rata-Rata		0	
Respon Hambatan	Tidak Ada		
60°C	0	0	0
Rata-Rata		0	
Respon hambatan	Tidak ada		

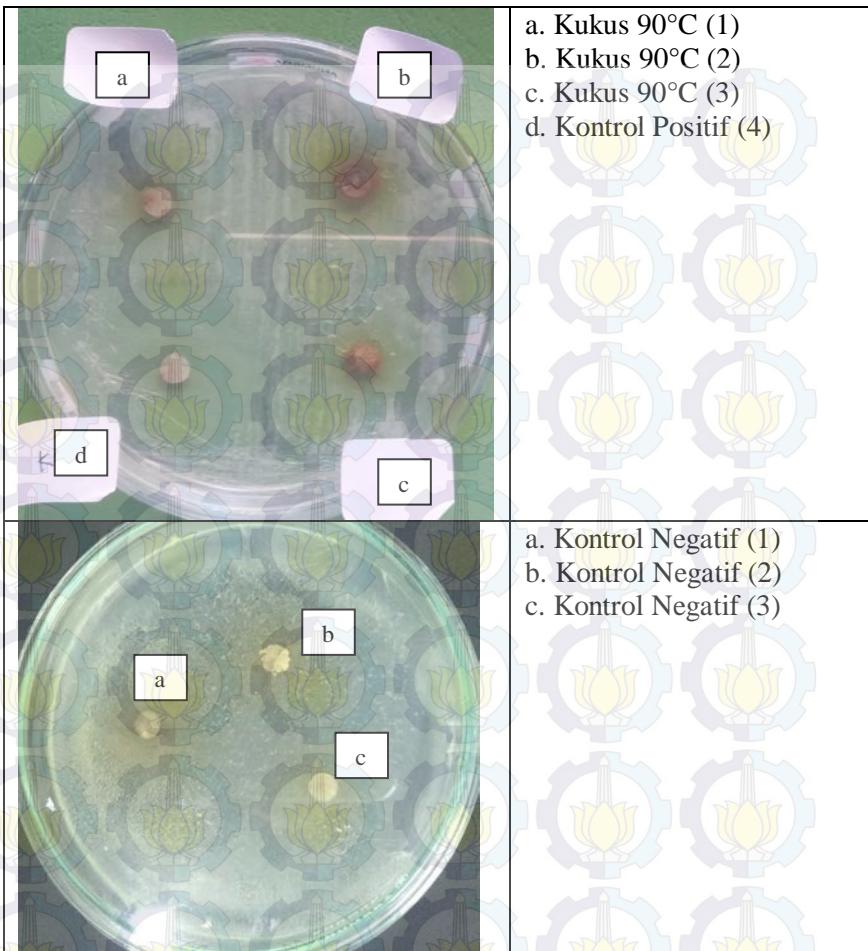
Lampiran 10 : Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang Metode Kukus pada *Aspergillus* sp.

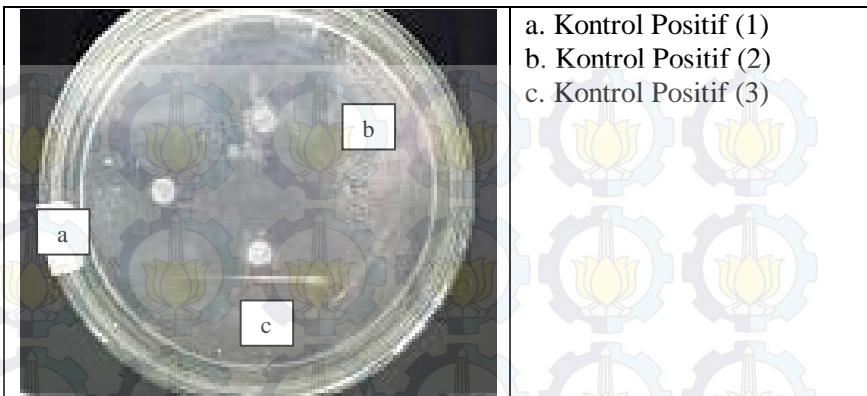
Diameter zona bening (mm)			
Jam ke-48			
Pengulangan	1	2	3
90°C	0	0	0
Rata-Rata		0	
Respon Hambatan	Tidak Ada		
Diameter zona bening (mm) Kontrol Positif			
Jam ke-48			
Pengulangan	1	2	3
90°C	16.01	16.47	13.33
Rata-Rata		15.27	
Respon Hambatan	Tidak Ada		
Diameter zona bening (mm) Kontrol Negatif			
Jam ke-48			
Pengulangan	1	2	3
90°C	0	0	0
Rata-Rata		0	
Respon Hambatan	Tidak Ada		

Lampiran 11 : Foto Pengamatan Metode Difusi pada Ekstrak Daun Ketapang Metode Rebus Suhu 40°C, 50°C,60°C , Metode Kukus dan Direndam Tanpa Menaikkan Suhu (*V.alginolyticus*) Jam ke-24

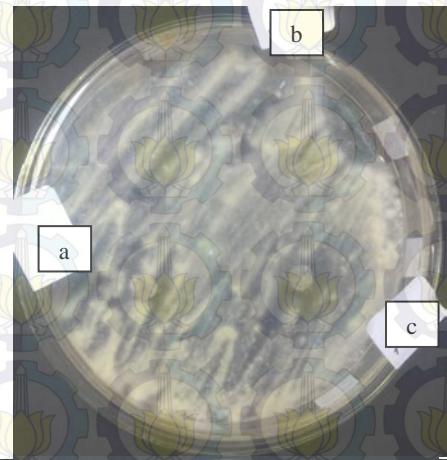
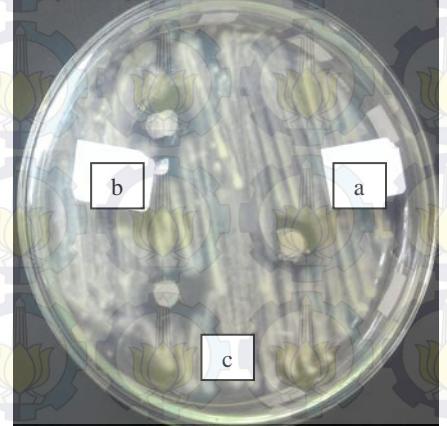
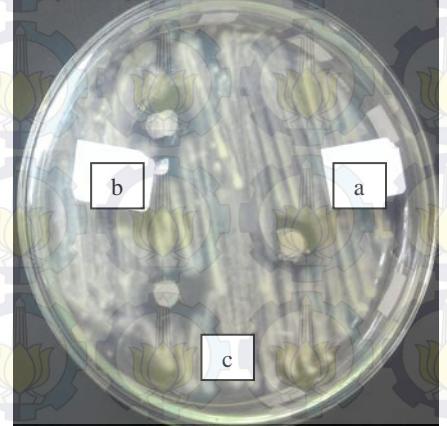
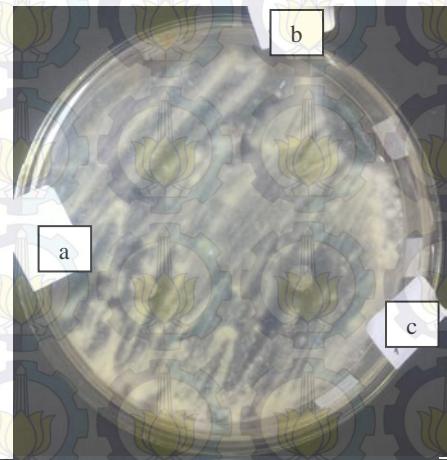
Dokumentasi	Keterangan
	a.Rebus suhu 60°C (1) b. Rebus suhu 60°C (2) c. Rebus suhu 40°C (1) d. Rebus suhu 40°C (2)
	a.Rebus suhu 50°C (3) b. Rebus suhu 40°C (3) c. Rebus suhu 50°C (1) d. Rebus suhu 50°C (2)

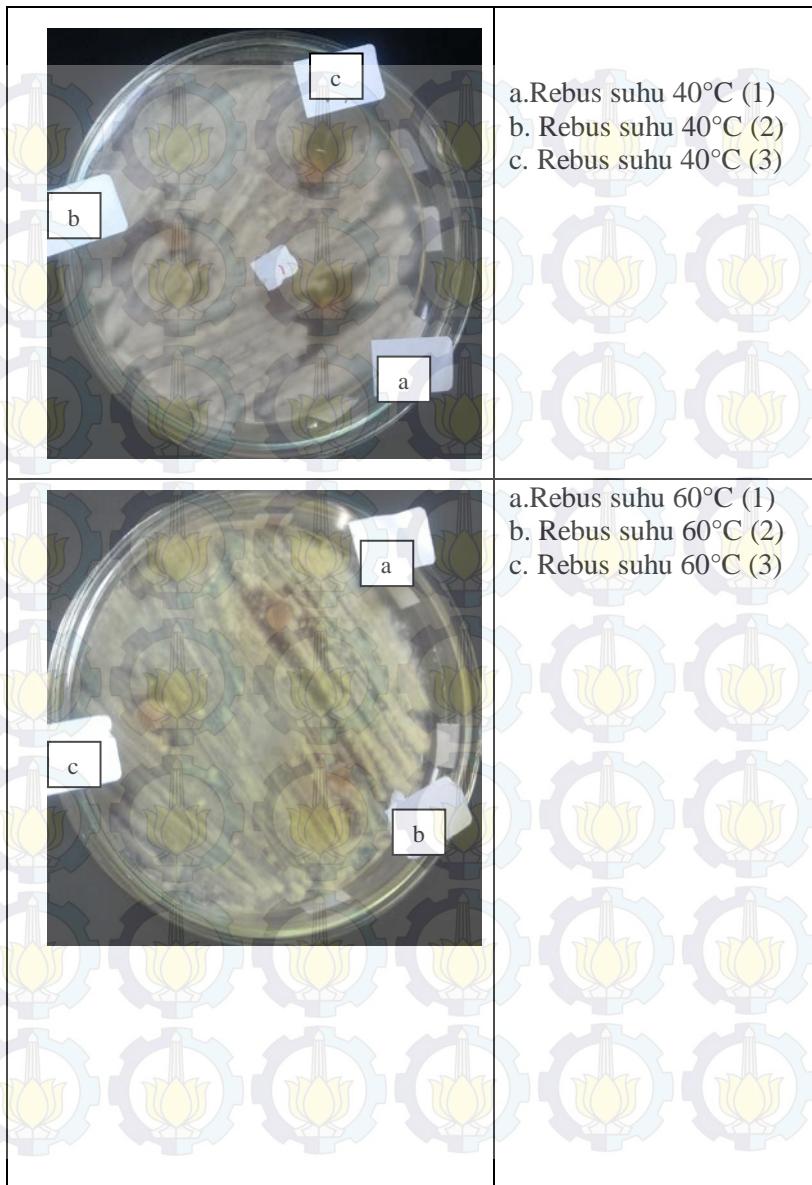


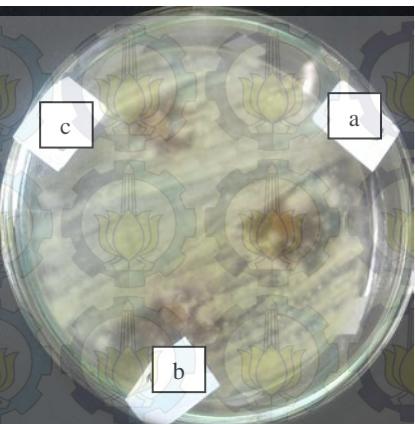




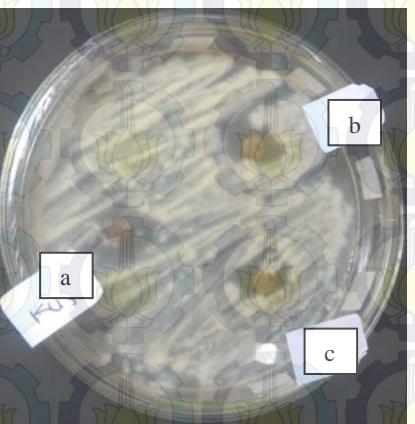
Lampiran 12 : Foto Pengamatan Metode Difusi pada Ekstrak Daun Ketapang Metode Rebus Suhu 40°C, 50°C,60°C , Metode Kukus dan Direndam Tanpa Menaikkan Suhu Terhadap *Aspergillus sp.*

Dokumentasi	Keterangan
 a  b c	a. Kontrol Negatif (1) b. Kontrol Negatif (2) c. Kontrol Negatif (3)
 a  b c	a. Kontrol Positif (1) b. Kontrol Positif (2) c. Kontrol Positif (3)





a. Rebus suhu 50°C (1)
b. Rebus suhu 50°C (2)
c. Rebus suhu 50°C (3)

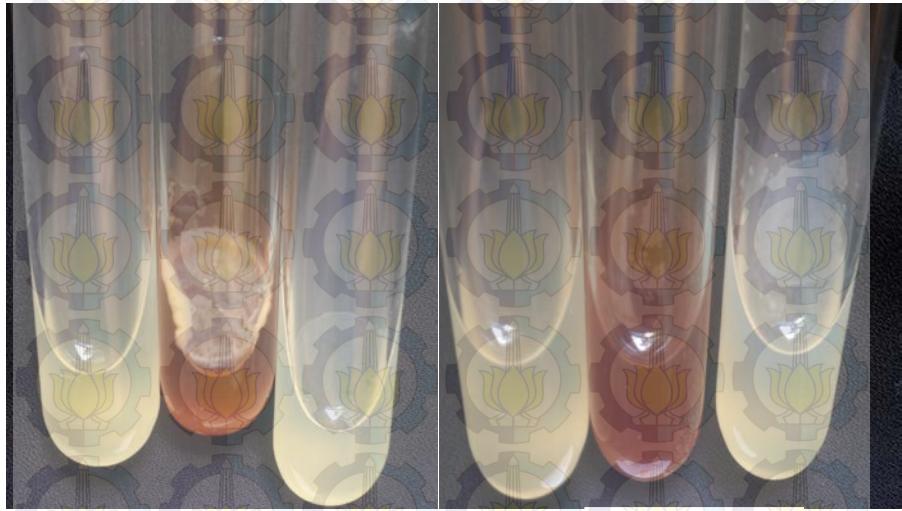


a. Kukus 90°C (1)
b. Kukus 90°C (2)
c. Kukus 90°C (3)

Lampiran 13 : Uji Aktivitas Antibakteri dengan KHM Konsentrasi 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% , 90% dan 100% pada Jam ke-48 Metode Rebus Suhu 40°C

Konsentrasi Ekstrak	Penentuan Nilai KHM	Σ Koloni Bakteri
0%	Keruh	*
10%	Keruh	*
20%	Keruh	*
30%	Keruh	*
40%	Keruh	*
50%	Keruh	*
50%	Keruh	*
60% 1	Jernih	120
60% 2	Jernih	180
60% 3	Jernih	110
70% 1	Jernih	105
70% 2	Jernih	120
70% 3	Jernih	90
80% 1	Jernih	39
80% 2	Jernih	53
80% 3	Jernih	43
90% 1	Jernih	25
90% 2	Jernih	23
90% 3	Jernih	11
100% 1	Jernih	18
100% 2	Jernih	13
100% 3	Jernih	10

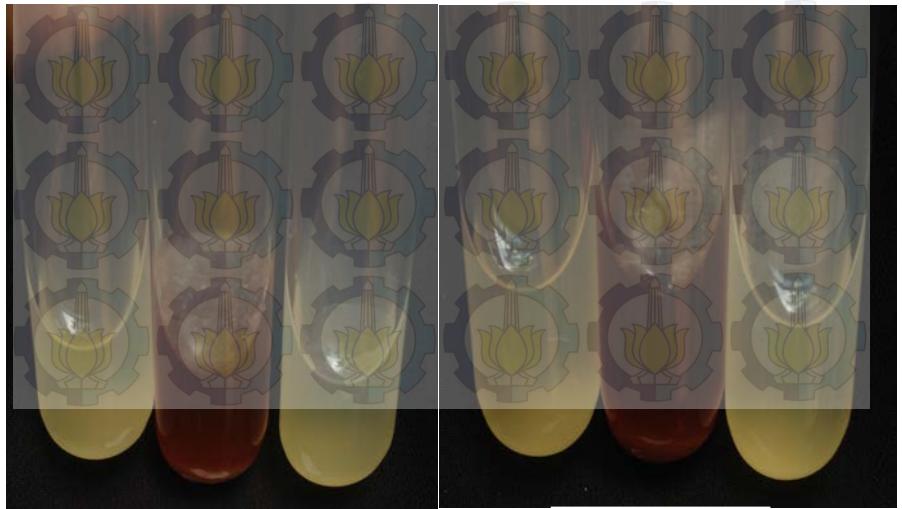
Lampiran 14: Foto Pengamatan Metode Dilusi pada Ekstrak Daun Ketapang Metode Rebus Suhu 40°C



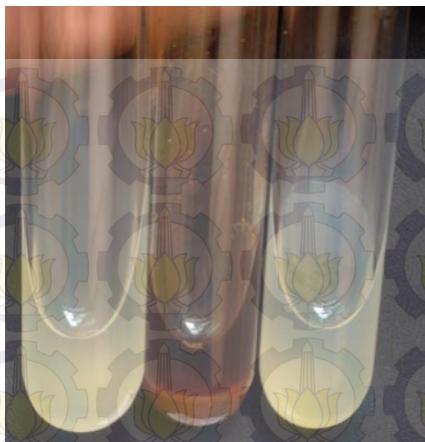
Kons 10%

Kons 20%

Kons 30%



Kons 40%



Kons 50%



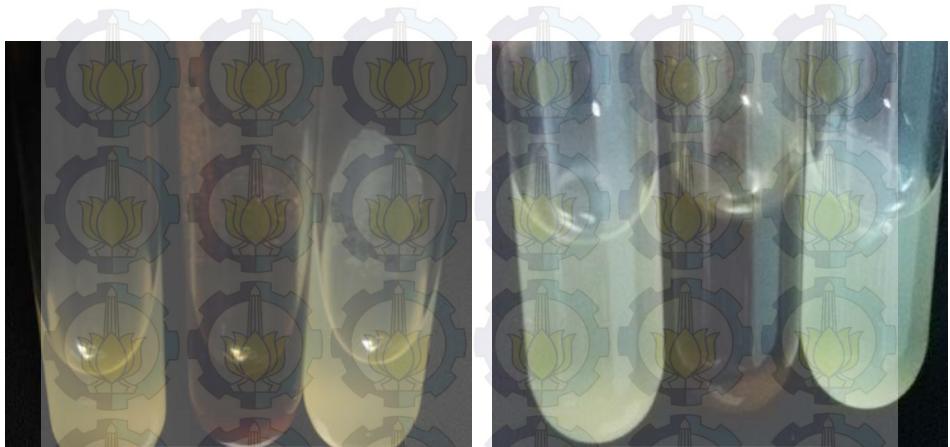
Kons 60%



Kons 70%



Kons 80%



Kons 90%

Kons 100%

Lampiran 15 : Foto Pengamatan KBM Pada Ekstrak Daun Ketapang Metode rebus suhu 40°C



Kontrol negatif



Kontrol Positif



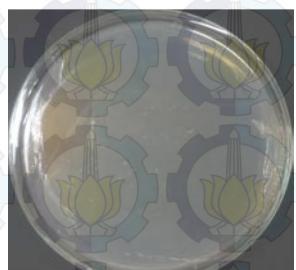
60%



70%



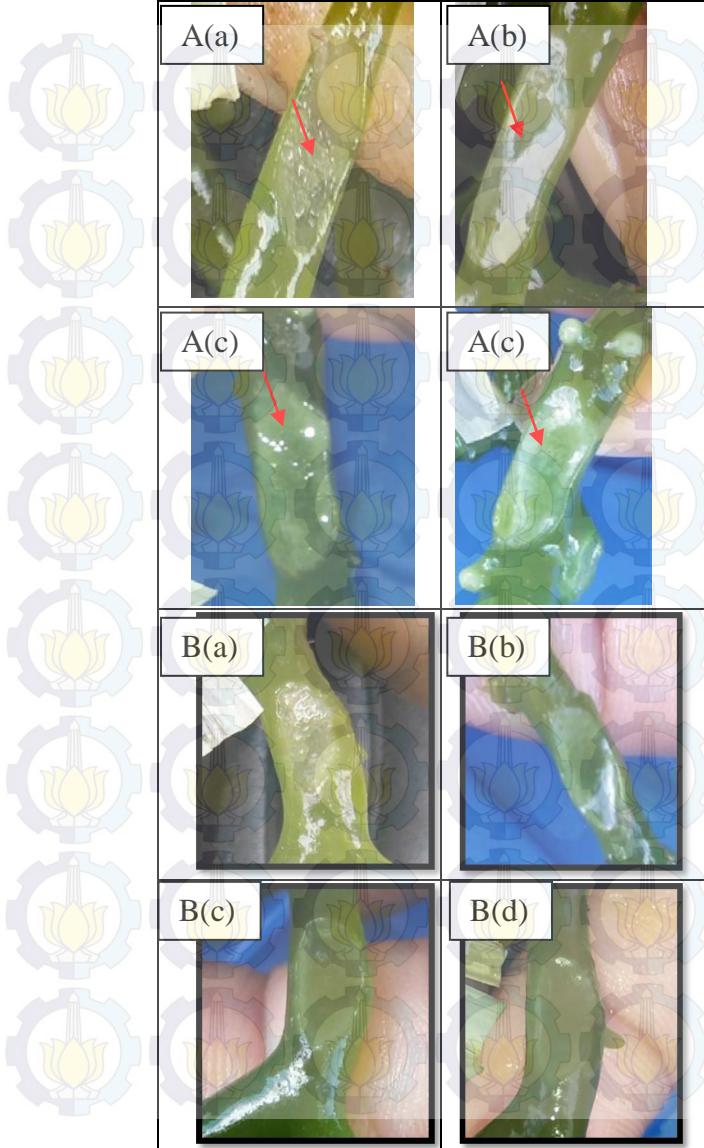
80%



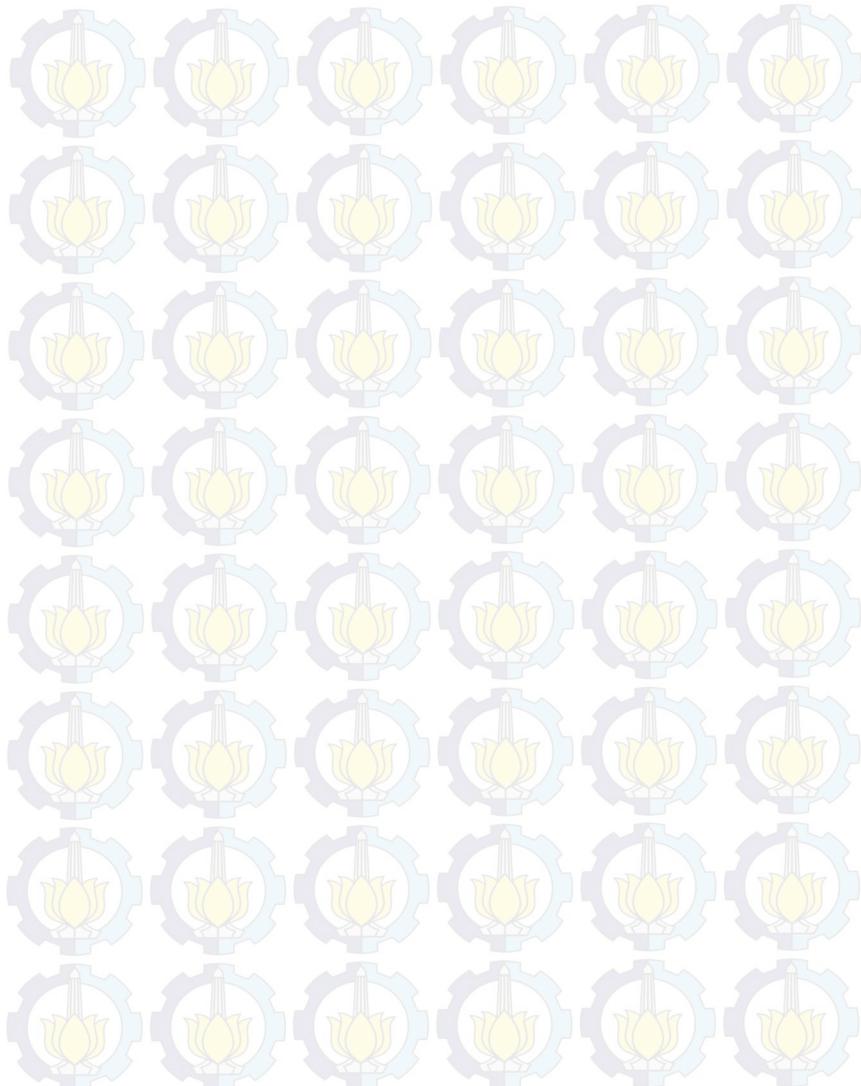
90 %



100 %

Lampiran 16 : Dokumentasi Hasil Uji Klinis

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



BIODATA PENULIS



Ni Wayan Sutraeni Rahayu dilahirkan di Karangasem, Bali 11 Maret 1994. Memulai pendidikan dasar di SD N 1 Kedewatan Ubud, SMP N 1 Sukawati, Giayanyar kemudian SMA N 8 Denpasar sampai pada Institut Teknologi sepuluh Nopember. Dalam hidup pernah mendapat penghargaan dari kementerian Luar Negri Republik Indonesia sebagai penyanyi APEC Pada tahun 2013. Wanita yang memiliki hobi berpetualang dan mendaki ini memiliki kesibukan di dunia bisnis salah

satunya adalah bisnis penjualan serta persewaan alat – alat *adventure*. Semasa perkuliahan penulis aktif di berbagai organisasi yaitu sebagai kepala departemen PSDM di Tim Pembina Kerohanian Hindu, staf PSDM di Paduan Suara Mahasiswa -ITS. dan sebagai staf Penelitian dan Pengembangan di Lembaga Minat Bakat-ITS.

Untuk memenuhi salah satu syarat mengambil Tugas Akhir, penulis melaksanakan Kerja Praktek di PT. Energi Agro Nusantara selama satu bulan, wanita ini merupakan bagian dari *Biomaterial and Enzyme Research Team* 2015.