

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* L.)
DENGAN KONSENTRASI YANG BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Vibrio harveyi* SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
BUDIDAYA PERAIRAN**

Oleh:

**NASRULLAH BAI ARIFIN
NIM. 0410850057**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

MALANG

2009



**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* L.)
DENGAN KONSENTRASI YANG BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Vibrio harveyi* SECARA IN VITRO**

**Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mendapatkan Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya**

Oleh :
NASRULLAH BAI ARIFIN
NIM. 0410850057

DOSEN PENGUJI I

Dr. Ir. MAFTUCH, MS
TANGGAL :

DOSEN PENGUJI II

Ir. PURWOHADIJANTO
TANGGAL :

**MENYETUJUI,
DOSEN PEMBIMBING I**

Dr. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS
TANGGAL :

DOSEN PEMBIMBING II

Ir. ELLANA SANOESI, MS
TANGGAL :

**MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP**

Ir. MAHENO SRI WIDODO, MS
TANGGAL :

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena dengan rahmat dan hidayah-Nya penulisan skripsi ini dapat terselesaikan. Penyusunan skripsi merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Atas terselesaikannya penulisan skripsi ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

- Bapak Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku Dosen Pembimbing I
- Ibu Ir. Ellana Sanoesi, MS selaku Dosen Pembimbing II
- Bapak Dr. Ir. Maftuch, MS selaku Dosen Penguji I
- Bapak Ir. Poerwohadijanto selaku Dosen Penguji II
- Semua pihak yang telah memberikan dorongan dan bantuan selama penelitian dan penyusunan skripsi

Akhirnya penulis berharap semoga laporan ini dapat bermanfaat dan memberikan informasi bagi pihak yang berminat dan memerlukannya.

Malang, Januari 2009

Penulis

RINGKASAN

NASRULLAH BAI ARIFIN. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn.) dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi* secara In Vitro (Dibawah bimbingan. **Dr. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS** dan **Ir. ELLANA SANOESI, MS**).

Produksi udang windu di tambak mencapai puncaknya pada tahun 1992, yakni 130.000 ton. Namun, secara berturut-turut mengalami penurunan menjadi 100.000 ton pada tahun 1994, 80.000 ton pada tahun 1996 dan 50.000 ton pada tahun 1998. Produksi udang indonesia pada tahun 2003 mencapai 178.000 ton dengan rincian 90.000 ton udang windu, 43.000 ton udang vannamei dan sisanya 45.000 ton terdiri dari berbagai jenis udang. Kendala utama yang dijumpai dalam usaha pertambakan adalah serangan penyakit (virus, jamur, bakteri atau parasit). Salah satu jenis penyakit penyebab kematian dalam usaha budidaya udang adalah penyakit vibriosis yang disebabkan oleh bakteri vibrio. *Vibrio harveyi* merupakan salah satu penyebab utama penyakit ini.

Jarak pagar, yang dalam bahasa Yunani berarti tanaman obat, merupakan tanaman yang telah digunakan sejak lama dalam pengobatan tradisional. Sari pati cairan rebusan daunnya digunakan sebagai obat batuk dan antiseptik pasca melahirkan. Getahnya untuk antimikrobal melawan bakteri, pereda pendarahan luka, mengatasi gangguan pencernaan, serta mengobati sariawan dan sakit gigi. Daun dan ranting jarak pagar mengandung flavonoid, apigenin, vitexin, dan isovitexin. Selain itu, daun jarak pagar juga mengandung dimmer dari triterpene alkohol ($C_{63}H_{117}O_9$) dan dua flavonoid glikosida. Kadar tannin dalam kulit biji berkisar antara 0,42 - 2,12 %, dalam daun 7,41 - 8,28 % dan dalam kulit batang 8,06 - 9,38 %. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efektifitas daun jarak pagar sebagai alternatif pengobatan terhadap infeksi bakteri *Vibrio harveyi*.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, pada bulan Agustus - Nopember 2008. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* secara in vitro. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi awal dalam upaya alternatif penanggulangan penyakit vibriosis khususnya yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi*.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen, sedangkan rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan menggunakan enam perlakuan dan tiga kali ulangan. Perlakuan tersebut adalah konsentrasi ekstrak daun jarak pagar yaitu 15%, 20%, 25%, 30%, 35% dan 40%. Sebagai parameter utama dalam penelitian ini adalah diameter daerah hambatan ekstrak daun jarak pagar terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, sedangkan parameter penunjang dalam penelitian adalah pH media dan suhu inkubator.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun jarak pagar dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap lebar daerah hambatan

yang terbentuk. Rata-rata diameter hambatan untuk perlakuan A (15%) adalah 9,23 mm; perlakuan B (20%) rata-rata diameter daerah hambatan sebesar 9,6 mm; perlakuan C (25%) rata-ratanya adalah 9,9 mm; perlakuan D (30%) rata-ratanya yaitu 10,2 mm; perlakuan E (35%) rata-rata diameter hambatan sebesar 10,8 mm dan perlakuan F (40%) rata-rata diameter daerah hambatan sebesar 11,2 mm. Hubungan antara konsentrasi ekstrak daun jarak pagar dengan diameter daerah hambatan berbentuk regresi linier, dengan persamaan $Y = 0,079 x + 7,99$ dan nilai koefisien korelasi r sebesar 0,902. Ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dengan konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, 35% dan 40% bersifat bakteriostatik yaitu hanya menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*

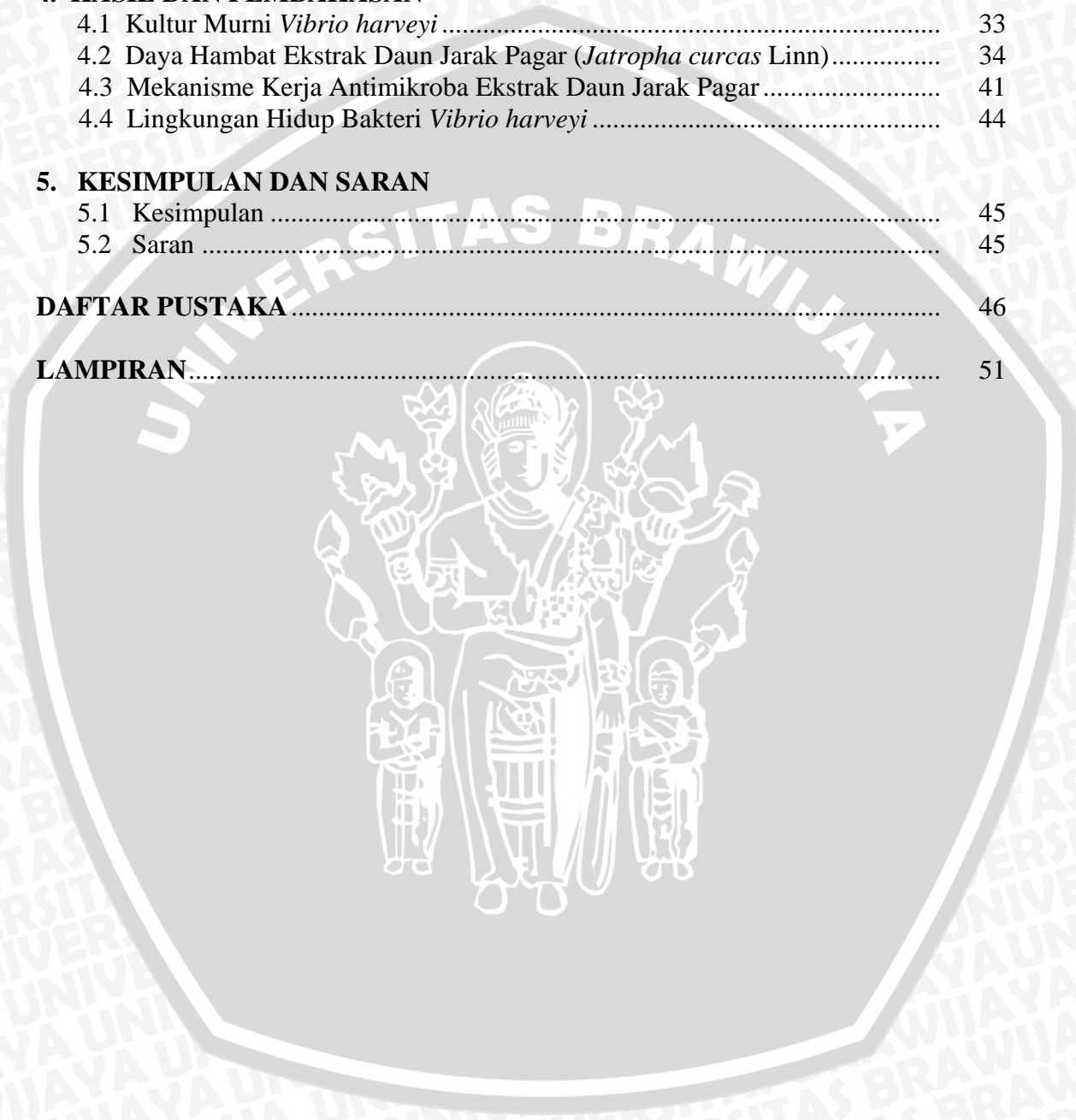
Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini, yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* Linn) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* secara in vivo



DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Kegunaan Penelitian	5
1.5 Hipotesis	5
1.6 Tempat dan Waktu	6
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Bakteri <i>Vibrio</i> sp.	7
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	7
2.1.2 Habitat dan Penyebaran	8
2.1.3 Metabolisme dan Pertumbuhan	9
2.1.4 Infeksi dan Tanda - Tanda Serangan	12
2.2 Jarak Pagar <i>Jatropha curcas</i> Linn.	14
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	14
2.2.2 Habitat dan Penyebaran	16
2.2.3 Perbanyakkan Tanaman	16
2.2.4 Kandungan Kimia	17
2.2.5 Mekanisme Kerja Anti Bakteri	18
2.3 Uji Efektifitas Anti Bakteri Secara In Vitro	19
2.3.1 Metode Pengenceran	20
2.3.2 Metode Cakram	20
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	21
3.1.1 Alat	21
3.1.2 Bahan	21
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian	22
3.2.1 Metode Penelitian	22
3.2.2 Rancangan Peneltian	23

3.3	Prosedur Penelitian	24
3.4	Pelaksanaan Penelitian.....	27
3.5	Parameter Uji	30
3.6	Analisa Data.....	31
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1	Kultur Murni <i>Vibrio harveyi</i>	33
4.2	Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (<i>Jatropha curcas</i> Linn).....	34
4.3	Mekanisme Kerja Antimikroba Ekstrak Daun Jarak Pagar	41
4.4	Lingkungan Hidup Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	44
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1	Kesimpulan	45
5.2	Saran	45
	DAFTAR PUSTAKA	46
	LAMPIRAN	51



1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Udang windu merupakan komoditas ekspor andalan pemerintah untuk memperoleh devisa negara sehingga pengembangan ekspornya menjadi perhatian utama. Hal ini terbukti dengan dicanangkannya PROTEKAN 2003 dengan target nilai ekspor sebesar 7,6 milyar dollar Amerika yang sekitar 6,78 milyar dollar Amerika (70 %) berasal dari hasil penjualan udang (Amri, 2003). Produksi udang windu di tambak mencapai puncaknya pada tahun 1992, yakni 130.000 ton. Namun, secara berturut-turut mengalami penurunan menjadi 100.000 ton pada tahun 1994, 80.000 ton pada tahun 1996 dan 50.000 ton pada tahun 1998 (Rukyani, 2000 *dalam* Amri, 2003). Akyama (2004) *dalam* Cholik, F., A. G. Jagatraya, R. P. Poernomo dan A. Jauzi (2005) menambahkan bahwa produksi udang Indonesia pada tahun 2003 mencapai 178.000 ton dengan rincian 90.000 ton udang windu, 43.000 ton udang vannamei dan sisanya 45.000 ton terdiri dari berbagai jenis udang. Penyebab turunnya produksi udang tersebut disebabkan oleh merosotnya kualitas lingkungan sehingga memicu penyebaran wabah penyakit (Rukyani, 2000 *dalam* Amri, 2003).

Penyakit dapat didefinisikan sebagai segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan suatu fungsi atau struktur dari alat tubuh atau sebagian alat tubuh, baik secara langsung maupun tidak langsung (Kordi, 2004). Penyakit muncul sebagai akibat interaksi antara faktor lingkungan, organisme penyebab penyakit (pathogen) dan inang. Organisme penyebab penyakit dapat dikelompokkan sebagai parasit, bakteri, fungi dan virus (Irianto, 2003). Kendala utama yang dijumpai dalam usaha pertambakan adalah serangan penyakit (virus, jamur, bakteri atau parasit) (Anonymous, 2006). Salah satu

jenis bakteri penyebab kematian dalam usaha budidaya udang adalah bakteri vibrio yang dikenal dengan penyakit kunang-kunang atau "luminescent vibriosis" yang bercahaya pada kondisi gelap. Spesies *V. harveyi* dan *V. penaeicida* yang diisolasi dari udang yang sakit dapat bersifat sangat patogen dan menjadi penyebab utama penyakit vibriosis (Saulnier, D., P. Haffner, C. Goarant, P. Levy, D. Ansquer, 2000).

Untuk menanggulangi penyakit kunang-kunang ini, beberapa obat sangat umum digunakan oleh pengelola panti benih, antara lain *Oxytetracycline*, *Furazolidone* dan *Chloramphenicol*. Penggunaan antibiotik tersebut secara terus menerus dapat menyebabkan resistensi bagi bakteri sehingga pengelola panti benih sering mengeluh bahwa antibiotik di atas tidak mampu mengatasi serangan bakteri kunang-kunang (Boer dan Zafran, 1992; Vaseeharan, B., P. Ramasamy, T. Murugan, J.C. Chen, 2005). Antibiotik tersebut juga dapat menyebabkan berubahnya bentuk (*deformity*) karapas dan rostrum (Baticados, M. C. L., C. R. Lavilla-Pitogo, E. R. Cruz-Lacierda, L. D. de la Pena, N. A. Sunaz, 1990). Selain itu, dapat menimbulkan masalah residu obat pada udang sehingga berdampak pada penolakan pasar udang tersebut karena membahayakan konsumen (Prajitno, 2007a). Sesuai dengan hasil penelitian Islamulhayati, S. Keman, R. Yudhastuti (2005) konsumsi udang windu yang mengandung residu khloramfenikol dalam jumlah banyak dan dalam waktu yang lama akan memberikan dampak terjadinya gambaran anemia pada mencit.

Oleh karena itu, perlu adanya upaya alternatif dalam penanggulangan penyakit dengan menggunakan bahan alami yaitu tanaman obat. Banyak tanaman obat yang menurut sejarah telah digunakan untuk menyembuhkan infeksi-infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang sekarang telah kebal terhadap antibiotik (Green, 2005). Salah satu tanaman obat yang dapat digunakan adalah jarak pagar. Secara ilmiah, jarak pagar

memiliki nama *Jatropha curcas* Linn. Dalam bahasa Yunani *Jatros* berarti dokter, sedangkan *trophe* berarti makanan atau nutrisi. Dengan kata lain *Jatropha curcas* berarti tanaman obat (Prihandana dan Hendroko, 2006). Daun jarak pagar digunakan untuk penyembuh batuk, zat antiseptik setelah melahirkan, pereda panas, pereda kembung, obat cacing, obat gusi bengkak, penyubur rambut, anti ketombe, antimalaria, peluruh batu ginjal dan pengencang payudara. Tidak hanya daun, minyak jarak dilaporkan digunakan sebagai obat cuci perut, obat kulit, rematik, penyubur rambut dan penyembuh luka. Getahnya untuk antimikroba melawan bakteri, pereda pendarahan luka, mengatasi gangguan pencernaan, serta mengobati sariawan dan sakit gigi (Prihandana, R., E. Hambali, S. Mudjalipah dan R. Hendroko, 2007). Taufan dan Taufiq (2007) menyatakan bahwa racun dari biji jarak mempunyai potensi sebagai obat pembasmi sel-sel kanker. Hasil penelitian Juan L., Y. Fang, T. Lin, C. Fang (2003) menyebutkan bahwa ekstrak curcin dari biji *Jatropha curcas* memiliki aktivitas antitumor

Pada penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* Linn) memiliki aktivitas antimikroba terhadap 12 jenis bakteri : *Edwardsiella tarda*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabillis*, *Shingella dysentriae*, *Tersinia enterocolitica*, *Salmonella pratyphi A*, *Salmonella pratyphi B*, *Vibrio cholerae*, *Citrobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* (Posangi, 2000).

1.2 Rumusan Masalah

Salah satu jenis bakteri penyebab kematian dalam usaha budidaya udang adalah bakteri vibrio (*V. harveyi*) yang dikenal dengan penyakit kunang-kunang atau

"luminescent vibriosis" yang bercahaya pada kondisi gelap. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mendapatkan suatu metode pencegahan dan penanggulangan penyakit vibriosis pada udang windu antara lain penggunaan obat-obatan dan antibiotik (Anonymous, 2006). Namun, menurut Prajitno (2007a) penggunaan antibiotik secara terus menerus akan menimbulkan masalah, yaitu timbulnya resistensi, penimbunan residu obat-obatan di dalam tubuh ikan atau udang, maupun pencemaran lingkungan yang akhirnya dapat mempengaruhi organisme perairan lainnya.

Untuk mengatasi masalah tersebut, perlu dicari alternatif pengendalian penyakit vibriosis khususnya yang disebabkan oleh *Vibrio harveyi* dengan memanfaatkan bioaktif alami. Tanaman jarak pagar telah digunakan sejak lama dalam pengobatan tradisional. Sari pati cairan rebusan daunnya digunakan sebagai obat batuk dan antiseptik pasca melahirkan. Senyawa kimia yang terkandung dalam daun jarak pagar yaitu saponin, flavonoida, tannin dan senyawa polifenol (Sinaga, 2008). Daun dan ranting jarak pagar juga mengandung flavonoid, apigenin, vitexin dan isovitexin. Selain itu, daun jarak pagar juga mengandung dimmer dari triterpene alkohol ($C_{63}H_{117}O_9$) dan dua flavonoid glikosida (Alamsyah, 2006). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar tannin dalam kulit biji berkisar antara 0,42 - 2,12 %, dalam daun 7,41 - 8,28 % dan dalam kulit batang 8,06 - 9,38 % (Hazril, 2005). Beberapa senyawa tersebut memiliki aktivitas antimikroba, yaitu persenyawaan fenol seperti flavonoid (apigenin) (Cushnie dan Andrew, 2005; Cowan, 1999); dan tannin (Cowan, 1999). Sebagaimana hasil penelitian Jones, G. A., T. A. McAllister, A. D. Muir dan K. J. Chen (1994) bahwa tannin yang diisolasi dari sainfoin (*Onobrychis viciifolia Scop.*) dapat menghambat pertumbuhan dan memiliki aktivitas protease terhadap bakteri *Butyrivibrio fibriosolvens* dan *Streptococcus bovis*. Pada penelitian lain disebutkan bahwa kurarinone, bioaktif flavonoid, dapat

menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* (Chen, L., X. Cheng, W. Shi., Q. Lu, V. L. Go, D. Heber, L. Ma. 2005).

Berdasarkan informasi tersebut dapat diambil suatu rumusan masalah, yaitu apakah ekstrak daun jarak pagar dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* secara in vitro? bagaimana pengaruh ekstrak daun jarak pagar dengan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* secara in vitro.

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi sumber informasi awal dalam upaya alternatif penanggulangan penyakit vibriosis khususnya yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi*.

1.5 Hipotesis

H₀ : Diduga penggunaan ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

H₁ : Diduga penggunaan ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, pada bulan Agustus-Nopember 2008.



2 TINJUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *Vibrio harveyi*

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Salle (1961), klasifikasi dari bakteri *Vibrio* spp. adalah sebagai berikut :

Phylum	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Sub Ordo	: Pseudomonadineae
Famili	: Spirillaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Species	: <i>Vibrio</i> spp.

Genus *Vibrio* bersifat gram negatif berbentuk batang lurus atau bengkok (kurva) dengan ukuran $0,5-0,3 \mu\text{m} \times 1,4-2,6 \mu\text{m}$. *Vibrio* tidak membentuk spora dan bergerak dengan flagel monotrik atau multitrik pada ujung sel. Semua jenis *vibrio* bersifat fakultatif anaerob dan kemoorganotrof serta sebagian besar bersifat oksidatif positif. Bentuk koloni halus, bulat cembung, berwarna putih keabu-abuan dan akan tampak selama inkubasi 48 jam pada 20°C dalam media non selektif (Hjeltnes dan Roberts, 2001). Hasil penelitian Harris, L., L. Owens dan S. Smith (1996) menunjukkan bahwa pada media VHA (*Vibrio harveyi* Agar) setelah inkubasi 48 jam pada 28°C , koloni *V. harveyi* tampak bulat kecil (diameter 2-5mm) berwarna hijau dan sebagian koloni ada yang berwarna kuning yang menunjukkan adanya fermentasi cellobiosa. Frerichs (1993) menambahkan spesies yang memfermentasi sukrosa (koloni berwarna kuning) berbeda dengan spesies yang tidak memfermentasi sukrosa (koloni berwarna hijau). Dinding sel

bakteri gram negatif menunjukkan adanya bahan aromatik dan asam amino yang mengandung sulfur, arginin, prolin serta lapisan lemak lebih tebal daripada bakteri gram positif (Salle, 1961).

Bakteri *vibrio* spp. bersifat oportunistik dan merupakan bakteri yang sangat ganas dan berbahaya pada budidaya air payau dan laut karena dapat bertindak sebagai patogen primer dan sekunder. Sebagai patogen primer bakteri masuk ke dalam tubuh ikan melalui kontak langsung, sedangkan sebagai patogen sekunder bakteri menginfeksi ikan yang telah terserang penyakit lain seperti parasit (Prajitno, 2005). Ditambahkan oleh Zafran dan Roza (1991) bahwa dalam kondisi normal, dimana kondisi udang, lingkungan dan patogen (dalam hal ini *Vibrio* spp.) berada dalam keseimbangan tentu *Vibrio* spp. tidak akan merugikan bagi udang. Tapi bila udang dalam kondisi stres maka bakteri tersebut bisa menjadi patogen oleh karena sifat oportunistiknya.

Menurut Bauman, P.A., L. Furniss dan I. V. Lee (1984) beberapa hal yang membedakan *Vibrio harveyi* dengan spesies *vibrio* lain, yaitu kapsulnya dapat mensintesis flagella lateral pada media padat; dapat tumbuh pada suhu 35°C; positif dalam pemanfaatan D-mannosa, Cellobiose, D-gluconate, D-glucuronate, heptanoate, α -ketoglutarate, L-serine, L-glutamate dan L-tirosin; negatif terhadap arginine dihidrolase, acetone oxybutyrate, D-sorbitol, ethanol, L-leusin, γ amino butirrat dan putrescine. Kandungan G+C pada DNANYa berkisar dari 46 sampai 48 mol %.

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Vibrio umumnya berada di habitat air, khususnya lingkungan laut dan estuarin serta bersimbiosis dengan hewan laut (Hjeltnes dan Roberts, 2001). Zonneveld N, E A Huisman, J H Bonn (1991) menegaskan bahwa bakteri ini merupakan organisme khas

air laut atau air payau dan ditemukan di seluruh dunia. Neelson dan Hastings (1979) menyebutkan bahwa bakteri bercahaya tersebar luas di banyak habitat laut yang berbeda, dimana bakteri tersebut sedikit yang berada di luar laut. Pada lingkungan laut dikenal enam spesies bakteri bercahaya, masing-masing *V. harveyi*, *V. logei*, *V. Fischeri*, *V. splendidus*, *Photobacterium phosphorum* dan *P. leiognathi* serta dua spesies terrestrial yakni *V. chlorella biotype albensis* dan *Xerobdus luminescent* (Sakata, 1989 dalam Prajitno, 2007a). Baticados *et al.* (1990) menambahkan bahwa vibrio bercahaya merupakan mikroba alami perairan pantai. Di dalam sistem *hatchery*, telur dan larva dapat dengan cepat terinfeksi oleh bakteri tersebut melalui induk. Menurut Lee, K-K., Y-L. Chen dan P-C. Liu (1999) *Vibrio harveyi* secara umum berada di berbagai macam habitat air payau dan laut, seperti perairan laut tropis, permukaan tubuh hewan laut, organ bercahaya pada cephalopoda dan ikan laut tertentu dan intestine hewan laut.

Bakteri *Vibrio* termasuk jenis bakteri halofilik yaitu bakteri yang dapat hidup pada salinitas tinggi (Baumen *et al.*, 1984 dalam Prajitno, 2007a). Hasil penelitian Lightner (1992) dalam Prajitno (2007a) bahwa bakteri *Vibrio* spp. dapat berkembang dengan baik pada salinitas antara 20-35 ppt. Demikian pula pada penelitian lain, bahwa sepanjang pantai utara Jawa, mulai dari pantai Tuban (Bulu, Bancar, Jenu, Palang), Gresik (Sedayu, Manyar), Sidoarjo, Bangil (Raci), Probolinggo, Karang Tekok, Banyuwangi (Suri Tani Pemuka) setiap muncul kasus *Vibrio* kondisi salinitasnya rata-rata > 25 ppt (Prajitno *et al.*, 1996 dalam Prajitno, 2007a).

2.2.3 Metabolisme dan Pertumbuhan

Vibrio sp. tergolong bakteri gram negatif yang bersifat anaerobik fakultatif, yaitu mampu melakukan metabolisme dengan respirasi (menggunakan oksigen) dan fermentasi (tanpa oksigen) (Pelczar dan Chan, 1988). Hjeltnes dan Roberts (2001)

menjelaskan bahwa dari fermentasi karbohidrat oleh bakteri *vibrio* dihasilkan asam tetapi tidak menghasilkan gas. *Vibrio* juga menghasilkan 3-butanadiol, mereduksi nitrat serta menghasilkan berbagai macam enzim yaitu katalase, oksidase, β -galaktosidase dan arginin dihidrolase.

Pertumbuhan adalah peningkatan secara teratur jumlah semua komponen suatu organisme. Multiplikasi sel merupakan akibat dari pertumbuhan; pada organisme uniseluler, pertumbuhan mengarah pada peningkatan dalam jumlah individu-individu yang menghasilkan suatu populasi atau kultur (Brooks, G. F., Janet S. B. dan Stephen A. M, 2005). Menurut Volk dan Wheeler (1993) pertumbuhan bakteri atau peningkatan jumlah bakteri terjadi dengan proses yang disebut pembelahan biner. Bakteri-bakteri tersebut membelah dengan cara membentuk dinding sel baru melintasi diameter pendeknya lalu memisah menjadi dua sel. Masing-masing sel ini kemudian membelah menjadi dua sel lagi dan seterusnya. Beberapa ciri pertumbuhan bakteri pada setiap fase pertumbuhan menurut Pelczar dan Chan (1986) sebagai berikut:

- Fase Lamban : Tidak ada penambahan populasi
Sel mengalami perubahan dalam komposisi kimiawi dan bertambah ukuran, substansi intraselular bertambah
- Fase Logaritma : Sel membelah dengan laju yang konstan
Massa menjadi dua kali lipat dengan laju sama
Aktivitas metabolik konstan
Keadaan pertumbuhan seimbang
- Fase Statis : Penumpukan produk beracun dan kehabisan nutrisi
Beberapa sel mati dan yang lain tumbuh dan membelah

Jumlah sel hidup menjadi tetap

- Fase Kematian : Sel menjadi mati lebih cepat daripada terbentuknya sel baru

Laju kematian mengalami percepatan menjadi eksponensial

Bergantung kepada spesiesnya, semua sel mati dalam waktu beberapa hari atau beberapa bulan.

Menurut Dwijoseputro (2003), pada umumnya bakteri hanya mengenal satu macam pembiakan saja, yaitu pembiakan secara aseksual atau vegetatif. Pembiakan ini berlangsung sangat cepat, jika faktor-faktor luar menguntungkan. Pelaksanaan pembiakan yaitu dengan pembelahan diri atau *devisio*. Pembelahan diri dapat dibagi menjadi 3 fase, yaitu:

- Fase pertama, dimana sitoplasma terbelah oleh sekat yang tumbuh tegak lurus pada arah memanjang.
- Sekat tersebut diikuti oleh suatu dinding yang melintang. Dinding melintang ini tidak selalu merupakan penyekat yang sempurna, di tengah-tengah sering ketinggalan suatu lubang kecil. Dimana protoplasma kedua sel baru masih tetap berhubungan. Hubungan protoplasma itu disebut *plasmodesmida*.
- Fase yang terakhir yaitu ditandai dengan terpisahnya kedua sel. Ada bakteri yang segera berpisah, yaitu yang satu terlepas sama sekali daripada yang lain, setelah dinding melintang menyekat secara sempurna. Bakteri yang semacam ini merupakan koloni yang merata, jika dipelihara pada medium padat. Sebaliknya, bakteri-bakteri yang dindingnya lebih kokoh itu tetap bergandeng-gandengan setelah pembelahan. Bakteri merupakan koloni yang kasar.

Aktivitas dan pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh faktor abiotik yang meliputi faktor fisik seperti temperatur, cahaya, tekanan osmose dan radiasi. Selain itu, juga

faktor kimia seperti pH, salinitas, bahan organik dan zat-zat kimia lain yang bersifat bakteriosidal maupun bakteriostatik (Prajitno, 2007a). Pada umumnya bakteri *Vibrio* tumbuh secara optimal pada suhu berkisar dari 18 sampai 37°C (Pelczar dan Chan, 1986). Bakteri dapat bertahan hidup, tumbuh dan berkembang pada batas suhu tertentu. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio* spp. berkisar antara 30-35°C. Kisaran salinitas yang baik untuk dapat berkembang yaitu antara 20-35 ppt serta pH optimumnya untuk dapat tumbuh berkisar antara 7,5-8,5 (Bauman dan Lee, 1984 dalam Prajitno, 2007a). Pada suhu 4°C dan 45°C bakteri tersebut tidak tumbuh dan pada suhu 55°C akan mati (Lightner, 1994 dalam Prajitno, 2007a).

2.1.4 Infeksi dan Tanda-Tanda Serangan

Infeksi bakteri akan mudah terjadi apabila fluktuasi suhu tinggi, kepadatan tinggi, stres, adanya senyawa berbahaya/beracun dalam air dan rendahnya kualitas air (Boer dan Zafran, 1992). Serangan *Vibrio* spp. dapat melalui luka, insang, kulit dan saluran pencernaan (Rukyani *et al.*, 1992 dalam Prajitno, 2007a). Infeksi *Vibrio* dapat menyebabkan mortalitas hingga > 50% pada ikan budidaya. Infeksi *Vibrio* dengan cepat akan tersebar pada kondisi budidaya, terutama apabila padat tebarannya tinggi, sering kali kematian dapat mencapai 100% (Irianto, 2005). Robertson, P. A. W., J. Calderon, L. Carrera, J. R. Stark, M. Zherdmant dan B. Austin (1998) menyebutkan kelulushidupan larva *Penaeus vannamei* yang diinfeksi *V. harveyi* 10⁴, 10⁵, 10⁶ dan 10⁷ sel/ml secara berturut-turut adalah 90, 53, 81, dan 51% serta dikatakan bahwa bakteri tersebut bersifat patogen jika digunakan dalam perendaman selama 2 jam dengan dosis 10⁵ sel/ml. Konsentrasi yang berbeda mungkin diperoleh pada spesies lain. Sebagaimana dijelaskan oleh Saulnier *et al.* (2000) bahwa kerentanan spesies udang terhadap infeksi *Vibrio*

bermacam-macam diantara tiga spesies udang (*P. monodon*, *P. indicus* dan *P. semisulcatus*) berkisar antara $3,5 \times 10^6$ – $3,5 \times 10^9$.

Larva udang windu yang terinfeksi oleh bakteri bercahaya umumnya memperlihatkan gejala yang sama, yakni hepatopankreas berubah warna menjadi coklat kehitaman dan mengalami penyusutan. Dari pengamatan preparat histopatologi bisa terlihat bahwa hepatopankreas sudah mengalami kehancuran dan penuh dengan bakteri gram negatif berbentuk batang. Dengan rusaknya organ ini otomatis hepatopankreas tidak bisa berfungsi secara normal, misalnya dalam penyerapan nutrisi dan produksi enzim untuk pencernaan (Boer dan Zafran, 1992). Patogenitas bakteri dapat dipengaruhi oleh toksin serta enzim-enzim yang dapat dihasilkan (Prajitno, 2007a). Sesuai hasil penelitian Goarant, C., J. Herlin, R. Brizard, A-L. Marteau, C. Martin dan B. Martin (2000) bahwa ekstraseluler produk (ECPs), yakni fosfatase, esterase, lipase, fosfohidrolase, N-acetil- β -glucosamidase dari *V. alginolyticus*, *V. penaeicida* dan *V. nigripulchritudo* bersifat toksik terhadap udang (*Litopenaeus stylirostris*) pada suhu 20°C. Pada penelitian lain, protein eksotoksin dari *V. harveyi* dapat menyebabkan kematian terhadap mencit dan *P. monodon* pada konsentrasi yang relatif rendah (Harris dan Owen, 1999). Sementara itu, ekstraseluler produk (cystein protease) dari *V. harveyi* dapat menyebabkan koagulasi/hemostatis pada udang windu *P. monodon* (Lee *et al.*, 1999). Lebih lanjut disebutkan bahwa hemolysin (phospholipase) merupakan faktor patogenitas *V. harveyi* pada ikan (Zhong Zhong, Y., X-H. Zhang, J. J. Chen, Z. Chi, B. Sun, Y. Li dan B. Austin, 2006; Sun Sun, B., X-H. Zhang, X. Tang, S. Wang, Y. Zhong, J. Chen dan B. Austin, 2007). Adapun sifat pathogenitas bakteri vibrio menurut Prajitno (2007a) adalah sebagai berikut :

- Serangan terjadi secara cepat dan menimbulkan kematian total.
- Udang yang terserang biasanya hancur sehingga bangkainya tidak kelihatan.
- Bakteri ini dapat memusnahkan larva dalam waktu 1-2 hari sejak serangan awal.
- Bakteri ini mudah menular (melalui pakan, air, peralatan maupun aktivitas manusia).
- Dapat menyerang sepanjang tahun tetapi cenderung terjadi saat perubahan iklim atau suhu yang mendadak.

Umumnya ikan yang diserang vibriosis memperlihatkan gejala-gejala : ikan kehilangan nafsu makan (*anorexia*), kulit ikan menjadi gelap, insang ikan pucat, sering terjadi pembengkakan pada kulit yang lama-kelamaan akan pecah menjadi luka (bisul) dan mengeluarkan cairan nanah berwarna kuning kemerah-merahan, terjadi pendarahan pada dinding perut dan permukaan jantung, dan jika dilakukan pembedahan akan terlihat pembengkakan dan kerusakan pada jaringan hati, ginjal dan limpa (Kordi, 2004; Irianto, 2005; Afrianto dan Liviawaty, 1992).

2.2 Jarak Pagar *Jatropha curcas* Linn.

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Tanaman jarak pagar masih satu keluarga dengan tanaman karet dan ubi kayu. Klasifikasi jarak pagar (*Jatropha curcas* Linn.) menurut Prihandana dan Hendroko (2006) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Euphorbiales

Famili : Euphorbiaceae
Genus : Jatropha
Species : *Jatropha curcas* Linn.

Jarak pagar berbentuk pohon kecil atau semak belukar besar dengan tinggi mencapai 5 meter dan bercabang tidak teratur. Batangnya berkayu, berbentuk silindris dan bergetah. Tanaman ini mampu hidup sampai 50 tahun (Prihandana dan Hendroko, 2006). Daunnya berupa daun tunggal yang tersebar di sepanjang batangnya. Permukaan atas dan bawah daun berwarna hijau, tetapi permukaan bagian bawah lebih pucat. Daun lebar berbentuk jantung atau bulat telur melebar, dengan panjang dan lebar yang hampir sama yaitu 5-15 cm. Helai daun berlekuk bersudut 3 atau 5. Pangkal daun berlekuk dan ujungnya meruncing, tulang daun menjari dengan 5-7 tulang utama, tangkai daun panjang sekitar 4-15 cm (Taufan dan Taufiq, 2007). Pada musim kemarau yang panjang, tanaman ini menggugurkan daunnya (Alamsyah, 2006).

Bunga berwarna kuning kehijauan, berupa bunga majemuk. Berumah satu dan bunga uniseksual. Jumlah bunga betina 4-5 kali lebih banyak daripada bunga jantan. Bunga betina tersusun dalam rangkaian berbentuk cawan yang muncul di ujung batang atau ketiak daun. Buah berbentuk oval, berupa buah kotak, berdiameter 2-4 cm. Berwarna hijau ketika masih muda dan kuning jika sudah matang. Pembentukan buah membutuhkan waktu 90 hari dari pembungaan sampai matang. Buah terbagi menjadi 3 ruang yang masing-masing ruang berisi 3-4 biji. Biji berbentuk bulat lonjong, berwarna coklat kehitaman dengan ukuran panjang 2 cm, tebal 1 cm dan berat 0,4-0,6 gram/biji (Prihandana dan Hendroko, 2006). Untuk lebih jelasnya tentang morfologi daun jarak pagar disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.)

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Lingkungan yang optimal bagi pertumbuhan jarak pagar, yaitu 50° LU-40° LS, pada ketinggian 0-2000 m dpl, dengan suhu berkisar 18°C-30°C. Suhu yang rendah kurang dari 18°C dapat menghambat pertumbuhannya. Suhu yang tinggi, diatas 35°C menyebabkan gugur daun dan bunga serta buah yang mengering. Tanaman jarak pagar memerlukan curah hujan 300-1200 mm per tahun. Tanaman ini dapat tumbuh pada tanah yang kurang subur, asalkan memiliki drainase yang baik, tidak tergenang dengan pH tanah 5,0-6,5. Jarak pagar tergolong tanaman hari panjang yaitu memerlukan sinar matahari langsung dan terus-menerus sepanjang hari (Taufan dan Taufiq, 2007).

Tumbuhan ini berasal dari Amerika tropis, sekarang tersebar di beberapa negara tropis, termasuk Indonesia. Di Indonesia banyak ditanam di Pulau Jawa dan Madura (Sinaga, 2008). *Jatropha curcas* juga tersebar di beberapa negara lain, yaitu Perancis, Inggris, Portugis, Italia, Belanda, Jerman, Arab, Nepal, Cina, Thailand, Filipina, Togo, Senegal, Angola, Nigeria, Tanzania, Brazil, Costa rica, Puerto rico, Peru, Guatemala dan India (Prihandana dan Hendroko, 2006).

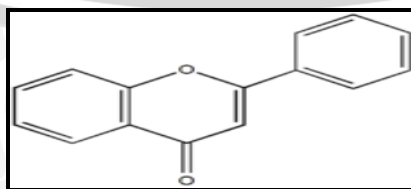
2.2.3 Perbanyakan Tanaman

Perbanyakan tanaman jarak pagar dapat dilakukan dengan biji dan stek. Jika perbanyakan menggunakan biji, perakaran yang dihasilkan cenderung kuat.

Perkecambahan dengan biji memerlukan waktu lebih lama daripada stek karena memerlukan waktu berkecambah sekitar 1 minggu. Perbanyak dengan stek dilakukan dengan menggunakan batang tua dengan panjang sekitar 30 cm. Jika perbanyak menggunakan stek, sistem perakarannya lebih lemah dan dangkal, tetapi tanaman lebih cepat dipanen (Alamsyah, 2006). Selain itu, perbanyak tanaman juga dapat dilakukan dengan cara okulasi, penyambungan dan kultur jaringan (Taufan dan Taufiq, 2007).

2.2.4 Kandungan Kimia

Senyawa kimia yang terkandung dalam daun jarak pagar yaitu saponin, flavonoida, tannin dan senyawa polifenol (Sinaga, 2008). Hasil penelitian Hazril (2005) menunjukkan bahwa kadar tannin dalam kulit biji berkisar antara 0,42 - 2,12 %, dalam daun 7,41 - 8,28 % dan dalam kulit batang 8,06 - 9,38 %. Alamsyah (2006) menyebutkan bahwa daun dan ranting jarak pagar mengandung flavonoid, apigenin, vitexin, dan isovitexin. Selain itu, daun jarak pagar juga mengandung dimmer dari triterpene alkohol ($C_{63}H_{117}O_9$) dan dua flavonoid glikosida. Senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru serta sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzen (C_6) terikat pada suatu rantai propana (C_3), sehingga membentuk ikatan $C_6-C_3-C_6$ (Lenny, 2006). Struktur kimia dari flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Kimia dari Flavonoid

2.2.5 Mekanisme Kerja Antimikroba

Bahan antimikrobal diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba (Pelczar dan Chan, 1988). Obat antimikroba mempunyai susunan kimiawi dan cara kerja yang berbeda antara yang satu dengan yang lainnya. Antimikroba mengganggu bagian-bagian mikroba yang peka, yaitu dinding sel, protein, asam nukleat dan metabolit intermediet seperti enzim (Anonymous, 2003). Prajitno (2007a) menjelaskan bahwa apabila bahan tersebut mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri disebut antibakteri. Cara kerja zat antimikrobal menurut Pelczar dan Chan (1988), yaitu:

- ❖ Kerusakan pada dinding sel
Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk.
- ❖ Perubahan permeabilitas sel
Merusak membran yang berfungsi memelihara integritas komponen-komponen seluler sehingga mengakibatkan terhambatnya sel dan matinya sel.
- ❖ Perubahan molekul protein dan asam nukleat
Mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi), ireversibel (tidak dapat balik) komponen-komponen selular yang vital.
- ❖ Penghambatan kerja enzim
Penghambatan kerja enzim dilakukan dengan mengganggu reaksi biokimia. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme dan matinya sel.

- ❖ Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

Mengganggu pembentukan atau fungsi zat-zat seperti DNA, RNA dan protein sehingga mengakibatkan kerusakan total pada sel

Persenyawaan-persenyawaan fenol bisa jadi bekerja terutama dengan cara mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel. Persenyawaan fenolat dapat bersifat bakterisidal atau bakteriostatik tergantung pada konsentrasi yang digunakan (Pelczar dan Chan, 1988).

2.3 Uji Efektivitas Antimikroba In vitro

Uji kepekaan bakteri terhadap obat-obatan secara invitro bertujuan untuk mengetahui obat antimikroba yang masih dapat digunakan untuk mengatasi infeksi oleh mikroba tersebut. Efektivitas antimikroba terhadap spesies bakteri atau suatu galur bakteri berbeda antara yang satu dengan yang lain (Anonymous, 2003). Sebelum zat anti mikroba digunakan untuk keperluan pengobatan, maka perlu diuji terlebih dahulu efeknya terhadap spesies bakteri tertentu. Aktivitas jasad renik diukur secara in vitro agar dapat ditentukan potensi suatu zat anti jasad renik dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan badan dan jaringan serta kepekaan suatu jasad renik terhadap konsentrasi obat-obatan yang diberikan (Edberg, 1986).

Menurut Lay (1994), bahan antimikrobal bersifat menghambat bila digunakan dalam konsentrasi kecil, namun bila digunakan dalam konsentrasi tinggi dapat mematikan, oleh karena itu perlu diketahui MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*) dan MKC (*Minimum Killing Concentration*) bahan antimikrobal terhadap mikroorganisme. MIC didefinisikan sebagai konsentrasi terendah bahan antimikrobal yang menghambat pertumbuhan, sedangkan MKC adalah konsentrasi terendah bahan antimikrobal yang mematikan.

2.3.1 Metode Pengenceran Tabung

Cara pengenceran tabung pada dasarnya untuk menentukan secara kuantitatif konsentrasi terkecil dari suatu obat yang dapat menghambat pertumbuhan kuman. Pada prinsipnya cara pengenceran tabung ini adalah penghambatan pertumbuhan kuman dalam perbenihan cair oleh suatu obat yang dicampurkan dalam perbenihan (Bonang dan Koeswardono, 1982). Prinsip dari metode dilusi (pengenceran tabung) adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara seri, selanjutnya seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung (Anonymous, 2003).

2.3.1 Metode Cakram

Cara cakram adalah cara yang paling banyak digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan (Bonang dan Koeswardono, 1982). Prinsip dari metode cakram adalah dengan menjenuhkan kertas saring (cakram kertas) ke dalam obat. Cakram kertas yang mengandung obat tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati area (zona) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri (Anonymous, 2003).

3 MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat

- Autoklaf
- Lemari pendingin
- Timbangan analitik
- Hotplate
- Vortex
- Blender
- Cawan petri
- Beaker glass
- Tabung reaksi
- Erlenmeyer
- Gelas ukur
- Pipet volume
- Pipet tetes
- Mikropipet
- Bola hisap
- Bunsen
- Jarum ose
- Triangle
- Spatula
- Pinset
- Sprayer
- Thermometer
- Jangka Sorong
- Botol film
- Rak tabung reaksi
- Corong
- Pisau
- Gunting
- Inkubator
- Saringan

3.1.2 Bahan

- Daun jarak pagar (*Jatropha curcas* Linn)
- Biakan murni *Vibrio harveyi*

- TCBSA (*Thiosulfate Cytrat Bilesalt Sucrose Agar*), dosis penggunaan 88 gr/l
- NB (*Nutrient Broth*) merek OXOID, dosis penggunaan 13 gr/l
- Aquades
- Alkohol 70%
- Spirtus
- Tali
- Kain saring
- Kertas saring
- Kertas alumunium foil
- Kertas label
- Kapas dan Tissue
- Kain lap
- MgSO₄, KCl dan NaCl, dosis penggunaan secara berturut-turut, yaitu 6,94 gr/l; 0,75 gr/l; 13,4 gr/l

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Natzir (2005) penelitian eksperimental adalah penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap obyek penelitian serta adanya kontrol. Tujuan penelitian eksperimental adalah unruk menyelidiki kemungkinan saling hubungan sebab-akibat dengan cara mengenakan kepada satu atau lebih kelompok eksperimental satu atau lebih kondisi perlakuan dan membandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan (Suryabrata, 2006)

Data diperoleh dengan cara mengukur garis tengah (diameter) hambatan, yaitu daerah jernih di sekitar kertas cakram yang tidak ditumbuhi bakteri.

3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana setiap perlakuan dilakukan sebagai satuan tersendiri, tidak ada hubungan pengelompokan. Rumus dari model RAL (Yitnosumarto, 1991) adalah sebagai berikut :

$$Y = \mu + T + \varepsilon$$

Keterangan:

Y : Nilai pengamatan

μ : Nilai rata-rata harapan

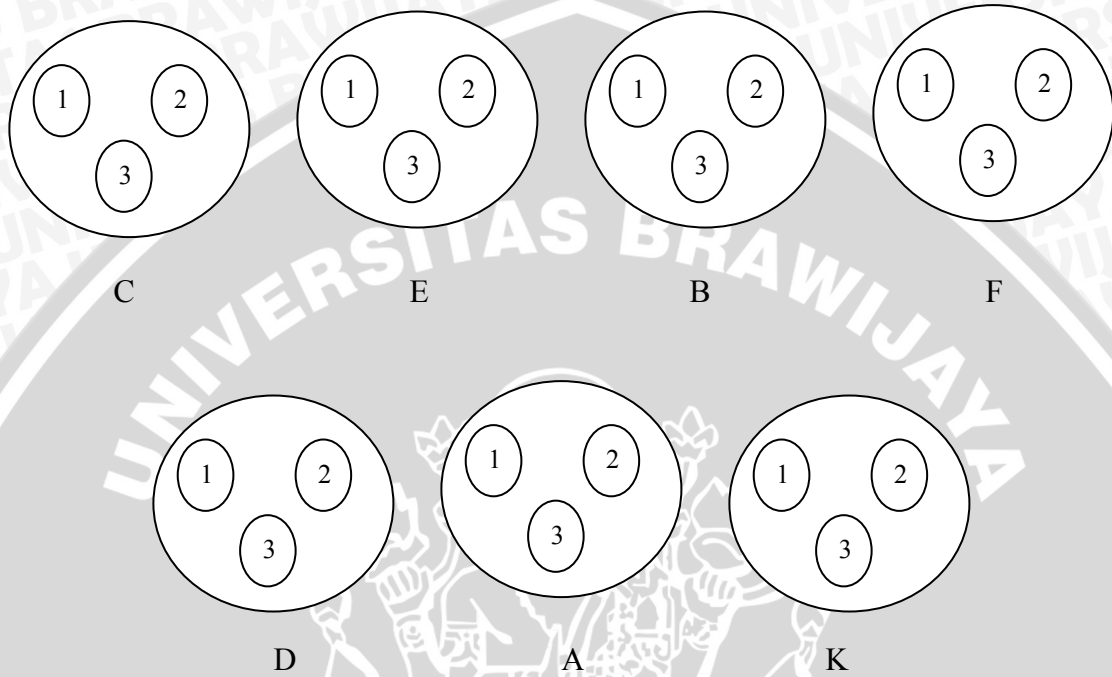
T : Pengaruh perlakuan

ε : Galat

Penelitian terdiri dari 6 perlakuan, 3 kali ulangan dan 1 kontrol. Sebagai perlakuan adalah pemberian ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* Linn) dengan konsentrasi yang berbeda. Adapun perlakuan tersebut berdasarkan hasil uji MIC (*Minimal Inhibition Concentration*) adalah sebagai berikut:

- A = Pemberian ekstrak daun jarak pagar dengan konsentrasi 15 %
- B = Pemberian ekstrak daun jarak pagar dengan konsentrasi 20 %
- C = Pemberian ekstrak daun jarak pagar dengan konsentrasi 25 %
- D = Pemberian ekstrak daun jarak pagar dengan konsentrasi 30 %
- E = Pemberian ekstrak daun jarak pagar dengan konsentrasi 35 %
- F = Pemberian ekstrak daun jarak pagar dengan konsentrasi 40 %
- K = Kontrol (tanpa perlakuan)

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga jumlah sampel yang diamati adalah sebanyak 18. Penempatan perlakuan dilakukan secara acak dengan denah percobaan disajikan pada Gambar 3 berikut ini:



Gambar 3. Denah Penelitian

Keterangan:

A,B,C,D,E,F : Perlakuan

1,2,3 : Ulangan

K : Kontrol

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

- Dicuci alat-alat yang akan digunakan menggunakan detergen, dikeringkan kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas perkamen dan diikat menggunakan benang

- Air secukupnya dituang ke dalam *autoclave*, kemudian alat yang telah dibungkus kertas perkamen dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris.
- Kompor pemanas dinyalakan, setelah mencapai suhu 121⁰C dan manometer menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan selama 15-20 menit dengan cara membuka dan atau menutup kran uap yang berada di bagian atas tutup *autoclave*
- Kompor dimatikan. Tunggu beberapa saat sampai termometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka kran uap lalu buka penutup *autoclave* dengan cara simetris.
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

3.3.2 Eksraksi Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn)

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara infundasi. Sebagaimana yang tercantum dalam Anonymous (1986). Prosedur ekstrak daun jarak pagar adalah sebagai berikut :

- Daun jarak pagar segar dicuci dengan air tawar sampai bersih kemudian dikeringkan.
- Daun jarak pagar yang telah kering diblender hingga halus
- Ditimbang sebanyak 30 gr dan dimasukkan ke dalam beakerglas
- Ditambahkan air suling (aquades) sebanyak 300 ml.
- Dipanaskan diatas penangas air (hotplate) selama 15 menit terhitung suhu mulai mencapai 90 °C – 98⁰C sambil sesekali diaduk.
- Kemudian disaring dengan kain saring
- Ekstrak yang tidak langsung digunakan dapat disimpan di lemari pendingin

3.3.3 Pembuatan Media

A. TCBSA (*Thiosulfate Citrat Bilesalt Sukrose Agar*)

- TCBSA sejumlah 8,8 gram, KCl 0,075 gram, MgSO₄ 0,694 gram, NaCl 1,34 gram dilarutkan dalam 100 ml air aquadest steril dalam erlenmeyer steril.
- Dipanaskan di atas hotplate hingga mendidih dan homogen
- Larutan tidak disterilkan dalam autoklaf
- Setelah itu, dalam keadaan panas dituang dalam cawan petri steril
- Media dibiarkan memadat
- Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari pendingin. Cawan petri diletakkan terbalik yaitu bagian tutup berada di bawah untuk menghindari tetesan air kondensasi dalam tutup.

B. NB (*Nutrient Broth*)

- NB sejumlah 1,3 gram, KCl 0,075 gram, MgSO₄ 0,694 gram, NaCl 1,34 gram dilarutkan dalam 100 ml air aquadest steril dalam erlenmeyer steril.
- Dipanaskan di atas hotplate hingga mendidih dan homogen
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan kertas perkamen kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- Media yang akan dipakai dibiarkan dingin hingga meencapai suhu ± 30 °C karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.
- Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari pendingin

3.3.4 Inokulasi Bakteri

A. Media Padat

- Disiapkan petridisk yang berisi media TCBSA
- Biakan murni *Vibrio harveyi* diambil sebanyak 1 ose

- Digoreskan ke dalam media TCBSA secara zig-zag.
- Media TCBSA diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 35 °C selama 18-24 jam.

B. Media Cair.

- Disiapkan 4 ml media NB dalam tabung reaksi yang telah disterilkan dengan *autoclave*.
- Sebanyak 5 ose *Vibrio harveyi* dari biakan murni dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 4 ml media NB tersebut
- Media yang telah mengandung *Vibrio harveyi* ditutup dengan kapas steril dan alumunium foil dan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 18-24 jam.
- Hasil biakan disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 4 °C.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Kerentanan suatu mikroorganisme terhadap zat antibiotik dan zat kemoterapeutik lain dapat ditentukan dengan teknik “pengenceran tabung (*tube dilution*)” atau teknik cawan “piringan kertas (*paper disk plate*)”. Teknik pengenceran tabung menetapkan jumlah terkecil zat kemoterapeutik yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan organisme *in vitro*. Jumlah tersebut sebagai KHM (konsentrasi hambat minimum atau *minimal inhibition concentration*) (Pelczar dan Chan, 1988). Konsentrasi terendah pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM (konsentrasi hambat minimum) dari obat (Anonymous, 2003). Lay (1994) menambahkan MIC (*minimal inhibition concentration*) dapat pula ditentukan dengan penggunaan satu konsentrasi antibiotik dan

membandingkannya dengan kecepatan pertumbuhan mikroorganisme dalam tabung kontrol dan tabung yang berisi antibiotik. Penentuan MIC dilakukan sebagai berikut:

- 5 inokulum biakan murni bakteri *Vibrio harveyi* ditanam dalam 4 ml media cair (Nutrient Broth) dan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 3 jam sehingga kekeruhannya sama dengan larutan Standart Mc Farland (6×10^8 sel/ml)
- Membuat stok larutan broth yang diinokulasi bakteri dengan cara mengambil 0,5 ml biakan bakteri dalam Nutrient Broth dan dimasukkan dalam 100 ml NB yang sudah disterilkan. Jumlah suspensi bakteri (stok larutan broth) adalah 10^6 sel/ml.
- Penentuan konsentrasi perlakuan ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* Linn) dengan metode pengenceran. Konsentrasi yang digunakan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Konsentrasi Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn) untuk Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Konsentrasi (%)	Larutan stok Ekstrak Daun Jarak Pagar (<i>Jatropha curcas</i> Linn) (ml)	Larutan stok broth yang diinokulasi bakteri (ml)
0	0,00	5,00
5	0,25	4,75
10	0,50	4,50
15	0,75	4,25
20	1,00	4,00
25	1,25	3,75
30	1,50	3,50
35	1,75	3,25
40	2,00	3,00
45	2,25	2,75
50	2,50	2,50

- Masing-masing perlakuan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 35 °C.
- Diamati pertumbuhan bakteri pada masing-masing perlakuan dengan melihat tingkat kekeruhannya dan dibandingkan dengan kontrol. Apabila medium

tampak keruh menandakan bahwa bakteri dapat tumbuh, hal ini berarti bahwa dosis yang digunakan tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan sebaliknya.

3.4.3 Uji Cakram

Prosedur pelaksanaannya adalah sebagai berikut:

- 5 inokulum biakan murni bakteri *Vibrio harveyi* ditanam dalam 4 ml media cair (Nutrient Broth) dan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 3 jam sehingga terbentuk kekeruhan yang sama dengan larutan Standart *Mc Farland* (10^8 sel/ml)
- Disiapkan botol film steril untuk perlakuan konsentrasi ekstrak daun jarak pagar. Konsentrasi minimum didapatkan berdasarkan hasil uji MIC.
- Untuk menentukan konsentrasi ekstrak daun jarak pagar dilakukan pengenceran dengan menggunakan rumus: $N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$, dimana : N_1 adalah stok yang ada (%), V_1 adalah ekstrak kasar yang dibutuhkan (ml), N_2 adalah Konsentrasi ekstrak daun jarak pagar yang digunakan (%), V_2 adalah Volume aquades yang digunakan (ml).
- Penentuan konsentrasi ekstrak daun jarak pagar untuk uji cakram disajikan pada Tabel 2.
- Direndam kertas cakram steril ke dalam ekstrak daun jarak pagar selama 30 menit berdasarkan konsentrasi yang telah ditentukan.
- Diambil 0,05 ml bakteri (10^8 sel/ml) dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media agar dengan ketebalan ± 6 mm.
- Diratakan bakteri dengan triangle
- Diletakkan kertas cakram yang telah ditiriskan pada permukaan lempeng agar

- Dibaca hasil setelah diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam dengan mengukur daerah hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram
- Diukur diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong
- Untuk mengetahui sifat dari setiap konsentrasi yang dilakukan, maka setelah pengukuran diameter zona hambat dilakukan inkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 35 °C. Apabila pada daerah bening terlihat adanya pertumbuhan bakteri, ini berarti dosis tersebut bersifat bakteristatis. Tetapi apabila sebaliknya, berarti dosis tersebut bersifat bakteriosidal.

Tabel 2. Konsentrasi Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn) untuk Uji Cakram

Konsentrasi (%)	Larutan stok ekstrak Daun Jarak Pagar (ml)	Aquades (ml)
15	0,75	4,25
20	1,00	4,00
25	1,25	3,75
30	1,50	3,50
35	1,75	3,25
40	2,00	3,00
0	0,00	5,00

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama menggunakan parameter kuantitatif, yaitu data yang diperoleh dari hasil pengukuran daerah hambatan ekstrak daun jarak pagar terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* pada setiap perlakuan yang terlihat disekitar kertas cakram.

3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang pada penelitian ini adalah suhu inkubator dan pH media, yang keduanya merupakan faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri.

Anonymous (2003) menjelaskan suhu terendah dimana bakteri dapat tumbuh disebut *minimum growth temperature*. Sedangkan, suhu tertinggi dimana bakteri dapat tumbuh dengan baik disebut *maximum growth temperature*. Suhu dimana bakteri dapat tumbuh dengan sempurna di antara kedua suhu tersebut disebut suhu optimum. Untuk pertumbuhannya, bakteri juga memerlukan pH tertentu, namun pada umumnya bakteri memiliki jarak pH yang sempit sekitar pH 6,5-7,5 atau pada pH netral

3.6 Analisa Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan, berupa pemberian ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* Linn) terhadap respon parameter yang diukur, berupa luas daerah hambatan, maka dilakukan analisis keragaman atau uji F dan apabila berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji BNT untuk menentukan perlakuan mana yang memberikan respon terbaik pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95 %). Sedangkan Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil yang dipengaruhi, dilakukan perhitungan analisis regresi yang tujuannya untuk mengetahui sifat dan fungsi regresi yang memberikan keterangan tentang pengaruh perlakuan yang terbaik pada respon.

4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kultur Murni Bakteri *Vibrio harveyi*

Isolat bakteri *Vibrio harveyi* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang. Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Vibrio harveyi* selama penelitian berupa media padat, yaitu TCBSA (*Thiosulfate Citrat Bilesalt Sukrose Agar*) dan media cair yaitu NB (*Nutrient Borth*). TCBS (*Thiosulfate Citrat Bilesalt Sukrose*) Agar merupakan medium yang secara luas digunakan untuk mengisolasi dan memperbanyak spesies *Vibrio* dari perairan laut dan estuari (Harris *et al.*, 1996). Pada pembuatan media ditambahkan larutan garam yang terdiri dari NaCl, MgSO₄ dan KCl. Hal ini karena *Vibrio harveyi* merupakan organisme laut. Seperti yang dikemukakan oleh Frerichs (2001), bahwa untuk organisme air laut media harus ditambah 2% NaCl atau larutan yang terdiri dari NaCl (2,4% w/v), MgSO₄ 7H₂O (0,7% w/v), dan KCl (0,075% w/v). Komposisi media TCBSA dan media NB disajikan pada Tabel 3 dan Tabel 4 sebagai berikut :

Tabel 3. Komposisi TCBSA

Unsur-unsur	Jumlah (g/l)
Yeast extract powder	5,0
Bacteriological peptone	10,0
Sodium thiosulphate	10,0
Sodium citrate	10,0
Oxbile	8,0
Sucrose	20,0
Sodium chloride	10,0
Ferric citrate	1,0
Bromothymol blue	0,04
Thymol blue	0,04
Agar	14

(Sumber : OXOID LTD)

Tabel 4. Komposisi NB

Unsur-unsur	Jumlah (g/l)
Lab lemco powder	1,0
Yeast extract	2,0
Peptone	5,0
Sodium chloride	5,0

(Sumber : OXOID LTD)

Penanaman bakteri pada media padat (TCBSA) dilakukan dengan metode gores dan diinkubasi selama 18-24 jam. Bakteri umumnya akan tumbuh dan berkembang dengan cepat, membentuk suatu koloni. Koloni bakteri dapat dilihat dengan mata telanjang (*visible mass*) bila ditanam pada media pembenihan padat yang sesuai, setelah diinkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu yang sesuai pula (Anonymous, 2003). Hasil pengamatan selama penelitian menunjukkan bahwa bakteri *Vibrio harveyi* yang tumbuh pada media padat TCBSA secara visual membentuk koloni berwarna kuning. Hal ini berkaitan dengan kemampuan *Vibrio harveyi* untuk memanfaatkan sukrosa. Sebagaimana dijelaskan oleh Frerichs (1993) bahwa spesies yang memfermentasi sukrosa (koloni berwarna kuning) berbeda dengan spesies yang tidak memfermentasi sukrosa (koloni berwarna hijau). Hasil biakan *Vibrio harveyi* di media padat (TCBSA) disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil Biakan Murni bakteri *Vibrio harveyi* Pada Media Padat TCBSA

Sedangkan pembiakan bakteri dalam media cair (NB), penentuan kepadatan bakteri dilakukan dengan cara membandingkan hasil biakan dengan larutan standar McFarland. Metode ini dilakukan dengan menyetarakan kekeruhan hasil inokulasi dengan kekeruhan standar larutan McFarland secara visual. Menurut Bonang dan Koeswardono (1982) larutan McFarland dibuat dengan mencampurkan larutan asam belerang (H_2SO_4) 1% dan larutan barium chloride ($BaCl_2$) 1% sehingga diperoleh suspensi barium sulfat kira-kira sama dengan sejumlah suspensi *E. coli* per ml. Pada penelitian ini kepadatan hasil inokulasi pada media NB sebesar 6×10^8 sel/ml yang kemudian dilakukan pengenceran sehingga diperoleh kepadatan bakteri untuk uji MIC sebesar 10^6 sel/ml. Menurut Prajitno (2007a), *Vibrio* spp. memerlukan konsentrasi 10^5 sel/ml agar terjadi infeksi yang mematikan pada larva udang. Sejalan dengan hasil penelitian Robertson *et al.* (1998) bahwa *V. harveyi* bersifat patogen terhadap larva udang (*P. vannamei*) pada infeksi 10^5 sel/ml. Lightner (1996) dalam Prajitno (2007a) menyebutkan *V. harveyi* bersifat patogen terhadap udang windu pada 10^6 sel/ml.

4.2 Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)

4.2.1 Uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*)

Hasil uji kadar hambat minimal (MIC) memperlihatkan ekstrak daun jarak pagar pada konsentrasi 5% dan 10% tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* yang ditunjukkan dengan derajat kekeruhan yang sama dengan kontrol positif. Adanya hambatan pertumbuhan bakteri mulai terlihat pada konsentrasi 15%. Dimana secara tampak mata pada konsentrasi 15 % hasil biakan mulai tampak lebih jernih apabila dibandingkan dengan kontrol positif (media dan bakteri) setelah masa inkubasi selama 24 jam pada suhu $35^\circ C$. Penurunan derajat kekeruhan ini menunjukkan

terjadinya proses penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri sehingga dimungkinkan jumlah bakteri relatif lebih sedikit jika dibandingkan dengan kontrol positif. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pada konsentrasi 15% merupakan konsentrasi hambat minimum. Konsentrasi obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat (Anonymous, 2003). Edberg (1986) juga menjelaskan bahwa konsentrasi paling kecil yang memperlihatkan hambatan pertumbuhan makroskopik (turbidimetrik) disebut konsentrasi penghambatan minimum (MIC). Hasil uji kadar hambat minimal disajikan pada Tabel 5, sedangkan gambar hasil uji MIC disajikan pada pada Lampiran 3.

Tabel 5. Kadar Hambat Minimal (MIC) Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn.)

Konsentrasi (%)	Pertumbuhan Bakteri
5	+
10	+
15	-
20	-
25	-
30	-
35	-
40	-
45	-
50	-
K 1	
K 2	

Keterangan : + : Tidak ada hambatan bakteri
 - : Ada hambatan bakteri
 K1 : Kontrol Media
 K2 : Kontrol Media dan Bakteri

4.2.2 Uji Cakram

Uji cakram merupakan pengujian untuk antimikrobal dengan mengukur daerah hambat yang terjadi di sekitar kertas cakram yang mengandung bahan antimikrobal

sesuai dengan dosis perlakuan (Pelczar dan Chan, 1986). Cakram dari kertas cakram ini paling banyak dipakai untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai obat-obatan (Bonang dan Koeswardoyo, 1982). Uji cakram dilakukan dengan menggunakan beberapa potong kertas saring yang masing-masing dicelupkan ke dalam antibiotik tertentu kemudian diletakkan pada kultur murni dari bakteri di plat agar. Kemudian diinkubasi selama 24 jam dan diamati. Disekililing kertas saring akan tampak daerah bakteri yang tidak tumbuh. Hasil uji daya antibakteri ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dengan metode cakram menunjukkan bahwa ekstrak daun jarak pagar mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Hal ini ditandai dengan terbentuknya daerah bening di sekitar kertas cakram. Menurut Pelczar dan Chan (1981), zona penghambatan (daerah bening) disekitar cakram menunjukkan bahwa organisme dihambat oleh obat yang berdifusi dalam agar.

Selanjutnya dilakukan pengamatan setelah masa inkubasi 48 jam untuk menentukan sifat ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) terhadap bakteri *Vibrio harveyi*, apakah bersifat bakteristatik (menghambat) atau bakteriosidal (membunuh). Pemeriksaan daya antimikrobal setelah masa inkubasi 48 jam, menunjukkan bahwa ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dengan konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, 35% dan 40% bersifat bakteristatik yaitu hanya menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, dimana daerah hambat tampak keruh yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri. Gambar hasil uji cakram ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) terhadap bakteri *Vibrio harveyi* disajikan pada Lampiran 4. Pada antibiotik sintetik dapat diketahui kepekaan kuman terhadap suatu antibiotik dari lebar daerah hambatan yang terbentuk pada uji cakram, karena telah ada standart untuk menentukan kepekaan suatu kuman, apakah kuman bersifat resisten, intermediate, ataukah sensitif

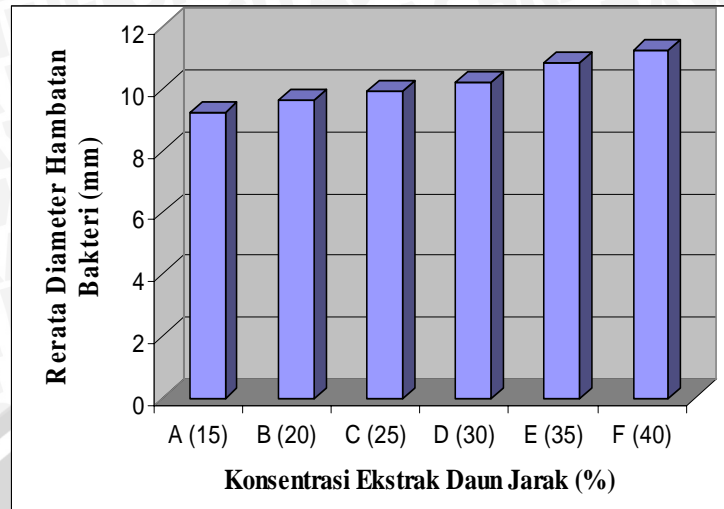
terhadap antibiotik yang digunakan. Sedangkan untuk obat-obatan yang berasal dari alam seperti ekstrak daun jarak pagar belum ada standarnya, karena sejauh ini belum ada penelitian tentang resistensi kuman terhadap ekstrak daun jarak pagar, sehingga pada penelitian ini tidak dapat ditentukan apakah bakteri *Vibrio harveyi* termasuk resisten, intermediate atau sensitif terhadap ekstrak daun jarak pagar. Yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah informasi bahwa konsentrasi ekstrak daun jarak pagar dengan konsentrasi yang berbeda mempengaruhi lebar daerah hambatan yang terbentuk. Daerah hambat hasil uji cakram yang terbentuk pada masing-masing perlakuan disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Diameter Daerah Hambatan Pada Masing-Masing Perlakuan

Perlakuan (%)	Diameter Daerah Hambatan (mm)			Total	Rerata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
15	9,7	9,4	8,6	27,7	9,23
20	10	9,3	9,5	28,8	9,6
25	9,8	9,6	10,3	29,7	9,9
30	10,3	10,5	9,8	30,6	10,2
35	10,5	10,7	11,2	32,4	10,8
40	11,4	11,3	10,9	33,6	11,2
				$\Sigma = 182,8$	

Berdasarkan Tabel 6, daerah hambatan terkecil diperoleh pada konsentrasi 15 % yaitu 9,23 mm sedangkan konsentrasi ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) 40 % memberikan daerah hambat yang terbesar, yaitu 11,2 mm.

Untuk lebih memperjelas peningkatan diameter daerah hambat dengan konsentrasi ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dapat digambarkan berupa diagram batang hubungan antara konsentrasi ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dengan daerah hambat (Gambar 5).



Gambar 5. Diagram Batang Hibungan Antara Konsentrasi Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) (%) Dengan Diameter Daerah Hambat Rata-rata (mm)

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*), maka daerah hambat yang terbentuk semakin lebar. Hal ini disebabkan semakin tinggi konsentrasi dari perlakuan maka jumlah senyawa antibakterinya semakin banyak. Menurut Dwidjoseputro (1998), besar kecilnya daerah kosong sekitar kepingan kertas sesuai dengan konsentrasi antibiotik yang terkandung di dalamnya. Lay (1994) menambahkan luasnya wilayah jernih merupakan petunjuk kepekaan mikroorganisme terhadap antibiotik. Selain itu, luasnya wilayah juga berkaitan dengan kecepatan berdifusi antibiotik dalam medium. Lebih lanjut dijelaskan oleh Bonang dan Koeswardono (1982), lebar daerah hambatan di sekitar kertas cakram tergantung pada daya serap obat ke dalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat yang digunakan.

Untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) yang berbeda terhadap bakteri *Vibrio harveyi*, maka dilakukan analisa keragaman atau sidik ragam. Hasil analisa sidik ragam disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Analisa Sidik Ragam

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	5	8,19	1,638	10,74**	3,11	5,06
Acak	12	1,83	0,1525			
Total	17	10,02				

Keterangan: ** = berbeda sangat nyata

Dari hasil analisa sidik ragam (Tabel 7), dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dengan konsentrasi yang berbeda memberikan hasil yang berbeda sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan dari masing-masing perlakuan, dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf nyata 0,05% (selang kepercayaan 95%) maupun taraf nyata 0,01% (selang kepercayaan 99%). Hasil uji BNT dengan nilai BNT 5% dan 1% yang secara lengkap perhitungannya pada Lampiran 2, dan hasil uji BNT disajikan pada Tabel 8.

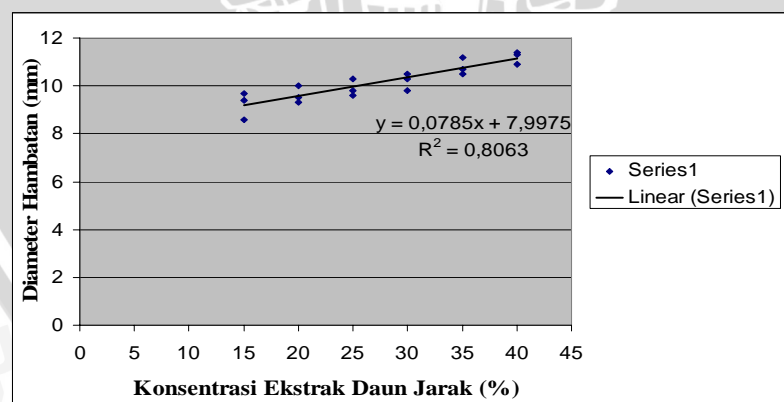
Tabel 8. Hasil Uji BNT

Rataan	A=9,23	B=9,6	C=9,9	D=10,2	E=10,8	F=11,2	Notasi
A = 9,23	-						a
B = 9,6	0,37 ^{ns}	-					ab
C = 9,9	0,67 ^{ns}	0,3 ^{ns}	-				ab
D = 10,2	0,97 [*]	0,6 ^{ns}	0,3 ^{ns}	-			bc
E = 10,8	1,57 ^{**}	1,2 ^{**}	0,9 [*]	0,6 ^{ns}	-		cd
F = 11,2	1,97 ^{**}	1,6 ^{**}	1,3 ^{**}	1,0 ^{**}	0,4 ^{ns}	-	d

Dari uji BNT, secara statistik dapat diketahui bahwa perlakuan A, B dan C memberikan hasil yang tidak berbeda nyata. Dalam hal penggunaan konsentrasi dari perlakuan tersebut sebaiknya dipilih perlakuan yang mempunyai konsentrasi lebih rendah. Hal ini mengingat pada pertimbangan efek biologis terhadap lingkungan, tingkat resistensi bakteri terhadap zat antibakteri serta pertimbangan ekonomis. Pelczar dan Chan (1988) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, maka

semakin cepat sel bakteri akan terbunuh. Tetapi tidak efektif menggunakan konsentrasi yang terlalu tinggi dalam pengobatan karena penggunaan dosis yang terlalu tinggi kurang ekonomis dalam pemakaiannya dan dapat menimbulkan pencemaran lingkungan. Pada konsentrasi yang terlalu tinggi juga dapat menyebabkan terjadinya immunosupresi, yaitu penekanan sistem imun akibat gangguan pada saat proliferasi yang menyebabkan sistem imun inang lemah dan mudah terinfeksi oleh bakteri. Immunosupresi dapat terjadi dengan cara berikut : akibat sekunder dari pengaturan sistem imun; akibat sekunder dari penyakit yang mendasari atau sebagai akibat dari immunoregulasi yang terganggu; dan/atau akibat sekunder dari faktor eksogen seperti agen farmakologik (Bellanti, 1993).

Untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak daun jarak pagar dengan zona hambat yang terbentuk, dilakukan analisa regresi. Secara lengkap perhitungan analisa regresi disajikan pada Lampiran 1. Dari hasil analisa regresi tersebut, diperoleh bentuk regresi linier dengan persamaan $Y = 7,99 + 0,079 x$ dan nilai koefisien korelasi r sebesar 0,902. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak daun jarak pagar dengan zona hambat bakteri *Vibrio harveyi* disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) dengan Diameter Daerah Hambat Bakteri *Vibrio harveyi*

Gambar 6 menjelaskan bahwa penggunaan ekstrak daun jarak pagar mempunyai korelasi positif terhadap zona hambat bakteri *Vibrio harveyi* pada uji cakram, yaitu semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin lebar zona hambat yang dihasilkan. Pada konsentrasi terendah (15%), diperoleh zona hambat terendah dengan nilai rerata 9,23 mm. Sedangkan pada konsentrasi tertinggi (40%) diperoleh zona hambat dengan nilai rerata 11,2 mm.

4.3 Mekanisme Kerja Antimikroba Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcar*)

Hasil uji MIC dan uji cakram membuktikan bahwa ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Hal ini didasarkan oleh kandungan senyawa dalam daun jarak pagar bersifat antibakteri. Senyawa antibakteri yang terkandung dalam daun jarak pagar adalah persenyawaan fenol seperti flavonoid dan tannin. Alamsyah (2006) menyebutkan bahwa daun dan ranting jarak pagar mengandung flavonoid (apigenin), vitexin, dan isovitexin. Selain itu, daun jarak pagar juga mengandung dimmer dari triterpene alkohol ($C_{63}H_{117}O_9$) dan dua flavonoid glikosida. Persenyawaan fenol seperti flavonoid dan tannin telah dikenal memiliki aktivitas antimikroba (Cushnie dan Andrew, 2005; Cowan, 1999; Chen *et al.*, 2005; Mun'im, 2005; Jones *et al.*, 1994). Hasil penelitian Prasetyaningsih (2004) menyebutkan bahwa ekstrak daun jarak pagar mengandung senyawa aktif tannin dan flavonoid. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa kadar tannin dalam daun jarak pagar sekitar 7,41 - 8,28 % (Hazril, 2005).

Menurut Lenny (2006) Flavonoid terbentuk dari suatu unit C_6-C_3 berkombinasi dengan tiga C_2 menghasilkan unit $C_6-C_3-(C_2+C_2+C_2)$. Kerangka C_{15} yang dihasilkan dari kombinasi ini telah mengandung gugus-gugus fungsi oksigen. Satu cincin dari

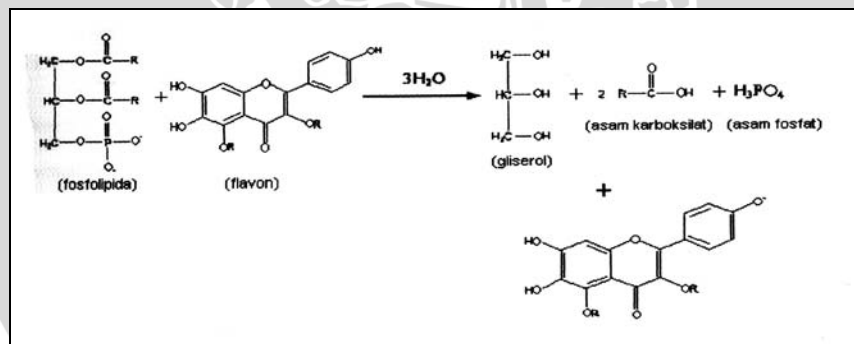
struktur flavonoid berasal dari jalur poliketida, yaitu kondensasi dari tiga unit asetat atau melanoat, sedangkan cincin yang lain dan tiga atom karbon dari rantai propana berasal dari jalur fenilpropanoida (jalur shikimat). Sehingga kerangka dasar karbon dari flavonoida dihasilkan dari kombinasi antara dua jenis biosintesa utama untuk cincin aromatik yaitu jalur shikimat dan jalur asetat-melanoat. Sebagai akibat dari berbagai perubahan yang disebabkan oleh enzim, ke tiga atom karbon dari rantai propana dapat menghasilkan berbagai gugus fungsi seperti ikatan rangkap, gugus hidroksil, gugus karbonil dan sebagainya. Sedangkan tannin merupakan kelompok senyawa polimer fenol yang banyak ditemukan di hampir setiap bagian tanaman: kulit, kayu, daun, buah dan akar (Cowan, 1999).

Seperti halnya senyawa fenol, persenyawaan-persenyawaan fenol boleh jadi bekerja terutama dengan cara mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel. Persenyawaan fenolat dapat bersifat bakterisidal atau bakteriostatik tergantung pada konsentrasi yang digunakan (Pelczar dan Chan, 1988). Volk dan Wheeler (1983) menambahkan apabila digunakan dalam konsentrasi tinggi fenol bekerja dengan merusak membran sitoplasma secara total dan mengendapkan protein sel. Akan tetapi dalam konsentrasi rendah, fenol merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting, dan disamping itu, menginaktifkan sejumlah sistem enzim bakteri. Prajitno (2007a) menjelaskan bahwa senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) merupakan salah satu antibakteri yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma.

Membran sitoplasma adalah lapisan tipis yang terletak disebelah dalam dinding sel, tersusun oleh 60% protein dan 40% lipid yang umumnya berupa fosfolipid. Membran sitoplasma merupakan barrier yang fungsinya mengatur keluar masuknya

bahan-bahan dari dalam sel atau dari luar sel (Anonymous, 2003). Volk dan Wheeler (1983) menjelaskan kerusakan pada membran memungkinkan ion anorganik yang penting, nukleotida, koenzim dan asam amino merembes ke luar sel. Selain itu, dapat mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel karena membran sitoplasma juga mengendalikan pengangkutan aktif ke dalam sel. Sehingga mengakibatkan kematian sel atau ketidakmampuan sel untuk tumbuh.

Dijelaskan oleh Prajitno (2007a), bahwa ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid, tannin) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida pada dinding sel bakteri akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Dalam keadaan demikian, fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma, akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian. Reaksi antara fosfolipid dengan senyawa fenol yaitu flavon dapat dilihat pada Gambar 7 berikut:



Gambar 7. Reaksi Antara Fosfolipid dan Senyawa Fenol (Flavon)

Selain bekerja dengan menguraikan fosfolipid pada membran sel, fenol juga bekerja dengan cara mendenaturasi protein. Proses denaturasi protein menurut Prajitno (2007b), adalah gugus karbonil ($C=O$) yang bersifat reaktif akan bereaksi dengan gugus amino (NH_2) dari protein. Sehingga protein mengalami denaturasi, artinya terjadi

perubahan susunan rantai polipeptida yang menyebabkan protein menggumpal sehingga kelarutannya menjadi rendah. Dalam keadaan yang demikian protein tidak berfungsi lagi dan bila kondisi demikian berlangsung terus dapat menyebabkan kematian bakteri.

4.4 Lingkungan Hidup Bakteri *Vibrio harveyi*

4.4.1 pH

Disamping nutrisi yang memadai, sejumlah kondisi lain harus dipenuhi untuk menumbuhkan bakteri. Media harus mempunyai pH yang tepat yaitu tidak terlalu asam dan tidak terlalu basa, pada dasarnya tidak satupun bakteri dapat tumbuh baik pada pH lebih dari 8. Sebagian besar bakteri patogen tumbuh baik pada pH netral ($\text{pH} = 7$) atau pada pH yang sedikit basa (7,4) (Volk dan Wheeler, 1998). Hasil pengukuran pH media dengan pH paper adalah 7. Kondisi ini cukup baik untuk pertumbuhan bakteri. Bakteri *Vibrio* spp. dapat tumbuh baik pada kondisi alkali, yaitu pH optimum berkisar antara 7,5-8,5 (Bauman *et al.*, 1984 dalam Prajitno, 2007a).

4.4.2 Suhu

Pola pertumbuhan bakteri dapat sangat dipengaruhi oleh suhu karena semua proses pertumbuhan bergantung pada reaksi kimiawi dan laju reaksi-reaksi ini dipengaruhi oleh suhu. Suhu juga mempengaruhi laju pertumbuhan dan jumlah total pertumbuhan organisme (Pelczar dan Chan, 1986). Oleh karena itu, suhu harus dikondisikan agar sesuai untuk pertumbuhan bakteri. Suhu inkubator selama penelitian adalah 35°C . Menurut Prajitno (2005), suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio* spp. berkisar antara $30-35^{\circ}\text{C}$. Sedangkan pada suhu 4°C dan 45°C bakteri tersebut tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55°C akan mati. Jadi, suhu inkubasi selama penelitian berada pada kisaran optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka kesimpulan yang dapat diambil adalah sebagai berikut :

- Penggunaan ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* secara in vitro.
- Hubungan antara konsentrasi ekstrak daun jarak pagar dengan diameter daerah hambatan terbentuk berupa regresi linier, dengan persamaan $Y = 0,079 x + 7,99$ dan nilai koefisien korelasi r sebesar 0,902.
- Ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dengan konsentrasi 15%, 20%, 25%, 30%, 35% dan 40% bersifat bakteriostatik yaitu hanya menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*

5.2 Saran

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* Linn) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Vibrio Harveyi* secara in vivo.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E. dan E. Iviawaty. **Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan**. Kanisius. Yogyakarta. 88 hal
- Alamsyah, A. N. 2006. **Biodiesel Jarak Pagar Bahan Bakar Alternatif Yang Ramah Lingkungan**. PT Agromedia Pustaka. Jakarta. 115 hal.
- Amri, K. 2003. **Budidaya Udang Windu Secara Intensif**. Agromedia Pustaka. Jakarta. 98 hal.
- Anonymous. 1986. **Sediaan Galenik**. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 65 hal.
- _____. 2003. **Bakteriologi Medik**. Tim mikrobiologi. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Bayumedia Publishing. Malang. 373 hal.
- _____. 2006. **Pengendalian Penyakit Udang Windu di Tambak**. <http://www.ricamaros.com>. Diakses 23 September 2008.
- Baticados, M. C. L., C. R. Lavilla-Pitogo, E. R. Cruz-Lacierda, L. D. de la Pena, N. A. Sunaz. 1990. **Studies on The Chemical Control of Luminous Bacteria *Vibrio harveyi* and *V. splendidus* Isolated from Diseased *Penaeus monodon* Larva and Rearing Water**. Dis. Aquat. Org. Vol. 9: 133-139.
- Bauman, P.A., L. Furniss and I. V. Lee. 1984. **Facultatively Anaerobic Gram Negative Rods: Genus I *Vibrio***. In : **Krieg N. R and Holt J. G (Ed). Bergey's Manual and Systematic Bacteriology**. William and Wilkinson. Baltimore. 518-538 p.
- Bellanti, J. A. 1993. **Imunologi III**. Penerjemah : A. S. Wahab. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 646 hal.
- Boer, D. R. dan Zafran, 1992. **Karakteristik Beberapa Isolat Bakteri Bercahaya Yang Diisolasi Dari Larva Udang Windu *Penaeus monodon***. Jurnal Penelitian Budidaya Pantai, Vol. 8 No. 3, 1992. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Balai Penelitian Perikanan Budidaya Pantai. Hal 93-98.
- Bonang, G. dan E. S. Koeswardono. 1982. **Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik**. PT. Gramedia. Jakarta. 199 hal.
- Brooks, G. F., Janet S. B. dan Stephen A. M. 2005. **Jawetz, Melnick and Aldelberg's. Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)**. Penerjemah: Eddy

- M., Kuntaman, Eddy B. W., Ni Made M., Setio H. Dan Lindawati. Salemba Medika. Jakarta. 528 hal
- Chen, L., X. Cheng, W. Shi., Q. Lu, V. L. Go, D. Heber, L. Ma. 2005. **Inhibition of Growth of *Streptococcus mutans*, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, and Vancomycin-Resistant Enterococci by Kurarinone, a Bioactive Flavonoid Isolated from *Sophora flavescens*.** Journal of Clinical Microbiology, Vol. 43, No. 7, p. 3574–3575.
- Cholik, F., A. G. Jagatraya, R. P. Poernomo dan A. Jauzi. 2005. **Akuakultur Tumpuan Harapan Masa Depan Bangsa.** PT. Victoria Kreasi Mandiri. Jakarta. 415 hal.
- Cowan, M. M. 1999. **Plant Products as Antimicrobial Agents.** Clinical Microbiology Reviews, Vol. 12, No. 4, p. 564–582.
- Cushnie, T. P. T. and Andrew J. L. 2005. **Review Antimicrobial Activity of Flavonoids.** International Journal of Antimicrobial Agents, 26: 343–356.
- Dwidjoseputro, D. 1998. **Dasar-Dasar Mikrobiologi.** Penerbit Djambatan. Jakarta. 214 hal.
- Edberg, S. C. 1986. **Tes Kerentanan Antimikroba.** Dalam: Antibiotika dan Infeksi. Alih Bahasa: Chandra Sanusi. CV EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 845 hal.
- Frerichs, G. N. 2001. **Isolation and Identification of Fish Bacterial Pathogen.** In : **Inglis, V, R. J. Robert, N. R. Bromage. Bacterial Disease of Fish.** Blackwell Science Ltd. USA. 257-283 p.
- Goarant, C., J. Herlin, R. Brizard, A-L. Marteau, C. Martin and B. Martin. 2000. **Toxic Factors of *Vibrio* Strains Pathogenic to Shrimp.** Dis. Aquat. Org. Vol. 40: 101-107.
- Green, J. 2005. **Terapi Herbal Pengobatan Alami Mengatasi Bakteri.** Alih Bahasa: Slamet Rianto. Prestasi Pustakaraya. Jakarta. 174 hal.
- Harris, L., L. Owens and S. Smith. 1996. **A Selective and Differential Medium for *Vibrio harveyi*.** Applied and Environmental Microbiology, Vol. 62, No.9, p. 3548-3550.
- _____. 1999. **Production of Exotoxin By Two Luminous *Vibrio harveyi* Strains Known to be Primary Pathogens of *Penaeus monodon* Larvae.** Dis. Aquat. Org. Vol. 38: 11-22.

- Hazril G. A. 2005. **Evaluasi Potensi Tanin Dari Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)**.<http://abstraksita.fti.itb.ac.id/?abstraksi=1&details=1&id=764&tahun=2005>. Diakses 15 September 2008.
- Hjeltnes, B. and R. J. Roberts, 2001. **Vibriosis. In : Inglis, V, R. J. Robert, N. R. Bromage. Bacterial Disease of Fish.** Blackwell Science Ltd. USA. 109-121 p.
- Irianto, A. 2003. **Probiotik Akuakultur.** Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 125 hal.
- _____. 2005. **Patologi Ikan Teleostei.** Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 256 hal.
- Islamulhayati, S. Keman, R. Yudhastuti. 2005. **Pengaruh Residu Khloramfenikol Dalam Udang Windu Terhadap Kejadian Anemia Aplastik Pada Mencit.** Jurnal Kesehatan Lingkungan. Vol.1, No.2. hal. 98-109.
- Jones, G. A., T. A. McAllister, A. D. Muir and K. J. Chen. 1994. **Effects Of Sainfoin (*Onobrychis viciifolia Scop.*) Condensed Tannins on Growth and Proteolysis by Four Strains Of Ruminal Bacteria.** Applied and Environmental Microbiology, Vol. 60, No. 4, p. 1374-1378.
- Juan L., Y. Fang, T. Lin, C. Fang. 2003. **Antitumor Effects Of Curcin From Seeds of *Jatropha curcas*.** Acta Pharmacol Sin. 24 (3): 241 -246
- Kordi, K. M. G. H. 2004. **Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan.** PT Rineka Cipta dan PT Bina Adiaksara. Jakarta. 194 hal.
- Lay, B. W. 1994. **Analisis Mikroba di Laboratorium.** PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 168 hal.
- Lee, K-K., Y-L. Chen and P-C. Liu. 1999. **Hemostatis of Tiger Prawn *Penaeus monodon* Affected by *Vibrio harveyi*, Extracellular Products and a Toxic Cysteine Protease.** Blood Cells, Molecules and Diseases, 15:180-192.
- Lenny, S. 2006. **Karya Ilmiah: Flavonoida, Fenilpropanoida, dan Alkaloida.** Departemen Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara. Medan. 25 hal.
- Mun'im, A. 2005. **Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Flavonoida dari *Crotalaria Anagyroides*.** Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol. II, No.1, 22 - 29
- Natzir, M. 1998. **Metode Penelitian.** Ghalia Indonesia. Jakarta. 212 hal.

- Nealson, K. H. and J. W. Hastings. 1979. **Bacterial Bioluminescence: Its Control and Ecological Significance**. Microbiological Reviews, Vol. 43, No.4, p. 496-518.
- Pelczar, M. J. and E C S Chan. 1981. **Elements of Microbiology**. McGraw-Hill Book Company. USA. 698 p.
- _____. 1986. **Dasar-dasar Mikrobiologi jilid I**. Penerjemah: R.S Hadioetomo, Teja I, S. Sutarmi, S.L Angka. Penerbit Universitas Indonesia Press. Jakarta. 443 hal.
- _____. 1988. **Dasar-dasar Mikrobiologi jilid 2**. Penerjemah: R.S Hadioetomo, Teja I, S. Sutarmi, S.L Angka. Penerbit Universitas Indonesia Press. Jakarta. 997 hal.
- Posangi, J. 2000. **Uji Antimikroba Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Terhadap Bakteri Enterik**. <http://digilib.sith.itb.ac.id/go.php?id=saptunsrat-gdl-jou-2000-jimmy-1911-antimikrob>. Diakses 15 September 2008.
- Prajitno, A. 2005. **Diktat Kuliah Parasit dan Penyakit Ikan**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 104 hal.
- _____. 2007a. **Penyakit Ikan – Udang : Bakteri**. Penerbit Universitas Negeri Malang. Malang. 115 hal.
- _____. 2007b. **Uji Sensitivitas Bio-Aktif Alami *Halimeda opuntia* terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* secara In Vitro (Uji Patogenitas Bakteri *Vibrio harveyi*)**. Jurnal Penelitian Perikanan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Vol. 10, No. 1, hal. 22-27
- Prasetyaningsih, H. 2004. **Uji Daya Anthelmintik Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Terhadap Cacing *Ascaridia galli* Schrank In Vitro Dan Profil Kromatografi Lapis Tipisnya**. Abstrak. F. Farmasi UMS. <http://etd.library.ums.ac.id/go.php?id=jtptums-gdl-s1-2007-henipraset-6347>. Diakses 18 Januari 2009
- Prihandana, R. dan R. Hendroko. 2006. **Petunjuk Budidaya Jarak Pagar**. Agromedia Pustaka. Jakarta. 84 hal.
- _____, E. Hambali, S. Mudjalipah dan R. Hendroko. 2007. **Meraup Untung dari Jarak Pagar**. Agromedia Pustaka. Jakarta. 106 hal.
- Robertson, P. A. W., J. Calderon, L. Carrera, J. R. Stark, M. Zherdmant and B. Austin. 1998. **Experimental *Vibrio harveyi* Infections in *Penaeus vannamei* Larvae**. Dis. Aquat. Org. Vol. 22: 151-155.

- Salle, A. J. 1961. **Fundamental Principles of Bacteriology**. Mc Graw-Hill Book Company, inc. New York. 812 p.
- Saulnier, D., P. Haffner, C. Goarant, P. Levy, D. Ansquer. 2000. **Experimental Infection Models For Shrimp Vibriosis Studies: A Review**. *Aquaculture* 191, 133-144.
- Sinaga, E. 2008. *Jatropha curcas* L. <http://bebas.vlsm.org>. Diakses 25 Oktober 2008
- Sun, B., X-H. Zhang, X. Tang, S. Wang, Y. Zhong, J. Chen and B. Austin. 2007 **A Single Residue Change in *Vibrio harveyi* Hemolysin Results in the Loss of Phospholipase and Hemolytic Activities and Pathogenicity for Turbot (*Scophthalmus maximus*)**. *Journal of Bacteriology*, Vol. 189, No. 6, p. 2575–2579.
- Suryabrata, S. 2006. **Metodologi Penelitian**. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. 165 hal.
- Taufan, M. L. dan Taufiq H. 2007. **Budidaya Tanaman Jarak Pagar (Penghasil Biodiesel)**. CV Aneka Ilmu. Semarang. 83 hal.
- Vaseeharan, B., P. Ramasamy, T. Murugan, J.C. Chen. 2005. **In Vitro Susceptibility of Antibiotics Against *Vibrio* spp. and *Aeromonas* spp. Isolated from *Penaeus monodon* Hatcheries and Ponds**. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 285–291.
- Volk, W. A. and Margaret F. Wheeler, 1993. **Mikrobiologi Dasar**. Edisi ke-5. Jilid 1. Erlangga. Jakarta. 396 hal.
- Yitnosumarto, S. 1991. **Percobaan: Perancangan, Analisis dan interpretasinya**. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 299 hal.
- Zafran dan D. R. Boer.1991. **Bakteri *Vibrio* sp. Sebagai Patogen Oportunistis bagi Udang Windu, *Penaeus monodon***. *Jurnal Penelitian Budidaya Pantai*. Vol. 7, No. 1, Subbalai Penelitian Perikanan Budidaya Pantai Gondol-Bali. Japan International Cooperation Agency (JICA) (ATA-379). hal 73-78.
- Zhong, Y., X-H. Zhang, J. J. Chen, Z. Chi, B. Sun, Y. Li and B. Austin. 2006. **Overexpression, Purification, Characterization, and Pathogenicity of *Vibrio harveyi* Hemolysin VHH**. *Infection and Immunity*. Vol. 74, No. 10, p. 6001–6005
- Zonneveld N, E A Huisman, J H Bonn. 1991. **Prinsip-prinsip Budidaya Ikan**. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 318 hal.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Perhitungan Zona Hambat Bakteri *Vibrio harveyi*

A. Diameter Daerah Hambatan pada Masing-Masing Perlakuan

Perlakuan (%)	Diameter Daerah Hambatan (mm)			Total	Rata-rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
15	9,7	9,4	8,6	27,7	9,23
20	10	9,3	9,5	28,8	9,6
25	9,8	9,6	10,3	29,7	9,9
30	10,3	10,5	9,8	30,6	10,2
35	10,5	10,7	11,2	32,4	10,8
40	11,4	11,3	10,9	33,6	11,2
				$\Sigma = 182,8$	

B. Perhitungan Jumlah Kuadratik

$$\text{Faktor Koreksi} = (182,8)^2 / 18 = 33415,84 / 18 \\ = 1856,44$$

$$\text{JK Total} = (9,7)^2 + (9,4)^2 + (8,6)^2 + (10)^2 + (9,3)^2 + (9,5)^2 + (9,8)^2 + (9,6)^2 + \\ (10,3)^2 + (10,3)^2 + (10,5)^2 + (9,8)^2 + (10,5)^2 + (10,7)^2 + \\ (11,2)^2 + (11,4)^2 + (11,3)^2 + (10,9)^2 - 1856,44 \\ = 1866,46 - 1856,44$$

$$= 10,02$$

$$\text{JK Perlakuan} = \frac{(27,7)^2 + (28,8)^2 + (29,7)^2 + (30,6)^2 + (32,4)^2 + (33,6)^2}{3} - 1856,44$$

$$= 5593,9 / 3 - 1856,44$$

$$= 1864,63 - 1856,44$$

$$= 8,19$$

$$\text{JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan}$$

$$= 10,02 - 8,19$$

$$= 1,83$$

Lampiran 1. (Lanjutan)**C. Analisa Sidik Ragam**

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	5	8,19	1,638	10,74**	3,11	5,06
Acak	12	1,83	0,1525			
Total	17	10,02				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata

Karena $F \text{ tabel } 5\% < F \text{ hitung } > F \text{ tabel } 1\%$, maka perlakuan pemberian ekstrak daun jarak dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap zona hambat bakteri *Vibrio harveyi*.

D. Uji BNT untuk 5% dan 1%

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{\frac{2KT \text{ Acak}}{\text{ulangan}}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \times 0,1525}{3}} \\ &= 0,318 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t \text{ } 5\% \text{ (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 2,179 \times 0,318 \\ &= 0,69 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= t \text{ } 1\% \text{ (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 3,055 \times 0,318 \\ &= 0,97 \end{aligned}$$

E. Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Rataan	A=9,23	B=9,6	C=9,9	D=10,2	E=10,8	F=11,2	Notasi
A = 9,23	-						a
B = 9,6	0,37 ^{ns}	-					ab
C = 9,9	0,67 ^{ns}	0,3 ^{ns}	-				ab
D = 10,2	0,97*	0,6 ^{ns}	0,3 ^{ns}	-			bc
E = 10,8	1,57**	1,2**	0,9*	0,6 ^{ns}	-		cd
F = 11,2	1,97**	1,6**	1,3**	1,0**	0,4 ^{ns}	-	d

Urutan perlakuan terbaik adalah perlakuan F → E → D → C/B → A

Lampiran 1. (Lanjutan)

F. Tabel Analisa Regresi

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)				
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik	Kuintik
15%	27,7	-5	+5	-5	+1	-1
20%	28,8	-3	-1	+7	-3	+5
25%	29,7	-1	-4	+4	+2	-10
30%	30,6	+1	-4	-4	+2	+10
35%	32,4	+3	-1	-7	-3	-5
40%	33,6	+5	+5	+5	+1	+1
$Q=\sum(Ci*Ti)$		42,2	4,1	0,7	-1,7	-3,1
$Kr=(\sum Ci^2)r$		210	252	540	84	756
$JK=Q^2/Kr$		8,48	0,067	0,0009	0,034	0,012

JK Total =8,59

G. Tabel Analisa Sidik Ragam Regresi

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	8,59	1,72	-		
▪ Linier	1	8,08	8,08	52,98**	4,75	9,33
▪ Kuadratik	1	0,067	0,067	0,439 ^{ns}		
▪ Kubik	1	0,0009	0,0009	0,0059 ^{ns}		
▪ Kuartik	1	0,034	0,034	0,22 ^{ns}		
▪ Kuintik	1	0,012	0,012	0,079 ^{ns}		
Acak	12	1,83	0,1525			
Total	17	-				

Keterangan: ** Berbeda sangat nyata
* Berbeda nyata
^{ns} Tidak berbeda nyata

Berdasarkan daftar sidik ragam regresi, regresi yang paling sesuai adalah regresi linier

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK_{\text{Linier}}}{JK_{\text{Linier}} + JK_{\text{Acak}}}$$

$$= \frac{8,08}{8,08 + 1,83}$$

$$= 0,815$$

$$r = 0,902$$

Lampiran 1. (Lanjutan)

H. Persamaan Regresi Linier dengan Rumus $Y = b_0 + b_1X$

Persamaan Umum : $Y = b_0 + b_1x$

Perlakuan	X (Konsentrasi)	Rata-rata (mm)	x.y	x ²
	x	y		
A	15	9,23	138,45	225
B	20	9,6	192	400
C	25	9,9	247,5	625
D	30	10,2	306	900
E	35	10,8	378	1225
F	40	11,2	448	1600
	$\sum x = 165$	$\sum y = 60,93$	$\sum x.y = 1709,95$	$\sum x^2 = 4975$
	$\bar{x} = 27,5$	$\bar{y} = 10,16$		

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$= \frac{1709,95 - \frac{165 * 60,93}{6}}{4975 - \frac{(165)^2}{6}}$$

$$= 0,079$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 \bar{x}$$

$$= 10,16 - (0,079 * 27,5)$$

$$= 10,16 - 2,17$$

$$= 7,99$$

Sehingga diperoleh persamaan :

$$Y = b_0 + b_1x$$

$$Y = 7,99 + 0,079 x$$

$$Y = 0,079 x + 7,99$$

Jadi, untuk

- X = 15 → Y = 0,079 (15) + 7,99 = 9,175
- X = 20 → Y = 0,079 (20) + 7,99 = 9,57
- X = 25 → Y = 0,079 (25) + 7,99 = 9,965
- X = 30 → Y = 0,079 (30) + 7,99 = 10,36
- X = 35 → Y = 0,079 (35) + 7,99 = 10,755
- X = 40 → Y = 0,079 (40) + 7,99 = 11,15

Lampiran 2. Cara Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Daun Jarak Pagar

Untuk menghitung konsentrasi setiap perlakuan dilakukan pengenceran dengan menggunakan rumus : $N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$. Dimana : N_1 = Konsentrasi yang digunakan, V_1 = Volume ekstrak daun jarak pagar yang diperlukan, N_2 = Konsentrasi stok ekstrak daun jarak pagar, V_2 = Volume yang digunakan (5 ml).

1. Konsentrasi 15 %

$$15\% \cdot 5 \text{ ml} = 100\% \cdot V_1$$

$$V_1 = \frac{15\% \times 5 \text{ ml}}{100\%} = 3,25 \text{ ml}$$

2. Konsentrasi 20 %

$$20\% \cdot 5 \text{ ml} = 100\% \cdot V_1$$

$$V_1 = \frac{20\% \times 5 \text{ ml}}{100\%} = 3,50 \text{ ml}$$

3. Konsentrasi 25 %

$$25\% \cdot 5 \text{ ml} = 100\% \cdot V_1$$

$$V_1 = \frac{25\% \times 5 \text{ ml}}{100\%} = 3,75 \text{ ml}$$

4. Konsentrasi 30 %

$$30\% \cdot 5 \text{ ml} = 100\% \cdot V_1$$

$$V_1 = \frac{30\% \times 5 \text{ ml}}{100\%} = 4,00 \text{ ml}$$

5. Konsentrasi 35 %

$$35\% \cdot 5 \text{ ml} = 100\% \cdot V_1$$

$$V_1 = \frac{35\% \times 5 \text{ ml}}{100\%} = 4,25 \text{ ml}$$

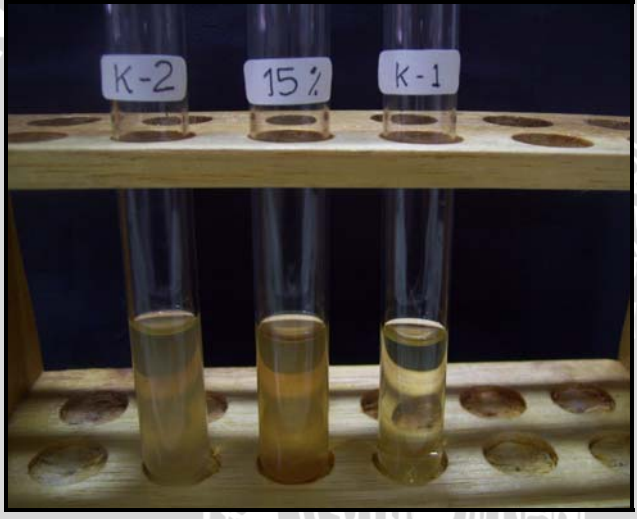
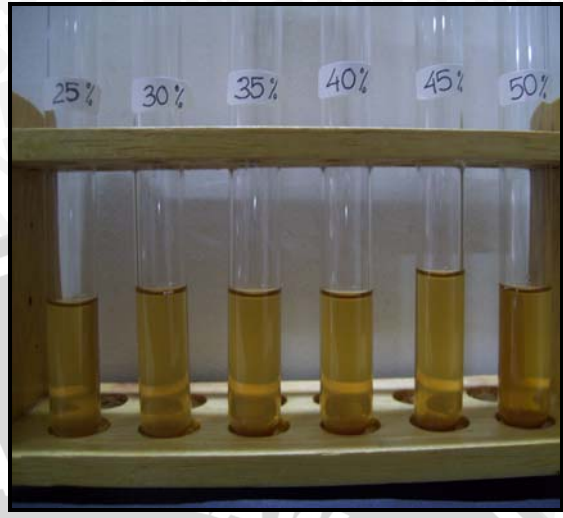
6. Konsentrasi 40 %

$$40\% \cdot 5 \text{ ml} = 100\% \cdot V_1$$

$$V_1 = \frac{40\% \times 5 \text{ ml}}{100\%} = 4,50 \text{ ml}$$

Volume aquades = 5 ml - volume ekstrak *Jatropha curcas*

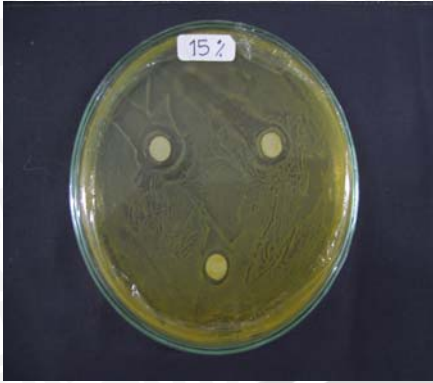
Lampiran 3. Hasil Uji MIC



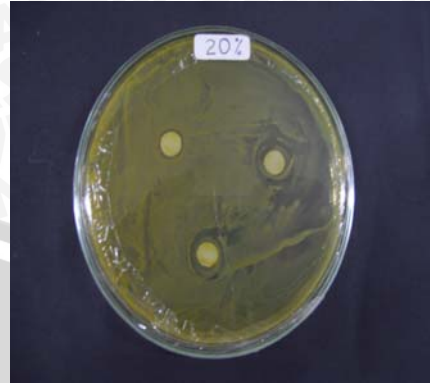
Keterangan : K1 : Kontrol Media

K2 : Kontrol Media dan Bakteri

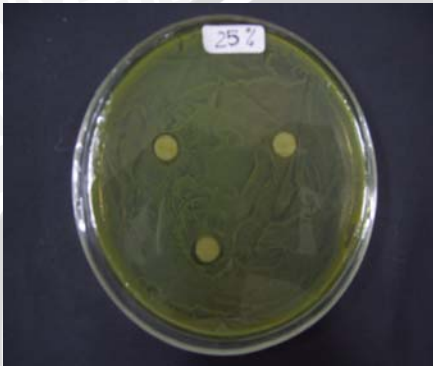
Lampiran 4. Hasil Uji Cakram



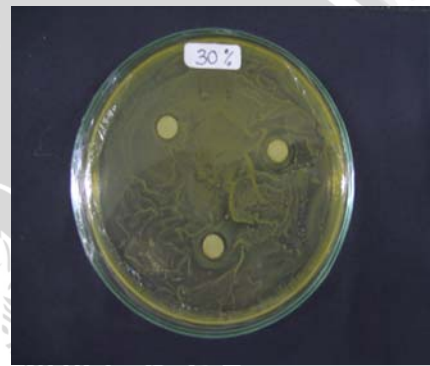
Konsentrasi 15%



Konsentrasi 20%



Konsentrasi 25%



Konsentrasi 30%



Konsentrasi 35%



Konsentrasi 40%



Kontrol (0%)