

SKRIPSI

EFEKTIFITAS ANTIFUNGI EKSTRAK DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) TERHADAP *Saprolegnia* sp. SECARA *IN VITRO*

Disusun oleh:
Antonius Fajar Putranto
NPM: 150801696



UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2021

EFEKTIFITAS ANTIFUNGI EKSTRAK DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) TERHADAP *Saprolegnia* sp. SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

**Diajukan Kepada Program Studi Biologi
Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta
guna memenuhi syarat untuk memperoleh
derajat Sarjana S-1**

**Disusun oleh
Antonius Fajar Putranto
NPM: 150801696**



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan Judul:

EFEKTIFITAS ANTIFUNGI EKSTRAK DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) TERHADAP *Saprolegnia* sp. SECARA *IN VITRO*

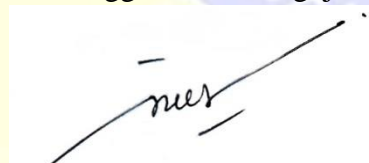
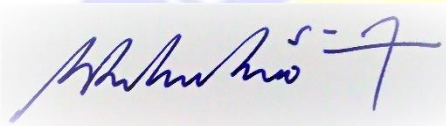
Yang dipersiapkan dan disusun oleh:
Antonius Fajar Putranto
NPM: 150801696

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada hari Kamis, 20 Mei 2021
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SUSUNAN TIM PENGUJI

Dosen Pembimbing Utama,

Anggota Tim Penguji,



(Drs. B. Boy Rahardjo Sidharta, M. Sc.)

(Ines Septi Arsiningtyas., S.Farm., M.Sc, Ph.D)

Dosen Pembimbing Pendamping,



(Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M.si)

Yogyakarta, Juni 2021

UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI

Dekan,



(Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M.si)

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Antonius Fajar Putranto
NPM : 150801696
Judul Skripsi : Efektivitas Antifungi Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap *Saprolegnia* sp. secara *In Vitro*

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan saya susun sejujurnya berdasarkan norma akademik dan bukan merupakan hasil plagiat. Adapun semua kutipan di dalam skripsi ini telah saya sertakan nama penulisnya dan telah saya cantumkan ke dalam Daftar Pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan apabila ternyata kemudian hari terbukti melanggar pernyataan tersebut, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku (dicabut predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan saya).

Yogyakarta, 25 Oktober 2020

Yang menyatakan,

A handwritten signature in black ink is written over a yellow postage stamp. The stamp features a portrait of a man and the text 'REPUBLIK INDONESIA', '2000', and 'METERAI TEMPEL'. The serial number 'DAEC3AJX154855239' is visible at the bottom of the stamp.

Antonius Fajar Putranto

NPM: 150801696

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini dipersembahkan untuk

Kedua orang tua, semua yang telah terlibat, mendukung dan membantu peneliti
untuk menyelesaikan penelitian dan penulisan naskah skripsi.

“If you are afraid, don’t do it. If you are doing it, don’t be afraid.” – Genghis

Kahn

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus dan Bunda Maria, atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “EFEKTIVITAS ANTIFUNGI EKSTRAK DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) TERHADAP *Saprolegnia* sp. SECARA *IN VITRO*” dengan lancar. Naskah skripsi ini disusun sebagai syarat tugas akhir untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) Strata – 1, Program Studi Biologi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta.

Terlaksananya penelitian dan penulisan naskah skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Maka dari itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus yang selalu menyertai, memberkati, memberi kemudahan dan kelancaran kepada penulis, sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan naskah skripsi dengan baik.
2. Bunda Maria yang senantiasa membangun dan memberikan semangat kepada peneliti dalam menyelesaikan naskah skripsi dengan baik.
3. Orang tua saya Edi Suryadi dan Martini yang selalu mendoakan, memenuhi kebutuhan, dan memberi dukungan baik moril dan materil.
4. Bapak Drs. B. Boy Rahardjo Sidharta, M. Sc. selaku dosen pembimbing utama yang selalu membimbing, memberikan bantuan, dan motivasi selama saya melakukan penelitian dan penulisan naskah skripsi.

5. Ibu Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M.Si. selaku dosen pembimbing pendamping yang selalu membimbing, memberikan bantuan, dan motivasi selama saya melakukan penelitian dan penulisan naskah skripsi.
6. Ibu Ines Septi Arsiningtyas., S.Farm., M.Sc, Ph.D selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktunya untuk menguji saya pada sidang pendadaran dan telah memberikan saran untuk penelitian saya.
7. Ibu Wati selaku laboran laboratorium industri yang selalu membantu selama melaksanakan penelitian.
8. Seluruh dosen, laboran, dan staf Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang selalu memberikan dukungan dan bantuan selama saya menempuh pendidikan di jenjang S-1.
9. Stefanie Indriana yang selalu memberikan dukungan dan mengingatkan peneliti untuk menyelesaikan penelitian dan mengerjakan naskah skripsi.
10. Vincent, Astri, Sara, Livia, Billy, Esteruli, Gherry, Afyn, Monic, dan Christy selaku teman-teman seperjuangan yang selalu menemani, mendengarkan, memberikan dukungan moril, motivasi, hiburan, mengajari dan memberikan informasi selama saya melakukan penelitian dan penulisan naskah skripsi.
11. Lilik dan Christo yang telah membantu saya dalam mengolah data hasil penelitian.
12. Teman-teman angkatan 2015 Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang selalu memberikan dukungan dan bantuan selama menempuh pendidikan di jenjang S-1.

Penulis menyadari dalam penulisan naskah Skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis membutuhkan saran dan kritik yang membangun dari berbagai pihak. Penulis berharap Skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Yogyakarta, 25 Oktober 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
I. PENDAHULUAN	15
A. Latar Belakang	15
B. Keaslian Penelitian	18
C. Rumusan Masalah	19
D. Tujuan Penelitian.....	19
E. Manfaat Penelitian	19
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	21
A. <i>Saprolegnia</i> sp.	21
A.1. Taksonomi <i>Saprolegnia</i> sp.....	21

A.2. Morfologi <i>Saprolegnia</i> sp.	21
A.3. Habitat dan Reproduksi <i>Saprolegnia</i> sp.	22
A.4. Infeksi <i>Saprolegnia</i> sp. pada ikan	23
B. Tanaman Ketapang (<i>Terminalia catappa</i> L.)	25
B.1. Klasifikasi Tanaman Ketapang.....	25
B.2. Morfologi Tanaman Ketapang	25
B.3. Habitat Tanaman Ketapang	26
B.4. Kandungan dan Manfaat Daun Ketapang.....	27
C. Ekstraksi dan Pelarut	28
D. Aktivitas Antifungi Senyawa Metabolit Sekunder	30
E. Hipotesis	31
III. METODE PENELITIAN.....	32
A. Waktu dan tempat penelitian	32
B. Populasi dan sampel	32
C. Alat dan bahan	32
D. Rancangan Percobaan.....	33
E. Cara kerja.....	34
F. Analisis data.....	40
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	41
A. Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Ketapang (<i>Terminalia cattapa</i> L.)	41

B. Ekstraksi Daun Ketapang (<i>Terminalia cattapa</i> L.).....	42
C. Analisis Fitokimia secara Kualitatif	43
D. Analisis Fitokimia secara Kuantitatif	47
E. Inokulasi <i>Saprolegnia</i> sp. pada Medium SDA (Sabouraud Dextrose Agar), Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis	50
F. Larutan Kontrol Positif	52
G. Uji Zona Hambat	53
V. SIMPULAN DAN SARAN	57
A. Simpulan	57
B. Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	65

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1	<i>Saprolegnia</i> sp. secara makroskopis (Sumber: Kusdarwati dkk., 2016)..... 22
Gambar 2	<i>Saprolegnia</i> sp. secara mikroskopis (Sumber: Hernawati, 2015)..... 22
Gambar 3	Infeksi <i>Saprolegnia</i> sp. pada ikan dan (Sumber: Ashour dkk., 2017)..... 23
Gambar 4	Pohon ketapang (Sumber: Jony dkk., 2013)..... 26
Gambar 5	Daun ketapang, buah ketapang, bunga ketapang (Sumber: Marjenah dan Putri, 2017)..... 26
Gambar 6	Daun ketapang gugur yang telah dikeringkan..... 41
Gambar 7	Daun ketapang segar yang telah dikeringkan..... 41
Gambar 8	Serbuk daun ketapang gugur yang telah diayak (<i>mesh</i>)..... 42
Gambar 9	Serbuk daun ketapang segar yang telah diayak (<i>mesh</i>)..... 42
Gambar 10	Hasil positif uji flavonoid kualitatif 45
Gambar 11	Reaksi Mg dan HCl dengan Flavonoid (Sumber: Egina dkk., 2014)..... 46
Gambar 12	Hasil positif uji tanin kualitatif..... 46
Gambar 13	Reaksi FeCl ₃ dengan Tanin (Sumber: Egina dkk., 2014)..... 47
Gambar 14	Kurva Standar Kuersetin..... 48
Gambar 15	Kurva Standar Asam Tanat..... 49
Gambar 16	<i>Saprolegnia</i> sp.secara makroskopis..... 52
Gambar 17	Morfologi <i>Saprolegnia</i> sp. secara mikroskopis..... 52
Gambar 18	(a) Zona hambat kontrol -, ekstrak daun ketapang gugur 30%, 60% dan 90%. (b) Zona hambat kontrol +, ekstrak daun ketapang segar 30%, 60% dan 90%..... 56

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rancangan Percobaan Uji Antifungi.....	34
Tabel 2. Hasil Perhitungan Berat Rendemen Ekstrak Daun Ketapang Gugur dan Segar.....	43
Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Kualitatif	45
Tabel 4. Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Ketapang Gugur dan Segar.....	49
Tabel 5. Kadar Tanin Ekstrak Daun Ketapang Gugur dan Segar.	51
Tabel 6. Hasil Uji Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang terhadap <i>Saprolegnia</i> sp.	55

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Keterangan Identifikasi Daun Ketapang (<i>Terminalia catappa</i> L.)	65
Lampiran 2. Perhitungan Berat Rendemen.....	66
Lampiran 3. Perhitungan Flavonoid Kuantitatif.....	66
Lampiran 4. Perhitungan Tanin Kuantitatif.....	69
Lampiran 5. Perhitungan Luas Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang terhadap <i>Saprolegnia</i> sp.	72
Lampiran 6. Hasil Anova Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang terhadap <i>Saprolegnia</i> sp.	76
Lampiran 7. Perhitungan Standar Deviasi Berat Rendemen, Kadar Flavonoid, dan Kadar Tanin	77
Lampiran 8. Dokumentasi	80

INTISARI

Usaha perikanan di Indonesia telah berkembang pesat terutama bidang budidaya ikan hias maupun konsumsi. *Saprolegnia* sp. merupakan penyebab penyakit saprolegniasis yang menyebabkan kerugian secara ekonomis pada budidaya ikan karena dapat mengakibatkan gagal panen. Upaya pencegahan dan pengobatan yang umum dilakukan pada ikan-ikan yang terkena penyakit ini adalah menggunakan obat-obatan kimia seperti *malachite green*, *methylene blue*, dan lain-lain. Akan tetapi penggunaan bahan kimia cenderung tidak ramah lingkungan. Oleh karena itu dibutuhkan penggunaan bahan alami sebagai alternatif pengendalian *Saprolegnia* sp. yang lebih aman. Daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) mengandung senyawa antifungi, diantaranya flavonoid dan tannin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan efektivitas antifungi ekstrak daun ketapang gugur dan segar. Proses ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut metanol. Kemampuan antifungi diujikan dengan difusi cakram dengan delapan perlakuan dan lima pengulangan. Perlakuan dalam penelitian ini yaitu kontrol positif (ketokonazole), kontrol negatif (aquadest), ekstrak daun ketapang segar 30, 60, dan 90%, ekstrak daun ketapang gugur 30, 60, dan 90%. Parameter yang diamati adalah zona bening di sekitar cakram. Hasil yang didapat dianalisis menggunakan *Oneway* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji DMRT. Berdasarkan uji zona hambat diperoleh bahwa ekstrak daun ketapang gugur dan segar konsentrasi 30, 60, dan 90% menunjukkan adanya zona hambat terhadap *Saprolegnia* sp. dengan luas zona hambat tertinggi pada konsentrasi 90% pada masing-masing daun gugur dan segar yaitu 2,537 dan 2,466 cm². Berdasarkan analisis statistik tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara ekstrak daun ketapang gugur dan segar dalam menghambat pertumbuhan *Saprolegnia* sp, namun ekstrak daun ketapang gugur menghasilkan zona hambat yang sedikit lebih besar.

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kekayaan sumber daya perikanan yang dimiliki Indonesia cukup besar, termasuk di dalamnya jenis ikan hias dan ikan konsumsi air tawar yang memiliki nilai ekonomis tinggi (Tampemawa dkk., 2016). Hal ini didukung oleh data dari Pusat Data, Statistik, dan Informasi Kementerian Kelautan dan Perikanan Indonesia yang menunjukkan jumlah budidaya ikan konsumsi dalam kolam air tawar menyumbang angka hingga 1,1 juta ton pada produksi perikanan nasional, dan meningkat 11% setiap tahunnya dalam 5 tahun terakhir (Rahmantya dkk., 2015). Pada tahun 2015, nilai ekspor ikan hias air tawar Indonesia mencapai USD 19,7 juta dan menjadi negara eksportir terbesar kelima di dunia (Rahmantya dkk., 2016).

Dalam budidaya ikan, salah satu faktor yang menimbulkan kerugian terhadap para pemilik tambak adalah penyakit, terutama penyakit infeksius yang disebabkan oleh bakteri, fungi/cendawan, parasit, dan virus (Ulkhag dkk., 2017). Penyakit yang disebabkan infeksi jamur dapat mengakibatkan kerugian secara ekonomis terhadap pemilik tambak karena ikan yang terserang penyakit dapat menular ke ikan lainnya, sehingga dapat mengakibatkan gagal panen (Manumpil dkk., 2015). Penyebaran penyakit yang diakibatkan oleh mikroorganisme perlu dikendalikan agar dapat menekan penyebaran, infeksi, dan pembusukan pada inang (Tampemawa dkk., 2016).

Salah satu cendawan yang sering menginfeksi ikan adalah jenis *Saprolegnia* sp. yang merupakan patogen yang hidup terutama di air tawar. Cendawan ini merupakan patogen penyebab penyakit saprolegniasis (Kusdarwati dkk., 2013). Karakteristik dari penyakit ini ditunjukkan dengan adanya peradangan dan lesi pada sel-sel mukosa serta terdapat miselium seperti kapas yang tumbuh pada permukaan tubuh ikan (Van den Berg dkk., 2013). Infeksi *Saprolegnia* sp. akan menyebabkan rendahnya tingkat kelangsungan hidup yang menjadi kendala utama dalam kegiatan budidaya (Nuryati dkk., 2015).

Selama ini, penanganan terhadap penyebaran penyakit pada ikan yang disebabkan mikroorganisme dilakukan dengan pemberian obat kimia atau sintetis. Penggunaan obat-obatan kimia atau sintetis seperti *Methylene blue*, *Malachite green*, *povidone-iodine* dan antibiotik secara terus menerus dapat menimbulkan permasalahan baru diantaranya resistensi parasit dan pencemaran lingkungan (Bowo dkk., 2014). Resistensi dari mikroorganisme penyebab penyakit disebabkan karena terjadi proses seleksi mikroorganisme yang mampu beradaptasi terhadap antibiotik pada suatu populasi dan terjadi multiplikasi sel yang akan diturunkan ke generasi berikutnya, sehingga masalah yang dihadapi nantinya akan semakin besar (Noga, 2000).

Oleh karena itu diperlukan alternatif obat yang aman digunakan untuk mengendalikan penyakit akibat infeksi jamur *Saprolegnia* sp., salah satunya dengan memanfaatkan tanaman tradisional yang memiliki sifat anti jamur, mudah diperoleh dan digunakan (Bowo dkk., 2014). Tanaman obat merupakan

salah satu alternatif dalam proses penyembuhan penyakit pada ikan karena relatif lebih aman, biayanya murah, tidak menimbulkan resistensi dan ramah lingkungan. Salah satu bahan alami yang memiliki potensi sebagai antifungi adalah daun ketapang. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Nuryati dkk. (2005) menunjukkan bahwa ekstrak ketapang (*Terminalia catappa* L.) memiliki senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antifungi terhadap pertumbuhan jamur *Aphanomyces* sp. yang juga merupakan salah satu cendawan penyebab penyakit pada ikan (Nuryati dkk., 2005).

Daun ketapang dipilih dalam penelitian yang akan dilakukan karena pada beberapa penelitian etnobotani, daun ketapang sudah dikenal memiliki khasiat dalam menjaga kualitas air pada kegiatan budidaya perikanan, seperti menjaga pH air (Priyanto dkk., 2016). Kandungan senyawa dalam ekstrak daun ketapang yang bersifat sebagai antifungi adalah flavonoid dan tannin (Sumino dkk., 2013), sehingga diharapkan memiliki efektivitas atau kemampuan sebagai antifungi alami.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Suganda dkk. (2004) menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri dan antijamur lebih besar pada daun ketapang yang sudah gugur dibandingkan dengan daun ketapang yang masih di pohon. Oleh karena itu, penelitian yang akan dilakukan bertujuan untuk membandingkan efektivitas ekstrak daun ketapang gugur dan yang dipetik terhadap pertumbuhan *Saprolegnia* sp.

B. Keaslian Penelitian

Penelitian mengenai aktivitas antifungi ekstrak daun ketapang gugur dan segar terhadap pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp. belum pernah dilakukan sebelumnya. Beberapa penelitian yang telah dilakukan oleh para peneliti sebelumnya antara lain penelitian yang dilakukan Nuryati dkk. (2005) tentang kajian potensi antifungi ketapang, sirih, jambu biji, dan sambiloto terhadap pertumbuhan cendawan akuatik *Aphanomyces* sp. secara *in vitro*. Pada penelitian tersebut didapatkan bahwa dari 4 jenis ekstrak tanaman, hanya daun ketapang dan sirih yang menunjukkan aktivitas antifungi terhadap *Aphanomyces* sp. Perbedaannya dengan penelitian yang akan dilakukan adalah sampel yang digunakan pada penelitian yang akan dilakukan adalah daun ketapang segar dan kering, dan jamur yang digunakan adalah *Saprolegnia* sp.

Penelitian yang dilakukan oleh Tampemawa dkk. (2016) tentang uji efektivitas ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap *Bacillus amyloliquefaciens*. Pada penelitian tersebut, konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 30, 60, dan 90 % dan didapatkan bahwa semakin besar konsentrasi yang digunakan maka zona bening yang terbentuk semakin besar. Oleh karena itu, digunakan konsentrasi 30, 60, dan 90 % pada penelitian yang akan dilakukan. Perbedaannya adalah mikrobial yang digunakan adalah jamur *Saprolegnia* sp.

Penelitian yang dilakukan oleh Hermawan dkk (2018) tentang kadar polifenol dan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat dan metanol buah ketapang (*Terminalia catappa* L.). Pada penelitian ini digunakan dua pelarut

dengan tingkat kepolaran berbeda yaitu etil asetat (semi polar), dan metanol (polar). Hasil penelitian menunjukkan bahwa metanol menghasilkan berat ekstrak yang lebih tinggi dibandingkan pelarut etil asetat. Oleh karena itu, metanol dipilih sebagai pelarut pada metode maserasi dari penelitian ini.

C. Rumusan Masalah

1. Apakah masing-masing ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) yang gugur dan yang segar berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp. secara *in vitro*?
2. Apakah ada perbedaan efektivitas ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) yang gugur dan yang segar dalam menghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp. secara *in vitro*?

D. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh masing-masing ekstrak daun ketapang yang gugur dan yang segar dalam menghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp secara *in vitro*.
2. Mengetahui perbedaan efektivitas ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) yang gugur dan yang segar dalam menghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp. secara *in vitro*.

E. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat luas mengenai pemanfaatan daun ketapang sebagai cara alternatif untuk mengobati infeksi saprolegniasis pada ikan budidaya baik hias maupun konsumsi. Selain itu juga mampu memberikan informasi ilmiah tentang

efektivitas dari ekstrak daun ketapang yang gugur dan yang segar dalam menghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp. penyebab infeksi saprolegniasis.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. *Saprolegnia* sp.

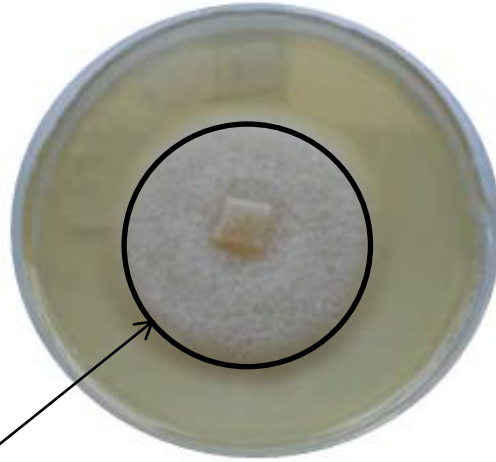
A.1. Taksonomi *Saprolegnia* sp.

Saprolegnia sp. merupakan jamur yang hidup di lingkungan air tawar, tetapi dapat juga ditemukan di air payau dan air asin (Diansyah dan Diana, 2017). Jamur ini menyerang jaringan organik yang sudah mati dan juga mampu menginfeksi jaringan yang terbuka akibat luka. Jaringan yang terinfeksi akan memiliki penutup yang terlihat seperti kapas (Gambar 1) (Anggani dkk., 2015). Menurut Vidhyasekaran (2004), secara taksonomi *Saprolegnia* sp. diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan	: Protista
Divisi	: Oomycotina
Filum	: Phycomycetes
Kelas	: Oomycetes
Bangsa	: Saprolegnialis
Famili	: Saprolegniaceae
Marga	: <i>Saprolegnia</i>
Spesies	: <i>Saprolegnia</i> sp.

A.2. Morfologi *Saprolegnia* sp.

Secara kasat mata, morfologi *Saprolegnia* sp. terlihat seperti kapas dan berwarna putih (Gambar 1). Pengamatan *Saprolegnia* secara mikroskopis menunjukkan hifa berdiameter $\pm 20 \mu\text{m}$, transparan (hialin), bercabang, tidak bersepta, sporangium diujung cabang hifa, dan zoospora di dalam atau menyebar di luar sporangium (Gambar 2) (Woo dkk., 2002).



Gambar 1. *Saprolegnia* sp. secara makroskopis (Sumber: Kusdarwati dkk., 2016).
Keterangan gambar: tanda panah menunjuk pada koloni *Saprolegnia* sp.



Gambar 2. *Saprolegnia* sp. secara mikroskopis (Sumber: Hernawati, 2015).
Keterangan : a. hifa; b. sporangium (kantong spora); c. zoospora.

A.3. Habitat dan Reproduksi *Saprolegnia* sp.

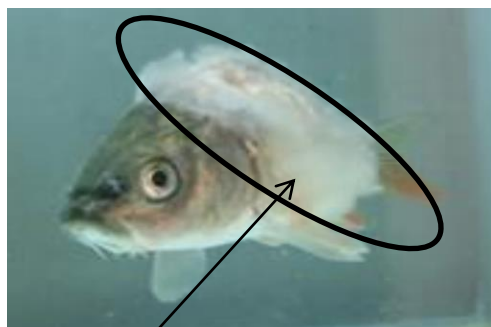
Jamur ini dapat hidup secara baik pada suhu 3-31 °C, dengan pertumbuhan rendah pada suhu 0-5 °C, tumbuh sedang pada suhu 5-15 °C, tumbuh optimum pada suhu 15-30 °C, dan menurun pada suhu 28-35 °C (Irianto, 2005). *Saprolegnia* sp. memiliki siklus hidup yang kompleks, karena mampu bereproduksi secara seksual dan aseksual. Reproduksi seksual dilakukan dengan menghasilkan *antheridium* dan *oogonium gametangia* dalam proses fertilisasi (Woo dkk., 2002). Reproduksi aseksual dilakukan dengan menghasilkan zoospora primer yang akan aktif dan membentuk *encyst*

lalu membelah dan menghasilkan zoospora sekunder. Zoospora sekunder akan dilepaskan oleh sporangium yang matang dan bergerak lebih lambat dan diduga sebagai fase dispersi *Saprolegnia* sp (Woo dkk., 2002).

A.4. Infeksi *Saprolegnia* sp. pada ikan

Saprolegniasis merupakan penyakit infeksius pada ikan yang disebabkan oleh *Saprolegnia* sp. yang merupakan saprofit yang merusak jaringan sehat dan membuat sistem kekebalan tubuh ikan berkurang (Anggani dkk., 2015). *Saprolegnia* menyerang jaringan epidermal, dimulai dari kepala atau sirip kemudian menyebar ke permukaan tubuh atau insang yang terluka secara mekanis atau oleh infeksi parasit atau bakteri lain dan ketika kekebalan tubuh ikan sedang menurun (Ramaiah, 2006).

Karakteristik dari penyakit ini ditunjukkan dengan adanya peradangan dan lesi pada sel-sel mukosa serta terdapat miselium seperti kapas yang tumbuh pada permukaan tubuh ikan (Gambar 3). Pada kasus infeksi yang parah, 20 sampai 80 % permukaan kulit ikan akan tertutupi oleh cendawan ini (Gambar 3) (Van den Berg dkk., 2013).



Gambar 3. Infeksi *Saprolegnia* sp. pada ikan dan (Sumber: Ashour dkk., 2017).

Keterangan gambar: tanda panah menunjuk pada *Saprolegnia* sp. yang menginfeksi tubuh ikan.

Cara yang umum dilakukan untuk menghambat pertumbuhan dan penyebaran infeksi jamur adalah dengan menggunakan antifungi. Antifungi merupakan suatu senyawa yang dapat mengganggu dan menghambat pertumbuhan dan metabolisme jamur (Dellavalle dkk., 2011). Antifungi yang sering digunakan oleh masyarakat adalah antifungi sintetis dan terkhusus untuk penanganan infeksi *Saprolegnia* sp. pada ikan biasa digunakan senyawa kimia seperti *Methylene blue*, *Malachite green*, *povidone-iodine*, dan antibiotik (Bowo dkk., 2014). Meskipun penggunaan bahan kimia cukup efektif, namun penggunaannya secara terus menerus menimbulkan dampak negatif pada lingkungan karena dapat mencemari lingkungan dan terjadi akumulasi dalam tubuh ikan yang berdampak pada gangguan kesehatan pada manusia apabila mengonsumsi ikan tersebut karena terpapar bahan kimia yang bersifat karsinogenik (Yuhri, 2013).

Salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk mengurangi resiko tersebut adalah dengan penggunaan antifungi alami. Mujim (2010) mengemukakan bahwa antifungi alami memiliki keunggulan tersendiri diantaranya mudah diurai, mudah diaplikasikan, mudah diperoleh, dan aman bagi lingkungan dan manusia. Menurut Hidayati dkk (2002), beberapa senyawa metabolit yang dapat berperan sebagai antifungi antara lain flavonoid, tanin, dan saponin. Senyawa ini berperan sebagai antifungi dengan menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel jamur (Dewi dkk., 2019).

B. Tanaman Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

Ketapang (*Terminalia catappa* L.) merupakan tanaman yang banyak digunakan sebagai obat, terutama bagian daunnya oleh masyarakat di Asia Tenggara (Thomson dan Evans, 2006). Penyebaran tanaman ini meliputi seluruh daerah tropis, terutama di lingkungan pantai karena sering dijadikan pohon peneduh di tepi pantai (Thomson dan Evans, 2006).

B.1. Klasifikasi Tanaman Ketapang

Menurut Backer dan Brink (1963), tanaman ketapang (*Terminalia catappa* L.) memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Myrtales
Famili	: Combretaceae
Marga	: Terminalia
Spesies	: <i>Terminalia catappa</i> L.

B.2. Morfologi Tanaman Ketapang

Pohon ketapang dapat tumbuh mencapai ketinggian 25 – 40 m (Gambar 4.), kulit batangnya berwarna abu-abu kecoklatan (Thomson dan Evans, 2006). Bunga ketapang berwarna putih (Gambar 5.), tidak memiliki mahkota, memiliki kelopak berjumlah 5 yang berbentuk seperti lonceng berukuran 4 – 8 mm dan terkumpul dalam bulir yang berada dekat ujung ranting sepanjang 8 – 25 cm (Tjitrosoepomo 2002). Sebagian besar daun ketapang (Gambar 5.) tumbuh berjejalan di ujung ranting, bagian ujung daun berbentuk bulat dan tumpul (Gambar 5.) (Thomson dan Evans, 2006). Buah ketapang berwarna

hijau ketika muda dan menjadi merah kecoklatan ketika tua dengan ukuran \pm 4 – 5,5 cm (Gambar 5.) (Tjitrosoepomo, 2002).



Gambar 4. Pohon ketapang (Sumber: Jony dkk., 2013).



Gambar 5. Daun ketapang (tanda panah a), buah ketapang (tanda panah b), bunga ketapang (tanda panah c) (Sumber: Marjenah dan Putri, 2017).

B.3. Habitat Tanaman Ketapang

Terminalia catappa L. merupakan yang memiliki penyebaran yang cukup luas. Tanaman ini berasal dari daerah tropis di India, lalu menyebar ke Asia Tenggara (Thomson dan Evans, 2006). Di Indonesia, tanaman ketapang

tersebar dari Sumatera sampai Papua. Tanaman ini bisa tumbuh di daerah dataran rendah sampai dataran tinggi, di hutan sekunder maupun primer, hutan rawa, hutan pantai, hutan jati, dan sepanjang sungai (Gillman dan Dennis, 1994). Selain tumbuh liar di alam, tanaman ini juga sering ditanam sebagai pohon peneduh di daerah dataran rendah, bahkan tanaman ini juga ditanam sebagai pohon hias di perkotaan (Faizal dkk., 2009).

B.4. Kandungan dan Manfaat Daun Ketapang

Ketapang merupakan tumbuhan yang dikenal oleh masyarakat sebagai tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat alami dan memiliki senyawa metabolit sekunder sebagai antibakteri dan antifungi karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur (Sine dan Fallo, 2016). Ahmed dkk (2005) mengemukakan bahwa secara umum tumbuhan ketapang (*Terminalia catappa* L.) mengandung senyawa golongan tannin (punicalin, punicalgin, teflavin A, teflavin B, geranin, granatin B, corilagin, tergallin, dan tercatin), golongan flavonoid (vitexin, isovitexin, rintin, dan isorintin), dan golongan triterpenoid.

Menurut Pauly (2001), pada bagian daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) mengandung metabolit sekunder berupa senyawa fenolik, flavonoid, terpenoid, saponin, dan tanin yang dapat berfungsi sebagai antibakteri, antifungi, dan antioksidan yang dapat mencegah radikal bebas merusak sel tubuh (Mulia dkk., 2016). Pada kegiatan budidaya perikanan, daun ketapang sudah dikenal memiliki khasiat dalam menjaga kualitas air seperti menjaga pH air, terutama pada air dengan kondisi pH yang tinggi, daun ketapang dapat

menurunkan pH hingga 16,7% selama 3 jam perendaman (Mardiyah, 2008 dalam Priyanto dkk., 2016). Kandungan senyawa dalam ekstrak daun ketapang yang diduga bersifat antimikroba adalah flavonoid, tanin, dan saponin (Sumino dkk., 2013). Kadar senyawa aktif dalam daun tidaklah sama tergantung tingkat usia daun, adanya kadar senyawa aktif yang lebih tinggi dapat memberikan aktivitas antifungi yang sama atau lebih besar antara daun segar dan daun gugur (Pujaningsih dkk., 2018).

Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat pertumbuhan jamur yaitu dengan menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel, gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa flavonoid akan membentuk kombinasi dengan fosfolipid dari membran sel jamur sehingga menyebabkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi sehingga akhirnya sel jamur akan terdenaturasi (Oliveira dkk, 2016). Mekanisme kerja tanin sebagai antifungi adalah dengan menghambat biosintesis ergosterol yang merupakan sterol utama penyusun membran sel jamur (Hong dkk, 2011). Mekanisme kerja saponin dalam merusak fungsi membran sel melalui peningkatan permeabilitas yang mengakibatkan cairan intraseluler yang lebih pekat akan tertarik keluar sel sehingga nutrisi, zat-zat metabolisme, enzim, dan protein dalam sel keluar dan jamur mengalami kematian (Moiz dkk, 2013).

C. Ekstraksi dan Pelarut

Menurut Suwandi (2015), ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, lalu pelarut yang tersisa diuapkan

sehingga diperoleh massa atau serbuk. Menurut Syaifudin (2014), ekstraksi merupakan suatu proses yang dilakukan untuk memisahkan satu atau lebih senyawa dari jaringan tumbuhan, hewan, larutan, maupun padatan yang mengandung campuran senyawa yang diinginkan secara fisik maupun kimiawi. Terdapat beberapa metode ekstraksi diantaranya cara dingin yang meliputi maserasi dan perkolasi, dan cara panas yang meliputi refluks, soxhlet, digesti, infus, dan dekok (Mukhriani, 2014).

Ekstraksi pada penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Syaifudin (2014) mengemukakan bahwa maserasi merupakan proses penyarian sederhana menggunakan pelarut dan dilakukan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruang (kamar). Keunggulan penggunaan metode maserasi adalah mudah dilakukan, peralatan sederhana, dan cocok untuk skala kecil maupun industri. Pemilihan metanol sebagai pelarut pada proses maserasi dalam penelitian ini mengacu pada penelitian Pradana dkk. (2014) yang menunjukkan metanol sebagai pelarut polar menghasilkan berat ekstrak yang lebih tinggi dibandingkan pelarut non-polar (n-heksana) dan semi-polar (etil asetat).

Proses maserasi dilakukan bertujuan untuk mengeluarkan senyawa yang diinginkan dari sel-sel tanaman melalui proses difusi. Dalam proses ini pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, sehingga zat aktif yang memiliki tingkat kelarutan yang sama dengan pelarut akan terlarut. Adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel akan mengakibatkan larutan yang lebih pekat terdesak

keluar. Peristiwa ini terjadi berulang kali hingga tercapai keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Direktorat Jendral POM, 1986).

Lama waktu maserasi mempengaruhi kualitas ekstrak yang akan diteliti. Pada umumnya, lama waktu maserasi berkisar antara 4-10 hari (Setyaningsih, 2006). Maserasi akan lebih efektif apabila dilakukan proses pengadukan secara berkala untuk mencegah turunnya perpindahan bahan aktif. Maserasi dengan pengadukan berkala ini dapat dilakukan dengan menggunakan *shaker*, proses ini dapat mengurangi waktu maserasi hingga menjadi 6-48 jam (Voight, 1995).

Pada proses maserasi, digunakan pelarut yang sesuai untuk ekstrak yang diinginkan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Pradana dkk. (2014) digunakan tiga jenis pelarut maserasi yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda untuk mengekstrak senyawa yang bersifat antimikrobia, yaitu n-heksana (non-polar), etil asetat (semi polar), dan metanol (polar), hasil yang diperoleh bahwa metanol menghasilkan berat ekstrak yang lebih tinggi dibandingkan pelarut etil asetat dan n-heksana karena sifat polarnya. Oleh karena itu, metanol dipilih untuk menjadi pelarut ekstraksi dalam metode maserasi pada penelitian ini.

D. Aktivitas Antifungi Senyawa Metabolit Sekunder

Menurut Christoper dkk (2017), flavonoid mempunyai efek farmakologi sebagai antijamur dengan mengganggu homeostasis mitokondria dan juga mengganggu integritas membran sel jamur. Flavonoid akan akan

membentuk kombinasi dengan fosfolipid dari membran sel jamur sehingga menyebabkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi sehingga akhirnya sel jamur akan terdenaturasi (Oliveira dkk, 2016).

Menurut Naim (2004), tanin memiliki mekanisme sebagai antimikroba karena kemampuan tanin dalam menginaktivasi adhesin, menginaktivasi enzim, mengganggu transpor protein pada lapisan dalam sel, dan mempunyai target pada polipeptida dinding sel yang mengakibatkan pembentukan dinding sel kurang sempurna. Selain itu, tanin dapat menghambat biosintesis ergosterol yang merupakan sterol utama penyusun membran sel jamur (Hong dkk, 2011).

E. Hipotesis

1. Masing-masing ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp.
2. Ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) yang gugur memiliki efektivitas yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak daun ketapang segar dalam menghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp.

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan September 2019 sampai Februari 2020 di Laboratorium Teknobia-Industri, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta.

B. Populasi dan sampel

Sampel yang digunakan adalah daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) yang sudah gugur 1-2 hari dari pohonnya sebanyak \pm 2 kg dan yang masih segar tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda (pemilihan dilakukan berdasarkan warna hijau yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda pada daun) sebanyak \pm 2 kg. Sampel diperoleh dari Kampus 2 Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Biakan murni jamur *Saprolegnia* sp. yang diperoleh dari *Indonesian Culture Collection* (InaCC) Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) di Bogor.

C. Alat dan bahan

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf Hirayama HICLAVE HVE-50, tabung reaksi *pyrex*, gelas ukur *pyrex*, erlenmeyer, oven *Medcenter*, *Lamina Air Flow* ESCO, lampu spiritus, korek api gas, vortex Barnstead Thermolyne Type 37600 Mixer, blender, saringan mesh, timbangan analitik HWH, *rotary evaporator* IKA RV-06ML, pipet tetes, pipet ukur, sedotan steril, mikroskop Olympus, *incubator shaker* JSR tipe JSSI-300C, propipet, *petri dispo*, sarung tangan latex, kalkulator *scientific*

Casio, *Spektrofotometer Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis*, kuvet, nampan plastik, dan kamera digital (DSLR) Nikon D5100.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun ketapang yang sudah gugur dari pohonnya, daun ketapang yang segar (tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda) dipetik secara acak, biakan murni *Saprolegnia* sp., aquades, metanol, alkohol 70%, H₂SO₄, FeCl₃, AlCl₃ 5%, NaCO₃, *quarctin*, asam tanat, *lactophenol cotton blue*, asam asetat glasial, kertas saring, alumunium foil, kertas label, kertas saring, bubuk Mg, folin, pepton, glukosa, agar, plastik, dan antifungi komersial (*Ketokonazol*).

D. Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap dengan perlakuan ekstrak daun ketapang yang gugur konsentrasi 30, 60, dan 90 %, ekstrak daun ketapang yang segar konsentrasi 30, 60, 90 %, kontrol positif dengan antifungi komersial (*Ketokonazol*), dan kontrol negatif dengan aquades. Masing-masing perlakuan dilakukan 5 kali pengulangan seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Rancangan Percobaan Uji Antifungi

Perlakuan	Luas Zona Hambat terhadap <i>Saprolegnia</i> sp.					Rata-rata
	Ulangan					
	1	2	3	4	5	
Kontrol -						
Kontrol +						
G30						
G60						
G90						
S30						
S60						
S90						

Keterangan:

Kontrol + : Ketokonazol 50 μ g/50 μ l (Antifungi komersial)

Kontrol - : Aquades

G30 : Ekstrak daun ketapang yang gugur konsentrasi 30 %

G60 : Ekstrak daun ketapang yang gugur konsentrasi 60 %

G90 : Ekstrak daun ketapang yang gugur konsentrasi 90 %

S30 : Ekstrak daun ketapang yang segar konsentrasi 30 %

S60 : Ekstrak daun ketapang yang segar konsentrasi 60 %

S90 : Ekstrak daun ketapang yang segar konsentrasi 90 %

E. Cara kerja

1. Pembuatan Serbuk Simplisia

Sampel daun ketapang gugur dan segar disortasi dan dibersihkan (dicuci) dengan air mengalir hingga siap untuk digunakan. Sampel ditimbang beratnya, lalu ditata hingga tersebar merata pada nampan plastik yang sudah tersedia. Sampel daun gugur dijemur pada sinar matahari selama 2 x 8 jam (pagi-sore). Sampel daun segar dikeringkan pada oven dengan suhu ± 50 °C selama 2 x 24 jam. Setelah itu, berat konstan sampel ditimbang (Tampemawa dkk., 2016).

Setelah dikeringkan, sampel dipotong-potong lalu ditimbang beratnya. Potongan sampel dihaluskan dengan cara diblender. Bahan yang sudah halus kemudian diayak dengan ayakan (*mesh*). Serbuk disimpan dalam

plastik dan ditutup rapat, lalu ditimbang beratnya dengan timbangan digital (Tampemawa dkk., 2016).

2. Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Serbuk daun ketapang gugur dan segar masing-masing diambil sebanyak 30 g dan dilarutkan dengan 300 ml metanol (perbandingan 1:10) di dalam erlenmeyer, larutan digojog selama 15 menit dan ditutup dengan aluminium foil. Kemudian larutan dimaserasi selama 48 jam pada suhu ruang (27 °C). Setelah itu, larutan disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrat dan ampas. Kemudian filtrat dievaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 65 °C sehingga didapatkan ekstrak kental yang kemudian dipekatkan dengan *water bath* pada suhu 65 °C agar pelarutnya menguap secara maksimal (Tampemawa dkk., 2016). Ekstrak berupa pasta dibuat menjadi 3 konsentrasi berbeda yaitu 30, 60, 90 % dengan pengenceran menggunakan aquades dengan rumus:

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2 \text{ (Pradana dkk., 2014 dengan modifikasi).}$$

Keterangan:

V_1 : Volume ekstrak yang dibutuhkan

V_2 : Volume total larutan setelah pengenceran

N_1 : Konsentrasi ekstrak (100 %)

N_2 : Konsentrasi yang diinginkan (30, 60, 90 %)

3. Analisis Fitokimia secara Kualitatif

a. Uji Flavonoid

Ekstrak daun ketapang diambil sebanyak 0,1 gram dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian ditambah dengan 50 ml air panas lalu dididihkan selama 5 menit. Larutan tersebut diambil filtratnya sebanyak 5

ml dan ditambahkan 0,05 gram serbuk Mg. Setelah itu filtrat ditambahkan 1 tetes HCl 5N. Hasil positif ditunjukkan dengan berubahnya warna larutan menjadi jingga atau kuning kehijauan (Tiwari dkk., 2011).

b. Uji Tanin

Ekstrak daun ketapang diambil sebanyak 0,1 gram dan dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml Aquades ke dalam tabung reaksi. Larutan didiamkan selama 5 menit, lalu disaring. Larutan FeCl₃ 1 % sebanyak 5 tetes ditambahkan dan hasil positif ditunjukkan dengan warna biru atau hijau kehitaman (Sumarlin dkk., 2015).

4. Analisis Fitokimia secara Kuantitatif

a. Uji Kuantitatif Flavonoid

Pembuatan Larutan Standar Quercetin

Quercetin ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan 100 ml metanol, untuk dijadikan larutan stok quercetin 100 ppm. Deret standarnya dibuat dengan konsentrasi 6, 12, 18, 24, dan 30 ppm dengan tambahan 0,5 ml AlCl₃ 2%, 0,5 ml kalium asetat 1M, dan metanol sampai volume larutan 5 ml. Absorbansi larutan standar diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 420 nm dengan pelarut metanol sebagai blanko (Sani dkk., 2015 dengan modifikasi).

Pengukuran Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Ketapang

10 mg ekstrak daun ketapang ditimbang dan dilarutkan dalam 10 ml metanol sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Larutan sampel dibuat dalam konsentrasi 200, 250, 300, dan 350 ppm dengan penambahan 0,5 ml AlCl_3 2%, 0,5 ml kalium asetat 1M, dan metanol sampai volume larutan 5 ml. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Masing-masing larutan sampel dibuat dalam 5 pengulangan agar diperoleh nilai rata-rata absorbansi (Aminah dkk., 2017 dengan modifikasi). Absorbansi larutan sampel diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 420 nm dengan pelarut metanol sebagai blanko. Hasil absorbansi dari pengukuran sampel dicocokkan dengan *range* absorbansi dari pengukuran standar quersetin (Sani dkk., 2015 dengan modifikasi).

Kadar kandungan total flavonoid dinyatakan dalam rumus (Setyabudi dkk., 2015):

$$\text{Kadar Total Flavonoid} = \frac{X \cdot \text{faktor pengencer} \times \text{volume pelarut}}{\text{Berat sampel (g)}}$$

Keterangan: X = nilai absorbansi larutan standar

b. Uji Kuantitatif Tanin

Pembuatan Larutan Standar Asam Tanat

Asam tanat ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam 10 ml metanol untuk dijadikan larutan stok 1000 ppm (Cunnif, 1996 dalam Mukhriani., dkk 2014). Deret standar dibuat dalam konsentrasi 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm. Masing-masing konsentrasi larutan diambil sebanyak

0,5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berbeda lalu ditambahkan 3,75 ml pelarut metanol. Kemudian ditambahkan 0,25 ml folin denis, didiamkan selama 3 menit lalu ditambahkan 0,5 ml Na₂CO₃ 10%, diinkubasi selama 15 menit. Absorbansi larutan standar diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 740 nm dengan metanol sebagai larutan blanko (Mukhriani., dkk 2014 dengan modifikasi).

Pengukuran Kadar Tanin Ekstrak Daun Ketapang

Sebanyak 10 mg ekstrak daun ketapang ditimbang dan dilarutkan dalam 10 ml metanol sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Larutan sampel dibuat dalam konsentrasi 100, 200, 300 dan 400 ppm dengan penambahan 0,25 ml folin denis lalu didiamkan selama 3 menit, ditambahkan 0,5 ml Na₂CO₃ dan metanol sampai volume larutan 5 ml, lalu diinkubasi selama 15 menit. Masing-masing konsentrasi larutan sampel dibuat dalam 5 pengulangan. Absorbansi larutan sampel diukur pada panjang gelombang 740 nm. Hasil absorbansi dicocokkan dengan *range* absorbansi dari pengukuran larutan standar asam tanat (Mukhriani., dkk 2014 dengan modifikasi).

Kadar kandungan tanin dinyatakan dalam rumus (Pangestuti dkk., 2017):

$$\text{Kadar total Tanin} = \frac{X \cdot \text{faktor pengencer} \times \text{volume pelarut}}{\text{Berat sampel (g)}}$$

Keterangan : X = nilai absorbansi larutan standar

5. Inokulasi *Saprolegnia* sp. pada Medium SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*), pengamatan makroskopis dan mikroskopis

Biakan murni *Saprolegnia* sp. yang diperoleh dari *Indonesian Culture Collection* (InaCC) Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) diinokulasikan dengan mengambil potongan kecil miselium menggunakan *blade* yang sudah disterilkan dengan lampu spiritus, lalu ditanam di medium SDA. Medium tersebut diinkubasi pada suhu 27 °C selama 48 jam, lalu diamati secara mikroskopis (Pradana dkk., 2014).

Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengamati bentuk dan warna koloni *Saprolegnia* sp yang tumbuh pada media SDA (Kusdarwati dkk., 2016). Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan dibantu pewarnaan menggunakan *lactophenol cotton blue*. Gelas benda dan jarum ose disterilisasi dengan alkohol lalu dikeringkan dengan cara *diffusing* pada lampu spiritus. Biakan *Saprolegnia* sp. diambil dengan jarum ose lalu dioleskan pada permukaan gelas benda. Setelah itu, diberi pewarna *lactophenol cotton blue* dan didiamkan selama 1 menit, lalu dibilas dengan akuades. Preparat diletakkan pada mikroskop dan diamati bentuk spora dan hifanya (Pradana dkk., 2014 dengan modifikasi).

6. Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Larutan kontrol positif yang digunakan yaitu ketokonazol dengan konsentrasi 50µg/50µl. Tablet ketokonazol digerus dan ditimbang sehingga diperoleh serbuk ketokonazol sebanyak 10mg, lalu dilarutkan dalam aquades sebanyak 10ml (Pangalinan dkk., 2012).

7. Uji zona hambat

Biakan *Saprolegnia* sp. disiapkan. Ring kertas *whatmann* 0,5 cm dicelupkan pada masing-masing sampel perlakuan, lalu diletakkan pada medium yang telah diinokulasi *Saprolegnia* sp. Setelah itu dilakukan inkubasi selama 24-48 jam pada suhu 27°C. Setelah 48 jam diamati ada tidaknya zona bening yang terbentuk (Suganda dkk., 2004 dengan modifikasi). Zona hambat yang terbentuk diukur dengan penggaris dan dihitung menggunakan rumus (Volk dan Wheeler, 1993):

$$\text{Luas Zona Hambat} = 3,14 \times \left(\frac{d2}{2}\right)^2 - \left(\frac{d1}{2}\right)^2$$

Keterangan :

d1 = diameter kertas *Whatman* (cm)

d2 = rata-rata diameter zona hambat (cm)

F. Analisis data

Hasil pengujian zona hambat ekstrak daun ketapang terhadap pertumbuhan *Saprolegnia* sp. pada setiap perlakuan diuji dengan Analisis Varian (ANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95 %. Jika perlakuan yang diberikan menunjukkan pengaruh yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui letak beda nyata (Sine dan Fallo, 2016).

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.)

Daun ketapang yang gugur dan segar disortasi, kemudian dicuci dan dikeringkan dengan perlakuan berbeda. Daun gugur dikeringkan dengan dijemur di bawah sinar matahari selama 2 x 8 jam (pagi-sore) (Gambar 6.), daun segar dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama 2 x 24 jam (Gambar 7.). Daun yang sudah kering diblender lalu diayak dengan ayakan (*mesh*). Hasil ayakan (Gambar 8 dan 9.) masing-masing sampel daun ditimbang dengan timbangan digital dan disimpan dalam plastik zip.



Gambar 6. Daun ketapang gugur yang telah dikeringkan.



Gambar 7. Daun ketapang segar yang telah dikeringkan



Gambar 8. Serbuk daun ketapang gugur yang telah diayak (*mesh*)



Gambar 9. Serbuk daun ketapang segar yang telah diayak (*mesh*)

B. Ekstraksi Daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.)

Proses ekstraksi bertujuan untuk memisahkan pelarut dari zat aktif dengan menguapkan pelarut pada titik didihnya. Setelah itu filtrat dipekatkan dengan *water bath* pada suhu 65 °C untuk meminimalisir pelarut yang tertinggal pada ekstrak (Reo dkk., 2017). Proses ekstraksi ini dilakukan sebanyak 2 kali (remaserasi) dengan pelarut dan serbuk yang sama agar diperoleh hasil rendemen ekstrak yang optimal dan dilakukan 3 kali pengulangan sehingga diperoleh rata-rata rendemen. Berdasarkan perhitungan berat rendemen ekstrak yang telah dilakukan, diperoleh hasil berupa data pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Berat Rendemen Ekstrak Daun Ketapang Gugur dan Segar

Ekstrak	Berat Sampel (g)	Berat Ekstrak \pm SD (g)	Rendemen (%)
Daun Gugur	30	10,60 \pm 0,16	35,33
Daun Segar	30	10,02 \pm 0,14	33,40

Berdasarkan data pada Tabel 2, hasil rata-rata rendemen ekstrak daun ketapang gugur sedikit lebih besar daripada ekstrak daun ketapang segar, hal ini dapat dikarenakan luas permukaan serbuk simplisia daun gugur lebih besar daripada daun segar (Febriyanti, 2020) (Gambar 8 dan 9.). Hasil rendemen ekstrak metanol daun ketapang yang diperoleh dalam penelitian ini lebih besar jika dibandingkan hasil rendemen ekstrak metanol daun ketapang pada penelitian Aisyah dkk (2017), yaitu 35,33 dan 33,40% berbanding 9,03%. Menurut Pasaribu dan Setyawati (2011), perolehan rendemen pada proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut, konsentrasi pelarut, lama ekstraksi, dan luas permukaan simplisia. Selain itu, pada penelitian ini dilakukan maserasi dua kali (remaserasi), sehingga hasil rendemen yang diperoleh lebih optimal (Assagaf dkk., 2012).

C. Analisis Fitokimia secara Kualitatif

Ekstrak daun ketapang yang telah diperoleh kemudian diuji secara kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimia pada ekstrak daun ketapang gugur dan segar. Uji kualitatif yang dilakukan pada penelitian ini meliputi uji flavonoid, uji tanin, dan uji saponin. Berdasarkan uji fitokimia secara kualitatif yang telah dilakukan, diperoleh hasil berupa data pada Tabel 3.

Tabel 3. Fitokimia Kualitatif Ekstrak Daun Ketapang Gugur dan Segar

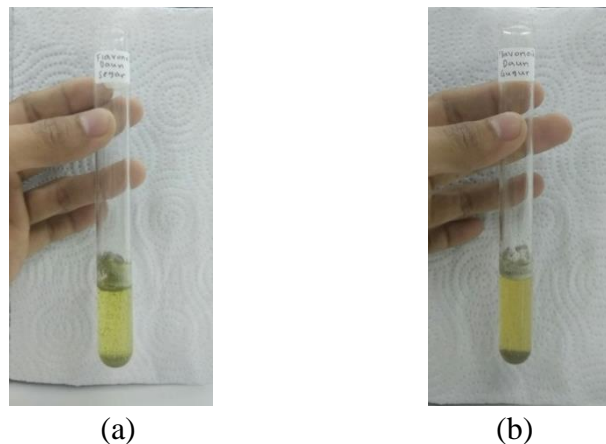
Uji	Ekstrak	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Daun Gugur	+	Terbentuk warna kuning kehijauan
	Daun Segar	+	Terbentuk warna kuning kehijauan
Tanin	Daun Gugur	+	Terbentuk warna hijau kehitaman
	Daun Segar	+	Terbentuk warna hijau kehitaman

Keterangan: + = hasil positif (terdapat senyawa metabolit yang diuji)

- = hasil negatif (tidak terdapat senyawa metabolit yang diuji)

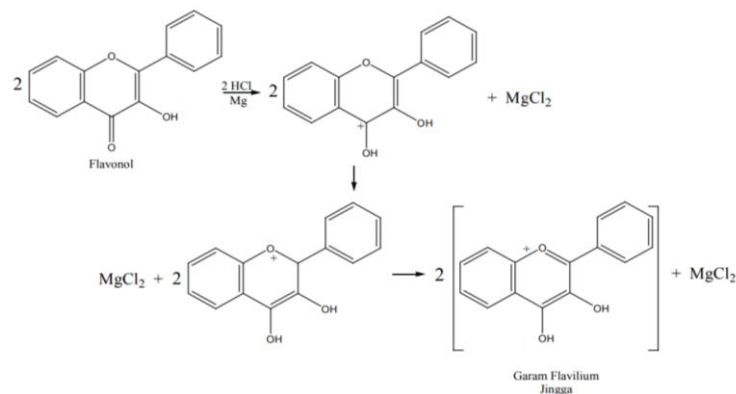
Berdasarkan hasil uji fitokimia secara kualitatif pada Tabel 3 di atas diketahui bahwa ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) segar dan gugur memiliki kandungan flavonoid, tanin, dan saponin. Hasil tersebut sesuai dengan pernyataan yang dikemukakan Pauly (2001) bahwa pada bagian daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin dan lain-lain. Sumino dkk (2013) menyatakan bahwa senyawa metabolit sekunder ini berperan sebagai antifungi untuk menghambat pertumbuhan jamur.

Langkah awal pengujian senyawa flavonoid secara kualitatif dilakukan dengan mengambil ekstrak daun ketapang gugur dan segar masing-masing sebanyak 0,1 gram lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 50 ml air panas lalu dididihkan selama 5 menit pada masing-masing ekstrak. Pemanasan dilakukan untuk mempermudah senyawa flavonoid larut dalam air (Egina dkk., 2014). Larutan tersebut diambil filtratnya sebanyak 5 ml dan ditambahkan 0,05 gram serbuk Mg. Setelah itu filtrat ditambahkan 1 tetes HCl 5N. Hasil positif ditunjukkan dengan berubahnya warna larutan menjadi jingga atau kuning kehijauan (Gambar 10.) (Tiwari dkk., 2011).



Gambar 10. Hasil positif uji flavonoid (a) ekstrak daun ketapang segar dan (b) daun ketapang gugur.

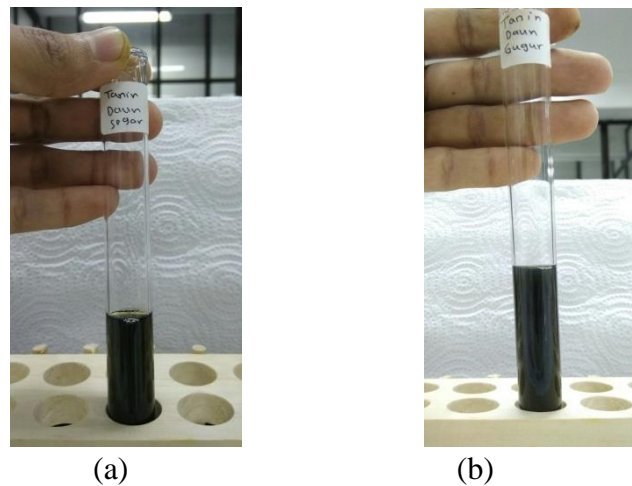
Penambahan logam Mg dan HCl bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavinium berwarna jingga atau kuning (Egina dkk., 2014). Adapun reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan logam Mg dan HCl dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Reaksi Mg dan HCl dengan Flavonoid (Sumber: Egina dkk., 2014).

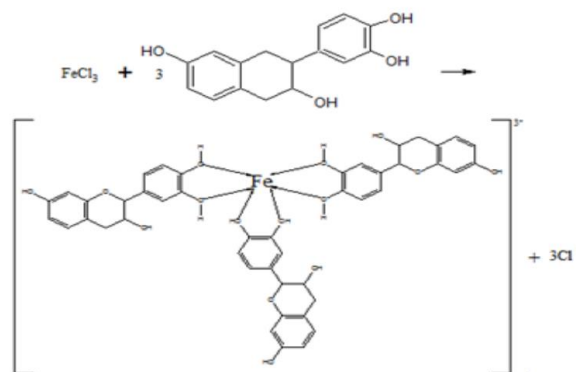
Langkah awal pengujian senyawa tanin secara kualitatif dilakukan dengan mengambil ekstrak daun ketapang gugur dan segar masing-masing sebanyak 0,1 gram dan dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml Aquades ke dalam masing-masing tabung reaksi. Larutan didiamkan

selama 5 menit, lalu disaring. Larutan FeCl_3 1 % sebanyak 5 tetes ditambahkan dan hasil positif ditunjukkan dengan warna biru atau hijau kehitaman (Gambar 12.) (Sumarlin dkk., 2015).



Gambar 12. Hasil positif uji tanin ekstrak (a) daun ketapang segar dan (b) ekstrak daun ketapang gugur.

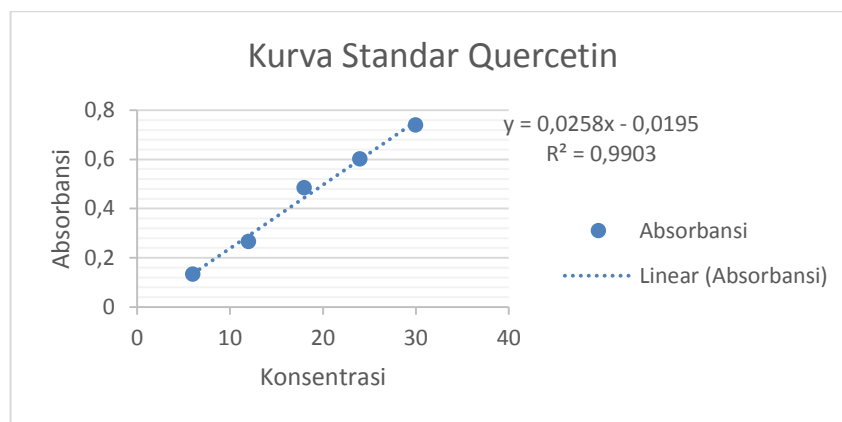
Penambahan larutan FeCl_3 bertujuan untuk mendeteksi adanya kandungan gugus fenol dalam larutan ekstrak. Tanin merupakan senyawa polifenol yang apabila bereaksi dengan FeCl_3 akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} dan menimbulkan warna biru tua atau hijau kehitaman (Egina dkk., 2014). Adapun reaksi yang terjadi antara senyawa tanin dengan FeCl_3 dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Reaksi FeCl_3 dengan Tanin (Sumber: Egina dkk., 2014).

D. Analisis Fitokimia secara Kuantitatif

Ekstrak daun ketapang yang telah diperoleh dari proses ekstraksi juga diuji secara kuantitatif untuk mengetahui kadar senyawa flavonoid dan tanin pada ekstrak daun ketapang gugur dan segar. Berdasarkan analisis fitokimia secara kuantitatif yang telah dilakukan, diperoleh hasil berupa kurva pada Gambar 14 dan Gambar 15, serta data pada Tabel 4 dan Tabel 5.



Gambar 14. Kurva Standar Quercetin

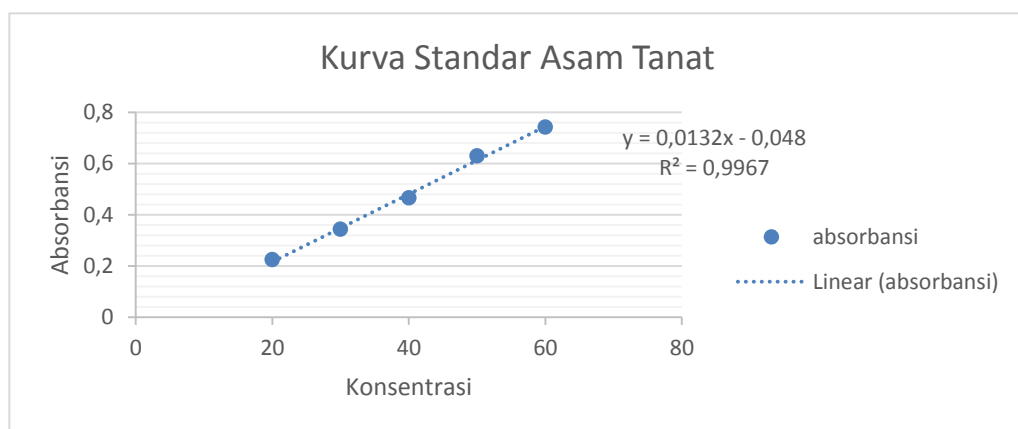
Berdasarkan data pada kurva di atas, diperoleh persamaan $Y = 0,0258x - 0,0195$, dengan nilai $R^2 = 0,9903$. Data tersebut kemudian digunakan untuk perhitungan kadar tanin total pada ekstrak daun ketapang segar dan gugur yang dinyatakan dalam mg *Quercetin Equivalen* (QE) dalam setiap g ekstrak. Hasil perhitungan disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Ketapang Segar dan Gugur.

Sampel Ekstrak	Berat Sampel (g)	Kadar Flavonoid \pm SD (mgQE/g serbuk)
Daun Segar	30	7,74 \pm 0,08
Daun Gugur	30	8,85 \pm 0,29

Berdasarkan data pada Tabel 4. di atas, diperoleh hasil perhitungan kadar flavonoid pada ekstrak daun ketapang segar sebesar 7,74 \pm 0,08 mgQE/g ekstrak dan pada ekstrak daun ketapang gugur sebesar 8,85 \pm 0,29 mgQE/g

ekstrak. Menurut penelitian Rajesh dkk. (2016), kandungan flavonoid yang diperoleh dari ekstrak metanol daun ketapang berkisar antara $17,13 \pm 0,78$ sampai $98,6 \pm 2,32$ mgQE/g ekstrak. Hasil pengukuran kadar tanin ekstrak daun ketapang segar dan gugur dalam penelitian ini lebih rendah dari kisaran total flavonoid ekstrak daun ketapang dari penelitian yang pernah dilakukan. Menurut Tanamal dkk. (2017), perbedaan kadar metabolit sekunder (flavonoid) dalam tanaman dapat disebabkan oleh faktor lingkungan seperti suhu, ketersediaan air, pencahayaan dan unsur hara. Selain itu faktor genetik juga dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder, tanaman yang berasal dari galur yang berbeda dalam varietas yang sama sangat mungkin menghasilkan jumlah metabolit sekunder yang berbeda (Sulichantini, 2015).



Gambar 15. Kurva Standar Asam Tanat

Berdasarkan data pada kurva di atas, diperoleh persamaan $Y = 0,012x - 0,048$, dengan nilai $R^2 = 0,9967$. Data tersebut kemudian digunakan untuk perhitungan kadar tanin total pada ekstrak daun ketapang segar dan gugur yang dinyatakan dalam mg *Tannin Acid Equivalen* (TAE) dalam setiap g ekstrak. Hasil perhitungan disajikan dalam Tabel 5.

Tabel 5. Kadar Tanin Ekstrak Daun Ketapang Segar dan Gugur

Sampel Ekstrak	Berat Sampel (g)	Kadar Tanin + SD (mgTAE/g serbuk)
Daun Segar	30	14,23 ± 0,04
Daun Gugur	30	18,47 ± 0,05

Berdasarkan data pada Tabel 5 di atas, diperoleh hasil perhitungan kadar tanin pada ekstrak daun ketapang segar sebesar $14,23 \pm 0,04$ mgTAE/g ekstrak dan pada ekstrak daun ketapang gugur sebesar $18,47 \pm 0,05$ mgTAE/g ekstrak. Menurut penelitian Rajesh dkk. (2016), kandungan tanin yang diperoleh dari ekstrak metanol daun ketapang berkisar antara $11,8 \pm 0,14$ sampai $50,46 \pm 1,1$ mgTAE/g ekstrak. Hasil pengukuran kadar tanin ekstrak daun ketapang segar dan gugur dalam penelitian ini masuk dalam kisaran total tanin ekstrak daun ketapang dari penelitian yang pernah dilakukan. Menurut Tanamal dkk. (2017), ada beberapa faktor lingkungan tumbuh yang menyebabkan perbedaan kadar metabolit sekunder (tanin) dalam tanaman antara lain suhu, ketersediaan air, pencahayaan dan unsur hara. Selain itu faktor genetik juga dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder, tanaman yang berasal dari galur yang berbeda dalam varietas yang sama sangat mungkin menghasilkan jumlah metabolit sekunder yang berbeda (Sulichantini, 2015).

Berdasarkan analisis fitokimia secara kuantitatif terhadap kandungan flavonoid dan tanin pada ekstrak daun ketapang segar dan gugur yang telah dilakukan dalam penelitian ini, diperoleh hasil bahwa kandungan flavonoid dan tanin pada ekstrak daun ketapang gugur lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun ketapang segar. Menurut penelitian Achakzai dkk (2009) terhadap daun dari beberapa jenis tanaman, diperoleh bahwa kandungan fenolik dan

flavonoid pada daun tua lebih tinggi jika dibandingkan dengan daun muda. Selama periode pertumbuhan, tanaman mensintesis metabolit sekunder dan senyawa bioaktif dengan jumlah yang berbeda yang dipengaruhi oleh lingkungan dan bertambahnya usia daun (Farhoosh dkk., 2007).

Seema dkk (2015) menyatakan bahwa kandungan metabolit sekunder pada daun muda masih rendah, kemudian akan semakin meningkat seiring bertambahnya umur daun karena fotosintesis terjadi secara optimal. Cahaya matahari dan CO₂ merupakan sumber daya utama untuk proses fotosintesis dan tingkatnya secara interaktif mempengaruhi produksi metabolit primer dan sekunder (Ibrahim dkk., 2014). Menurut Jaakola (2003) sistesis flavonoid akan meningkat pada saat tanaman terkena cahaya matahari langsung (*sun direct exposure*) karena adanya aktivitas enzim Flavonon 3-hidroksilase (F3H) yang menstimulasi pembentukan senyawa golongan flavonoid.

E. Inokulasi *Saprolegnia* sp. pada Medium SDA (Sabouraud Dextrose Agar), Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis

Jamur yang digunakan pada penelitian ini adalah *Saprolegnia* sp. yang diperoleh dari *Indonesia Culture Collection* (InaCC) LIPI. Media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) dipilih karena merupakan media yang selektif untuk pertumbuhan jamur dan memiliki kandungan nutrisi yang cukup lengkap untuk memenuhi kebutuhan nutrisi pertumbuhan jamur (Kusdarwati dkk., 2016).

Tahap inokulasi *Saprolegnia* sp. dilakukan dengan sterilisasi peralatan yang akan digunakan, hal ini bertujuan untuk mematikan semua organisme yang ada pada alat-alat sehingga tidak mengkontaminasi pertumbuhan jamur

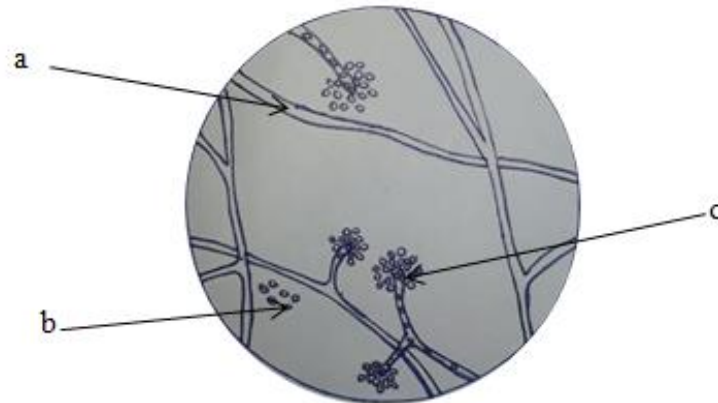
Saprolegnia sp (Hall dkk, 1992). Biakan murni *Saprolegnia* sp. diinokulasikan dengan mengambil potongan kecil miselium menggunakan *blade* yang sudah disterilkan lalu ditanam pada medium SDA. Setelah itu, medium tersebut diinkubasi pada suhu 27 °C selama 48 jam (Pradana dkk., 2014).

Pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis dilakukan untuk mengamati morfologi dan memastikan jamur yang digunakan adalah benar *Saprolegnia* sp. Pengamatan mikroskopis dengan pengecatan menggunakan *Lactophenol Cotton Blue*. Hasil pengamatan *Saprolegnia* sp. secara makroskopis dan mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 16 dan Gambar 17.



Gambar 16. *Saprolegnia* sp. secara makroskopis

Berdasarkan hasil pengamatan secara makroskopis, dapat dilihat *Saprolegnia* sp. memiliki ciri-ciri berkoloni seperti kapas dan berwarna putih. Hal ini sesuai dengan pernyataan Stoskopf (1993) bahwa genus *Saprolegnia* memiliki ciri yaitu terdapat koloni menyerupai kapas, berwarna putih dan biasa ditemukan pada permukaan kulit, sirip dan insang ikan.



Gambar 17. Morfologi *Saprolegnia* sp. secara mikroskopis dengan perbesaran 10x45.

Keterangan : a = hifa, b = zoospora, c = sporangium

Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopis, dapat dilihat bagian *Saprolegnia* sp. memiliki hifa yang tidak bersepta (bagian yang ditunjuk panah a pada Gambar 17.), zoospora (bagian yang ditunjuk panah b pada Gambar 17.), dan sporangium (bagian yang ditunjuk panah c pada Gambar 17.). Hal ini sesuai dengan pernyataan yang dikemukakan oleh Post (1987) bahwa *Saprolegnia* sp. merupakan jamur yang memiliki hifa panjang yang tidak bersepta, reproduksi secara aseksual yang menghasilkan zoospora. Selain itu, Stoskopf (1993) mengemukakan bahwa zoospora genus *Saprolegnia* dihasilkan dari hifa yang panjang.

F. Larutan Kontrol Positif

Agen antifungi yang digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini adalah ketokonazol. Ketokonazol merupakan antifungi golongan azol yang telah disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) sejak tahun 1981 (Maertens, 2004). Ketokonazol merupakan antijamur yang berspektrum luas,

bersifat fungistatik, dan bekerja dengan menghambat sintesis ergosterol yaitu komponen penting dalam pembentukan membran sel jamur (Indranarum, 2001). Tablet ketokonazol digerus dan ditimbang sehingga diperoleh serbuk ketokonazol sebanyak 10mg, lalu dilarutkan dalam aquades sebanyak 10ml sehingga diperoleh larutan ketokonazol dengan konsentrasi 50µg/50µl. (Pangalinan dkk., 2012).

G. Uji Zona Hambat

Uji zona hambat pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) gugur dan segar terhadap pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp. secara *in vitro*. Metode yang digunakan adalah difusi cakram dengan kertas *whatmann* berdiameter 0,5 cm. Setelah 48 jam diamati ada tidaknya zona bening yang terbentuk (Suganda dkk., 2004 dengan modifikasi). Luas zona hambat ekstrak daun ketapang gugur dan segar dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang terhadap *Saprolegnia* sp.

Perlakuan	Rerata Luas Zona Hambat (cm ²)
Kontrol -	0 ^a
Kontrol +	0,793 ^b
Ekstrak Daun Gugur 30% (G1)	1,058 ^b
Ekstrak Daun Gugur 60% (G2)	1,855 ^c
Ekstrak Daun Gugur 90% (G3)	2,537 ^d
Ekstrak Daun Segar 30% (S1)	0,940 ^b
Ekstrak Daun Segar 60% (S2)	1,662 ^c
Ekstrak Daun Segar 90% (S3)	2,466 ^d

Keterangan: Hasil analisis ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%, menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata yang signifikan.

Berdasarkan data pada Tabel 6 diketahui masing-masing ekstrak daun ketapang gugur dan segar dengan konsentrasi 30, 60 dan 90% memiliki

kemampuan untuk membentuk zona hambat terhadap *Saprolegnia* sp. Luas zona hambat paling kecil hingga paling besar pada masing-masing ekstrak daun gugur dan segar secara berurutan yaitu 30, 60 dan 90%. Konsentrasi 90% memiliki luas zona hambat yang paling besar jika dibandingkan dengan konsentrasi lainnya pada masing-masing ekstrak daun gugur dan segar, yaitu dengan nilai 2,537 cm² pada ekstrak daun gugur dan 2,466 cm² pada ekstrak daun segar. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi konsentrasi senyawa flavonoid dan tannin yang terkandung, sehingga zona hambat yang terbentuk akan semakin besar. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Hidayati dkk (2002) bahwa flavonoid dan tanin yang terkandung pada daun ketapang dapat berfungsi sebagai antifungi.

Apabila masing-masing ekstrak dibandingkan berdasarkan konsentrasi yang sama maka diketahui bahwa ekstrak daun ketapang gugur menghasilkan zona hambat yang lebih besar daripada ekstrak daun ketapang segar pada masing-masing konsentrasi 30, 60 dan 90%. Hal ini dikarenakan pada penelitian ini kandungan flavonoid dan tanin pada ekstrak daun ketapang gugur lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun ketapang segar, sehingga ekstrak daun segar memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Saprolegnia* sp. yang lebih besar. Menurut Oliveira dkk (2016), flavonoid berperan dalam menghambat pertumbuhan jamur dengan menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel, gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa flavonoid akan membentuk kombinasi dengan fosfolipid dari membran sel jamur sehingga menyebabkan perubahan komponen organik dan

transpor nutrisi sehingga akhirnya sel jamur akan terdenaturasi. Hong dkk (2011) menyatakan bahwa tanin berperan dalam menghambat biosintesis ergosterol yang merupakan sterol utama penyusun membran sel jamur yang mengakibatkan pembentukan dinding sel kurang sempurna.

Apabila dibandingkan dengan kontrol maka dapat dilihat ekstrak daun ketapang gugur dan segar membentuk zona hambat yang lebih besar. Nilai luas zona hambat pada kontrol positif ketokonazol adalah $0,792 \text{ cm}^2$, sedangkan luas zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak daun ketapang gugur dan segar dengan konsentrasi 30% adalah $1,058$ dan $0,940 \text{ cm}^2$. Hal ini menunjukkan nilai konsentrasi hambar minimal (KHM) ekstrak daun ketapang gugur dan segar terhadap jamur *Saprolegnia* sp. adalah 30%. Kontrol negatif yang digunakan pada uji zona hambat ini menggunakan aquades murni untuk memastikan tidak ada aktivitas antimikrobia dari pelarut yang digunakan dalam pengenceran ekstrak daun ketapang. Luas zona hambat ekstrak daun ketapang gugur dan segar terhadap *Saprolegnia* sp. dapat dilihat pada Gambar 18 a dan b.



Gambar 18. (a) Zona hambat kontrol -, ekstrak daun ketapang gugur 30%, 60% dan 90%. (b) Zona hambat kontrol +, ekstrak daun ketapang segar 30%, 60% dan 90%.

Hasil dari uji zona hambat pada penelitian ini selanjutnya dianalisis dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) untuk melihat letak beda nyata antar perlakuan. Berdasarkan uji DMRT yang telah dilakukan diketahui bahwa terdapat beda nyata antar konsentrasi ekstrak 30, 60, dan 90% pada masing-masing ekstrak daun gugur dan segar. Jika dibandingkan antara ekstrak daun gugur dan segar pada masing-masing konsentrasi yang sama, maka tidak terdapat perbedaan nyata yang signifikan (Tabel 6.).

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan simpulan sebagai berikut:

1. Masing – masing ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) yang gugur dan segar dengan konsentrasi 30, 60, dan 90% berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp. secara *in vitro*.
2. Ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) yang gugur memiliki efektivitas yang cenderung lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp. secara *in vitro* dibandingkan ekstrak daun ketapang segar walaupun secara analisis statistik tidak menunjukkan beda nyata.

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan saran sebagai berikut:

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas ekstrak daun ketapang terhadap *Saprolegnia* sp. secara *in vivo*.
2. Perlu dilakukan identifikasi terhadap fungi yang digunakan sampai tingkat spesies.
3. Perlu ditelaah lebih jauh perbandingan kasus penyakit pada ikan yang disebabkan oleh jamur dan bakteri.
4. Perlu dilakukan uji kadar air terhadap simplisia daun yang digunakan.
5. Perlu diperhatikan peletakan ring whatmann pada uji zona hambat.

DAFTAR PUSTAKA

- Achakzai, A.K.K., Achakzai, P., Masood, A., Kayani, S.A., dan Tareen, R.B. 2009. Response of plant parts and age on the distribution of secondary metabolites on plants found in quetta. *Pakistan Journal of Botany* 41(5): 2129-2135.
- Ahmed, S.M., Swamy, V., Dhanapal, P.G.R., dan Chandrashekara, V.M. 2005. "Anti-diabetic" activity of *Terminalia catappa* L. leaf extracts in Alloxan-induced diabetic rats. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics* 4 (1): 36–39.
- Aisyah., Putri, K.A., Suriani., Iswadi., dan Ilyas, A. 2017. Pengaruh kandungan senyawa pada ekstrak daun ketapang, n-heksan, metil asetat, metanol, dan campuran terhadap nilai efisiensi dye sensitized solar cell (DSSC). *Al-Kimia* 5(2): 170-180.
- Akiyama, H.K., Fujii, O., Yamasaki, T., Oono, K., dan Iwatsuki. 2001. Antibacterial action of several tannin against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48: 487–491.
- Aminah., Tomayahu, N., dan Abidin, Z. 2017. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit buah alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 4(2): 226-230.
- Andreas, M.S. 2016. Identifikasi dan prevalensi jamur pada ikan gurami (*Osporonemus gouramy*) di pasar modern Surabaya. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga.
- Anggani, O. F., Kusdarwati, R., dan Suprpto, H. 2015. Potensi *Bacillus licheniformis* dan *Streptomyces olivaceoviridis* sebagai penghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp. penyebab saprolegniasis pada ikan secara *in vitro*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 7(2): 133-140.
- Ashour, A.A., Mustafa, S.A., dan Yassein, S.N. 2017. Histopathological studies on common carp (*Cyprinus carpio* L.) infected with *Saprolegnia* sp. and treated with Virkon® S. *Mirror of Research in Veterinary Sciences and Animals* 6(1): 19-30.
- Assegaf, M., Hastuti, P., Hidayat, C., dan Supriyadi. 2012. Optimasi ekstraksi oleoresin pala (*Myristica fragrans* Houtt) asal Maluku Utara menggunakan response surface methodology (RSM). *Agritech* 32(4): 383-391.
- Backer, C.A. dan Brink, B.v.D. 1963. *Flora of Java Vol 1*. Springer, Netherland. Halaman: 227.
- Barnet, H.L., dan Hunter, B.B. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi (4th Edition)*. The American Phytopathological Society, Minnesota. Halaman: 94.

- Bintoro, A., Ibrahim, M.A., dan Situmeang, B. 2017. Analisis dan identifikasi senyawa saponin dari daun bidara (*Zhizipus mauritania* L.). *Jurnal ITEKIMIA* 2(1): 84-94.
- Bowo, A.T., Sunarto., dan Rachimi. 2014. Pengaruh ekstrak daun ketepeng (*Cassia alata* L.) terhadap pencegahan jamur *Saprolegnia* sp. pada telur ikan gurame (*Osphronemus gouramy*). *Jurnal Ruaya* 1 (1) : 8–16.
- Christoper, W., Natalia, D., dan Rahmayanti, S. 2017. Uji aktivitas antijamur ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. Ex K. Heyne) terhadap *Trichophyton mentagrophytes* secara *in vitro*. *Jurnal Kesehatan Andalas* 6(3): 685-689.
- Dellavalle, P.D., Cabrera, S., Alem, D., Larranaga, P., Ferreira, F., dan Rizza, M.D. 2011. Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus *Alternaria* spp. *Chilean Journal of Agricultural Research* 71(2): 231-239.
- Dewi, S., Assegaf, S.N.Y.R.S., Natalia, D., dan Mahyarudin. 2019. Efek ekstrak etanol daun kesum (*Polygonum minus* Huds.) sebagai antifungi terhadap *Trichophyton rubrum*. *Jurnal Kesehatan Andalas* 8(2): 198-203.
- Diansyah, S., dan Diana, F. 2017. Pengaruh ekstrak *Tagetes erecta* L. terhadap pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp. secara *In Vitro*. *Jurnal Perikanan Tropis* 4(2): 199-208.
- Egina., Nuryanti, S., dan Pursitasari, I.D. 2014. Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado (*Agave angustifolia*) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. *Jurnal Akademi Kimia* 3(3): 167-172.
- Faizal, M., Noprianto, P., dan Amelia, R. 2009. Pengaruh jenis pelarut, massa biji, ukuran partikel, dan jumlah siklus terhadap Yield ekstraksi minyak biji ketapang. *Jurnal Teknik Kimia* 2 (16) : 28–34.
- Farhoosh, R., Golmovahhed, G.A., dan Khodaparast, M.H.H. 2007. Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis* L.). *Food Chemistry* 100:231-236.
- Febriyanti, A. 2020. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun muda, daun tua dan daun campuran gaharu (*Aquilaria malaccensis* L.) budidaya terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Naskah Skripsi S1*. Fakultas Kehutanan, Universitas Sumatera Utara.
- Gillman, E.F., dan Dennis, G.W. 1994. *Terminalia catappa* (Tropical Almond). Fact Sheet ST-626, Florida. Halaman: 18.
- Hall, G.S., Pratt-Rippin, K., dan Washington, J.A. 1992. Evaluation of chemiluminescent probe assay for identification of hitoplasma capsulatum isolate. *Journal of Clinical Microbiology* 30: 3002-3004.
- Hermawan, H., Sari, B.L., dan Nashrianto, H. 2018. Kadar polifenol dan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat dan metanol buah ketapang (*Terminalia catappa* L.). *Jurnal Online Mahasiswa* 1(1): 1-8.

- Hernawati, R.D. 2015. Inventarisasi patogen pada ikan botia (*Chromobotia macracanthus* Bleeker) di stasiun karantina ikan kelas I Supadio, Pontianak. *Jurnal Sains Veteriner* 33(1): 103-109.
- Hidayati, E., Juli, N., dan Marwani, E. 2002. Isolasi *Enterobacteriaceae* patogen dari makanan berbumbu dan tidak berbumbu kunyit (*Curcuma longa* L.) serta uji pengaruh ekstraksi kunyit terhadap pertumbuhan bakteri yang diisolasi. *Jurnal Matematika dan Sains* 7(2): 43-52.
- Hong, L.S., Ibrahim, D., Kassim, J., dan Sulaiman, S. 2011. Gallic acid: an anticandidal compound in hydrolysable tannin extracted from the barks of *Rhizophora apiculata* Blume. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 1(6): 75-79.
- Howell, A.B. 2004. *Hydrozable Tannin Extracts from Plants Effective at Inhibiting Bacterial Adherence to Surfaces*. United State Patent Application no. 20010019710.
- Ibrahim, M.H., Jaafar, H.Z., Karimi, E., dan Ghasemzadeh, A. 2014. Allocation of secondary metabolites, photosynthetic capacity, and antioxidant activity of Kacip Fatimah (*Labisa pumila* Benth) in response to CO₂ and light intensity. *The Scientific World Journal* 10(1155): 1-13.
- Indranarum, T., dan Suyoso, S. 2001. Penatalaksanaan Tinea Kapitis. *Berkala Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin* 13(2): 30-35.
- Irianto, A. 2005. *Patologi Ikan Teleostei*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. Halaman: 178.
- Jaakola, L. 2003. Flavonoid biosynthesis in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). *Acta Horticultura* 49(618): 415-419.
- Jony, M., Abdullah, F.A., Kumar, B.R. 2013. A comprehensive review on pharmacological activity of *Terminalia catappa* (combreteceae)- an update. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development* 1(2): 65-70.
- Kusdarwati, R., Murtinintias, P., dan Meles, D.K. 2013. Uji aktivitas antifungi ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap *Saprolegnia* sp secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 5(1): 15-21.
- Kusdarwati, R., Sudarno., dan Hapsari, A. 2016. Isolasi dan identifikasi fungi pada ikan maskoki (*Carassius auratus*) di bursa ikan hias gunung sari Surabaya Jawa Timur. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 8(1): 1-15.
- Maertens, J.A. 2004. History of the development of azole derivatives. *Clin Microbiol Infect* 10(1): 1-10.
- Manumpil, S., Tumbol, R.A., dan Lasut, M.T. 2015. Fish disease mapping in North Sulawesi Province. *Aquatic Science Management* 3(2): 38-44.

- Marjenah., dan Putri, N.P. 2017. Morphological characteristic and physical environment of *Terminalia catappa* in East Kalimantan Indonesia. *Asian Journal of Forestry* 1(1): 33-39.
- Moiz, A., Ansari., Amiya, A., Zeeshan, F., dan Saif, H. 2013. Natural phenolic compounds: a potential antifungal agent. *Formatex* 1(11): 89-95.
- Mujim, S. 2010. Pengaruh ekstrak rimpang jahe (*Zingiber officinale* Rocs.) terhadap pertumbuhan *Phytum* sp. penyebab penyakit rebah kecambah mentimun secara *in vitro*. *Jurnal HPT Tropika* 10(1): 59-63.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan* 7(2): 361-367.
- Mukhriani., Nonci, F.Y., dan Mumang. 2014. Penetapan kadar tanin total ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) secara spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi FIK UINAM* 2(4): 154-158.
- Mulia, K., Hasan, A.E.Z., dan Suryani. 2016. Total phenolic, anticancer and antioxidant activity of ethanol extract of *Piper retrofractum* Vahl from Pamekasan and Karang Asem. *Current Biochemistry* 3(2): 80-90.
- Naim, R. 2004. *Senyawa Antimikroba dari Tanaman*. IPB Press, Bogor. Halaman: 32.
- Noga, E.J. 2000. *Fish Disease: Diagnosis and Treatment*. Iowa State Press, Iowa. Halaman: 67.
- Nuryati, S., Aulia, N., dan Rahman. 2015. Efektivitas ekstrak batang *Musa paradisiaca* untuk pengendalian infeksi *Saprolegnia* sp. pada larva ikan gurami. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 14(2): 151-158.
- Nuryati, S., Rahman., dan Taukhid. 2005. Kajian potensi antifungi ketapang (*Terminalia catappa* L.), sirih (*Piper betle* L.), jambu biji (*Psidium guajava* L.), dan sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap pertumbuhan cendawan akuatik *Aphanomyces* secara *in vitro*. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 4 (2) : 115–123.
- Oleivera, V.M., Carraro, E., Auler, M.E., dan Khalil, N.M. 2016. Quercetin and rutin as potential agents antifungal against *Cryptococcus* spp. *Brazilian Journal of Biology* 76(4): 1029-1034.
- Pangalinan, F.R., Kojong, N., dan Yamlean, P.V.Y. 2012. Uji aktivitas antijamur ekstrak etanol kulit batang rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap jamur *Candida albicans* secara *in vitro*. *Pharmacon* 1(1): 7-12.
- Pangestuti, I.E., Sumardianto., dan Amalia, U. 2017. Skrinning senyawa fitokimia rumput laut *Sargassum* sp. dan aktivitasnya sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. *Saintek Perikanan* 12(2): 98-102.
- Pasaribu, G., dan Setyawati, T. 2011. Aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak kulit kayu raru (*Cotylelonium* sp.). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan* 29(4): 17-22.

- Pauly, G. 2001. *Cosmetic, Dermatological and Pharmaceutical Use of an Extract of Terminalia catappa*. United States Patent Application. Halaman: 2.
- Post, G. 1987. *Textbook of Fish Health*. TFH Publication, New Jersey. Halaman: 288.
- Pradana, D., Suryanto, D., dan Yunasfi. 2014. Uji daya hambat ekstrak kulit batang *Rhizophora mucronata* terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae*, dan jamur *Saprolegnia* sp. secara *in vitro*. *Jurnal Aquacoastmarine* 2(1): 78-92.
- Priyanto, Y., Mulyana., dan Mumpuni, F.S. 2016. Pengaruh pemberian daun ketapang (*Terminalia catappa*) terhadap pertumbuhan dan tingkat kelangsungan hidup benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Pertanian* 7(2): 44-50.
- Pujaningsih, R.I., Sulistyanto, B., dan Sumarsih, S. 2018. Observation of *Muntingia calabura*'s leaf extract as feed additive for livestock diet. *IOP Conf. Series: Earth and Environment Science* 119(01): 1-6
- Rahmantya, K.F., Asianto, A.D., Wibowo, D., Wahyuni, T., dan Somad, W.A. 2015. *Kelautan dan Perikanan dalam Angka Tahun 2015*. Pusat Data, Statistik, dan Informasi, Jakarta.
- Rahmantya, K.F., Asianto, A.D., Wibowo, D., Wahyuni, T., dan Somad, W.A. 2016. *Informasi Kelautan dan Perikanan*. Pusat Data, Statistik, dan Informasi, Jakarta.
- Rajesh, B.R., Potty, V.P., dan Sreelekshmy, S.G. 2016. Study of total phenol, flavonoids, tannin content and phytochemical screening of various crude extracts of *Terminalia catappa* L. leaf, stem bark and fruit. *International Journal of Applied and Pure Science and Agriculture* 2(6): 291-296.
- Ramaiah, N. 2006. A review on fungal diseases of algae, marine fishes, shrimps and coral. *Journal Biological Oceanography Division* 35(4) : 380–387.
- Reo, A.R., Berhimpon, S., dan Montolalu, R. 2017. Metabolit sekunder gorgonia (*Paramuricea clavata*). *Jurnal Ilmiah Platax* 5(1): 42-48.
- Sani, Y. N., Danladi, S., Azemin, A. W., Rao, M. U. S., Mohd, K. S. dan Dharmaraj, S. 2015. Effects of extracting solvents on total phenolic content, total flavonoid content and anti-oxidant activity of *Andrographis paniculata* from Kemaman, Malaysia. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sains* 6(3): 1397-1404.
- Seema, J., Meeta, B., Meenakshi, B., dan Manjushree, M. 2015. Comparative study of young and mature leaves of *Terminalia catappa* for evaluation of physico-chemical, pharmacognosis and phytochemical analysis. *International Journal of Life Science Special Issues* A4: 12-20.
- Setyabudi, C., Tanda, S., Santosa, W.I., dan Soetaredjo, F.E. 2015. Studi *in vitro* ekstrak kulit jeruk purut untuk aplikasi terapi diabetes melitus. *Journal Ilmiah Widya Teknik* 14(01): 15-19.

- Setyaningsih, D. 2006. Peranan aktivitas enzim β -Glukosidase pada pembentukan flavor vanilla selama proses kuring. *Disertasi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sine, Y., dan Fallo, G. 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Pendidikan Biologi* 1 (1): 9–12.
- Stoskopf, M.K. 1993. *Fish Medicine*. WB Saunders Company, Mexico. Halaman: 219-220.
- Suganda, A.G., Sukandar, E.Y., dan Hardhiko, R.S. 2004. Aktivitas antimikroba ekstrak etanol, ekstrak air daun yang dipetik dan daun gugur pohon ketapang (*Terminalia catappa* L.). *Jurnal ACTA Pharmaceutica Indonesia* 29(4): 129-133.
- Sulichantini, E.D. 2015. Produksi metabolit sekunder melalui kultur jaringan. *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian Ke-1*. Halaman: 205-212
- Sumarlin, L., Suprayogi, A., Rahminiwati, M., dan Tjachja, A. 2015. Bioaktivitas ekstrak metanol daun namnam serta kombinasinya dengan madu trigona. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 26(2): 144-154.
- Sumino., Supriyadi, A., dan Wardiyanto. 2013. Efektivitas ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) untuk pengobatan infeksi *Aeromonas salmonicida* pada ikan patin (*Pangasioniodon hypophthalmus*). *Jurnal Sain Veteriner* 31(1): 79-88.
- Suwandi, D. W. 2015. Aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari* 6 (1) : 4-16.
- Syaifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder; Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Deepublish publisher, Yogyakarta. Halaman: 245.
- Tampemawa, P.V., Pelealu, J.J., dan Kandou, F.E.F. 2016. Uji efektivitas ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap bakteri *Bacillus amyloliquefaciens*. *Jurnal Ilmiah Farmasi* 5 (1): 308–320.
- Thomson, L.A.J., dan Evans, B. 2006. *Traditional Tree Initiative*. Permanent Agricultural Resources, Hawaii. Halaman: 2, 5.
- Tiwari, P., Kumar, B., dan Kaur, M. 2011. Phytochemical screening and extraction: a review. *International Pharmaceutica Scientia* 1(1): 98-107.
- Thomson, L.A.J., dan Evans. 2006. *Terminalia catappa (Tropical Almond) Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*. Permanent Agriculture Resource, Hawaii. Halaman: 2-9.
- Tjitrosoepomo, G. 2002. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. Halaman: 152.

- Ulkhag, M.F., Budi, D.S., Mahasri, G., dan Kismiyati. 2017. Identifikasi ektoparasit pada benih ikan mas (*Cyprinus carpio*) di balai ikan kabat, Kabupaten Banyuwangi. *Jurnal Sain Veteriner* 35(2): 197-207.
- Van den Berg, A.H., Mc.Laggan, D., Dieguez-Uribeondo, J., dan Van West, P. 2013. The impact of the water moulds *Saprolegnia diclina* and *Saprolegnia parasitica* on natural ecosystems and the aquaculture industry. *Fungal Biology Reviews* 27(2): 33-42.
- Vidhyasekaran, P. 2004. *Concise Encyclopedia of Plant Pathology*. The Haword Press, New York. Halaman: 31.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. UGM Press, Yogyakarta. Halaman: 566-567.
- Volk, W.a., dan Wheeler, M.F. 1993. *Mikrobiologi Dasar Jilid 1*. Erlangga, Jakarta. Halaman: 87-89.
- Woo, T.K., Bruno, D.W., dan Lim, S.L.H. 2002. *Diseases and Disorders of Finfish in Cage Culture*. CABI Publishing, New York. Halaman: 137-138.
- Yuhri, M.K. 2013. Keanekaragaman Jenis dan Komposisi Jamur Makroskopis di Kawasan Cagar Alam Hutan Gebugan Kecamatan Berga Kabupaten Semarang. *Skripsi*. IKIP PGRI Semarang, Semarang.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Identifikasi Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS FARMASI

Sekip Utara, Yogyakarta 55281 Telp./Fax. +62 274 543120
http://farmasi.ugm.ac.id, E-mail: farmasi@ugm.ac.id

SURAT KETERANGAN

No.: 19. 9.12 /UN1/FFA/BF/PT/2019

Yth. Sdr. Antonius Fajar Putranto
NIM. 150801696
Universitas Atma Jaya Yogyakarta
Yogyakarta

9 Desember 2019

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi sampel yang Saudara kirimkan ke Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, adalah :

No.Pendaftaran	Jenis	Suku
161	<i>Terminalia catappa</i> L.	Combretaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,
Dekan



Prof. Dr. Agung Endro Nugroho, M.Si., Apt

Ketua Departemen Biologi Farmasi

Dr. Indah Purwantini, M.Si., Apt.

Lampiran 2. Perhitungan Berat Rendemen

a. Ekstrak Daun Ketapang Gugur

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100\%$$

$$\text{Hasil perhitungan Ulangan 1} = \frac{10,37}{30} \times 100\% = 34,56 \%$$

$$\text{Hasil perhitungan Ulangan 2} = \frac{10,69}{30} \times 100\% = 35,63 \%$$

$$\text{Hasil perhitungan Ulangan 3} = \frac{10,74}{30} \times 100\% = 35,80 \%$$

$$\text{Rata-rata berat rendemen} = \frac{(10,37+10,69+10,74) : 3}{30} \times 100\% = 35,33 \%$$

b. Ekstrak Daun Ketapang Segar

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100\%$$

$$\text{Hasil perhitungan Ulangan 1} = \frac{9,89}{30} \times 100\% = 32,96 \%$$

$$\text{Hasil perhitungan Ulangan 2} = \frac{10,21}{30} \times 100\% = 34,03 \%$$

$$\text{Hasil perhitungan Ulangan 3} = \frac{9,96}{30} \times 100\% = 33,20 \%$$

$$\text{Rata-rata berat rendemen} = \frac{(9,89+10,21+9,96) : 3}{30} \times 100\% = 33,40 \%$$

Lampiran 3. Perhitungan Flavonoid Kuantitatif

a. Ekstrak Daun Ketapang Segar

Ulangan 1

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0258x + 0,0195$$

$$0,621 = 0,0258x + 0,0195$$

$$x = C = 23,3139535$$

$$\text{TFC} = c \times n \times \frac{v}{\text{g serbuk daun}}$$

$$\text{TFC} = 23,3139535 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$\text{TFC} = 7,763545651 \text{ mg QE/g serbuk}$$

Ulangan 2

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0258x + 0,0195$$

$$0,625 = 0,0258x + 0,0195$$

$$x = C = 23,4689922$$

$$TFC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TFC = 23,4689922 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TFC = 7,81517442 \text{ mg QE/g serbuk daun}$$

Ulangan 3

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0258x + 0,0195$$

$$0,615 = 0,0258x + 0,0195$$

$$x = C = 23,0813953$$

$$TFC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TFC = 23,0813953 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TFC = 7,68510465 \text{ mg QE/g serbuk daun}$$

Ulangan 4

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0258x + 0,0195$$

$$0,627 = 0,0258x + 0,0195$$

$$x = C = 23,5465116$$

$$TFC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TFC = 23,5465116 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TFC = 7,84098837 \text{ mg QE/g serbuk daun}$$

Ulangan 5

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0258x + 0,0195$$

$$0,611 = 0,0258x + 0,0195$$

$$x = C = 22,9263566$$

$$TFC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TFC = 22,9263566 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TFC = 7,63447674 \text{ mg QE/g serbuk daun}$$

Rata-rata TFC = 7,74805814 mg QE/g serbuk daun

b. Ekstrak Daun Ketapang Gugur**Ulangan 1**

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0258x + 0,0195$$

$$0,696 = 0,0258x + 0,0195$$

$$x = C = 26,2209302$$

$$TFC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TFC = 26,2209302 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TFC = 8,73156977 \text{ mg QE/g serbuk}$$

Ulangan 2

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0258x + 0,0195$$

$$0,686 = 0,0258x + 0,0195$$

$$x = C = 25,8333333$$

$$TFC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TFC = 25,8333333 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TFC = 8,6025 \text{ mg QE/g serbuk daun}$$

Ulangan 3

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0258x + 0,0195$$

$$0,714 = 0,0258x + 0,0195$$

$$x = C = 26,9186047$$

$$TFC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TFC = 26,9186047 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TFC = 8,96389535 \text{ mg QE/g serbuk daun}$$

Ulangan 4

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0258x + 0,0195$$

$$0,744 = 0,0258x + 0,0195$$

$$x = C = 28,0813953$$

$$TFC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TFC = 28,0813953 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TFC = 9,35110465 \text{ mg QE/g serbuk daun}$$

Ulangan 5

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0258x + 0,0195$$

$$0,688 = 0,0258x + 0,0195$$

$$x = C = 25,9108527$$

$$TFC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TFC = 25,9108527 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TFC = 8,62831395 \text{ mg QE/g serbuk daun}$$

$$\text{Rata-rata TFC} = 8,85547674 \text{ mg QE/g serbuk daun}$$

Lampiran 4. Perhitungan Tanin Kuantitatif**a. Ekstrak Daun Ketapang Segar****Ulangan 1**

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0132x + 0,048$$

$$0,609 = 0,0132x + 0,048$$

$$x = C = 42,5$$

$$TTC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TTC = 42,5 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TTC = 14,1525 \text{ mg TAE/g serbuk daun}$$

Ulangan 2

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0132x + 0,048$$

$$0,613 = 0,0132x + 0,048$$

$$x = C = 42,8030303$$

$$TTC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TTC = 42,8030303 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TTC = 14,25340909 \text{ mg TAE/g serbuk daun}$$

Ulangan 3

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0132x + 0,048$$

$$0,612 = 0,0132x + 0,048$$

$$x = C = 42,7272727$$

$$TTC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TTC = 42,7272727 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TTC = 14,2281812 \text{ mg TAE/g serbuk daun}$$

Ulangan 4

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0132x + 0,048$$

$$0,613 = 0,0132x + 0,048$$

$$x = C = 42,8030303$$

$$TTC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TTC = 42,8030303 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TTC = 14,25340909 \text{ mg TAE/g serbuk daun}$$

Ulangan 5

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0132x + 0,048$$

$$0,614 = 0,0132x + 0,048$$

$$x = C = 42,8787879$$

$$TTC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TTC = 42,8787879 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TTC = 14,27863636 \text{ mg TAE/g serbuk daun}$$

$$\text{Rata-rata TTC} = 14,23322727 \text{ mg TAE/g serbuk daun}$$

b. Ekstrak Daun Ketapang Gugur

Ulangan 1

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0132x + 0,048$$

$$0,777 = 0,0132x + 0,048$$

$$x = C = 55,2272727$$

$$TTC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TTC = 55,2272727 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TTC = 18,39068182 \text{ mg TAE/g serbuk daun}$$

Ulangan 2

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0132x + 0,048$$

$$0,779 = 0,0132x + 0,048$$

$$x = C = 55,3787879$$

$$TTC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TTC = 55,3787879 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TTC = 18,44113636 \text{ mg TAE/g serbuk daun}$$

Ulangan 3

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0132x + 0,048$$

$$0,781 = 0,0132x + 0,048$$

$$x = C = 55,530303$$

$$TTC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TTC = 55,530303 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TTC = 18,54204545 \text{ mg TAE/g serbuk daun}$$

Ulangan 4

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0132x + 0,048$$

$$0,783 = 0,0132x + 0,048$$

$$x = C = 55,6818182$$

$$TTC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TTC = 55,6818182 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TTC = 18,54204545 \text{ mg TAE/g serbuk daun}$$

Ulangan 5

$$y \text{ (absorbansi)} = 0,0132x + 0,048$$

$$0,781 = 0,0132x + 0,048$$

$$x = C = 55,530303$$

$$TTC = c \times n \times \frac{v}{g \text{ serbuk daun}}$$

$$TTC = 55,530303 \times 33,3 \times \frac{0,3}{30}$$

$$TTC = 18,54204545 \text{ mg TAE/g serbuk daun}$$

$$\text{Rata-rata TTC} = 18,4140909 \text{ mg TAE/g serbuk daun}$$

Lampiran 5. Perhitungan Luas Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang terhadap *Saprolegnia* sp.

$$\text{Rumus : Luas Zona Hambat} = \pi \left[\left(\frac{d1}{2} \right)^2 - \left(\frac{d2}{2} \right)^2 \right]$$

a. Hasil Perhitungan Luas Zona Hambat Kontrol (+) Ketokonazol terhadap *Saprolegnia* sp.

Pengulangan	Perhitungan
1	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,1}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right] \\ &= 0,7536 \text{ cm}^2 \\ &= 0,75 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
2	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,2}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right] \\ &= 0,93415 \text{ cm}^2 \\ &= 0,93 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
3	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,1}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right] \\ &= 0,7536 \text{ cm}^2 \\ &= 0,75 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
4	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,2}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right] \\ &= 0,93415 \text{ cm}^2 \\ &= 0,93 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
5	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right] \\ &= 0,58875 \text{ cm}^2 \\ &= 0,6 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
Rata-rata	0,84 cm ²

b. Hasil Perhitungan Luas Zona Hambat Esktrak Daun Ketapang Gugur 30% terhadap *Saprolegnia* sp.

Pengulangan	Perhitungan
1	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,4}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right] \\ &= 1,34235 \text{ cm}^2 \\ &= 1,34 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
2	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,3}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right] \\ &= 1,1304 \text{ cm}^2 \\ &= 1,13 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
3	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,3}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right] \\ &= 1,1304 \text{ cm}^2 \\ &= 1,13 \text{ cm}^2 \end{aligned}$

4	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,1}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 0,7536 \text{ cm}^2 \\ &= 0,75 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
5	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,2}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 0,93415 \text{ cm}^2 \\ &= 0,93 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
Rata-rata	1,05 cm ²

c. Hasil Perhitungan Luas Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang Gugur 60% terhadap *Saprolegnia* sp.

Pengulangan	Perhitungan
1	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,9}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 2,6376 \text{ cm}^2 \\ &= 2,63 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
2	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,7}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 2,0724 \text{ cm}^2 \\ &= 2,07 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
3	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,5}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 1,57 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
4	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,4}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,6}{2}\right)^2 \right] \\ &= 1,4235 \text{ cm}^2 \\ &= 1,42 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
5	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,5}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 1,57 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
Rata-rata	1,85 cm ²

d. Hasil Perhitungan Luas Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang Gugur 90% terhadap *Saprolegnia* sp.

Pengulangan	Perhitungan
1	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{2,1}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 3,2656 \text{ cm}^2 \\ &= 3,26 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
2	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,9}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 2,6376 \text{ cm}^2 \\ &= 2,63 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
3	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,7}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 2,0724 \text{ cm}^2 \\ &= 2,07 \text{ cm}^2 \end{aligned}$

4	$\text{Luas zona hambat} = 3,14 \left[\left(\frac{1,9}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right]$ $= 2,6376 \text{ cm}^2$ $= 2,63 \text{ cm}^2$
5	$\text{Luas zona hambat} = 3,14 \left[\left(\frac{1,7}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right]$ $= 2,0724 \text{ cm}^2$ $= 2,07 \text{ cm}^2$
Rata-rata	2,53 cm ²

e. Hasil Perhitungan Luas Zona Hambat Daun Ketapang Segar 30% terhadap *Saprolegnia* sp.

Pengulangan	Perhitungan
1	$\text{Luas zona hambat} = 3,14 \left[\left(\frac{1,3}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right]$ $= 1,1304 \text{ cm}^2$ $= 1,13 \text{ cm}^2$
2	$\text{Luas zona hambat} = 3,14 \left[\left(\frac{1,1}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right]$ $= 0,7536 \text{ cm}^2$ $= 0,75 \text{ cm}^2$
3	$\text{Luas zona hambat} = 3,14 \left[\left(\frac{1,2}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right]$ $= 0,93415 \text{ cm}^2$ $= 0,93 \text{ cm}^2$
4	$\text{Luas zona hambat} = 3,14 \left[\left(\frac{1,1}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right]$ $= 0,7536 \text{ cm}^2$ $= 0,75 \text{ cm}^2$
5	$\text{Luas zona hambat} = 3,14 \left[\left(\frac{1,3}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right]$ $= 1,1304 \text{ cm}^2$ $= 1,13 \text{ cm}^2$
Rata-rata	0,94 cm ²

f. Hasil Perhitungan Luas Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang Segar 60% terhadap *Saprolegnia* sp.

Pengulangan	Perhitungan
1	$\text{Luas zona hambat} = 3,14 \left[\left(\frac{1,7}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right]$ $= 2,0724 \text{ cm}^2$ $= 2,07 \text{ cm}^2$
2	$\text{Luas zona hambat} = 3,14 \left[\left(\frac{1,9}{2} \right)^2 - \left(\frac{0,5}{2} \right)^2 \right]$ $= 2,6376 \text{ cm}^2$ $= 2,63 \text{ cm}^2$

3	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,4}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 1,34235 \text{ cm}^2 \\ &= 1,34 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
4	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,3}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 1,1304 \text{ cm}^2 \\ &= 1,13 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
5	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,3}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 1,1304 \text{ cm}^2 \\ &= 1,13 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
Rata-rata	1,66 cm ²

g. Hasil Perhitungan Luas Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang Segar 90% terhadap *Saprolegnia* sp.

Pengulangan	Perhitungan
1	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,9}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 2,6376 \text{ cm}^2 \\ &= 2,63 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
2	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{2,1}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 3,2656 \text{ cm}^2 \\ &= 3,26 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
3	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,7}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 2,0724 \text{ cm}^2 \\ &= 2,07 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
4	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,5}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 1,57 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
5	$\begin{aligned} \text{Luas zona hambat} &= 3,14 \left[\left(\frac{1,9}{2}\right)^2 - \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 \right] \\ &= 2,6376 \text{ cm}^2 \\ &= 2,63 \text{ cm}^2 \end{aligned}$
Rata-rata	2,43 cm ²

Lampiran 6. Hasil Anova-Duncan Zona Hambat Ekstrak Daun Ketapang terhadap *Saprolegnia* sp.

ANOVA

Zona Hambat

	Jumlah kuadrat	Derajat Bebas (df)	Rataan kuadrat	F	Sig.
Antar grup	26.496	7	3.785	20.682	.000
Dalam grup	5.856	32	.183		
Total	32.353	39			

Zona Hambat

Duncan^a

Perlakuan	Jumlah	Subset (bagian) Tingkat kepercayaan = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol Negatif	5	.0000			
Kontrol Positif	5		.7928		
Ekstrak Daun Segar 30%	5		.9404		
Ekstrak Daun Gugur 30%	5		1.0582		
Ekstrak Daun Segar 60%	5			1.6626	
Ekstrak Daun Gugur 60%	5			1.8547	
Ekstrak Daun Segar 90%	5				2.4366
Ekstrak Daun Gugur 90%	5				2.5371
Sig.		1.000	.363	.483	.713

Nilai rata-rata yang sama ditampilkan pada subset yang sama
Menggunakan *Harmonic Mean Sample Size* = 5.000

Keterangan: Ada perbedaan nyata yang signifikan antara perlakuan ekstrak daun gugur dan segar 30%, 60% dan 90%. Namun tidak ada perbedaan nyata yang signifikan antara ekstrak daun gugur dan segar dari masing-masing konsentrasi.

Lampiran 7. Perhitungan Standar Deviasi Berat Rendemen, Total Flavonoid, dan Total Tanin

Standar Deviasi Berat Rendemen

Ekstrak daun ketapang gugur

Ulangan 1 : 10,37 g

Ulangan 2 : 10,69 g

Ulangan 3 : 10,74 g

Mean : $\frac{10,37 + 10,69 + 10,74}{3} = 10,60$

$$\begin{aligned} \text{Varians} : \sigma^2 &= \frac{(-0,23)^2 + 0,09^2 + 0,14^2}{3} \\ &= \frac{0,0529 + 0,0081 + 0,0144}{3} \\ &= \frac{0,0754}{3} = 0,025 \end{aligned}$$

Standar deviasi : $\sqrt{0,025} = 0,158.. \rightarrow 0,16$

Ekstrak daun ketapang segar

Ulangan 1 : 9,89 g

Ulangan 2 : 10,21 g

Ulangan 3 : 9,96 g

Mean : $\frac{9,89 + 10,21 + 9,96}{3} = 10,02$

$$\begin{aligned} \text{Varians} : \sigma^2 &= \frac{(-0,13)^2 + 0,19^2 + (-0,06)^2}{3} \\ &= \frac{0,0169 + 0,0361 + 0,0036}{3} \\ &= \frac{0,0566}{3} = 0,018 \Rightarrow 0,02 \end{aligned}$$

Standar deviasi : $\sqrt{0,02} = 0,141.. \rightarrow 0,14$

Standar Deviasi Kadar Flavonoid**Ekstrak Daun Gugur**

Ulangan 1 : 8,73

Ulangan 2 : 8,60

Ulangan 3 : 8,96

Ulangan 4 : 9,35

Ulangan 5 : 8,63

Mean : $\frac{8,73 + 8,60 + 8,96 + 9,35 + 8,63}{5} = 8,85$

$$\begin{aligned} \text{Varians : } \sigma^2 &= \frac{(-0,12)^2 + (-0,25)^2 + 0,11^2 + 0,55^2 + (-0,22)^2}{5} \\ &= \frac{0,0144 + 0,0625 + 0,0121 + 0,3025 + 0,0484}{5} \\ &= \frac{0,4399}{5} \rightarrow 0,0879 \rightarrow 0,088 \end{aligned}$$

Standar deviasi : $\sqrt{0,088} = 0,29$ **Ekstrak Daun Segar**

Ulangan 1 : 7,76

Ulangan 2 : 7,81

Ulangan 3 : 7,68

Ulangan 4 : 7,84

Ulangan 5 : 7,63

Mean : $\frac{7,76 + 7,81 + 7,68 + 7,84 + 7,63}{5} = 7,74$

$$\begin{aligned} \text{Varians : } \sigma^2 &= \frac{0,02^2 + 0,07^2 + (-0,06)^2 + 0,1^2 + (-0,11)^2}{5} \\ &= \frac{0,0004 + 0,0049 + 0,0036 + 0,01 + 0,0121}{5} \\ &= \frac{0,031}{5} = 0,0062 \rightarrow 0,006 \end{aligned}$$

Standar deviasi : $\sqrt{0,006} = 0,077 \rightarrow 0,08$

Standar Deviasi Kadar Tanin**Ekstrak Daun Gugur**

Ulangan 1 : 18,39

Ulangan 2 : 18,44

Ulangan 3 : 18,49

Ulangan 4 : 18,54

Ulangan 5 : 18,49

Mean : $\frac{18,39 + 18,44 + 18,49 + 18,54 + 18,49}{5} = 18,47$

$$\begin{aligned} \text{Varians : } \sigma^2 &= \frac{(-0,08)^2 + (-0,03)^2 + 0,02^2 + 0,07^2 + 0,02^2}{5} \\ &= \frac{0,0064 + 0,0009 + 0,0004 + 0,0049 + 0,0004}{5} \\ &= \frac{0,013}{5} \rightarrow 0,0026 \end{aligned}$$

Standar deviasi : $\sqrt{0,0026} = 0,05$ **Ekstrak Daun Segar**

Ulangan 1 : 14,15

Ulangan 2 : 14,25

Ulangan 3 : 14,23

Ulangan 4 : 14,25

Ulangan 5 : 14,28

Mean : $\frac{14,15 + 14,25 + 14,23 + 14,25 + 14,28}{5} = 14,23$

$$\begin{aligned} \text{Varians : } \sigma^2 &= \frac{(-0,08)^2 + 0,02^2 + 0^2 + 0,02^2 + 0,05^2}{5} \\ &= \frac{0,0064 + 0,0004 + 0 + 0,0004 + 0,0025}{5} \\ &= \frac{0,0097}{5} = 0,0019 \end{aligned}$$

Standar deviasi : $\sqrt{0,0019} = 0,043 \rightarrow 0,04$

Lampiran 8. Dokumentasi



Gambar 1. Daun ketapang gugur yang telah dikeringkan



Gambar 2. Daun ketapang segar yang telah dikeringkan



Gambar 3. Serbuk daun ketapang gugur yang telah dihaluskan dengan *mesh*



Gambar 4. Serbuk daun ketapang segar yang telah dihaluskan dengan *mesh*



Gambar 5. Uji flavonoid ekstrak daun ketapang gugur



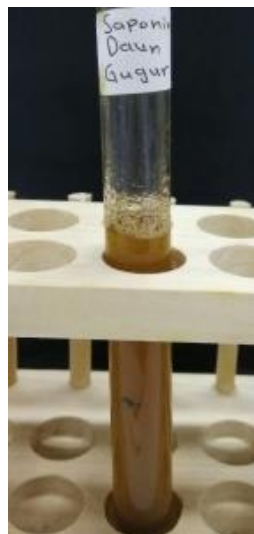
Gambar 6. Uji flavonoid ekstrak daun ketapang segar



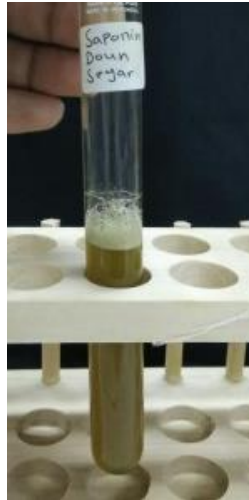
Gambar 7. Uji tanin ekstrak daun ketapang gugur



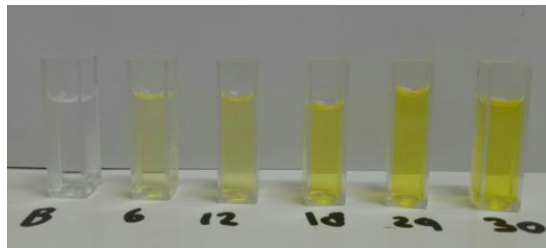
Gambar 8. Uji tanin ekstrak daun ketapang segar



Gambar 9. Uji saponin ekstrak daun ketapang gugur



Gambar 10. Uji saponin ekstrak daun ketapang segar



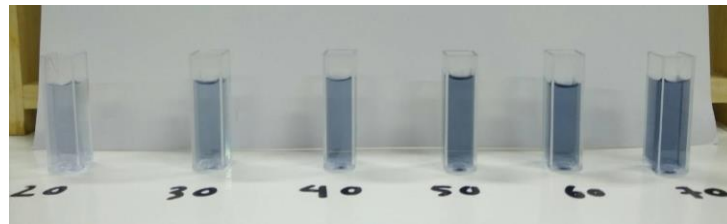
Gambar 11. Larutan standar quarsetin



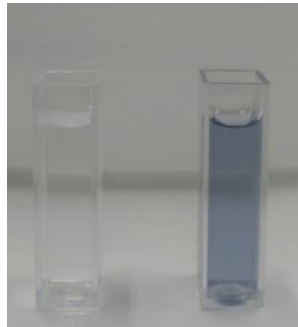
Gambar 12. Larutan uji flavonoid ekstrak daun ketapang segar 300 ppm



Gambar 13. Larutan uji flavonoid ekstrak daun ketapang gugur 300 ppm



Gambar 14. Larutan standar asam tanat

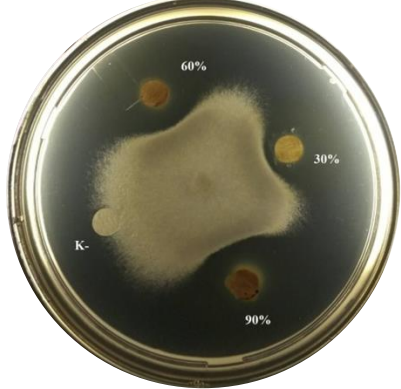
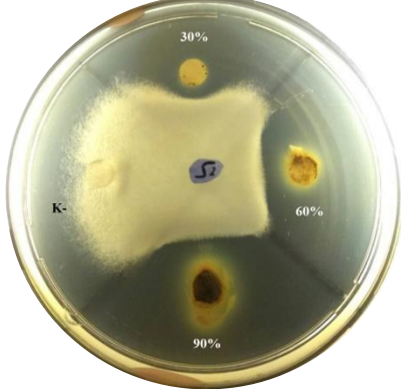



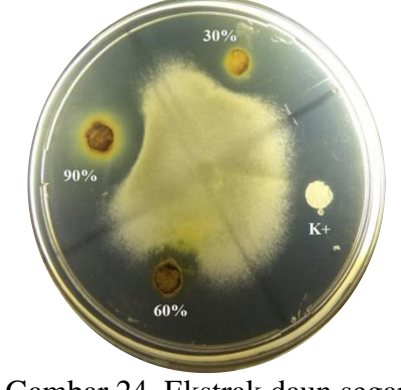


Gambar 15. Larutan uji tanin ekstrak daun ketapang segar 200 ppm

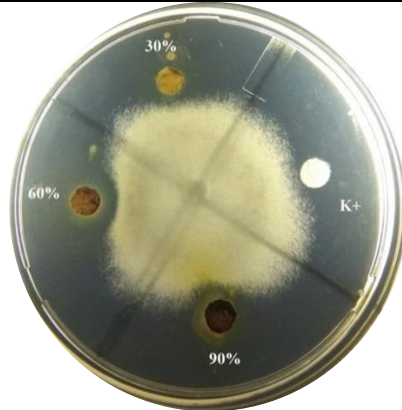


Gambar 16. Larutan uji tanin ekstrak daun ketapang gugur 200 ppm

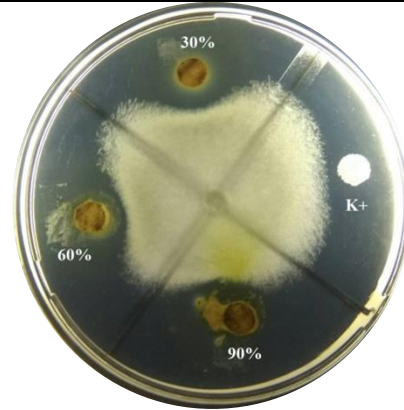
Ulangan	Ekstrak Daun Segar	Ekstrak Daun Gugur
1	<p>Gambar 17. Ekstrak daun gugur ulangan 1 dan Kontrol -</p>	<p>Gambar 18. Ekstrak daun segar ulangan 1 dan Kontrol -</p>

2	 <p data-bbox="459 698 874 763">Gambar 19. Ekstrak daun gugur ulangan 2 dan Kontrol -</p>	 <p data-bbox="909 698 1324 763">Gambar 20. Ekstrak daun segar ulangan 2 dan Kontrol -</p>
3	 <p data-bbox="459 1169 874 1234">Gambar 21. Ekstrak daun gugur ulangan dan Kontrol -</p>	 <p data-bbox="909 1169 1324 1234">Gambar 22. Ekstrak daun segar ulangan 3 dan Kontrol +</p>
4	 <p data-bbox="459 1628 874 1693">Gambar 23. Ekstrak daun gugur ulangan 4 dan Kontrol +</p>	 <p data-bbox="909 1628 1324 1693">Gambar 24. Ekstrak daun segar ulangan 4 dan Kontrol +</p>

5



Gambar 25. Ekstrak daun gugur
ulangan 5 dan Kontrol +



Gambar 26. Ekstrak daun segar
ulangan 5 dan Kontrol +