

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi Bakteri *A. hydrophila*

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri

Menurut Holt, Krieg dan Sneath, (1994), berikut adalah klasifikasi

*A. hydrophila*:

Divisi	: Protophyta
Class	: Schyzomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Sub Ordo	: Pseudomonadineae
Family	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Species	: <i>A. hydrophila</i>

Bakteri *A. hydrophila* adalah bakteri yang berbentuk batang dengan ukuran 0,7-0,8  $\mu\text{m}$  x 1,0-1,5  $\mu\text{m}$ , bersifat fakultatif aerob yaitu bakteri yang dapat berkembang dalam keadaan ada atau tanpa adanya oksigen meskipun perkembangbiakannya lebih cepat pada lingkungan yang ada oksigen. Pertumbuhan maksimal bakteri ini pada kisaran suhu 28°C - 41°C sedang pertumbuhan minimum pada suhu 0°C - 5°C. Bakteri ini akan tumbuh dengan baik pada Ph 5,5 – 9,0 (Prajitno, 2007).

Morfologi *A. hydrophila* dapat disajikan pada Gambar 1 :



**Gambar 1.** Bakteri *A. hydrophila* (Samsundari, 2006)

### 2.1.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

Pertumbuhan pada bakteri atau mikroorganisme lain biasanya mengacu pada perubahan di dalam hasil panen sel (pertambahan masa sel) dan bukan perubahan individu organisme. Inokulum hampir selalu mengandung ribuan organisme, pertumbuhan menyatakan pertambahan jumlah dan atau massa melebihi yang ada didalam inokulum asalnya. Selama fase pertumbuhan seimbang (*balanced growth*) yang akan diuraikan kemudian, pertambahan masa bakteri berbanding lurus (proporsional) dengan perubahan komponen seluler yang lain seperti DNA, RNA, dan protein (Pelczar dan Chan, 2008).

Menurut Harti (2015), kurva pertumbuhan bakteri terbagi atas 4 fase, yaitu:

- 1) Fase lag : kecepatan pertumbuhan nol atau 0 (tidak maksimum), disebut juga fase adaptasi. Tidak ada pertambahan populasi, tetapi pertambahan substansi intraseluler sehingga ukuran sel bertambah.
- 2) Fase logaritma (log) : kecepatan pertumbuhan mencapai maksimum. Masa dan jumlah sel bertambah secara eksponensial dengan waktu generasi sebagai konstanta, sehingga pertumbuhan akan seimbang, yaitu sel membelah dengan kecepatan konstan serta aktivitas metabolisme konstan.
- 3) Fase tetap maksimum : kecepatan pertumbuhan mulai menurun, terjadi akumulasi metabolit. Jumlah sel hidup tetap, namun terjadi pengurangan nutrien maka jumlah total sel mati dan hidup serta akumulasi metabolit.
- 4) Fase kematian : laju kematian secara eksponensial dan terjadi penurunan populasi sel-sel hidup hingga mencapai 0.

### 2.1.3 Habitat dan Penyebaran

Genus *A. hydrophila* mempunyai habitat dilingkungan perairan tawar. Bakteri ini diakui sebagai patogen dari akuatik yang berdarah dingin. Penyakit

yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* lebih banyak menyerang ikan sub tropis dibandingkan dengan daerah dingin (Prayitno, 2007).

Bakteri *A. hydrophila* ini umumnya hidup di air tawar yang mengandung bahan organik tinggi, bersifat gram negatif, berbentuk batang, bergerak menggunakan polar flagela, tidak berspora, serta senang hidup dilingkungan dengan pH antara 5,5-9 dan bersuhu 15-30 °C (Mahyuddin, 2010).

#### **2.1.4 Infeksi Bakteri (*A. hydrophila*)**

Bakteri *A. hydrophila* umumnya dapat menyebabkan infeksi pada seluruh tubuh disertai dengan pendarahan pada organ dalam tubuh ikan. Penyakit yang dapat ditimbulkan oleh bakteri *A. hydrophila* antara lain: timbulnya bercak merah pada permukaan tubuh, kulit beradang yang akhirnya terjadi ulkus-ulkus seperti bisul, pendarahan pada hati, pendarahan sirip, pendarahan otot, lendir berdarah pada rektum dan pembentukan cairan-cairan berdarah. Ikan yang terserang bakteri biasanya dapat mati dalam waktu satu minggu. Bakteri *A. hydrophila* ternyata sangat patogenik bagi ikan air tawar (Prajitno, 2007).

Infeksi bakteri *A. hydrophila* dapat terjadi akibat perubahan kondisi lingkungan, stres, perubahan temperatur, air yang terkontaminasi dan ketika host tersebut telah terinfeksi oleh virus, bakteri atau parasit lainnya (infeksi sekunder). Oleh karena itu bakteri ini disebut sebagai bakteri yang bersifat patogen oportunistik. Infeksi bakteri ini dapat menimbulkan penyakit dengan gejala-gejala di antaranya, kulit mudah terkelupas, bercak merah pada seluruh tubuh, insang berwarna suram atau kebiruan, *exophthalmia* (bola mata menonjol keluar), pendarahan sirip punggung, sirip dada, sirip perut, dan sirip ekor, juga terjadinya pendarahan pada anus, dan hilang nafsu makan (Mulia dan Husin, 2013).

Bakteri *A. hydrophila* memproduksi faktor-faktor eksotoksin dan endotoksin yang sangat berpengaruh pada patogenitas bakteri. Eksotoksin merupakan komponen protein terlarut yang disekresi oleh bakteri hidup pada

fase pertumbuhan eksponensial. Produksi toksin ini biasanya spesifik pada beberapa spesies bakteri tertentu baik gram positif maupun gram negatif, yang menyebabkan terjadinya penyakit terkait dengan toksin tersebut. Endotoksin dapat menyebabkan radang, demam dan kejutan (*shock*) pada hewan inang. Endotoksin dilepaskan hanya bila sel dari bakteri tersebut hancur karena lisis. Karena itu, umumnya endotoksin hanya memegang peranan membantu dalam menyebarkan penyakit (Haryani, Grandiosa, Buwono, dan Santika, 2012).

## **2.2 Biologi Tanaman Brotowali (*T. crista* (L.) Miers)**

### **2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi**

Menurut Fitriah (2015), klasifikasi tanaman brotowali (*T. crista* (L.) Miers) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermathophyta
Sub divisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledonae
Ordo	: Euphorbiales
Familia	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Tinospora</i>
Spesies	: <i>T. crista</i> (L.) Miers

Brotowali termasuk famili Menispermaceae merupakan tumbuhan liar yang banyak ditemukan di Jawa, Bali, dan Ambon. Tumbuh baik di daerah berketinggian 0-1.000 meter dpl. Tinggi batang mencapai 2,5 meter. Di alam, brotowali digunakan sebagai tanaman penutup tanah karena tidak ada penyangga sebagai tempat memanjat. Batangnya sebesar jari kelingking dan berbintil-bintil rapat. Daunnya tunggal, bertangkai, berbentuk seperti jantung atau agak bulat telur dan berujung lancip. Bunganya kecil, berwarna hijau muda, dan berbentuk tandan semu (Adi, 2006).

Tanaman brotowali (bratawali) telah lama di kenal sebagai tanaman yang berkhasiat obat. Brotowali dikenal dengan rasanya yang pahit, mungkin sejajar dengan pahitnya sambiloto. Tanaman ini sangat mudah dikenali, dengan ciri-ciri tanaman merambat, batang berbentuk hati, dan yang paling mudah dikenali adalah batangnya yang bantol-bantol seperti jarawat (Andareto, 2015).

Brotowali memiliki sifat menghilangkan rasa sakit (analgetik), menurunkan panas (antipiretik), dan melancarkan meridian. Dalam farmakologi Cina, tanaman ini memiliki rasa pahit dan bersifat sejuk. Bagian tanaman yang di gunakan sebagai obat tradisional adalah batang dan daunnya. Berkhasiat untuk mengobati rematik, diabetes melitus, demam, kudis, luka dan gatal-gatal (Sitanggang dan Dewani, 2006).

Berikut merupakan tanaman Brotowali (*T. crispa* (L.) Miers) dapat disajikan pada Gambar 2:



**Gambar 2.** Brotowali *T. crispa* (L.) Miers (Kresnady, 2003)

### **2.2.2 Bahan Aktif**

Brotowali mengandung banyak senyawa kimia yang berkhasiat menyembuhkan berbagai penyakit. Kandungan senyawa kimia berkhasiat obat tersebut terdapat di seluruh bagian tanaman, dari akar, batang, sampai daun. Akar brotowali mengandung senyawa antimikroba berberin dan kolumbin. Berdasarkan sejumlah literatur, secara umum di dalam tanaman brotowali

terkandung berbagai senyawa kimia antara lain alkaloid, damar lunak, pati, glikosida, pikroretosid, harsa, zat pahit pikroretin, tinokrisposid, berberin, palmatin, kolumbin dan kaokulin atau pikrotoksin ( Kresnady, 2003).

Menurut Limyati, Artawan dan Halim (1998), batang brotowali berperan sebagai anti-serangga, dimana senyawa yang diduga berperan dalam hal ini adalah minyak atsiri yang terkandung dalam fraksi glikosida. Tidak ada indikasi bahwa batang brotowali dapat digunakan sebagai pembunuh hama (insektisida).

Menurut Santa dan Prajogo (1998), pada irisan melintang batang dijumpai adanya: epidermis, periderm (batang tua), parenkim korteks (parenkim luar) disertai dengan butir amilum atau kristal kalsium oksalat (bentuk prisma), sklerenkim yang merupakan lengkungan mengelilingi seluruh silinder pusat, parenkim bagian dalam, berkas pembuluh kolateral terbuka, jari-jari empulur (parenkim) yang lebar, empulur yang terdiri dari parenkim (disertai butir amilum). Tipe stele tergolong diktiostele; silinder karnbium tidak ada, sehingga besarnya batang terbatas dan menyerupai batang monocotyl. Berkas pembuluh terpisah satu dengan yang lain; jumlah berkas pembuluh dapat mencapai 1. Kandungan kimia zat pahit: pikroretin (terutama batang); alkaloida: berberina (akar, batang); kolumbina (akar); palmatina (batang) , glikosida: pikroretosida (batang daun); saponin (batang, daun); tanin (batang, daun); amilum (batang).

### **2.2.3 Mekanisme Kerja Antimikroba**

Antibakteri adalah senyawa-senyawa kimia alami yang dalam kadar rendah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Antibakteri dapat berupa senyawa kimia sintetik atau produk alami. Antibakteri sintetik dapat dihasilkan dengan membuat suatu senyawa yang sifatnya mirip dengan aslinya yang dibuat secara besar-besaran, sedangkan yang alami didapatkan langsung dari organisme yang menghasilkan senyawa tersebut dengan melakukan proses pengekstrakan. Aktivitas antibakteri diukur secara *in vitro* untuk menentukan

potensinya dalam suatu sediaan, konsentrasinya dalam cairan tubuh, dan jaringan serta kepekaan bakteri terhadap obat (Nadhilla, 2014)

Antimikroba adalah suatu zat yang mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba. Apabila zat tersebut mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri maka zat tersebut dapat disebut sebagai antibakteri. Mekanisme antimikroba antara lain dengan jalan merusak dinding sel, merusak membran sitoplasma, mendenaturasi protein dan menghambat kerja enzim dalam sel (Prajitno, 2007).

Menurut Koswara (2009), mekanisme zat antimikroba dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroba adalah merusak dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan lisis atau menghambat pembentukan dinding sel pada sel yang sedang tumbuh, mengubah permeabilitas membran sitoplasma yang menyebabkan kebocoran nutrient dari dalam sel, misalnya yang disebabkan oleh senyawa fenolik, menyebabkan denaturasi sel, misalnya oleh alkohol dan menghambat kerja enzim di dalam sel. Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antimikroba dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain: (1) gangguan pada senyawa penyusun dinding sel, (2) peningkatan permeabilitas membran sel yang dapat menyebabkan kehilangan komponen penyusun sel, (3) menginaktivasi enzim, dan (4) destruksi atau kerusakan fungsi material genetik.

### **2.3 Uji Aktivitas Antibakteri secara *In Vitro***

Metode kerentanan uji cakram sederhana dan praktis dan telah menjadi standarisasi. Uji cakram mengacu pada difusi senyawa antimikroba dari konsentrasi tertentu dari cakram, tablet atau strip, ke dalam media kultur padat yang telah ditanam dengan inokulum yang dipilih diisolasi dalam kultur murni. Uji cakram didasarkan pada penentuan suatu proporsional zona hambat untuk kerentanan bakteri terhadap senyawa antimikroba dalam cakram. Difusi senyawa

antimikroba pada hasil media kultur unggulan dalam gradien antimikroba. Ketika konsentrasi antimikroba menjadi cair yang tidak bisa lagi menghambat pertumbuhan bakteri uji, zona hambat terbatas. Diameter zona hambat sekitar cakram antimikroba berhubungan dengan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) untuk bakteri tertentu/kombinasi antimikroba; zona hambat berkorelasi terbalik dengan pengujian bakteri MIC. Umumnya, semakin besar zona hambat, semakin rendah konsentrasi antimikroba yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan organisme. Namun, ini tergantung pada konsentrasi antibiotik pada cakram dan difusinya (Patel, 2012).

Kertas cakram, yang telah dibubuhkan sejumlah tertentu antimikroba, ditempatkan pada media yang telah ditanami organisme yang akan diuji secara merata. Tingginya konsentrasi dari antimikroba ditentukan oleh difusi dari cakram dan pertumbuhan organisme uji dihambat penyebarannya sepanjang difusi antimikroba (terbentuk zona jernih di sekitar cakram), sehingga bakteri tersebut merupakan bakteri yang sensitif terhadap antimikroba. Ada hubungan persamaan yang hampir linear (berbanding lurus) antara log MIC, seperti yang diukur oleh metode dilusi dan diameter zona daya hambat pada metode difusi (Soleha, 2015).