

**UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL  
RIMPANG BANGLE (*Zingiber montanum*) SEBAGAI AGEN  
PENGENDALIAN BIOLOGI TERHADAP BAKTERI PATOGEN  
*Pseudomonas* sp. DAN *Vibrio* sp.**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**ARALI TYASNING PRASTITA**

**2217021076**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2026**

**UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL  
RIMPANG BANGLE (*Zingiber montanum*) SEBAGAI AGEN  
PENGENDALIAN BIOLOGI TERHADAP BAKTERI PATOGEN  
*Pseudomonas* sp. DAN *Vibrio* sp.**

Oleh  
**ARALI TYASNING PRASTITA**  
2217021076

**Skripsi**  
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar  
**SARJANA SAINS**

Pada  
**Jurusan Biologi**  
**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**JURUSAN BIOLOGI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS LAMPUNG**  
2026

## ABSTRAK

### UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL RIMPANG BANGLE (*Zingiber montanum*) SEBAGAI AGEN PENGENDALIAN BIOLOGI TERHADAP BAKTERI PATOGEN *Pseudomonas sp.* DAN *Vibrio sp.*

Oleh

ARALI TYASNING PRASTITA

Pembusukan pada ikan sering terjadi apabila tidak ditangani secara cermat. Ikan mampu membusuk karena memiliki kandungan air yang cukup banyak. Maka, beberapa penggunaan antimikroba alami mulai digunakan untuk memperlambat kebusukan pada ikan. Rimpang bangle (*Zingiber montanum*) menjadi salah satu tanaman obat tradisional yang banyak dimanfaatkan masyarakat karena kandungan metabolit sekundernya, seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan minyak atsiri, yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak etanol rimpang bangle terhadap *Pseudomonas sp.* dan *Vibrio sp.*, dua bakteri patogen yang berperan dalam menurunkan kualitas produk perikanan. Metode penelitian yang digunakan meliputi uji difusi sumuran untuk mengukur zona hambat pertumbuhan bakteri serta uji mikrodilusi bertingkat untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Perlakuan terdiri atas kontrol positif (kloramfenikol), kontrol negatif (akuades steril), dan ekstrak etanol rimpang bangle dengan konsentrasi 50 %, 75 %, dan 100 %. Data zona hambat dianalisis dengan uji normalitas dan homogenitas sebagai prasyarat. Apabila asumsi terpenuhi, analisis dilanjutkan dengan *One-Way ANOVA* dan uji lanjut Tukey HSD; apabila tidak, digunakan uji *Kruskal-Wallis* dengan uji Dunn sebagai uji lanjut. Hasil penelitian menunjukkan pada bakteri *Pseudomonas sp.* dan *Vibrio sp.* pada metode sumuran dengan aktivitas hambat terbesar berada di konsentrasi 100 % (6,83 mm; 5,8 mm). Sementara hasil uji KHM didapatkan hasil persen hambatan *Pseudomonas sp.* dan *Vibrio sp.* yang paling baik pada 80 % (2,07 %; 1,27 %).

**Kata Kunci:** Rimpang bangle, antimikroba, *Pseudomonas sp.*, *Vibrio sp.*, difusi sumuran, KHM

## ABSTRACT

### ANTIMICROBIAL ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACTS OF BANGLE RHIZOMES (*ZINGIBER MONTANUM*) AS A BIOLOGICAL CONTROL AGENT AGAINST PATHOGENIC BACTERIA *Pseudomonas* sp. AND *Vibrio* sp.

By

ARALI TYASNING PRASTITA

Fish spoilage often occurs if not handled carefully. Fish are prone to spoilage because they contain a high amount of water. Therefore, several natural antimicrobials have been used to slow down spoilage in fish. Bangle rhizome (*Zingiber montanum*) is one of the traditional medicinal plants widely used by the community because of its secondary metabolites, such as flavonoids, alkaloids, saponins, and essential oils, which have antibacterial potential. This study aims to determine the antimicrobial activity of ethanol extract of galangal rhizome against *Pseudomonas* sp. and *Vibrio* sp., two pathogenic bacteria that play a role in reducing the quality of fishery products. The research methods used include the well diffusion test to measure the zone of bacterial growth inhibition and the microdilution test to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). The treatments consisted of a positive control (chloramphenicol), a negative control (sterile water), and ethanol extracts of galangal rhizome at concentrations of 50 %, 75 %, and 100 %. The inhibition zone data were analyzed using normality and homogeneity tests as prerequisites. If the assumptions were met, the analysis was continued with One-Way ANOVA and Tukey HSD follow-up test; if not, the Kruskal-Wallis test with Dunn's test was used as a follow-up test. The results of the study showed that for *Pseudomonas* sp. and *Vibrio* sp., the well diffusion method yielded the highest inhibition activity at a concentration of 100% (6.83 mm; 5.8 mm). Meanwhile, the KHM test results indicated that the best inhibition percentages for *Pseudomonas* sp. and *Vibrio* sp. were observed at 80% (2.07%; 1.27%).

**Keywords:** Bangle rhizome, antimicrobial, *Pseudomonas* sp., *Vibrio* sp., well diffusion, MIC

Judul Skripsi : **UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIMIKROBA  
EKSTRAK ETANOL RIMPANG BANGLE (*Zingiber  
montanum*) SEBAGAI AGEN PENGENDALIAN  
BIOLOGI TERHADAP BAKTERI PATOGEN  
*Pseudomonas* sp. DAN *Vibrio* sp.**

Nama Mahasiswa : **Arali Tyasning Prastita**

NPM : **2217021076**

Jurusan : **Biologi**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

**Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si.**  
NIP. 19780819200812018

Pembimbing II

**Ir. Salman Farisi, M.Si.**  
NIP. 196104181987031001

2. Ketua Jurusan Biologi  
FMIPA UNILA

**Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.**  
NIP. 198301312008121001

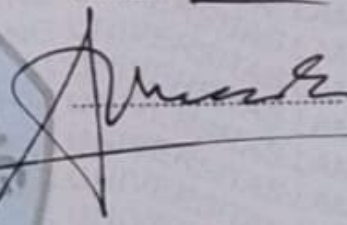
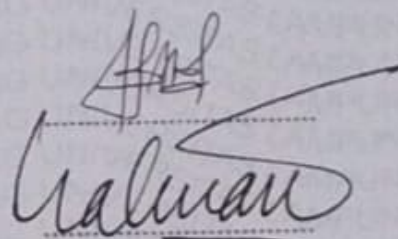
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Kusuma Handayani, M.Si.

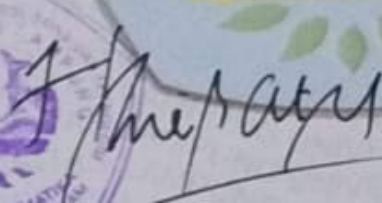
Sekretaris : Ir. Salman Farisi, M.Si.

Anggota : Prof. Dr. Sumardi, M.Si.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



  
Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.  
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 30 April 2026

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Arali Tyasning Prastita  
NPM : 2217021076  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung (UNILA)

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, skripsi saya yang berjudul **“UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL RIMPANG BANGLE (*Zingiber montanum*) SEBAGAI AGEN PENGENDALIAN BIOLOGI TERHADAP BAKTERI PATOGEN *Pseudomonas* sp. DAN *Vibrio* sp.”** adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara yang tidak sesuai dengan tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Demikian pernyataan ini, apabila dikemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 30 April 2026

Yang menyatakan



48B55AOX02910071

Arali Tyasning Prastita  
NPM. 2217021076

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bekasi, pada tanggal 19 April 2003. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara dari Bapak Rangga Bayunata dan Ibu Lili Agustianti. Penulis memiliki dua adik laki-laki bernama Aksana Gusti Arian Prawitra dan Ahramma Sangabrar Prawitra. Penulis beralamat tinggal di Kelurahan Kebon Manggis, Kecamatan Matraman, Kota Jakarta Timur, Provinsi DKI Jakarta.

Penulis mengawali pendidikan pertamanya di Sekolah Dasar Negeri Mekarjaya 14 Depok, Jawa Barat pada tahun 2009. Pada tahun 2015, penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama Negeri 81 Jakarta Timur, dan dilanjutkan pendidikan ke Sekolah Menengah Atas Negeri 11 Kota Bekasi pada tahun 2018.

Pada tahun 2022, penulis tercatat sebagai salah satu mahasiswa Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN. Selama menjadi mahasiswa Jurusan Biologi, penulis pernah menjadi asisten mata kuliah Mikrobiologi Umum, Genetika, dan Fisiologi Mikroba. Penulis juga pernah aktif di organisasi kampus UKPM Teknokra pada tahun 2023 dan UKM Merpati Putih di tahun 2024.

Pada bulan Januari-Februari 2025, penulis telah melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Mikrobiologi Pusat Produksi Inspeksi dan Sertifikasi Hasil Perikanan (PPISHP) DKI Jakarta dibawah naungan Dinas Ketahanan Pangan, Kelautan, dan Pertanian DKI Jakarta dengan judul “**Analisis Cemaran Bakteri *Salmonella* sp. dan *Staphylococcus aureus* Pada Udang Beku**

**di Laboratorium PPISHP DKI Jakarta”. Pada bulan Juli-Agustus 2025, penulis melaksanakan Kuliah kerja Nyata (KKN) di Kelurahan Beringin Raya, Kemiling, Bandar Lampung. Penulis memulai penelitian dan menyusun skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Senyawa Antimikroba Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber montanum*) Sebagai Agen Pengendalian Biologi Terhadap Bakteri Patogen *Pseudomonas* sp. Dan *Vibrio* sp.”.**

## **PERSEMBAHAN**

*Dengan mengucapkan syukur kepada Allah SWT yang maha kuasa, saya mempersembahkan karya kecil ini dengan sepenuh hati kepada:*

*Seluruh anggota keluarga saya, Bapak Rangga dan Ibu Lili yang telah memberikan saya bimbingan, motivasi, kasih sayang, dan kepedulian selama di Bandar Lampung; kedua adikku, Aksan dan Ahram; serta nenek yang telah memberikan kekuatan, kasih sayang, motivasi, serta mendoakan setiap langkah hidup yang saya lalui;*

*Dosen-dosen pembimbing dan penguji yang telah membimbing, mengarahkan, dan mengajarkan saya ilmu serta bimbingan dengan tulus dan ikhlas sehingga saya berhasil mendapatkan gelar sarjana;*

*Kepada diri saya sendiri yang sudah mengusahakan semuanya dengan baik dan masih kuat dan tidak menyerah sampai penyusunan skripsi ini dibuat;*

*Serta orang-orang yang tidak bisa saya sebutkan satu-satu yang telah memberikan saya pembelajaran dan makna dari kehidupan.*

## MOTTO HIDUP

“Sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain), dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap.” (Q.S. Al-Insyirah: 5-8).

“Dan Kami pasti akan menguji kamu dengan sedikit ketakutan, kelaparan, kekurangan harta, jiwa, dan buah-buahan. Dan sampaikanlah kabar gembira kepada orang-orang yang sabar.” (Q.S. Al-Baqarah: 155-156)

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.”  
(Q.S. Al-Baqarah: 286)

“Ketika kau memiliki harapan yang baik, itu begitu berharga. Bukalah matamu dan lihat ke dalam hatimu. Suara lonceng yang bernama “penderitaan” mengundang kata-kata doa. Kenyataan yang telah berlalu dan hari esok yang akan datang akan memaafkan segalanya” (Dari *Yesterday & Today, Do As Infinity*).

“Siapakah yang akan mengambil hikmah dari cerita kegagalan yang berujung kegagalan? Demi keadilan, bukan hanya kisah sukses yang patut dijadikan sejarah, kisah orang-orang gagal pun layak diceritakan.”  
(Dari *Fantasmagoria*, Pramudya Utari).

## SANWACANA

*Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT atas berkat rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Senyawa Antimikroba Ekstrak Etanol Rimpang Bangle *Zingiber montanum* Sebagai Agen Pengendalian Biologi Terhadap Bakteri Patogen *Pseudomonas sp.* dan *Vibrio sp.*”**. Skripsi ini dibuat sebagai bentuk pertanggungjawaban penulis selama menempuh pendidikan S1 dan merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Selama proses penyusunan dan penulisan skripsi ini, penulis mendapatkan bantuan, dukungan, motivasi, saran, bimbingan, dan kritik dari berbagai pihak kepada penulis. Untuk itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Kedua orang tuaku tercinta, Bapak Rangga Bayunata dan Ibu Lili Agustianti, serta kedua adikku yang selalu mendoakan, memberikan dukungan, kasih sayang, masukan, dan motivasi terbaiknya, serta pengorbanan tanpa henti untuk penulis dalam mencapai tahap ini.
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria. S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung
3. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Si., selaku Dosen Pembimbing I skripsi dan Kepala Program Studi S1-Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta sabar dalam memberikan arahan, bimbingan, dan nasihat untuk tidak mudah putus asa selama menyusun dan menyelesaikan skripsi ini.

4. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si., selaku Dosen Pembimbing II skripsi yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta sabar dalam memberikan arahan, bimbingan, dan nasihat untuk tidak mudah putus asa selama menyusun dan menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak Prof. Dr. Sumardi, M.Si., selaku Dosen Pembahas dan Pembimbing Akademik yang telah memberikan banyak saran, pembelajaran, nasihat, serta meluangkan waktu untuk mengarahkan dan memotivasi penulis untuk lebih berkembang dan mampu menyelesaikan kuliah tepat waktu.
6. Bapak Dr. Jani Master., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung
7. Seluruh Dosen Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah berjasa memberikan ilmu selama di bangku perkuliahan.
8. Ibu Oni Mastuti, S.Si., selaku Laboran Laboratorium Mikrobiologi dan Kak Diana Salsabila, S.Si., selaku Laboran Laboratorium Molekuler FMIPA Universitas Lampung yang telah berdedikasi dan kepeduliannya yang luar biasa kepada seluruh peneliti selama bertugas, saran, masukan, serta doa-doa, motivasi, hal positif, dan semangat yang selalu diberikan untuk penulis.
9. Teman-teman delegasi, Noptira, Sabina, dan Putri yang telah menemani penulis selama menempuh pendidikan di Biologi serta memberikan dukungan, semangat, dan hiburan hingga saat ini.
10. Seluruh peneliti mikrobiologi angkatan 2022 yang bersama-sama melakukan penelitian, membantu, serta memberikan dukungan satu sama lain dalam menjalankan penelitian.
11. Teman-teman asisten praktikum mikrobiologi, Natasya, Cindy, Najwa, dan Ferdinie yang telah memberikan dukungan, membantu, dan menemani penulis selama melakukan penelitian.
12. Anak-anak komunitas Lampung Book Party, terutama untuk Lia, Alvin, dan Kak Diva yang sudah menemani, memberikan ruang hobi penulis yang tidak tersalurkan, serta dukungan selama penulis melakukan penelitian.

13. Teman seperjuangan lainnya, Intan, Najmah, Kak Vira, dan Kak Indah yang sudah memberikan dukungan, motivasi, serta semangat selama penulis menempuh perkuliahan di Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini tidak lepas dari kesalahan dan jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis akan dengan senang hati menerima kritik, saran, dan masukan yang membangun agar menjadi evaluasi dan perbaikan ke depannya sehingga skripsi ini dapat berguna serta bermanfaat bagi kita semua, Amin.

Bandar Lampung, 30 April 2026

Penulis

Arali Tyasning Prastita

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>III</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>IV</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>V</b>
<b>MENGESAHKAN</b> .....	<b>VI</b>
<b>SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI</b> .....	<b>VII</b>
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	<b>VIII</b>
<b>PERSEMBAHAN</b> .....	<b>X</b>
<b>MOTTO HIDUP</b> .....	<b>XI</b>
<b>SANWACANA</b> .....	<b>XII</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>XV</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>XVIII</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>XIX</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Tujuan .....	4
1.3. Kerangka Pemikiran .....	4
1.4. Manfaat .....	5
1.5. Hipotesis .....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>6</b>
2.1. Rimpang Bangle ( <i>Zingiber montanum</i> ).....	6
2.2. Proses Pembusukan Ikan.....	10
2.3. Antimikroba.....	12
2.4. Bakteri Pembusuk Pada Ikan.....	15
2.4.1. <i>Pseudomonas</i> sp.....	15
2.4.2. <i>Vibrio</i> sp.....	18

2.5. Metode Antimikroba.....	21
2.5.1. Metode Difusi .....	21
2.5.2. Metode Mikrodilusi.....	23
<b>III. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>25</b>
3.1. Waktu dan Tempat .....	25
3.2. Alat dan Bahan.....	25
3.3. Rancangan Penelitian.....	26
3.4. Prosedur Penelitian .....	27
3.4.1. Pengambilan Sampel.....	27
3.4.2. Pembuatan Ekstrak Etanol Rimpang Bangle <i>Zingiber montanum</i> .....	27
3.4.3. Uji Fitokimia.....	28
3.4.4. Peremajaan Bakteri Uji.....	29
3.4.5. Uji Aktivitas Enzim Protease.....	29
3.4.6. Pembuatan Media Uji .....	30
3.4.7. Uji Daya Hambat Antibakteri.....	31
3.5. Analisis Data.....	34
3.6. Diagram Alir .....	34
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>36</b>
4.1. Hasil.....	36
4.1.1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Rimpang Bangle <i>Zingiber montanum</i> .....	36
4.1.2. Hasil Uji Aktivitas Enzim Protease .....	37
4.1.3. Hasil Uji Aktivitas Antimikroba Difusi Sumuran .....	37
4.1.4. Hasil Uji Aktivitas Antimikroba Mikrodilusi.....	43
4.2. Pembahasan .....	49
4.2.1. Senyawa-Senyawa dalam Ekstrak Etanol Rimpang Bangle.....	49
4.2.2. Aktivitas Enzim Protease Pada <i>Pseudomonas</i> sp. dan <i>Vibrio</i> sp.....	54
4.2.3. Faktor Pengaruh pada Hasil Uji Aktivitas Antimikroba terhadap Bakteri <i>Pseudomonas</i> sp. dan <i>Vibrio</i> sp. ....	57
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>60</b>
5.1. Kesimpulan.....	60

5.2. Saran .....	60
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>61</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>69</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Hasil Uji Fitokimia Pada Ekstrak Etanol Rimpang Bangle <i>Zingiber montanum</i> .....	36
2. Hasil Pengujian Uji Kualitatif Aktivitas Enzim Selulase.....	37
3. Diameter Zona Hambat (mm) terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Pseudomonas</i> sp. ....	39
4. Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro Wilk Pseudomonas</i> sp. ....	40
5. Hasil Uji <i>Kruskal Wallis Pseudomonas</i> sp. ....	40
6. Diameter Zona Hambat (mm) terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Vibrio</i> sp. ....	41
7. Hasil Uji Normalitas <i>Saphiro Wilk Vibrio</i> sp. ....	42
8. Hasil Uji <i>ANOVA-Welch Vibrio</i> sp. ....	42
9. Hasil Uji Mikrodilusi KHM Ekstrak Etanol Rimpang Bangle <i>Zingiber montanum</i> terhadap <i>Pseudomonas</i> sp. ....	44
10. Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro Wilk Pseudomonas</i> sp. ....	45
11. Hasil Uji <i>Kruskal Wallis Pseudomonas</i> sp. ....	45
12. Hasil <i>Post Hoc Dunn Test Pseudomonas</i> sp. ....	45
13. Hasil Uji Mikrodilusi KHM Ekstrak Etanol Rimpang Bangle <i>Zingiber montanum</i> Terhadap <i>Vibrio</i> sp. ....	46
14. Hasil Uji Normalitas <i>Saphiro Wilk Vibrio</i> sp. ....	48
15. Hasil Uji <i>Kruskal Wallis Vibrio</i> sp. ....	48
16. Hasil <i>Post Hoc Gomes Howell Vibrio</i> sp. ....	48
17. Standar Kekuatan Daya Hambat Antimikroba Menurut David dan Stout (1971) .....	57

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Gambar Kenampakan dari (a) Rimpang Bangle ( <i>Zingiber montanum</i> ), (b) Daun Bangle (Wakhidah, 2022), dan (c) Bunga Bangle (Guanhong, 2023). .....	7
2. Gambar Koloni Pengamatan Gram dari (a) <i>Pseudomonas</i> sp. Bentuk Kokus, (b) <i>Pseudomonas</i> sp. Bentuk Basil dengan perbesaran $\pm 100X$ (Rahmadian dkk., 2018).....	17
3. Gambar Koloni <i>Vibrio</i> sp. pada (a) Media TCBS (Suprakto dkk., 2024), (b) Mikroskopis Pewarnaan Gram dengan perbesaran $\pm 10X$ (Mahulau dkk., 2022).....	20
4. Tata Letak Pengujian Rancangan Acak Lengkap (RAL) Dari Uji Difusi Sumuran <i>Pseudomonas</i> sp. dan <i>Vibrio</i> sp. ....	26
5. Tata Letak Pengujian Rancangan Acak Lengkap (RAL) Dari Uji Mikrodilusi <i>Pseudomonas</i> sp. dan <i>Vibrio</i> sp. ....	27
6. Diagram Alir Penelitian .....	35
7. Hasil Pengujian Metode Difusi Sumuran <i>Pseudomonas</i> sp. dengan Konsentrasi: (a) K(+); (b) K(-); (c) 100 %; (d) 75 %; (e) 50 %.....	38
8. Hasil Pengujian Metode Difusi Sumuran <i>Vibrio</i> sp. dengan Konsentrasi: (a) K(+); (b) K(-); (c) 100 %; (d) 75 %; (e) 50 %.....	41
9. Penampakan Hasil Uji KHM Mikrodilusi Ekstrak Rimpang Bangle <i>Zingiber montanum</i> Terhadap <i>Pseudomonas</i> sp. Pada (a) Sebelum Inkubasi dan (b) Setelah Inkubasi.....	43
10. Penampakan Hasil Uji KHM Mikrodilusi Ekstrak Rimpang Bangle <i>Zingiber montanum</i> terhadap <i>Vibrio</i> sp. pada (a) Sebelum Inkubasi dan (b) Setelah Inkubasi. ....	47
11. Rimpang Bangle <i>Zingiber montanum</i> .....	76
12. Pencucian Rimpang Bangle .....	76

13. Irisan Potongan Rimpang Bangle .....	76
14. Penjemuran Irisan Rimpang Bangle.....	76
15. Simplisia Rimpang Bangle.....	76
16. Perendaman Simplisia Rimpang Bangle.....	76
17. Ekstrak Pekat Rimpang Bangle <i>Zingiber montanum</i> .....	77
18. Perbandingan Kekeruhan Suspensi Bakteri dengan McFarland 0,5 .....	77
19. Pemanasan Pada Uji Fitokimia .....	77
20. Hasil Peremajaan Koloni <i>Vibrio</i> sp. dengan TSB.....	77
21. Media <i>Skim Milk Agar</i> .....	78
22. Hasil Pengukuran Absorbansi dengan <i>Microplate Reader</i> .....	78
23. Pengukuran pH pada Media MHA.....	78
24. Potongan Replika Zona Hambat Difusi Sumuran.....	78

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Lautan dan perairan di Indonesia memiliki keanekaragaman hayati, sehingga sektor perikanan dan akuakultur dijadikan sebagai salah satu sektor penting pada dunia pangan sekaligus sumber kehidupan masyarakat pesisir. Namun, hal yang harus diperhatikan dari sektor perairan cukup rentan terdampak berbagai penyakit menular, di mana sebagian besar penyakit tersebut disebabkan oleh patogen primer maupun oportunistik yang biasa diklasifikasikan sebagai infeksi bakteri, virus, jamur, dan parasit (Irshath *et al.*, 2023). Kondisi tersebut mendorong berkembangnya pendekatan melalui pengendalian hayati, sebagai strategi pengelolaan organisme pengganggu yang memanfaatkan agen biologis secara alami. Umumnya, agen biologis yang digunakan berupa probiotik dan prebiotik yang berasal dari mikroorganisme, serta fitogenik yang berasal dari senyawa tumbuhan (Lim *et al.*, 2025). Penggunaan agen biologis ini dapat dilakukan pada hewan-hewan yang biasa dikonsumsi oleh masyarakat untuk mencegah terjadinya penyakit patogen, salah satunya ikan.

Ikan merupakan salah satu sumber pangan yang penting bagi masyarakat, kaya akan gizi seperti protein, lemak sehat, vitamin, air, dan mineral. Menurut Durazzo *et al.*, (2022), kandungan gizi ikan terdiri dari senyawa bioaktif yang berinteraksi dengan jaringan hidup dan memberikan dampak positif bagi kesehatan. Selain itu, ikan mengandung taurin yang berfungsi sebagai antioksidan, serta lemak LC-omega-3-PUFA, vitamin D, dan tokoferol dalam ikan juga berkontribusi pada kesehatan, mencegah penyakit rakitis, dan memiliki sifat pelindung saraf. Luqman *et al.*,

(2024) juga menekankan bahwa ikan adalah sumber utama protein berkualitas tinggi yang berkontribusi pada pertumbuhan ekonomi, terutama di Indonesia. Di Lampung, hasil tangkapan perikanan menunjukkan peningkatan dari tahun ke tahun, dengan data Badan Pusat Statistik (2025), mencatat hasil tangkapan ikan mencapai 188.722 ton pada tahun 2023. Pada penanganannya, ikan juga mengalami tantangan, karena kandungan air yang cukup banyak, sehingga mudah mengalami kerusakan, dengan pembusukan yang cepat terjadi setelah ditangkap, terutama pada suhu tropis. Yusfiani *et al.*, (2019) menjelaskan bahwa ikan cukup cepat memasuki ke fase *rigor mortis*. Jika tidak ditangani dengan baik, pembusukan akan berlangsung lebih cepat. Menurut Ariyani dkk., (2007), pembusukan ikan lebih cepat terjadi di Indonesia karena keterbatasan pasokan es di daerah pelosok. Apabila ikan dibiarkan pada suhu ruang tanpa es cukup lama dapat menurunkan kualitas ikan. Selain kelangkaan pada es, harga es yang cukup mahal, penempatan es di kapal yang memerlukan ruang besar, serta penanganan ekstra pada es untuk mengawetkannya.

Salah satu bakteri patogen yang umumnya menyerang hasil perikanan dan berbahaya juga bagi manusia adalah *Vibrio sp.*, yang memiliki kemampuan hidup di udara, air, dan tanah. Biasanya, *Vibrio sp.* menyerang makanan laut mentah, penanganan yang kurang tepat, atau proses pengolahan hingga pengemasannya yang tidak memenuhi standar baku (Lubis dkk., 2021). Menurut Ihsan, (2021), *Vibrio sp.* biasanya hidup di perairan dan bersifat oportunistik serta dapat menyebabkan penyakit bagi manusia. Jenis bakteri *Vibrio sp.* yang sering menginfeksi manusia di antaranya *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio cholerae* yang dapat menyebabkan penyakit *Vibriosis*. Selain bakteri *Vibrio sp.* sebagai patogen, ada pula bakteri pembusuk ikan yang cukup sering ditemukan pada ikan, yaitu *Pseudomonas sp.*, yang termasuk dalam kelompok bakteri Gram negatif dan bersifat aerobik yang mampu hidup di tanah, air, dan udara. *Pseudomonas sp.* juga bersifat fakultatif halofilik yang dapat hidup pada lingkungan dengan garam sebesar 2 % (Daeng dan Husen, 2019).

Penggunaan pengawet pada ikan menjadi salah satu cara untuk menghambat pembusukan. Pengawet kimia yang sering digunakan di sektor pengolahan perikanan di antaranya asam benzoat, nitrat atau nitrit, dan *ethyl p-hydroxybenzoate*. Namun, hal tersebut menimbulkan efek samping berbahaya seperti disfungsi hati dan karsinogenik. Maka, pengawet alami dari tumbuhan menjadi salah satu alternatif yang lebih aman dan ramah lingkungan (Sukanda *et al.*, 2023). Penggunaan antibiotik kimia juga berisiko menimbulkan residu dalam jaringan ikan, yang dapat berdampak negatif pada kesehatan manusia dan ekspor produk perikanan (Najah *et al.*, 2024).

Salah satu agen biologis yang digunakan sebagai alternatif sebagai pengawet pada ikan yang dinilai ramah lingkungan dengan menggunakan tumbuhan yang mampu menghasilkan senyawa metabolit untuk antimikroba. Pada beberapa penelitian sudah banyak yang mencoba beberapa bahan alami seperti cengkeh, kunyit, serai, dan lainnya terbukti cukup efektif dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Bangle menjadi salah satu bahan alami yang diperhitungkan mampu menghambat mikroorganisme. Rimpang dari bangle secara tradisional memiliki kemampuan antiinflamasi, analgesik, serta anti obesitas, karena memiliki kandungan minyak atsiri yang mengandung terpinen-4-ol, sabinen, arilbutanoid, fenilbutanoid, kurkuminoid, dan seskuiterpen (Maryam dkk., 2018). Selain itu, senyawa metabolit sekunder dari bangle dapat digunakan sebagai antimikroba, seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid (Khusnul dkk., 2021). Flavonoid menjadi senyawa pereduksi yang baik, yang mampu menghambat banyak reaksi oksidasi secara enzimatik maupun non enzimatik, di mana dapat mengganggu keutuhan membran sel bakteri, mengganggu fungsi sel mikroorganisme, serta menghambat siklus sel mikroba (Latifah dkk., 2025). Alkaloid juga mampu menghambat juga sintesis dinding sel bakteri yang belum dan tidak sempurna dengan mudah. Saponin mampu mengganggu tegangan permukaan sel bakteri, sehingga mudah bocor serta melisiskan permukaan tersebut. Sedangkan senyawa steroid dapat menyebabkan kebocoran pada

lisosom bakteri (Hayati dan Safarianti, 2017). Hal ini juga terbukti bahwa bangle mampu menghambat pertumbuhan jamur *Tricophyton rubrum* dari penelitian yang dilakukan oleh Khusnul dkk., (2021).

## 1.2. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk:

- 1) Mengetahui aktivitas daya hambat ekstrak etanol rimpang bangle terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp.
- 2) Mengukur konsentrasi optimum ekstrak etanol rimpang bangle dalam aktivitas daya hambat pertumbuhan *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp.
- 3) Mengetahui senyawa bioaktif ekstrak bangle yang memiliki kemampuan aktivitas sebagai antimikroba.

## 1.3. Kerangka Pemikiran

Pembusukan pada ikan terjadi cukup signifikan di beberapa daerah, termasuk kasus keracunan makanan akibat bahan pangan yang membusuk oleh bakteri pembusuk *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp.. Peristiwa keracunan makanan dapat menyebabkan berbagai penyakit, seperti infeksi pada pencernaan salah satunya. Dalam pencegahan pembusukan pada ikan umumnya menggunakan pengawet kimia maupun antibiotik sintesis seperti *amoxicillin*, *cloramphenicol*, dan masih banyak lagi menimbulkan residu yang bisa menyebabkan pembusukan lebih cepat pada ikan. Maka dari itu, sudah cukup banyak bahan-bahan alami yang dibuat sebagai pengawet alami karena senyawa bioaktif di dalamnya memiliki aktivitas antimikroba, seperti cengkeh, serai, kunyit, bangle, dan sebagainya.

Bangle atau *Zingiber montanum* menjadi salah satu bahan alami rempah-rempah yang mampu mengobati penyakit serta memiliki senyawa bioaktif dengan kemampuan bioaktivitasnya. Senyawa bioaktif pada rimpang bangle yang terdiri dari minyak atsiri yang mengandung terpinen-4-ol, sabinen, arilbutanoid, fenilbutanoid, kurkuminoid, dan seskuiterpen, serta metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan terpenoid. Penelitian ini menggunakan dua metode uji utama dalam mengukur

efektivitas senyawa antimikroba pada rimpang bangle, yaitu menggunakan metode *Well Diffusion* atau difusi sumuran dan *Broth Dilution*. Pelarut etanol yang digunakan pada ekstrak etanol rimpang bangle diharapkan menjadi cara yang efektif untuk menghambat pertumbuhan terhadap bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp.

#### **1.4. Manfaat**

Penelitian ini dapat bermanfaat untuk menambah pengetahuan peneliti tentang manfaat pada ekstrak etanol rimpang bangle *Zingiber montanum* sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp., serta memberikan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat Rimpang bangle sebagai bahan pengawet alami untuk ikan.

#### **1.5. Hipotesis**

Berdasarkan pendahuluan di atas, maka hipotesis yang didapatkan adalah sebagai berikut:

1. Terdapat daya hambat yang terlihat dari kemampuan ekstrak etanol rimpang bangle terhadap bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp.
2. Terdapat perbedaan signifikan antar konsentrasi ekstrak etanol rimpang bangle yang diujikan sebagai antimikroba.
3. Terdapat senyawa bioaktif pada ekstrak etanol rimpang bangle yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Rimpang Bangle (*Zingiber montanum*)

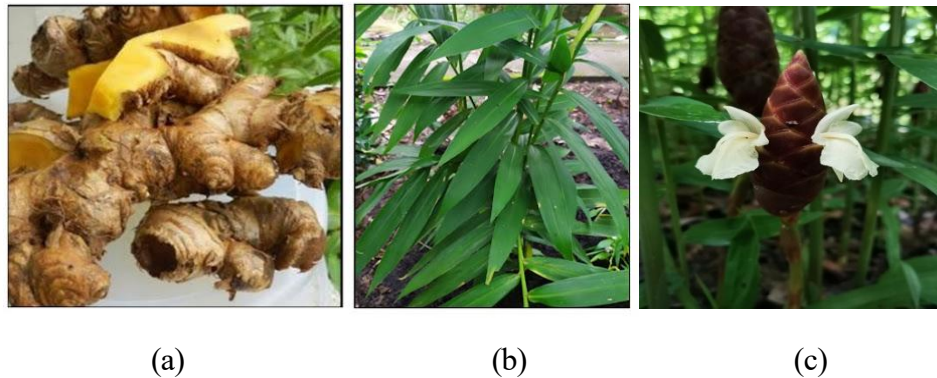
Salah satu jenis rempah-rempah yang dikembangkan sebagai tanaman obat alami adalah rimpang bangle. Bangle (*Zingiber montanum*) merupakan golongan Zingiberaceae dan termasuk dalam tanaman herba tropis atau subtropis yang tersebar di Asia Tenggara, khususnya di Indonesia. Tanaman ini tidak hanya dimanfaatkan sebagai bumbu masakan, tapi juga telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional Indonesia karena berbagai khasiatnya. Bagian tanaman bangle yang biasa digunakan untuk pengobatan tradisional yaitu rimpangnya (Daryanti dkk., 2022). Rimpang bangle memiliki berbagai khasiat di antaranya sebagai obat demam, nyeri perut, sembelit, masuk angin, cacing, dan encok (Daryanti dkk., 2023).

Rimpang bangle dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional didukung dari metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Bagian tanaman yang sering digunakan sebagai obat diantaranya daun, buah, biji, bunga, akar, rimpang, batang (kulit) dan getah atau resin (Daryanti dkk., 2023). Umumnya, bangle dimanfaatkan oleh masyarakat berasal dari daun, rimpang, sampai minyak esensialnya yang dikenal mampu mengobati berbagai macam, seperti lambung, diare, kolik, dan sakit kepala (Silalahi, 2019).

Berikut klasifikasi dari tanaman rimpang bangle menurut Cronquist, (1988) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Division : Magnoliophyta

Class : Liliopsida  
 Subkelas : Zingiberidae  
 Ordo : Zingiberales  
 Family : Zingiberaceae  
 Genus : *Zingiber*  
 Species : *Zingiber montanum*



**Gambar 1.** Gambar Kenampakan dari (a) Rimpang Bangle (*Zingiber montanum*), (b) Daun Bangle (Wakhidah, 2022), dan (c) Bunga Bangle (Guanhong, 2023).

Bangle (*Zingiber montanum*) memiliki rimpang yang berwarna *orange* pucat di bagian dalam. Memiliki batang semu yang ditopang oleh pelepah daun dengan tinggi sekitar 1,2-1,8 m. Daunnya berbentuk *glabrous* dengan rambut-rambut di dekat ujungnya dengan ligula berlobus dua (*bilobed*) dengan panjang sekitar 2 mm. Helaian daun berbentuk pita dengan panjang daun sekitar 20-35 cm x 2-4 cm dan permukaan bawah *pubescent*. Pembungaan *fusiform* atau *cylindrical ovoid* dengan ukuran sekitar 10-16 cm x 3-3,5 cm, bagian apeaknya *acute* berdiri tegak dengan panjang sekitar 20-25 cm. *Bracktea* berbentuk *ovate* dengan ukuran sekitar 3-3,5 cm *pubescent*, bewarna hijau kecoklatan. Brakteola memiliki panjang sekitar 1-1,5 cm. Mahkota dan labelum bewarna kuning pucat dengan panjang 6 cm dengan lobus dibagian tengah (Mukti dan Andriani, 2021).

Umumnya, famili Zingiberaceae termasuk dalam herba aromatis yang memiliki rhizoma. Di daerah pantropikal, Zingiberaceae merupakan

famili terbesar dari ordo Zingiberales dengan 53 genus dan lebih dari 1200 spesies. Genus *Zingiber* memiliki sekitar 100 spesies dan pusat penyebarannya terdapat di Asia Tenggara, namun juga ditemukan di Asia tropis, Australia, dan Jepang. Menurut Silalahi, (2019), batang tumbuhan Zingiberaceae tidak berkembang dengan baik dan yang terbentuk merupakan *pseudostem* (batang semu) di mana terbentuk dari tumpukan pelepah daun. Helai daun biasanya berbentuk lanset atau elips dengan bagian tepi yang rata, sedangkan bagian ujung daun runcing atau meruncing. *Inflorescence* atau pembungaan dibentuk dibagian terminal taruk (*shoot*) tanpa daun yang muncul dari rhizoma. Bunga bersifat *epigynous*, *bisexual*, dan *zygomorphic*, serta memiliki satu stamen yang fungsional yang berada dibagian tengah belakang dalam lingkaran bunga, sedangkan dua stamen lagi bersifat steril sedangkan stamen yang berada dilingkar luar tereduksi. Tangkai sari berada diantara *theca* dan stigma kelihatan berada di atas dari antera (Silalahi, 2019).

Menurut Maryam dkk., (2019), kandungan kimia dari rimpang bangle (*Zingiber montanum*) yang telah ditemukan antara lain senyawa minyak atsiri yang mengandung terpinen-4-ol, sabinen, arilbutanoid (Dimetoksi fenil butadien (DMPBD) dan dimernya), fenilbutanoid ((*E*)-4-(3',4'-dimethoxyphenyl)but-3-en-1-ol), ((*E*)-4-(2',4',5'-trimethoxy-phenyl)but-3-en-1-ol dan (*E*)-4-(3',4',1-trimethoxy phenyl) but-3-en-1-ol), kurkuminoid, dan seskuiterpen. Sementara pada Mukti dan Andriani (2021), berdasarkan analisis spektrometri massa kromatografi gas (GS-MS) kandungan pada minyak atsiri rimpang bangle segar dilaporkan terdapat berbagai senyawa seperti  $\alpha$ -thurjene,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -mycrene,  $\alpha$ -terpinene,  $\beta$ -phellandrene, p-cymene,  $\gamma$ -terpinene, sabinen, sabinene hydrate, terpinolen, terpinen-4-ol sebesar 14,51 %, *terpinyl acetate*,  $\beta$ -sesquiphellandrene dan 4-(3,4-dimethoxyphenyl) but-1,3-diene (DMPBD) yang diidentifikasi berdasarkan waktu retensi dan perbandingan dengan senyawa standar. Sementara kandungan minyak daun bangle terdapat sabinene sebesar 15 %,  $\beta$ -pinene sebesar 14,3 %, *caryophyllene oxide* sebesar 13,9 % dan *caryophyllene* sebesar 9,5 %.

Hasil analisis fitokimia ekstrak etanol rimpang bangle yang dilakukan oleh Singh *et al.*, (2018) diketahui mengandung golongan senyawa tanin, alkaloid, steroid, terpenoid, dan flavonoid, sedangkan senyawa bioaktif yang berhasil diisolasi dari rimpang bangle di antaranya adalah *cassumunarin* A, B dan C yang merupakan turunan kurkuminoid, terpinen-4-ol, alpha and beta-pinen, sabinen, mirsen, terpinen, limonen, *p-cimene*, terpinolen, dimer fenil butanoat, dan (E)-4-(3',4'-dimetoksifenil)-but-3-en-1-ol. Komponen minyak atsiri rimpang bangle diketahui mengandung senyawa monoterpen sebagai komponen mayor dan seskuiterpen. Tetapi, pada percobaan yang dilakukan oleh Khusnul dkk., (2021), rimpang bangle dengan ekstrak etanol 70 % yang telah diuji fitokimianya terdapat senyawa saponin juga di dalamnya. Hal ini memungkinkan karena perbedaan pelarut dan juga konsentrasi pelarut yang digunakan berbeda.

Pada beberapa penelitian, sudah ada yang mencoba bioaktivitas rimpang bangle untuk diuji aktivitas antimikrobanya, baik pada bakteri maupun jamur. Pada bakteri, seperti dalam penelitian Setyani dkk., (2021), penelitiannya menunjukkan bahwa ekstrak etanol akar segar bangle terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus* memiliki daya hambat antibakteri dari konsentrasi yang berbeda. Efektivitas antibakteri terlihat dengan terbentuknya zona hambat (bening) di sekitar kertas cakram dengan diameter zona hambat yang lemah pada konsentrasi 25 %, 50 % dan 75 % pada bakteri *Escherichia coli* dengan rata-rata zona hambat < 5 mm, sedangkan pada konsentrasi 100 % ekstrak akar segar bangle memiliki aktivitas antibakteri kuat dengan rata-rata zona hambat 10-20 mm. Pada bakteri *Streptococcus sobrinus* memiliki aktivitas antibakteri lemah pada konsentrasi 25 % dengan rata-rata zona hambat < 5 mm, pada konsentrasi 50 %, 75 % dan 100 % termasuk kedalam aktivitas antibakteri sedang dengan rata-rata zona hambat 5-10 mm.

Sementara pada penelitian yang dilakukan Khairunnisa dkk., (2024), menghasilkan efektivitas antimikroba rimpang bangle terhadap *Shigella dysenteriae* cukup tinggi pada konsentrasi 100 % dengan diameter

14,30±0,39 mm, dan diikuti berturut-turut dengan 75 % sebesar 13,80±0,33 mm, 50 % sebesar 12,80±0,78 mm, dan 25 % sebesar 8,80±1.36 mm. Data ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang bangle memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*, dengan efektivitas yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, walaupun masih terbilang lemah dibandingkan dengan kontrol positifnya (*ciprofloxacin*).

Pada jamur, rimpang bangle juga diuji aktivitas antimikrobanya terhadap *Tricophyton rubrum*. Menggunakan konsentrasi 10 % sampai dengan 100 % (kelipatan sepuluh), didapatkan zona hambat yang cukup terlihat signifikan per konsentrasinya, dengan konsentrasi terefektif mencapai 100 % menghasilkan diameter sebesar 43,33±1,527 mm. Hasil tersebut bahkan lebih kuat dibandingkan kontrol positifnya, yakni ketokonazol 2 % yang menghasilkan diameter zona hambat sebesar 33±1 mm (Khusnul dkk., 2021).

Dari beberapa penelitian di atas, dapat disimpulkan kalau ekstrak rimpang bangle mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Maka dalam penelitian ini, peneliti ingin mencoba menguji ekstrak rimpang bangle pada bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp. yang dikenal sebagai bakteri pembusuk ikan.

## 2.2. Proses Pembusukan Ikan

Menurut Rorong dan Wilar, (2020), mikroorganisme tersebar luas di alam yang berakibat produk pangan jarang sekali yang steril, tetapi umumnya tercemar oleh berbagai jenis mikroorganisme. Pertumbuhan mikroorganisme dalam bahan pangan dapat mengakibatkan perubahan fisik atau kimia yang tidak diinginkan, sehingga bahan pangan tersebut tidak layak dikonsumsi. Pengawetan pangan merupakan usaha untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme pada bahan pangan. Untuk dapat tumbuh dan berfungsi secara normal, mikroorganisme membutuhkan sumber energi, sumber nitrogen, vitamin, mineral dan faktor pertumbuhan lainnya. Komponen-komponen tersebut diperoleh mikroba dari bahan

pangan, sehingga makanan menjadi rusak. Pengolahan atau pengawetan dapat dilakukan dengan berbagai cara, seperti pendinginan, penggaraman, pengeringan, pengasapan, fermentasi, dan pengalengan atau pengemasan.

Kerusakan merujuk pada penurunan kualitas ikan, yang mempengaruhi penampilan, aroma, rasa, dan tekstur dagingnya. Maka dari itu, ikan merupakan sumber daya yang mudah rusak dibandingkan dengan sumber daya segar lainnya, serta kualitas higienisnya menurun dengan cepat. Peningkatan pH dan senyawa nitrogen mendorong pertumbuhan bakteri, yang mempengaruhi warna bola mata, permukaan tubuh, perut, dan tonus otot setelah tahap awal kerusakan yang singkat. Pertumbuhan bakteri adalah satu proses penyebab kerusakan ikan dan memiliki dampak terbesar pada kualitas ikan segar. Kerusakan mikrobiologis menghasilkan amin volatil, amin biogenik, dan keton, yang semuanya memiliki rasa tidak sedap dan tidak menyenangkan. Kehadiran bakteri dalam ikan menunjukkan bahwa proliferasi bakteri memungkinkan mikroorganisme patogen dan toksigenik untuk berkembang biak, serta menimbulkan bahaya bagi kesehatan masyarakat. Kontaminasi silang ikan dapat terjadi di lingkungan pengolahan atau selama persiapan ikan sebelum dikonsumsi. Tingkat yang signifikan dari amonia, kreatin, asam amino bebas, asam urat, dan histamin mendorong pembentukan bakteri pasca kematian, yang menyebabkan kerentanan terhadap ikan segar. Selain itu, karena sifat poikilotermiknya (dengan suhu tubuh yang bervariasi dan cenderung berfluktuasi sesuai dengan suhu lingkungannya yang serupa atau sedikit lebih tinggi dari suhu lingkungannya), ikan memiliki pH netral hingga sedikit asam dan kandungan air yang tinggi, yang mampu mendorong pertumbuhan berbagai jenis bakteri. Kontaminasi bakteri telah diakui sebagai penyebab utama kerusakan ikan (Luqman *et al.*, 2024).

Masih dalam Luqman *et al.*, (2024), konsistensi ikan memburuk karena proses rumit meliputi degradasi fisik, kimiawi, dan mikrobiologis. Ikan yang diambil dari ekosistem air akan mengakibatkan kematian, dan mengalami perubahan pada tubuh ikan. Modifikasi atau proses ini disebut sebagai modifikasi *postmortem*. Perubahan ini terjadi karena ikan mulai

mengalami pembusukan. Setelah ikan ditangkap, pembusukan dimulai dengan cepat, dan fase *rigor mortis* bertanggung jawab dalam proses ini. Perubahan aroma, rasa, dan tekstur selama proses pembusukan dipicu oleh degradasi beberapa mekanisme dan sintesis zat-zat baru. Degradasi terjadi dengan cepat karena adanya beberapa mekanisme yang didorong oleh aktivitas metabolisme mikroba dan degradasi lipid. Ikan segar mengandung banyak air dan terdiri dari asam amino bebas yang membantu pertumbuhan bakteri dan dapat menimbulkan bahaya akibat kontaminasi silang mikroorganisme dari sumber yang berbeda, seperti bakteri, biotoksin, dan mikroorganisme lain. Hal ini dapat terjadi baik di ekosistem akuatik asli atau kontaminasi ekosistem. Infeksi zoonosis yang terkait dengan ikan dapat berupa infeksi yang didapat secara topikal yang diakibatkan dari kontak dengan hewan air atau infeksi yang disebabkan dengan menelan produk air yang kurang matang seperti ikan. Jumlah bakteri yang terkait dengan ikan bervariasi tergantung pada area ekologi, cuaca, dan metode panen. Mikrobiota ikan yang khas cenderung mewakili mikroorganisme yang ditemukan di air di dekatnya. Sistem pertahanan ikan mencegah bakteri mencapai kulit saat mereka masih hidup. Ketika mereka merespon campuran bahan kimia alami yang rumit setelah mati, bakteri dapat menembus atau menyebar ke dalam daging, sehingga menghasilkan perbedaan yang jelas pada kualitas daging ikan.

### **2.3. Antimikroba**

Dalam menangani pembusukan ikan akibat adanya aktivitas bakteri memerlukan suatu usaha untuk mengendalikannya dengan pemakaian bahan antimikroba dalam segala kegiatan yang dapat menghambat, membasmi, atau menyingkirkan mikroorganisme. Antimikroba sendiri merupakan suatu bahan yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme pada mikroorganisme. Tujuan utama dalam pengendalian mikroorganisme yaitu membantu mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, serta mencegah pembusukan dan kerusakan oleh mikroorganisme (Setiani dkk., 2021).

Dalam penggunaan antimikroba berbahan sintesis secara tidak selektif bisa menyebabkan perkembangan resistensi *multidrug* pada mikroorganisme. Resistensi terhadap obat bisa disebabkan oleh penggunaan antimikroba yang tidak teratur dan kondisi yang tidak higienis sehingga berdampak parah pada setiap aspek kehidupan. Peningkatan resistensi pada mikroorganisme dapat disebabkan oleh fenomena mutasi genetik atau gen resistensi antibiotik yang diperoleh akibat penggunaan antimikroba yang tidak tepat. Selain itu, antibiotik terkait dengan konsekuensi negatif pada inang, termasuk hipersensitivitas, reaksi alergi, dan supresi imun. Resistensi *multidrug* telah mendorong peneliti untuk mencari obat baru dengan sifat antimikroba dari sumber berbeda seperti tanaman obat, yang berfungsi sebagai sumber serta dapat diterima untuk agen antimikroba. Umumnya, aktivitas antimikroba tanaman dikaitkan dengan keberadaan fitokimia seperti tanin, fenol, alkaloid, terpenoid, dan flavonoid, karena fitokimia memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba infeksius, banyak tumbuhan masih digunakan karena sifat antimikroba dan aktivitas biologis lainnya. Meskipun terdapat obat antimikroba yang kuat, kemunculan mikroba resisten telah menimbulkan minat besar dalam penelusuran dan pengembangan obat yang efektif (Sowmya and Raveesha, 2021).

Salah satu tanaman yang sering digunakan untuk agen antimikroba berasal dari rempah-rempah. Rempah-rempah telah digunakan sebagai makanan dan bumbu sejak zaman kuno, dan sebagai obat dan pengawet makanan dalam beberapa dekade terakhir. Banyak rempah seperti cengkeh, oregano, *thyme*, kayu manis, dan jintan telah diterapkan untuk mengobati penyakit menular atau melindungi makanan karena terbukti memiliki aktivitas antimikroba terhadap jamur dan bakteri patogen. Selain itu, metabolit sekunder dari rempah-rempah ini dikenal sebagai agen antimikroba, sebagian besar di antaranya umumnya diakui sebagai bahan aman untuk makanan dengan efek samping yang tidak signifikan. Oleh karena itu, rempah-rempah dapat menjadi kandidat untuk dikembangkan menjadi agen antimikroba baru melawan mikroorganisme patogen (Liu *et al.*, 2017).

Salah satu rempah yang biasa digunakan adalah rimpang bangle. Rimpang bangle memiliki senyawa metabolit sekunder, seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan terpenoid atau steroid. Saponin menjadi salah satu metabolit sekunder yang termasuk dalam golongan glikosida, di mana terdiri atas monosakarida dan bagian lipofilik yang dinamakan genin. Saponin terbagi menjadi dua jenis, yakni saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin memiliki beberapa aktivitas antimikrobal, yaitu antibakteri, antifungi, antivirus, anti-inflamasi, anti-ulkus, hemolitik dan hepatoprotektif. Saponin juga menjadi senyawa yang dapat bekerja secara sinergis dengan antimikroba lain dan meningkatkan kemampuan antimikrobalnya agar dapat menyerang bakteri maupun fungi yang sebelumnya resisten dengan antimikroba tersebut. Selanjutnya ada steroid, yakni derivat lipid yang tidak terhidrolisis dan memiliki kerangka struktur androstan yang memiliki empat cincin terpadu siklopentano fenantren. Steroid menjadi senyawa antimikrobal karena bersifat tidak toksik, tidak mudah resisten terhadap banyak obat, dan mampu menembus dinding sel mikroba. Alkaloid merupakan senyawa heterosiklik yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen yang mampu bekerja menjadi antimikrobal dengan berbagai cara, seperti mengganggu pembelahan sel dengan memicu elongasi sel, menghambat respirasi dan aktivitas enzim bakteri, merusak membran sel, dan mengacaukan gen virulen mikroba (Bahri *et al.*, 2023). Sementara flavonoid mampu menghambat sintesis asam nukleat yang dilakukan melalui cincin B pada flavonoid di mana memiliki peran penting dalam proses pembentukan ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat sintesis DNA dan RNA, penghambatan fungsi membran sel, serta dapat mengganggu metabolisme sel (Mappasomba dkk., 2020).

Menurut percobaan yang dilakukan Latifah dkk., (2015), flavonoid mampu menghambat banyak reaksi oksidasi secara enzimatik maupun non enzimatik, mengganggu keutuhan membran sel bakteri, mengganggu fungsi sel mikroorganisme, serta menghambat siklus sel mikroba. Selain itu, menurut Hayati dan Safarianti, (2017), senyawa flavonoid mampu

menghambat sintesis asam nukleat dan menghambat metabolisme energi sel bakteri. Alkaloid dalam rimpang bangle mampu menghambat juga sintesis dinding sel bakteri yang belum dan tidak sempurna dengan mudah. Saponin memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mengganggu tegangan permukaan sel bakteri, sehingga mudah bocor serta lisis. Sedangkan senyawa steroid dapat menyebabkan kebocoran pada lisosom bakteri. Sementara tanin mampu merusak membran sitoplasma bakteri, menginaktivasi adhesin sel mikroba serta menghambat enzim penting seperti reverse transkriptase dan DNA topoisomerase. Hal tersebut menyebabkan bakteri tidak dapat berkembang (Yuan *et al.*, 2021).

## 2.4. Bakteri Pembusuk Pada Ikan

### 2.4.1. *Pseudomonas* sp.

*Pseudomonas* sp. termasuk dalam kelompok bakteri Gram negatif berbentuk batang dan kokus, tidak berfermentatif, dan bersifat aerobik yang mampu hidup di tanah, air, dan udara.

*Pseudomonas* sp. juga bersifat fakultatif halofilik yang dapat hidup pada lingkungan dengan garam sebesar 2 %. Golongan halofilik dibagi menjadi dua, yakni fakultatif halofilik yang terdiri dari *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, dan *Pseudomonas*, serta obligat fakultatif di mana dapat hidup dalam lingkungan dengan kandungan garam lebih dari 2 %, dari golongan bakteri *Bacillaceae* dan *Micrococcus* (Daeng dan Husen, 2019).

Bakteri *Pseudomonas* sp. memiliki flagel yang bersifat polar. Bakteri ini oksidase positif, katalase positif, nonfermenter dan tumbuh dengan baik pada suhu 4 °C atau dibawah 43 °C. Bakteri ini memproduksi beberapa enzim seperti protease, amilase, dan lipase. Selain itu bakteri *Pseudomonas* juga dapat menguraikan protein, karbohidrat dan senyawa organik lain menjadi CO<sub>2</sub>, gas amoniak, dan senyawa-senyawa lain yang lebih sederhana. Bakteri *Pseudomonas* sp. mempunyai batas-batas pH tertentu untuk pertumbuhannya. Bakteri *Pseudomonas* sp. memiliki pH 5,3-9,7,

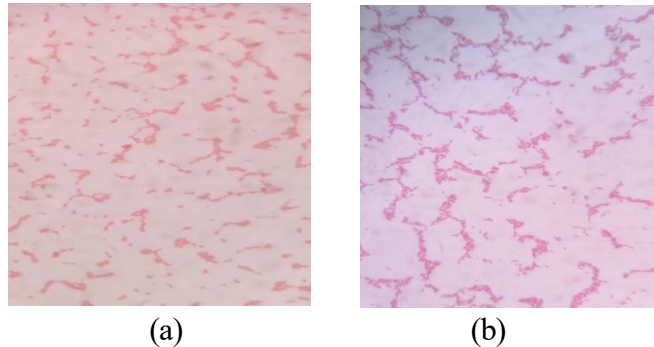
umumnya berkembang dengan baik pada pH antara 5,5-9. Tingkat pH yang rendah merupakan keadaan yang optimal bagi berkembang biaknya beberapa jenis bakteri patogen seperti bakteri *Pseudomonas* sp. dan perubahan pH yang mencolok dapat menyebabkan ikan menjadi stress. Bakteri *Pseudomonas* sp. mampu menghasilkan satu atau lebih pigmen yang dihasilkan oleh asam amino aromatik seperti tirosin dan fenilalanin. Beberapa pigmen tersebut antara lain adalah piosanin (pigmen berwarna biru), pioverdin (pigmen berwarna kuning), piorubin (pigmen berwarna merah), dan piomelanin (pigmen berwarna coklat). Tidak semua koloni *Pseudomonas* berpigmen, ada koloni yang mungkin hampir tidak berwarna, koloni pigmen berwarna krem dan koloni pigmen berwarna kuning itu umum (Rahmadian dkk., 2018).

*Pseudomonas* sp. bersifat motil dan non-fermentatif, di mana mampu memanfaatkan gula melalui metabolisme oksidatif dengan oksigen sebagai penerima elektron terminal. Bakteri ini memetabolisme glukosa untuk menghasilkan asam, mereduksi nitrat menjadi nitrit, dan mendekomposisinya menjadi nitrogen. *Pseudomonas* sp. tidak menghasilkan indol atau menunjukkan reaksi positif terhadap *methyl red* (MR). Uji biokimia yang telah dilakukan oleh Lubis dkk., (2014) pada *Pseudomonas* sp. mengkonfirmasi bahwa mereka adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang, dengan hasil positif pada *Simmon's Citrate Agar* (SCA) dan metabolisme glukosa. Hasil metabolisme laktosa, sukrosa, dan manitol memberikan hasil yang bervariasi, ada yang positif dan juga negatif. Hal ini menunjukkan kemampuan fermentasi yang berbeda di setiap variasi strain *Pseudomonas* sp. tersebut (Yansri *et al.*, 2025).

Klasifikasi *Pseudomonas* sp. menurut Brenner *et al.*, (2005) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Phylum : Pseudomonadota  
 Class : Gammaproteobacteria  
 Ordo : Pseudomonadales  
 Family : Pseudomonadaceae  
 Genus : *Pseudomonas*  
 Species : *Pseudomonas* sp.



**Gambar 2.** Gambar Koloni Pengamatan Gram dari (a) *Pseudomonas* sp. Bentuk Kokus, (b) *Pseudomonas* sp. Bentuk Basil dengan perbesaran  $\pm 100X$  (Rahmadian dkk., 2018).

Bakteri *Pseudomonas* (khususnya *Pseudomonas aeruginosa*) memproduksi enzim protease ekstraseluler secara banyak yang memungkinkannya terlibat dalam patogenitas, seperti elastase (LasB, pseudolysin), protease alkali (AprA, aeruginolysin), protease kecil (PasP), protease ekstraseluler besar (LepA), dan Protease IV (Lysyl endopeptisidae). Dari enzim-enzim tersebut, Protease IV yang dianggap sebagai faktor virulensi penting dalam beberapa kasus infeksi yang disebabkan *Pseudomonas*, salah satunya infeksi kornea (Part *et al.*, 2016). Hasil ini juga mendukung dugaan penelitian yang mengindikasikan *Pseudomonas* sp. merusak jaringan ikan, didukung oleh hasil penelitian lain dari Armada dan Simora, (2016) yang menemukan varian bakteri *Pseudomonas* sp. pada saluran pencernaan ikan baronang (*Siganus guttatus*) dengan hasil positif uji enzim proteolitik ekstraseluler serta pencarian berbasis molekuler.

Menurut Admi dkk., (2024), bakteri *Pseudomonas* sp. menyebabkan beberapa penyakit infeksi pada hewan seperti, otitis, folikulitis, infeksi saluran kemih, hemorrhagic pneumonia dan penyakit reproduksi seperti mastitis, abortus dan endometritis. Bakteri *Pseudomonas* sp. yang berada di lingkungan memiliki faktor resiko memperoleh gen resisten dari lingkungan.

Lingkungan dapat tercemar oleh kotoran manusia dan hewan yang menjadi sumber utama penyebaran antibiotik dengan mengandung antibiotik yang tidak termetabolisme dengan baik oleh tubuh ke dalam lingkungan. Berbagai penggunaan antibiotik di rumah tangga dan rumah sakit, menyebabkan kehadiran antibiotik dalam air limbah dan menjadi kontributor utama *Antibiotic Resistance Gene* (ARG) serta bakteri resisten di lingkungan. Lingkungan perairan memfasilitasi interaksi antara bakteri alami dan bakteri resisten yang masuk melalui pembuangan air limbah, sehingga dapat menyebabkan penularan ARG ke manusia dan hewan melalui air minum. Penularan vertikal memainkan peranan penting dalam penyebaran resistensi antibiotik yang didapat oleh *Pseudomonas* sp. melalui air. Keberadaan *Pseudomonas* sp. pada daging sapi dan adanya ancaman bahaya resistensi antibiotik pada bakteri di lingkungan dapat dicegah dengan memperhatikan biosekuriti mulai dari lingkungan peternakan sampai pada konsumen (Orolaleng dkk., 2024).

#### **2.4.2. *Vibrio* sp.**

Bakteri *Vibrio* sp. merupakan salah satu bakteri patogen yang memiliki ciri-ciri morfologi, seperti berbentuk batang yang sedikit melengkung, merupakan bakteri Gram-negatif, memiliki panjang 2-4  $\mu\text{m}$ , dan dapat tumbuh dengan baik dalam air bersuhu tinggi. Rentang suhu yang dapat ditoleransi oleh bakteri ini berkisar antara 5-44  $^{\circ}\text{C}$ , dengan suhu optimalnya sebesar 37  $^{\circ}\text{C}$  dan suhu maksimum yang dapat ditoleransi oleh bakteri adalah 50  $^{\circ}\text{C}$ .

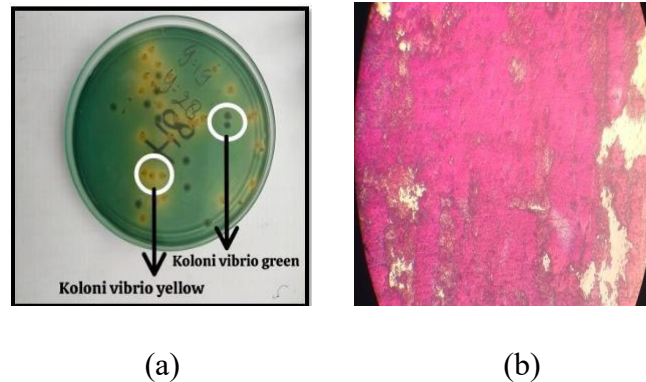
Bakteri *Vibrio* sp. dapat tumbuh optimal pada rentang pH antara 7-7,5, dan memiliki sifat anaerob fakultatif ketika berada di area yang mengandung oksigen atau tidak, bakteri tersebut tetap dapat bertahan hidup (Maharani dkk., 2024). Spesies-spesies bakteri *Vibrio* sp. bersifat patogen dan termasuk penyebab beberapa penyakit, seperti gastroenteritis, penyakit *Vibriosis* pada ikan kakap, udang vaname, dan rumput laut (Hitijahubessy dkk., 2022).

*Vibrio* sp. adalah patogen oportunistik di lingkungan estuari dan laut. *Vibrio* sp. dapat mencemari bahan pangan dan menyebabkan penyakit bawaan makanan jika dikonsumsi manusia. *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, dan *Vibrio vulnificus* merupakan patogen bawaan makanan utama pada *seafood* mentah. *Vibrio* yang patogenik dapat menyebabkan gastroenteritis. Infeksi *Vibrio* sp. dilaporkan di Jepang, Taiwan, China, dan Indonesia. *Vibrio* patogen, seperti *Vibrio parahaemolyticus*, dapat memproduksi toksin, yaitu hemolysin langsung yang tahan panas (TDH), hemolysin terkait TDH (TRH), atau keduanya (Pramono dkk., 2015). Salah satu penyakit yang umum disebabkan oleh bakteri ini bernama *Vibriosis*. *Vibriosis* adalah salah satu jenis penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp., di mana mampu menyebabkan penyakit pada ikan dan mengakibatkan kebutaan hingga kematian massal pada ikan yang dibudidayakan. Penyakit *Vibriosis* biasanya menyerang hampir semua jenis ikan laut yang dibudidayakan (Mengi dkk., 2022).

Klasifikasi *Vibrio* sp. menurut Brenner *et al.*, (2005) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria  
 Phylum : Proteobacteria  
 Class : Gammaproteobacteria  
 Ordo : Vibrionales  
 Family : Vibrionaceae  
 Genus : *Vibrio*

Species : *Vibrio* sp.



**Gambar 3.** Gambar Koloni *Vibrio* sp. pada (a) Media TCBS (Suprakto dkk., 2024), (b) Mikroskopis Pewarnaan Gram dengan perbesaran  $\pm 10X$  (Mahulau dkk., 2022)

Pada penelitian yang dilakukan Miyoshi, (2013) yang meneliti *Vibrio* patogen manusia. Pada *Vibrio* terdapat enzim protease yang di dalamnya sudah dikarakterisasi sebagai faktor toksik langsung yang menyebabkan kerusakan kulit atau faktor virulensi tidak langsung yang memproses toksin protein lainnya. Enzim pada *Vibrio* terbagi menjadi dua kelompok, yakni protease mirip kimotripsin (protease mengandung serin) dan kelompok metaloprotease (*Vibriolin* dan kolagenase, protease jenis ini mengandung ion seng). Kedua kelompok ini memiliki mekanisme yang berbeda untuk menginvasi inangnya. Metaloprotease melakukan degradasi nutrisi inang serta komponen-komponen yang dianggap sebagai sistem imun terhadap inangnya, sedangkan kimotripsin bekerja dengan mengaktifkan zat toksin lain yang dikeluarkan oleh *Vibrio* sp., sehingga membuatnya lebih toksin lagi dalam mendegradasi jaringan inang.

Umumnya, *Vibrio* menyerang sektor perikanan, terutama tambak udang. Seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Pariakan dan Rahim, (2021), bahwa salinitas air tambak yang tinggi serta konsentrasi amonia dapat meningkatkan pertumbuhan *Vibrio* sp., hal ini membuktikan bahwa tingkat salinitas air memiliki korelasi

dengan keberadaan bakteri. Dalam jurnal ini juga tertulis bahwa *Vibrio* sp. merupakan mikroflora alami dari air laut yang bersifat patogen oportunistik. Infeksi yang dilakukan *Vibrio* sp. pada udang biasa terjadi pada stadium *naupilus*, *zoea*, *mysis*, dan post larva sampai pada stadium dewasa. Jika udang sudah terkena bakteri ini dapat menimbulkan gejala seperti berkurangnya nafsu makan, berenang dengan miring, bergerakinya mendekati gelembung udara, terdapat rona merah pada kaki renang dan uropod, serta terjadi nekrosis dan melanisasi pada segmen tubuh.

Persentase kasus gastroenteritis yang terjadi di Indonesia akibat bakteri *Vibrio* sp. adalah 10-20 %, dan salah satu produk laut yang sering menjadi sasaran kontaminasi bakteri *Vibrio* sp. adalah kerang. Faktor-faktor yang dapat memicu gastroenteritis akibat bakteri *Vibrio* sp. pada kerang adalah pemilihan kerang yang tidak cukup segar, dan proses pematangan kerang yang tidak dilakukan dengan benar sehingga bakteri masih dapat bertahan hidup. Faktor ini muncul karena sifat alami bakteri *Vibrio* sp. yang akan tumbuh baik pada suhu tinggi antara 5-44 °C, dengan suhu optimal 37 °C, namun bakteri ini memiliki batas suhu maksimum 50 °C sehingga akan mati pada proses pematangan yang tepat (Maharani dkk., 2024).

## **2.5. Metode Antimikroba**

### **2.5.1. Metode Difusi**

#### **a. Difusi Cakram**

Teknik ini menggunakan metode difusi cakram untuk mengevaluasi sensitivitas atau resistensi bakteri patogen aerob dan anaerob fakultatif terhadap berbagai senyawa antibakteri. Tujuannya untuk menentukan kemampuan senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan organisme, yang dapat diamati dari adanya zona hambat pertumbuhan di sekitar

cakram (Wahyuni, 2020). Metode ini dalam pengujian antimikroba memiliki tingkat kesesuaian antara 82 % hingga 100 %, tergantung pada jenis antibakteri atau antimikroba yang digunakan (Sariadji dkk., 2018).

**b. Difusi Sumuran (*Cup/Hole plate*)**

Cara sumuran dilakukan dengan membuat lubang pada media uji yang telah diinokulasi bakteri uji. Lubang tersebut diisi dengan zat antimikroba yang akan diuji. Kemudian, dilakukan inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan kondisi optimum bakteri yang diuji (Khusuma *et al.*, 2019). Zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong dalam mm dengan cara mengukur zona hambat vertikal dan zona hambat horizontal yang ditambahkan dan dibagi dua. Perhitungan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,05 cm (Soleha *et al.*, 2015).

**c. Perhitungan Diameter Zona Hambat Difusi**

Dalam menentukan perhitungan diameter zona hambat, terlebih dahulu mengetahui bentuk zona yang dihasilkan. Jika berbentuk bulat, maka dapat dihitung dengan mengukur diameter zona serta diameter konsentrasi menggunakan rumus (Sari dkk., 2024):

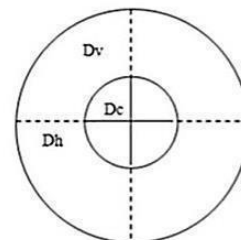
$$\text{Diameter Zona Hambat} = \frac{(DV - DC) + (DH - DC)}{2}$$

Keterangan:

DV = Diameter Vertikal

DH = Diameter Horizontal

DC = Diameter Konsentrasi



Namun, apabila zona yang dihasilkan tidak berbentuk bulat sempurna, dapat digunakan pendekatan metode gravimetri

untuk menghitung luas zona hambat dan sumuran, serta rumus diameter ekuivalen untuk mendapatkan nilai milimeter yang berepresentatif.

1) Luas Zona/Sumuran (Irwan dan Wicaksono, 2017)

$$LZ/S = \frac{\text{Bobot Replika Zona atau Sumuran (g)}}{\text{Bobot Replika 1x1 (g)}} \times 1 \text{ cm}^2$$

2) Diameter Ekuivalen (Bhargav *et al.*, 2016)

$$\text{Diameter} = \sqrt{\frac{\pi \times \text{Area} *}{4}}$$

Dengan Area = Luas zona, maka:

Area Zona (AZ) = Area Total - Area Sumuran

### 2.5.2. Metode Mikrodilusi

Metode dilusi yang umum digunakan untuk menghitung Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah metode pengenceran tabung berseri (*Tube Dilution Method*). Metode ini menggunakan beberapa tabung reaksi yang diisi dengan inokulum bakteri ditambah larutan antibakteri dalam berbagai konsentrasi, dengan cara mengencerkan zat yang akan diuji aktivitas antibakterinya ke dalam media cair sesuai serial, lalu diinokulasi dengan bakteri dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji. Kemudian, menentukan aktivitas zat sebagai kadar hambat minimal (Purwaningsih dan Wulandari, 2020).

Selain metode pengenceran tabung berseri atau yang disebut juga sebagai makrodilusi, terdapat juga metode dilusi lain yang menggunakan bahan lebih sedikit, yakni mikrodilusi. Mikrodilusi merupakan bagian metode dilusi yang umumnya menggunakan *microplate 96-well*, di mana prinsip pengerjaannya sama seperti makrodilusi, hanya ukuran bahan yang lebih kecil, umumnya 200-300  $\mu\text{L}$  yang berisi media uji, antibiotik atau ekstrak sampel, serta suspensi sel bakteri yang akan diujikan (Suryana dkk., 2025).

Dalam membandingkan hasil optimum uji, maka diperlukan hasil persen hambat atau *inhibition rate* yang menentukan nilai minimum sampe dengan rumus sebagai berikut (Rafid dkk., 2024):

$$\text{Inhibition Rate (\%)} = \frac{\text{Absorbansi } K(-) - \text{Absorbansi Sampel Total}}{\text{Absorbansi } K(-)} \times 100$$

Absorbansi sampel total merupakan hasil selisih dari absorbansi blanko dengan absorbansi sampel setelah inkubasi.

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2025 - Februari 2026 yang dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam sebagai tempat pengujian aktivitas antimikroba ekstrak etanol rimpang bangle *Zingiber montanum* terhadap bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp. Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam sebagai tempat pembuatan ekstraksi rimpang menggunakan teknik maserasi dan uji fitokimia.

#### 3.2. Alat dan Bahan

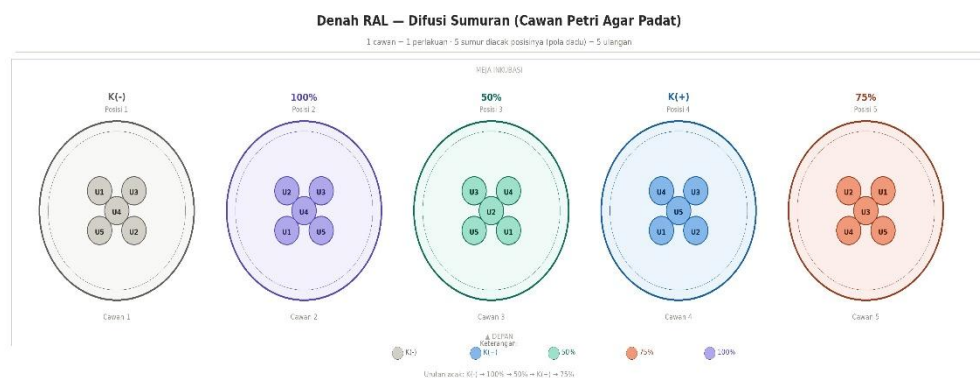
Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Erlenmeyer, bunsen, pinset, gelas penyimpanan ekstrak, kertas saring, tabung ekstraksi, timbangan analitis, inkubator, gelas beker, gelas ukur, mikropipet, mikrotip 1 ml dan 0,1 ml, cawan petri, tabung reaksi, jarum ose, rak tabung reaksi, mikroskop, batang pengaduk, *drygalsky*, autoklaf, *vortex*, *hotplate*, mortar alu, oven, dan seperangkat alat evaporator.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah rimpang *Zingiber montanum* yang akan diekstrak, bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp. yang diremajakan, etanol 96 %, akuades steril, media, larutan standar 0,5 McFarland, NaCl fisiologis 0,9 %, media *Tryptone Soy Agar* (TSA), media *Skim Milk Agar* (SMA), media *Mueller-Hinton Broth* (MHB), dan media *Mueller-Hinton Agar* (MHA).

### 3.3. Rancangan Penelitian

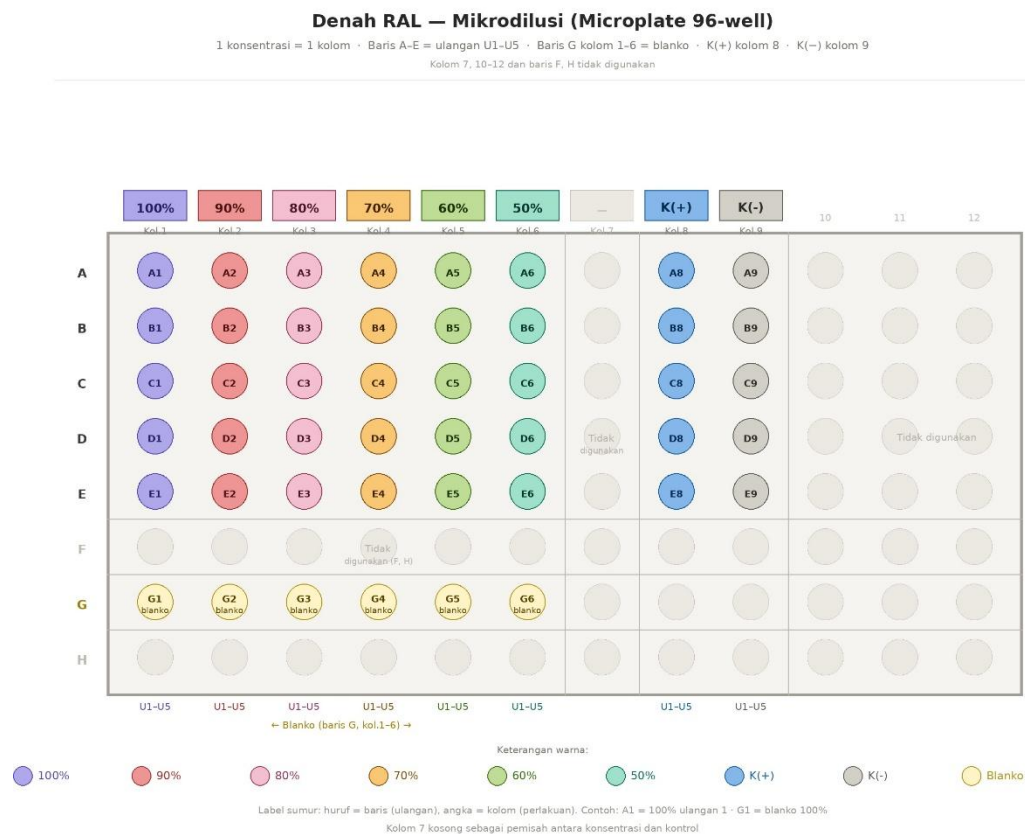
Penelitian ini merupakan eksperimen yang dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan 3 variabel, yakni menggunakan perlakuan berupa ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber montanum*) dengan konsentrasi tertentu, kontrol positif, dan negatif (variabel independen); diameter zona hambat serta Kadar Hambat Minimum (KHM) pada pertumbuhan bakteri (variabel dependen), dengan menggunakan bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp. yang akan diperhatikan suhu dan waktu inkubasi, serta pelarut yang digunakan (variabel kontrol).

Uji metode difusi sumuran dilakukan dengan tiga konsentrasi berdasarkan Khairunnisa dkk., (2024), di mana digunakan konsentrasi 50 %, 75 %, dan 100 % dengan tata letak pengulangan yang diacak. Adapun tata letaknya digambarkan sebagai berikut.



**Gambar 4.** Tata Letak Pengujian Rancangan Acak Lengkap (RAL) Dari Uji Difusi Sumuran *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp.

Sementara uji mikrodilusi, dilakukan berdasarkan Aristyawan dkk., (2017), di mana peletakkan sumuran dengan urutan 100 %, 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, dan 50 % di kolom 1-6, sementara K (+) dan K (-) diletakkan pada kolom 8 dan 9. Untuk baris G dipakai untuk blanko di kolom satu sampai enam dengan tata letak sebagai berikut.



**Gambar 5.** Tata Letak Pengujian Rancangan Acak Lengkap (RAL) Dari Uji Mikrodilusi *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp.

### 3.4. Prosedur Penelitian

#### 3.4.1. Pengambilan Sampel

Sampel rimpang bangle *Zingiber montanum* diperoleh dari pasar-pasar tradisional yang berada di sekitar kota Bandar Lampung. Sementara isolat bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp. diperoleh dari hasil biakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

#### 3.4.2. Pembuatan Ekstrak Etanol Rimpang Bangle *Zingiber montanum*

Rimpang bangle dicuci sampai bersih lalu dikeringkan. Rimpang yang sudah kering diblender hingga menjadi bubuk lalu ditimbang beratnya. Bubuk rimpang bangle sebanyak 450 g direndam di dalam larutan etanol 96 % dengan perbandingan 1:5 (2.250 ml). Campuran tersebut didiamkan pada suhu ruang selama 3x24 jam, kemudian

diaduk setiap hari. Campuran organik kemudian difiltrasi menggunakan kertas saring setiap 1x24 jam. Filtrat kemudian dipisahkan dari pelarut dengan *rotary evaporator* pada suhu kurang dari 50 °C. Pelarut diuapkan dan dihasilkan ekstrak etanol rimpang bangle yang akan digunakan (Khusnul dkk., 2021).

### 3.4.3. Uji Fitokimia

#### a. Uji Alkaloid

Ekstrak etanol rimpang bangle diambil sebanyak 1 ml ke dalam masing-masing tiga tabung reaksi dengan reagen Mayer, Dragendrof, dan Bouchardart, kemudian diteteskan dengan akuades (Konay dkk., 2019).

#### b. Uji Flavonoid

Ekstrak etanol rimpang bangle diambil sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan akuades sebanyak 1-2 ml sambil dipanaskan. Selanjutnya, serbuk Mg ditambahkan sebanyak 0,1 g ke dalam ekstrak tersebut. HCl pekat ditambahkan sebanyak 3 tetes ke dalam campuran, lalu dihomogenkan dan dibiarkan hingga memisah. Uji dinyatakan positif jika terbentuk warna merah atau jingga atau kuning pada lapisan amil alkohol (Konay dkk., 2019).

#### c. Uji Tanin

Ekstrak etanol rimpang bangle diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian diteteskan larutan FeCl<sub>3</sub> 1 % sebanyak 2-3 tetes. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tua (Konay dkk., 2019).

#### d. Uji Saponin

Ekstrak etanol rimpang bangle diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2

ml akuades steril dan dihomogenkan. Campuran tersebut dipanaskan selama 2-3 menit, didinginkan, dan dihomogenkan kembali dengan kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil selama 30 detik (Konay dkk., 2019).

**e. Uji Triterpenoid**

Ekstrak etanol rimpang bangle diambil sebanyak 1 ml yang dilarutkan ke dalam 0,5 ml kloroform, kemudian ditambahkan 0,5 ml asam asetat pekat dan 2 ml asam sulfat pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna coklat kemerahan di permukaan larutan (Konay dkk., 2019).

**3.4.4. Peremajaan Bakteri Uji**

Media *Tryptone Soy Agar* (TSA) ditimbang sebanyak 0,8 g dan dilarutkan dalam 20 ml akuades, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 25 menit. Media TSA kemudian dibagi ke dalam 4 tabung reaksi sebanyak 5 ml untuk peremajaan bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp.

Media TSA steril sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dibuat menjadi medium agar miring. Isolat bakteri *Pseudomonas* sp., selanjutnya diremajakan pada media tersebut. Sementara media TSA + NaCl 3 % steril sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dibuat menjadi medium agar miring. Isolat bakteri *Vibrio* sp. diremajakan pada media tersebut. Seluruh isolat bakteri diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dalam suhu 37 °C (Magvirah *et al.*, 2019).

**3.4.5. Uji Aktivitas Enzim Protease**

Media *Skim Milk Agar* (SMA) dibuat dengan komposisi per liter (g/L) yaitu 28 gram susu skim atau susu bubuk, 5 gram *tryptone*, 0,25 % atau 2,5 gram *yeast extract*, 0,1 % atau 1 gram *dextrose*, dan 17 gram agar. Semua bahan ditimbang dan dilarutkan ke dalam 100

ml akuades, yaitu 50 ml akuades steril untuk susu skim dan 50 ml untuk bahan lainnya. Campuran tersebut kemudian disterilkan dengan autoklaf selama 25 menit pada suhu 121 °C tekanan 1 atm. Setelah itu, susu skim yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam akuades steril dan dipanaskan menggunakan *waterbath* selama 15 menit pada suhu 70 °C. Kemudian, kedua media tersebut dicampurkan dalam kondisi steril dan dihomogenkan sampai tidak ada buih pada permukaan media. Media tersebut dituang ke dalam cawan petri sebanyak 25 ml.

Satu ose dari kultur bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp. diambil masing-masing secara terpisah, lalu diinokulasikan dengan cara penitikan koloni pada permukaan media SMA. Cawan petri kemudian dibungkus dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Amanina dkk., 2022).

#### **3.4.6. Pembuatan Media Uji**

Medium yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah *Mueller-Hinton Agar* (MHA) dan *Mueller-Hinton Broth* (MHB). MHA ditimbang sebanyak 11,4 gram dan dilarutkan dengan 300 ml akuades, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 20 menit. Media tersebut kemudian disimpan di dalam kulkas untuk memperpanjang masa pakainya. Media MHA digunakan untuk media uji difusi sumuran.

Media MHB ditimbang sebanyak 0,903 gram dan dilarutkan dalam 43 ml, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 20 menit. Media MHB selanjutnya dibagi sesuai kebutuhannya, yaitu untuk media suspensi, media yang berisi konsentrasi ekstrak, serta media untuk blanko. Media MHB digunakan untuk uji KHM mikrodilusi.

### 3.4.7. Uji Daya Hambat Antibakteri

#### a. Difusi Sumuran

Uji antimikroba dilakukan dengan metode difusi sumuran. Media MHA yang telah disterilkan dan dibuat sebelumnya, dituang ke dalam cawan petri sebanyak 30 ml dan dibiarkan memadat. Isolat biakan bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp. diambil sebanyak 1 ose bulat, kemudian dimasukkan ke dalam larutan NaCl fisiologis 0,9 %. Suspensi kemudian dihomogenkan dan diukur kekeruhannya dengan McFarland 0,5.

Ekstrak *Zingiber montanum* dengan konsentrasi 50 %, 75 %, dan 100 % dipisahkan masing-masing sebanyak  $\pm 3$  ml untuk diujikan. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol 14.000 ppm untuk *Pseudomonas* sp., dan 3.000 ppm untuk *Vibrio* sp., sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah akuades steril. Kemudian, suspensi bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp. dituang sebanyak 0,1 ml dengan mikropipet ke media yang sudah memadat, lalu diratakan dengan *cotton swab*. Selanjutnya, media MHA dilubangi menggunakan sedotan yang telah disterilkan sebelum ditetesi ekstrak uji beserta kontrolnya. Setelah itu, tiga konsentrasi ekstrak *Zingiber montanum*, kontrol positif, dan kontrol negatif ditetaskan menggunakan mikropipet  $\pm 0,5$  ml ke dalam sumuran media MHA. Suspensi tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Uji daya hambat antibakteri ditentukan berdasarkan pengamatan dan pengukuran zona hambat yang terbentuk dari masing-masing perlakuan. Zona hambat yang berbentuk bulat dapat diukur diameter zona sebagai berikut (Sari dkk., 2024):

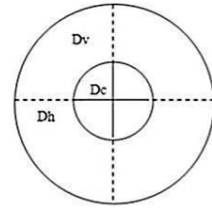
$$\text{Diameter Zona Hambat} = \frac{(DV-DC)+(DH-DC)}{2}$$

Keterangan:

DV = Diameter Vertikal

DH = Diameter Horizontal

DC = Diameter Konsentrasi



Namun, apabila zona yang dihasilkan tidak berbentuk bulat sempurna, pendekatan metode gravimetri digunakan untuk menghitung luas zona hambatan dan sumuran. Selanjutnya, rumus diameter ekuivalen diterapkan untuk mendapatkan nilai milimeter yang representatif.

**Luas Zona/Sumuran** (Irwan dan Wicaksono, 2017):

$$LZ/S = \frac{\text{Bobot Replika Zona atau Sumuran (g)}}{\text{Bobot Replika 1x1 (g)}} \times 1 \text{ cm}^2$$

**Diameter Ekuivalen** (Bhargav *et al.*, 2016):

$$\text{Diameter} = \sqrt{\frac{\pi \times \text{Area} *}{4}}$$

Dengan Area = Luas zona, maka:

$$\text{Area Zona (AZ)} = \text{Area Total} - \text{Area Sumuran}$$

#### b. Mikrodilusi Cair (Kadar Hambat Minimum)

Uji antimikroba selanjutnya dilakukan dengan metode mikrodilusi dengan *microplate 96-well*. Isolat bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp. masing-masing diambil sebanyak 1 ose dan dilarutkan dalam NaCl fisiologis 0,9 %, lalu dihomogenkan menggunakan *vortex* dan dibandingkan dengan McFarland 0,5. Media MHB yang telah dibuat dibagi ke dalam tiga bagian. Bagian pertama digunakan sebagai media suspensi sel bakteri sebanyak 9 ml. Bagian kedua digunakan sebagai media untuk dicampur dengan ekstrak etanol rimpang bangle, kontrol positif (kloramfenikol 100 ppm), serta kontrol negatif. Bagian ketiga, digunakan sebagai media uji untuk dicampurkan

dengan media ekstrak sebagai blanko. NaCl fisiologis 0,9 % yang berisi suspensi bakteri diambil sebanyak 1 ml, kemudian dituang ke dalam media MHB dan dihomogenkan dengan *vortex*.

Larutan stok ekstrak etanol rimpang bangle 100% dibagi menjadi beberapa bagian untuk dicampurkan ke dalam media MHB dengan rincian sebagai berikut:

- a) 100 % (UP6) = 2 ml ekstrak etanol rimpang bangle + 0 ml media MHB
- b) 90 % (UP5) = 1,8 ml ekstrak etanol rimpang bangle + 0,2 ml media MHB
- c) 80 % (UP4) = 1,6 ml ekstrak etanol rimpang bangle + 0,4 ml media MHB
- d) 70 % (UP3) = 1,4 ml ekstrak etanol rimpang bangle + 0,6 ml media MHB
- e) 60 % (UP2) = 1,2 ml ekstrak etanol rimpang bangle + 0,8 ml media MHB
- f) 50 % (UP1) = 1 ml ekstrak etanol rimpang bangle + 1 ml media MHB

Kontrol positif (K (+)) dibuat dari 2 ml kloramfenikol 100 ppm, sedangkan kontrol negatif (K (-)) dibuat dari 2 ml media MHB.

*Microplate* steril disiapkan, kemudian media MHB campuran ekstrak dan kontrol dituangkan sebanyak 0,1 ml (100  $\mu$ L) ke masing-masing sumuran yang telah ditandai. Media MHB suspensi sel bakteri sebanyak 0,1 ml dimasukkan ke setiap sumuran yang berisi MHB ekstrak, kemudian dihomogenkan dengan *mixing pipetting* sampai tercampur rata. Media MHB sebanyak 0,1 ml disiapkan dan dicampurkan dengan media MHB ekstrak sebagai blanko. Uji ini dilakukan dengan lima kali ulangan (disamakan dengan uji difusi sumuran).

Selanjutnya, *microplate* dibaca pada *microplate reader* atau *ELISA Reader* untuk diperoleh *Optical Density* (OD) dengan panjang gelombang 630 nm. *Microplate* kemudian diinkubasi

pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, *microplate* dibaca kembali menggunakan *microplate reader* untuk diperoleh nilai OD setelah inkubasi. Persen hambatan dihitung berdasarkan absorbansi sampel total yang diperoleh dari selisih absorbansi blanko dengan absorbansi sampel setelah inkubasi. Nilai minimum hambatan selanjutnya ditentukan dengan rumus sebagai berikut (Rafid dkk., 2024):

$$\text{Inhibition Rate (\%)} = \frac{\text{Absorbansi } K(-) - \text{Absorbansi Sampel Total}}{\text{Absorbansi } K(-)} \times 100$$

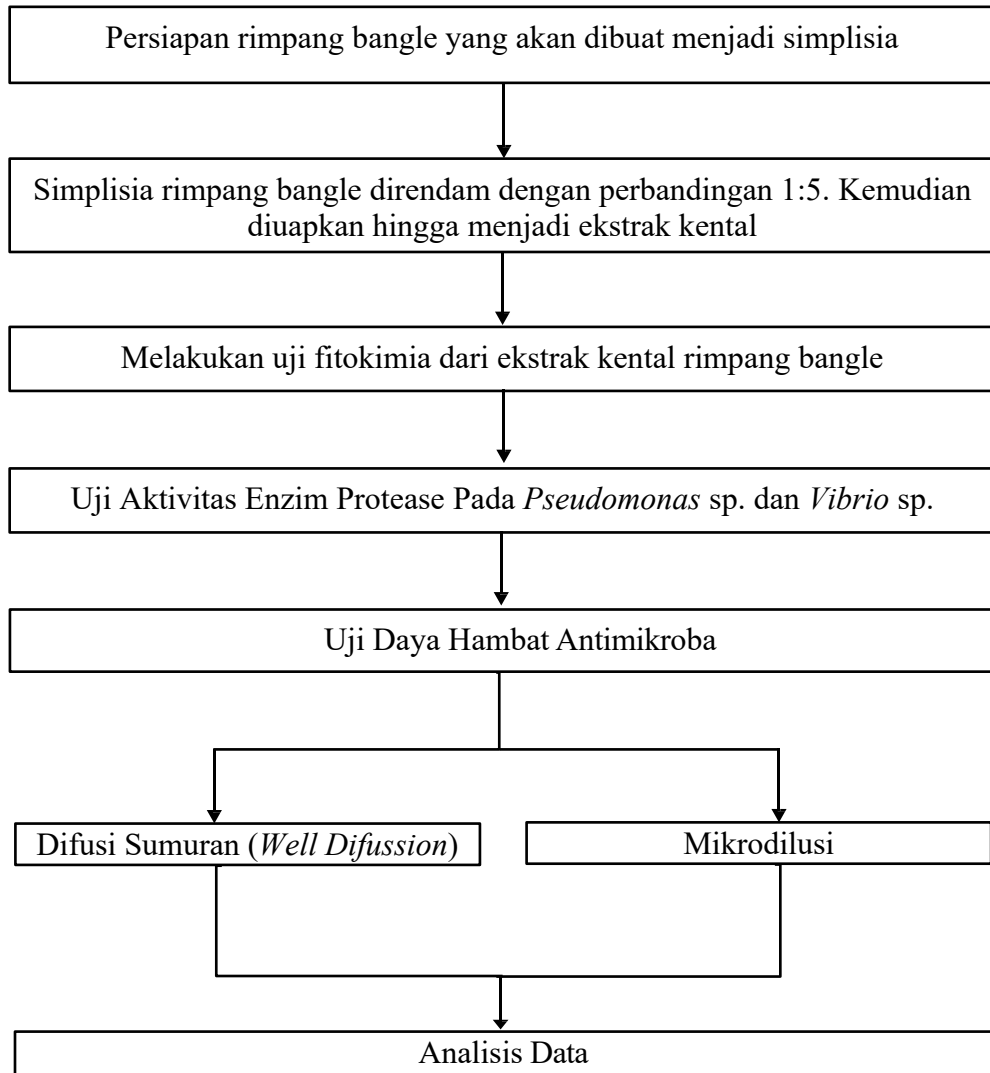
### 3.5. Analisis Data

Data hasil penelitian pada uji difusi sumuran dan uji mikrodilusi dianalisis menggunakan uji normalitas dan homogenitas sebagai prasyarat. Apabila data berdistribusi normal dan varian data homogen, analisis dilanjutkan dengan uji statistik *One-Way ANOVA* dan *Post Hoc Tukey HSD*. Apabila syarat normalitas tidak terpenuhi, analisis dilakukan uji statistik *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan *Post Hoc Dunn Test* (Sarungallo dkk., 2025). Apabila normalitas terpenuhi dan nilai homogen tidak terpenuhi, maka dilakukan uji statistik *ANOVA-Welch* dengan uji *post hoc Gomes Howell* (Wahyuni dkk., 2025).

### 3.6. Diagram Alir

Penelitian ini diawali dengan pembuatan ekstrak etanol rimpang bangle. Uji fotokimia kemudian dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak etanol rimpang bangle tersebut. Selanjutnya, media kultur disiapkan untuk peremajaan isolat bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp. Setelah isolat bakteri dikulturkan, pengujian dilakukan bersamaan dengan ekstrak yang telah dimaserasi. Kultur kedua bakteri yang sudah diremajakan selanjutnya diinokulasikan ke dalam media uji untuk pengujian aktivitas enzim protease. Ekstrak etanol rimpang bangle *Zingiber montanum* kemudian disiapkan dengan konsentrasi 50 %, 75 %, dan 100 % untuk uji difusi sumuran. Sedangkan pada uji mikrodilusi, konsentrasi yang digunakan adalah 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, dan 100%. Selanjutnya,

isolat bakteri disuspensikan untuk diujikan kedua pengujian antimikroba, yakni difusi sumuran dan mikrodilusi. Aktivitas antimikroba kemudian diamati dan dianalisis. Alur penelitian ini disajikan pada diagram alir yang tertera di **Gambar 6** sebagai berikut.



**Gambar 6.** Diagram Alir Penelitian

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol rimpang bangle *Zingiber montanum* memiliki aktivitas penghambatan terhadap *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp. pada uji difusi sumuran dan uji KHM mikrodilusi.
2. Konsentrasi optimum dari hasil uji difusi sumuran ekstrak etanol rimpang bangle *Zingiber montanum* paling baik di konsentrasi 100 % pada bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp.; hasil uji KHM mikrodilusi ekstrak etanol rimpang bangle *Zingiber montanum* pada persen hambatnya (*Inhibitory Rate*) berada di konsentrasi 80 % pada *Pseudomonas* sp. dan *Vibrio* sp.
3. Hasil uji fitokimia dari ekstrak etanol rimpang bangle *Zingiber montanum* memberikan hasil positif pada golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid.

### 5.2. Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengujian metabolit sekunder rimpang bangle *Zingiber montanum* menggunakan metode yang berbeda.
2. Perlu penelitian lebih lanjut dalam pengujian senyawa tanin menggunakan pelarut yang tidak terlalu tinggi.
3. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai pelarut ekstrak rimpang bangle *Zingiber montanum*, yang berbeda dan konsentrasi lebih beragam, serta terhadap kegunaan selain sebagai antimikroba.

## DAFTAR PUSTAKA

- Admi, M., E. H. Sinuhaji, dan T. Z. Helmi. 2024. Sensitivitas *Pseudomonas* sp., yang Diisolasi dari Kulip (Preputium) Kambing Peranakan Etawah di Aceh Terhadap Antibiotik. *Jurnal Veteriner*. 25(3): 428-439.
- Amanina, F. T., M. R. Muskananfolo, dan D. Ayuningrum. 2022. Isolasi dan Penapisan Aktinomisetes yang Berpotensi Menghasilkan Enzim Protease dari Tambak Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) di Kecamatan Tugu, Semarang. *Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fishes Science and Technology*. 18(4): 188-194.
- Armada, C. D., and R. M. C. Simora. 2016. Isolation and Identification of Protease-Producing *Pseudomonas* sp. PD14 in the Gut of Rabbitfish *Siganus guttatus* (Bloch 1787). *Asian Fisheries Science*. 29(2016): 82-95.
- Aristyawan, A. D., N. E. Sugijanto, dan Suciati. 2017. Potensi Antibakteri dari Ekstrak Etanol Spons *Agelas cavernosa*. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 4(1): 39-43.
- Ariyani, F., J. T. Murtini, N. Indriati, Dwiwitno, dan Y. Yennie. 2007. Penggunaan Glyoxyyl untuk Menghambat Penurunan Mutu Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Segar. *Jurnal Perikanan*. 9(1): 125-133.
- Bahri, S., T. Christy, Y. N. Setiawan, V. Septianingsih, M. Ikhsan, F. Trutami, A. Noviyanti, P. P. U. Andini, dan F. Ramadhan. 2023. Uji Antimikroba Ekstrak Kapang Endofit RLC 5 Akar Tanaman Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.). *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. 9(1): 63-69.
- Bhargav. H. S., S. D. Shastri, S. P. Poornav, K. M. Darshan, and M. M. Nayak. 2016. Measurement of the Zone of Inhibition of an Antibiotic. *2016 IEEE 6th International Conference on Advance Computing (IACC)*. 409-414. Bhimavaram. India.

- Brenner, D. J., N. R. Krieg, dan J. T. Staley. 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Second Edition Volume Two: The Proteobacteria*. Michigan State University. East Lansing.
- Brejiyeh, Z., B. Jubeh, dan R. Karaman. 2020. Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolves It. *Molecules*. 25(1340): 1-23.
- Choi, Y. W., Hodgkiss, I. I., dan Hyde, K. D. 2005. Enzyme Production By Endophytes Of *Brucea Javanica*. *Journal of Agricultural Technology*, 1:5566.
- Cronquist, A. 1988. *The Evolution and Classification of Flowering Plants*. Allen Press Inc. Lawrence.
- Daeng, R. A. dan A. Husen. 2019. Analisis dan identifikasi Bakteri *Pseudomonas* sp. dan Kapang pada Produk Ikan Teri (*Stelophorus* sp.) Kering yang Diproduksi Oleh Masyarakat desa Toniku Kabupaten Halmahera Barat Provinsi Maluku Utara. *Akuatikisile: Jurnal Akuakultur, Pesisir, dan Pulau-Pulau Kecil*. 3(1): 1-10.
- Daryanti, E. P., D. Z. Asriningtyas, dan F. W., Kautsari. 2022. Gambaran Pengetahuan Masyarakat Tentang Macam Rimpang Temu sebagai Jamu Di Indonesia. *E-proceeding 2nd SENRIADBI 2022*. Vol 2 Desember 2022: 24-30.
- Daryanti, E. P., F. B. Alfiah, dan D. A. Melatiara. 2023. Perbandingan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) Metode Maserasi dan Refluks. *Borneo Journal od Pharmaesicientech*. 7(2): 52-58.
- Diastuti, H., Z. F. Mufida, dan Purwati. 2024. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) serta Uji Aktivitas terhadap *Candida albicans*. *Jurnan Sains dan Edukasi Sains*. 7(1): 29-36.
- Durazzo, A., G. D. Lena, P. Gabrielli, A. Santini, G. Lombardi-Boccia, and M. Luccarini. 2021. Nutrients and Bioactive Compounds in Seafood: Quantitative Literature Research Analysis. *Fishes*. 7(132): 1-14.
- Guanhong. 2023. Photo of *Zingiber purpureum*. Diakses pada 7 Oktober 2025. <https://www.inaturalist.org/photos/300348853>.
- Haryati, S. D., S. Darmawati, dan W. Wilson. 2017. Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Disk Dan Sumuran. *Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat*, 348-352. Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang.

- Hitijahubessy, H., A. Samid, W. K. Jalmaf, N. Hasanela, dan L. M. Ch. Huwae. 2022. Uji Aktivitas Antibakteri *Vibrio* sp. dari Daun Serai (*Wedelia biflora*). *Biofaal Journal*. 3(1): 43-50.
- Huang, W., Y. Wang, W. Tan, X. Cui, P. Tu, J. Li, S. Shi, dan X. Liu. 2022. Biosynthesis Investigations of Terpenoid, Alkaloid, and Flavonoid Antimicrobial Agents Derived from Medicinal Plants. *Antibiotics*. 11(10): 1-32.
- Ihsan, B. 2021. Identifikasi Bakteri Patogen (*Vibrio* spp. dan *Salmonella* spp.) yang Mengontaminasi Ikan Layang dan Bandeng Di Pasar Tradisional. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 24(1): 89-96.
- Irshath, A. A., A. P. Rajan, S. Vimal, V. S. Prabhakaran, and R. Ganesan. 2023. Bacterial Pathogenesis in Various Fish Diseases: Recent Advances and Specific Challenges in Vaccine Development. *Vaccines (Basel)*. 11(2): 470.
- Irwan, A. W., dan F. Y. Wicaksono. 2017. Perbandingan Pengukuran Luas Daun Kedelai dengan Metode Gravimetri, Regresi dan Scanner. *Jurnal Kultivasi*. 16(3): 425-429.
- Khairunnisa, Y. Ramadhani, dan I. E. Sapada. 2025. Studi Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) terhadap Patogen *Shigella dysenteriae*. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*. 5(1): 74-85.
- Khusnul, S. R. Aulia, dan L. A. Rahmah. 2021. Pengaruh Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Tricophyton rubrum* Secara In Vitro. *Pharmacoscript*. 4(2): 141-151.
- Khusuma A., Y. Safitri, A. Yuniarni, K. Rizki. 2019. Uji Teknik Difusi Menggunakan Kertas Saring Media Tampung Antibiotik dengan *Escherichia coli* sebagai Bakteri Uji. *Jurnal Kesehatan Prima*. 13(2): 151-155.
- Konay, S. M., P. D. Pakan, dan D. G. R. Kareri. 2019. Uji Potensi Anti Bakteri Ekstrak Etanol 70 % Buah Lontar (*Borassus flabellifer*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Cendana Medical Journal*. 17(2): 164-177.
- Liau, Q., X. Meng, Y. Li, C-N. Zhao, G-Y. Tang, and H-B. Li. 2017. Antibacterial and Antifungal Activities of Spices. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(1283): 1-62.
- Lim, K. C., F. Md. Yusoff, F. M. I. Natrah, M. D. Zoysa, I. S. Md. Yasin. J. Yaminudin, and M. Karim. 2025. Biological Strategies in Aquaculture Disease Management: Towards a Sustainable Blue Revolution. *Aquaculture and Fisheries*. 10(5): 743-763.

- Lubis, Y. P. P., Yunasfi, dan R. Leidonald. 2014. *Jenis-Jenis Bakteri Pada Luka Ikan Patin (Pangasius djambal)*. Thesis, Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Lubis, S. S., A. Sardi, dan N. Muna. 2021. *Enumerasi dan Uji Patogenitas Vibrio sp. pada Kerang Hijau (Perna viridis) dari Kawasan Krueng Cut Aceh Besar*. Thesis, UIN Ar-Raniry Banda Aceh. Diakses pada 24 Mei 2025. <https://repository.ar-raniry.ac.id/id/eprint/22794/>.
- Luqman, M., H. Ul. Hassan, R. A. Ghaffar, M. Bilal, R. Kanwal, M. A. Raza, M. Kabir, Y. A. J. Fadladdin, A. Ali, N. Rafiq, E. Ibáñez-Arancibia, P. D. L. Ríos-Escalante, and M. A. M. Siddiquel. 2024. Post-Harvest Bacterial Contamination of Fish, Their Assessment and Control Strategies. *Brazilian Journal of Biology*. 84: 1-17.
- Magvirah, T., Marwati, dan F. Ardhani. 2019. Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Ekstrak Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.). *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*. 2(2): 41-50.
- Maharani, I. A. K. A., K. J. P. Pinatih, A. E. Darwinata, dan N. M. A. Tarini. 2024. Identification of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Vibrio vulnificus* Bacteria in Batik Shells (*Paphia undulata*) Caught at Pengambangan Beach, Jembrana Regency. *Jurnal Mediak Udayana*. 13(9): 67-75.
- Mahulau, F. R., A. Lamadi, dan Mulis. 2022. Patogenitas Bakteri *Vibrio* sp. pada Udang Bannamei Di Kabupaten Pohuwato. *Niké: Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 10(1): 31-40.
- Mappasomba, M., M. H. Malaka, R. Hamsidi, L. O. M. A. Zulbayu, dan Sahidin. 2020. Aktivitas Antibakteri dan Skrining Fitokimia Beberapa Tanaman Berkhasiat Obat di Kota Kendari. *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*. 6(1): 20-26.
- Maryam, F., M. Ulfa, B. Taebe, dan A. Tanfil. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Beberapa Variasi Penyari Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dengan Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas 2,2 Diphenil 1 Picryl Hydrasil (DPPH). *Jurnal Farbal*. 6(2): 70-77.
- Maulana, F., dan S. R. Nurbaya. 2023. *Perlakuan Air Berbasis Bahan Organik Dengan Saponin Untuk Peningkatan Kualitas Baku Mutu Air Budidaya Udang Sebagai Bahan Pangan Berkualitas*. Artikel, Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Sidoarjo.
- Mengi, L., Y. Jasmanindar, dan F. Ch. Liufeto. 2022. Pencegahan Infeksi Bakteri *Vibrio* sp. pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) dengan Pemberian Rebusan Kayu Manis (*Cinnamomun burmannii*). *Jurnal Vokasi Ilmu-Ilmu Perikanan*. 3(1): 9-13.

- Miyoshi, S. 2013. Extracellular Proteolytic Enzymes Produced by Human Pathogenic *Vibrio* Species. *Frontiers in Microbiology*. 4: 339.
- Mukti, L. S., dan R. Andriani. 2021. PHARMACOLOGICAL ACTIVITIES OF *ZINGIBER MONTANUM*. *Jurnal Info Kesehatan*. 11(2): 470-477.
- Najah, A., I. W. Abida, dan D. W. Listyarini. 2024. Analisis Residu Antibiotik Furazolidone pada Ikan dan Udang di UPT Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan Pasuruan, Jawa Timur. *Juvenil*. 5(4): 388-393.
- Nor, T. A., D. Indriarini, dan S. M. J. Koamesah. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Cendana Medical Journal*. 15(3): 327-337.
- Orolaleng, K. K., M. U. E. Sanam, dan M. A. Gelolodo,. 2024. Identifikasi dan Uji Resistensi *Pseudomonas* sp. terhadap Antibiotik Gentamisin, Kloramfenikol, dan Siprofloksasin pada Daging Sapi di Pasar Tradisional Kota Kupang. *Jurnal PARTNER (Pertanian Terapan)*. 29(2): 188-202.
- Pariakan, A. dan Rahim. 2021. Karakteristik Kualitas Air dan Keberadaan Bakteri *Vibrio* sp. pada Wilayah Tambak Udang Tradisional di Pesisir Undulako dan Pomala Kolaka. *Journal of Fishes and Marine Research*. 5(3): 547-556.
- Park. S., S. Kim, Y. So, H. Park, X. Li, D. H. Yeom, M. Lee, B. Lee, and J. Lee. 2014. Protease IV, A Quorum Sensing-Dependent Protease of *Pseudomonas aeruginosa* Modulates Insect Innate Immunity. *Molecular Microbiology*. 94(6): 1298-1314.
- Pramono, H., H. M. Noor, S. S. Fatimah, N. A. Harahap, dan A. A. Selia. 2015. Isolation and Identification of *Vibrio* sp. From Traditional Seafood Products of Eastern Surabaya City Area. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 7(1): 25-29.
- Pramushinta, I. A. K., N. Ambarwati, dan G. S. Jamlean. 2025. Perbandingan Uji Karakteristik Ekstrak Pelarut Etanol 70 % dan Etanol 96 % Pada Perendaman Ekstrak Bungan Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Kesehatan Tambusai*. 6(3): 13681-13689.
- Prayitno, S. A., dan A. R. Rahim. 2020. Comparison of Extract (Ethanol and Aquos Solvents) *Muntingia calabura* Leaves on Total Phenol, Flavonoid, and Antioxidant (Ic<sub>50</sub>) Properties. *KONTRIBUSIA*. 3(2): 319-325.
- Putri, S. P., S. P. Fitriyaningsih, dan S. Hazar. 2022. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rimpang Bangle Hitam (*Zingiber ottensii* (Val.)) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Bandung Conference Series: Pharmacy*. 2(2): 24-34.

- Purwaningsih, D. dan D. Wulandari. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 5 (1): 1-7.
- Rafid, A., N. A. Sida, H. Kasmawati, dan I. Anwar. 2024. Potensi Antibakteri *Sansevieria trifasciata* Prain. Menggunakan Mikrodilusi dan Analisis Kemometrik. *BioWallacea: Jurnal Penelitian Biologi*. 11(1): 78-86.
- Rahmadian, C. A., Ismail, M. Abrar, Erina, Rastina, dan Y. Fahrimal. 2018. Isolasi dan identifikasi Bakteri *Pseudomonas* sp. pada Ikan Asin di Tempat Pelelangan Ikan Labuhanhaji Aceh Selatan. *Jurnal Islam Veteriner (JIMVET)*. 2(4): 493-502.
- Retnaningsih, A., A. Primadhamanti, dan I. Marisa. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Pepaya terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* dengan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Analis Farmasi*. 4(2): 122-129.
- Riaz, H., A. Belgum, S. A. Raza, Z. M. Khan, H. Yousaf, dan A. Tariq. 2015. Antimicrobial Property and Phytochemical Study of Ginger Found in Local Area of Punjab, Pakistan. *International Current Pharmaceutical Journal*. 4(7): 405-409.
- Rori, B. N., J. A. Khoman, dan A. S. R. Supit. 2018. Uji Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap Pertumbuhan *Sterptococcus mutans*. *Jurnal e-Gigi*. 6(2): 83-90.
- Rorong, J. A. dan W. F. Wilar. 2020. Keracunan Makanan Oleh Mikroba. *Techno Science Journal*. 2(2): 47-60.
- Sari, P. P., Y. Alamsyah, dan Komialia. 2024. Daya Hambat Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*: Studi Deskriptif. *Padjajaran Journal of Dental Researchers and Students*. 8(1): 128-135.
- Sarungallo, A., A. E. Manampiring, F. D. H. Budiarmo. Fatimawali, B. J. Kepel, dan W. Bodhi. 2025. Uji Aktivitas Antiinflamasi secara *In Vitro* Ekstrak Etanol Daun Krisan Kuning (*Chrysanthemum indicum*). *Pharmacon*. 14(1): 851-861.
- Saubaki, M. Y. 2021. Aplikasi Asap Cair Metode Pencelupan Untuk Memperpanjang Masa Simpan Ikan Segar. *Jurnal Vokasi Ilmu-Ilmu Perikanan*. 2(1): 14-20.
- Setiani, I. D., Muliadi, dan N. A. Limatahu. 2021. Analisis Hubungan Kuantitatif Antara Struktur Dengan Aktivitas Antimikroba *Streptococcus mutans* Penyebab Sakit Gigi Menggunakan Senyawa Turunan Eugenol. *Jurnal Pendidikan Kimia Unkhair*. 1(2): 41-51.

- Setyani, A. R., E. T. Arung, dan Y. P. Sari. 2021. Skrining Fitokimia, Antioksidan dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Segar Bangle (*Zingiber montanum*). *Jurnal Riset Teknologi Industri*. 15(2): 415-427.
- Siegrist, J. 2010. *Pseudomonas* a Communicative Bacteria. *Microbiology Focus*. 2(4): 1-6.
- Silalahi, M. 2019. Botani, Metabolit Sekunder dan Bioaktivitas Bangle (*Zingiber montanum*) (Review). *Care: Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan*. 7(1): 73-83.
- Singh, C. B., Manglembi N., Swapana N., dan S. B. Chanu. 2015. Ethnobotany, Phytochemistry and Pharmacology of *Zingiber cassumunar* Roxb. (Zingiberaceae). *Journal of Pharmacogn Phytochem*. 4(1): 1-6.
- Soleha T. U., N. Carolina, dan S. W. Kurniawan. 2015. The Inhibition Test of Red Betel Leaves (*Piper crocatum*) Towards *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*. *Majority*. 4(5): 117-122.
- Sowmya, dan K. A. Raveesha. 2021. Antibacterial Activity and Time-kill Assay of *Terminalia catappa* L. and *Nigella sativa* L. against Selected Human Pathogenic Bacteria. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 15(1): 285-299.
- Sukanda, M. D. dan S. A. F. Kusuma. 2023. Review Artikel: Tanaman Di Indonesia yang Berpotensi Sebagai Pengawet Pangan Alami. *Farmaka*. 21(2): 241-251.
- Suprakto, B., M. D. Lestari, D. Aulia, N. Hakimah, dan S. Wartini. 2024. Analisis Komposisi dan Kelimpahan Bakteri *Vibrio* sp. pada Budidaya Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Sistem Intensif. *Jurnal Perikanan*. 14(1): 215-224.
- Suryana, S., B. A. Hermawan, dan D. A. Ramadhanty. 2025. Aktivitas Antimikroba Fraksi Daun Pucuk Merah *Syzygium myrtifolium* (Roxb.) Walp. terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Mikrodilusi M07-A6 CLSI. *Pharmacoscript*, Desember 2025: 101-115.
- Tandirogang, N., A. Anitasari, E. T. Arung, S. Paramita, dan Y-K. Shen. 2022. Evaluation of Antibacterial Properties of *Zingiber purpureum* Essential Oil Against 13 Different Gram-positive and Gram-negative Bacteria. *The Indonesian Biomedical Journal*. 14(3): 303-308.
- Vanegas, D., A. Abril-Novillo., A. Kharchatryan., L. Jerves-Andrade, E. Peñaherrera, N. Cuzco, I. Wilches, J. Calle, dan F. León-Tamariz. 2021. Validation of a Method of Broth Microdilution for The Determination of Antibacterial Activity of Essential Oil. *BMC Research Notes*. 14: 439.

- Wahyuni, A. S., R. D. Haryati, dan A. Fadhilah. 2025. Uji Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. 8(4): 2371-2380.
- Wakhidah, A. Z. 2022. *Zingiber montanum* (J.Koenig) Link ex A.Dietr. ZINGIBERACEAE. Diakses pada 7 Oktober 2025. <https://www.etnobiologi.com/2022/04/zingiber-montanum-jkoenig-link-ex.html>.
- Widodo, A. D., S. Setyaningsih, P. Astuti, Z. Meliawaty, A. W. Suci, dan Dharmayanti. 2024. Uji Efektivitas Antibakteri Daun Bidur (*Calotropis gigantea*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*: Studi Eksperimental Laboratoris. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjajaran*. 36(3): 312-320.
- Yuliati. 2017. Uji Efektivitas Larutan Madu Sebagai Antibakteri Terhadap Pertumbuhan *S. aureus* dan *P. aeruginosae*. *J Profesi Med*. 11(1): 10-22.
- Yuan, G., Y. Guan, H. Yi, S. Lai, Y. Sun, dan S. Cao. 2021. Antibacterial activity and mechanism of plant flavonoids to gram-positive bacteria predicted from their lipophilicities. *Scientific reports*. 11(1): 10471.
- Yusfiani, M., A. Diana, dan A. Ansari. 2019. Perbandingan Chitosan Buatan dari Hasil Samping Industri Pembekuan Udang dengan Chitosan Komersil terhadap Pengawetan Mutu Kesegaran Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Pertanian Tropik*. 6(3): 375-380.