

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* L.)
DENGAN KONSENTRASI YANG BERBEDA TERHADAP BAKTERI
Aeromonas hydrophila SECARA INVITRO**

**SKRIPSI
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
BUDIDAYA PERAIRAN**

Oleh:

**IMAS MARTHAPRATAMA
NIM. 0410850043**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
MALANG
2008**

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* L.)
DENGAN KONSENTRASI YANG BERBEDA TERHADAP BAKTERI
Aeromonas hydrophila SECARA INVITRO**

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

Oleh :
IMAS MARTHAPRATAMA
NIM. 0410850043

DOSEN PENGUJI I

Prof. Ir. MARSOEDI, Ph.D
TANGGAL :

DOSEN PENGUJI II

Ir. M. RASYID FADHOLI, MSi
TANGGAL :

MENYETUJUI,

DOSEN PEMBIMBING I

DR. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS
TANGGAL :

DOSEN PEMBIMBING II

Ir. SOELISTYOWATI
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.

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

- Bapak Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku Dosen Pembimbing I
- Ibu Ir. Soelistyowati selaku Dosen Pembimbing II
- Bapak Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D selaku Dosen Penguji I
- Bapak Ir. M. Rasyid Fadholi, Msi selaku Dosen Penguji II
- Teman – teman, atas semangat bantuannya dan informasi yang diberikan serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

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

Malang, November 2008

Penulis

RINGKASAN

IMAS MARTHAPRATAMA. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Dengan Konsentrasi Yang Berbeda Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara In-Vitro (dibawah bimbingan **DR. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS** dan **Ir. SOELISTYOWATI**).

Salah satu bakteri yang sering menginfeksi ikan adalah *Aeromonas hydrophila*. Jenis penyakit yang disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila*, pada usaha budidaya ikan lele, katak lembu, ikan gurame, ikan koi, dan ikan koki adalah *Haemorrhagic septicaemia*. Akibat dari penyakit ini adalah warna ikan menjadi lebih gelap atau lebih pucat, ikan tampak menyendiri, gerakan ikan menjadi tidak normal (berputar-putar), bercak-bercak peradangan pada kulit, sirip koyak-koyak, peradangan berdarah pada mulut dan organ-organ dalam, eksudat (cairan radang) di dalam rongga perut serta ginjal mengalami pembengkakan yang disertai pendarahan.

Daun jarak pagar bisa digunakan untuk mengobati bengkak karena terpukul, terkilir, patah tulang, luka berdarah, gatal-gatal, eksim, jamur di sela-sela jari kaki. Selain juga dipergunakan untuk mencegah masuk angin bagi bayi, mengobati penyakit lepra, kencing nanah, rematik, obat cacing dan juga untuk menyuburkan rambut. Daun dan ranting muda pada tanaman jarak pagar juga mengandung flavonoid, apigenin, vitexin dan isovitexin. Selain komponen di atas, daun jarak pagar juga mengandung dimer dari triterpene alkohol ($C_{63}H_{117}O_9$) dan dua flavonoid glikosida. Flavonoid atau bioflavonoid adalah kelompok kandungan polyphenolic yang terdapat di banyak tumbuhan, biji-bijian, kulit kayu dan bunga. Flavonoid terdapat juga di sebagian besar tumbuhan obat-obatan, seperti yang dilaporkan oleh para penulis sebagai antibakteri. Oleh karenanya, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efektifitas daun jarak pagar sebagai alternatif pengobatan terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada bulan Agustus sampai November 2008. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari daya hambat ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi dalam pencegahan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan menggunakan obat tradisional berupa ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.).

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 10%, 15%, 20%, 25%, 30% dan 35%. Sebagai parameter utama dalam penelitian ini adalah diameter daerah hambatan ekstrak daun jarak pagar terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*, sedangkan parameter penunjang dalam penelitian adalah pH media dan suhu inkubator.

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

terbentuk. Rata-rata diameter hambatan pada bakteri *Aeromonas hydrophila* untuk perlakuan A (10%), menunjukkan nilai 8,56 mm, perlakuan B (15%) menunjukkan rata-rata diameter hambatan sebesar 8,86 mm; perlakuan C (20%) dengan rata-rata diameter daerah hambatan sebesar 9,13 mm; perlakuan D (25%) dengan rata-rata 9,6 mm; perlakuan E (30%) dengan rata-rata diameter sebesar 9,7 mm dan perlakuan F (35%) dengan rata-rata diameter daerah hambatan sebesar 11,33 mm.

Dari hasil analisa grafik, diketahui bahwa hubungan antara konsentrasi ekstrak daun jarak pagar dengan diameter daerah hambatan berbentuk regresi linier, dengan persamaan $y = 0,096x + 7,37$ dan nilai koefisien korelasi sebesar $r = 0,920$.

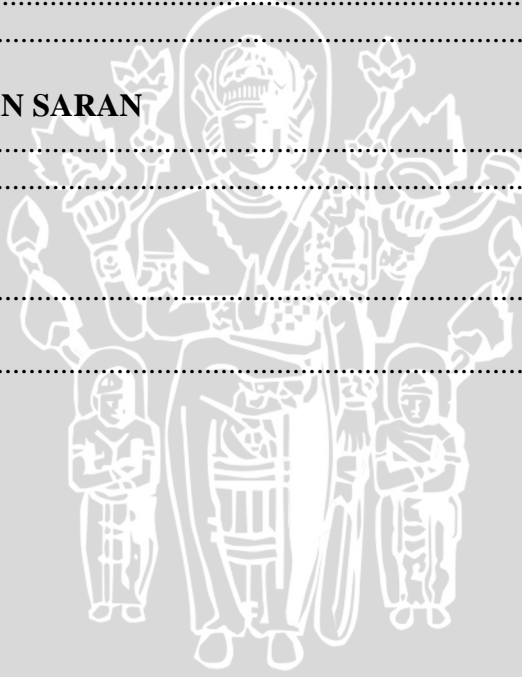
Berdasarkan hasil penelitian, dapat disarankan sebaiknya dilakukan penelitian lanjutan tentang uji efektivitas ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* di atas konsentrasi 35 % sehingga dapat diketahui konsentrasi optimal dari ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*). Perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak air daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) secara in vivo terhadap organisme air yang terserang bakteri *Aeromonas hydrophila*.



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	4
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Hipotesis	6
1.6 Tempat dan Waktu	6
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	7
2.1.1 Morfologi dan Klasifikasi	7
2.1.2 Habitat	9
2.1.3 Metabolisme dan Perkembangan	10
2.1.4 Infeksi dan Tanda - Tanda Serangan	11
2.2 Daun Jarak Pagar (<i>Jatropha curcas</i>)	12
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	12
2.2.2 Ekologi dan Penyebaran	14
2.2.3 Manfaat Daun Jarak Pagar	15
2.2.4 Komposisi Kimia Daun Jarak Pagar	15
2.2.5 Mekanisme Kerja Antimikroba	16
2.3 Uji Efektifitas Anti Bakteri Secara Invitro	17
2.3.1 Cara Pengenceran Tabung	18
2.3.2 Uji Cakram	19
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	20
3.1.1 Bahan Yang Digunakan Dalam Penelitian	20
3.1.2 Alat Yang Digunakan Dalam Penelitian	20
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian	21
3.2.1 Metode Penelitian	21
3.2.2 Rancangan Penelitian	22

3.3	Prosedur Penelitian	23
3.3.1	Masa persiapan	23
3.3.2	Pembuatan ekstrak daun jarak pagar.....	25
3.3.3	Uji Efektivitas Ekstrak daun jarak pagar.....	26
3.3.3.1	Uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC).....	26
3.3.3.2	Uji Cakram.....	27
3.4	Parameter	28
3.4.1	Parameter Uji.....	28
3.4.2	Parameter Penunjang.....	29
3.5	Analisa Data.....	29
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1	Kultur Murni <i>Aeromonas hydrophila</i>	30
4.2	Kadar Hambat Minimum (MIC)	32
4.3	Daya Anti Bakterial Daun Jarak Pagar (Metode Cakram).....	33
4.4	Lingkungan Hidup Bakteri <i>Aeromona hydrophila</i>	39
4.4.1	pH.....	39
4.4.2	Suhu.....	39
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1	Kesimpulan	41
5.2	Saran	41
	DAFTAR PUSTAKA	43
	LAMPIRAN	46



1 PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Indonesia adalah negara kepulauan terbesar di dunia dengan jumlah pulau kurang lebih 17.000 pulau besar dan kecil, juga memiliki panjang pantai terpanjang kedua di dunia setelah Australia yang mencapai kurang lebih 81.000 km. Sebagai Negara kepulauan yang dikelilingi laut, Indonesia mempunyai sumber daya alam laut yang besar, baik sumber daya hayati maupun non-hayati (Ghufran dan Kordi, 2004).

Perikanan budidaya di Indonesia, sangat beragam macamnya. Menurut ekosistem dimana kegiatan tersebut dilaksanakan, perikanan budidaya dapat dibagi atas perikanan budidaya air tawar, perikanan budidaya air payau dan perikanan budidaya laut. Perikanan budidaya dapat juga dibagi menurut lokasi dimana fasilitas budidaya dibangun, yaitu daratan dan perairan. Yang pertama adalah perikanan budidaya berbasis daratan dan yang kedua perikanan berbasis perairan (Cholik, Ateng, Poernomo, Jauzi, 2005).

Menurut Ghufran M dan H Kordi K (2004), perairan umum (perairan tawar) di Indonesia diperkirakan mencapai 40 juta hektar yang terdiri dari sungai, waduk, danau, rawa dan genangan air lainnya. Wilayah perairan ini terus bertambah, mengingat dibangunnya sejumlah waduk di berbagai daerah. Selain waduk, perairan umum lainnya yang dapat digunakan untuk budidaya ikan adalah danau, rawa, sungai dan genangan air lainnya. Menurut Sumantadinata (1981), ruang lingkup kegiatan budidaya ikan mencakup pengendalian pertumbuhan dan pengembangbiakan. Budidaya ikan bertujuan untuk memperoleh hasil yang lebih tinggi atau lebih banyak dan lebih baik daripada bila

ikan itu dibiarkan hidup secara alami sepenuhnya. Budidaya ikan terutama diselenggarakan di kolam, tambak, sawah dan keramba.

Murtidjo (2001) menjelaskan bahwa kelestarian hayati perairan suatu ketika akan terganggu jika penangkapan ikan dilakukan secara besar-besaran tanpa mengindahkan norma-norma konservasi. Jika kita mengharapkan agar hasil perairan tetap dapat dinikmati, maka sudah sewajarnya kita kembangkan usaha budidaya perikanan. Dengan budidaya perikanan kita sudah menunjukkan perwujudan yang paling sederhana dan usaha peningkatan kesejahteraan dan kemakmuran masyarakat. Budidaya perikanan adalah mengusahakan kecukupan pangan, khususnya pemenuhan kebutuhan protein hewani dari perikanan.

Untuk memenuhi permintaan produk perikanan yang terus meningkat, penerapan intensifikasi budidaya tidak dapat dihindarkan. Namun intensifikasi budidaya dapat menimbulkan dampak negatif antara lain penyakit (Sundana, 2008). Potensi yang besar dan prospek pengembangan yang begitu terbuka, bukanlah jaminan bahwa budidaya ikan akan berjalan mulus, tanpa permasalahan. Kini telah banyak masalah yang dihadapi oleh sektor budidaya ikan. Salah satunya yang dianggap sering menghambat pada budidaya ikan terbesar adalah munculnya serangan penyakit (Gufran dan Kordi, 2004). Dijelaskan lebih lanjut oleh Afrianto dan Liviawaty (1992) bahwa pengetahuan mengenai sumber penyakit yang sering menyerang ikan, selain sangat membantu dalam upaya pengobatan juga bermanfaat dalam menentukan tindakan yang harus dilakukan petani untuk mencegah serangan suatu penyakit yang mungkin akan dialami oleh ikan peliharaannya.

Mendapatkan ikan sehat tidaklah mudah. Peralnya, setiap usaha budidaya tak luput dari berbagai kendala. Parasit ikan selalu ada di setiap lingkungan perairan

walaupun kadang serangannya belum tentu menyebabkan ikan sakit (Munajat dan Budiana, 2003). Prajitno (2008) menjelaskan bahwa ikan mudah terserang penyakit terutama disebabkan oleh kondisi ikan yang lemah (semakin turunnya daya tahan ikan) akibat dari beberapa faktor seperti: kepadatan yang tinggi, makanan yang kurang baik, kualitas air yang kurang baik, fluktuasi suhu yang besar, penanganan yang buruk serta adanya pembendungan atau polusi yang dapat menyebabkan perubahan ekosistem perairan.

Timbulnya sakit dapat diakibatkan infeksi patogen yang dapat berupa bakteri, virus, fungi atau parasit. Penyakit meliputi penyakit infeksi dan bukan infeksi. Penyakit infeksi merupakan masalah utama, meliputi penyakit-penyakit yang disebabkan oleh virus, bakteri, fungi dan parasit (Irianto, 2005). Salah satu bakteri yang sering menginfeksi ikan adalah *Aeromonas hydrophila*. Jenis penyakit yang disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila*, pada usaha budidaya ikan lele, katak lembu, ikan ikan gurame, ikan koi dan ikan koki adalah *Haemorrhagic septicaemia*. Akibat dari penyakit ini adalah warna ikan menjadi lebih gelap atau lebih pucat, ikan tampak menyendiri, gerakan ikan menjadi tidak normal (berputar-putar), bercak-bercak peradangan pada kulit, sirip koyak-koyak, peradangan berdarah pada mulut dan organ-organ dalam, eksudat (cairan radang) di dalam rongga perut serta ginjal mengalami pembengkakan yang disertai pendarahan (Prajitno, 2008).

Untuk mengatasi penyakit ini ada dua cara yang bisa dilakukan yaitu dengan preventif (pencegahan) dan kuratif (pengobatan). Pencegahan dapat dilakukan dengan upaya pembersihan secara berkesinambungan baik terhadap kolam pemeliharaan ikan maupun semua peralatan yang digunakan. Jika ikan sudah terserang penyakit maka tidak

ada cara yang lebih baik selain segera melakukan pengobatan yang tepat (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

Seiring dengan kecenderungan masyarakat modern dalam menggunakan produk yang berasal dari bahan alam untuk peningkatan kesehatan, maka keamanan manfaat dan kualitas produk obat herbal menjadi pertimbangan penting (Anonymous, 2004). Munajat dan Budiana (2003) menambahkan, banyak jenis tanaman yang bisa dipakai untuk ikan. Kandungan kimia yang terkandung di dalam tanaman selain untuk meningkatkan kualitas air, juga berfungsi untuk meningkatkan daya tahan tubuh ikan, mengobati penyakit dan membunuh predator atau pesaing ikan di kolam. Oleh karena itu, bila tanaman itu bisa dikelola sebagai bahan pestisida dapat membantu masyarakat peternak untuk mengembangkan pengendalian yang ramah lingkungan.

Tanaman jarak pagar selain sebagai bahan bakar, juga dimanfaatkan di bidang farmasi, industri, otomotif dan sebagainya. Penelitian terakhir di bidang medis menunjukkan racun dari biji jarak juga punya potensi sebagai obat pembasmi sel-sel kanker (Taufan dan Taufiq, 2007).

1.2 Perumusan masalah

Di dalam usaha budidaya, khususnya budidaya intensif sering dihadapi berbagai kendala produksi antara lain adalah penyakit ikan. Timbulnya penyakit dalam tubuh ikan merupakan suatu hasil interaksi yang tidak serasi antara ikan itu sendiri, lingkungan dan patogen. Selain itu timbulnya penyakit juga dipengaruhi oleh kondisi ikan dan cara penyerangan dari parasit tersebut. Penyakit ikan air tawar banyak disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Jenis penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini adalah *Haemorrhagic septicaemia*. Akibat dari penyakit ini adalah tubuh ikan yang terserang

terjadi luka dan berdarah, perut membesar (kembung), dalam waktu singkat ikan yang terserang akan lemah dan mati.

Berbagai upaya penanggulangan terhadap penyakit ini telah dilakukan baik dengan cara pencegahan maupun pengobatan. Akan tetapi sejauh ini upaya tersebut belum memberikan hasil seperti yang diharapkan. Berbagai jenis obat antibiotika telah digunakan secara luas namun karena kurang memahami cara pemakaian yang benar maka akibatnya selain tidak efektif bahkan dapat berdampak negatif yaitu timbulnya daya resisten terhadap obat. Selain itu efek pemakaian antibiotika dalam penanggulangan penyakit ini cukup tinggi. Hal ini disebabkan karena banyak antibiotika tidak mempunyai nilai toksisitas yang selektif. Terkadang justru terlalu beracun bagi inangnya (Prajitno, 2008).

Oleh karena itu cara penanggulangan terhadap penyakit bakterial ini adalah dengan memanfaatkan bahan obat-obatan dari alam. Di alam banyak sekali tanaman-tanaman yang berkhasiat sebagai obat salah satunya tanaman jarak pagar. Menurut Alamsyah (2006), bahwa daun jarak pagar mengandung flavonoid. Dijelaskan lebih lanjut oleh Robinson (1995) bahwa fungsi flavonoid pada tumbuhan yang mengandungnya adalah kerja antimikroba dan antivirus.

Dari uraian di atas dapat diperoleh suatu informasi bahwa daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dapat dijadikan sebagai alternatif pengendalian penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang uji efektifitas daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* sehingga dapat dimanfaatkan secara tepat dalam penanggulangan penyakit.

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari daya hambat ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

1.4 Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi dalam pencegahan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan menggunakan obat tradisional berupa ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*)

1.5 Hipotesis

H₀ : Diduga bahwa penggunaan ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

H₁ : Diduga bahwa penggunaan ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, pada bulan Agustus sampai November 2008.

2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.1.1 Morfologi dan klasifikasi

Jenis *Aeromonas* termasuk dalam bakteri gram negatif, bentuknya tidak berongga, mempunyai flagel, bakteri fakultatif anaerob yang berasal dan berada dalam lingkungan perairan. Walaupun menurut sejarahnya *Aeromonas* termasuk dalam famili Vibrionaceae, namun ada pendapat yang menyarankan *Aeromonas* dimasukkan dalam golongan familinya sendiri, Aeromonadaceae. Ada beberapa karakteristik biokimia yang terdapat dalam genus *Aeromonas* yang merupakan anggota dari Enterobacteriaceae, yang secara mendasar dibedakan dengan terjadinya oksidasi positif (Anonymous, 2008)

Menurut Zonneveld, Huisman, Bonn, (1991), bakteri adalah mikroorganisme dengan struktur intraseluler yang sederhana. Bentuknya berbeda menurut genusnya. Jenis bakteri tertentu bisa menunjukkan bentuk dan ukuran sesuai dengan keadaan lingkungan. Bakteri termasuk dalam golongan prokariot, secara fisik memiliki morfologi seperti yang telah dikemukakan oleh Antony van Leeuwenhoek, dengan ukuran yang hanya beberapa mikron sehingga tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Walaupun bentuknya bermacam-macam tetapi pada dasarnya strukturnya terdiri atas dinding sel, membran sitoplasma, sitoplasma serta inti sel (Anonymous, 2003).

Ciri-ciri bakteri adalah sifatnya yang dapat tumbuh dan bertambah banyak dalam kelompok, berbentuk rantai atau benang memiliki koloni yang berwarna dan berkilau atau tidak, halus atau kasar, metabolisme aerob atau anaerob dan membutuhkan media tertentu untuk mengkultur disertai dengan menghasilkan asam atau gas (Zonneveld N, *et al*, 1991). Menurut Gufran dan Kordi (2004), bakteri *Aeromonas* adalah bakteri yang

hidup di air tawar yang mengandung bahan organik tinggi. Ciri utama bakteri *Aeromonas* adalah bentuknya seperti batang, ukurannya 1-4 x 0,4-1 mikron, bersifat gram negatif, fakultatif aerobik (dapat hidup dengan atau tanpa oksigen), tidak berspora, bersifat motil (bergerak aktif) karena mempunyai satu flagel (*Monotrichous Flagella*) yang keluar dari salah satu kutubnya, senang di lingkungan bersuhu 15-30°C dan pH antara 5,5-9.

Menurut Inglis, Ronald and Niall (1993), genus *Aeromonas* termasuk dalam famili Vibrionaceae, terdiri dari batang gram negatif dengan ukuran 0,3-1,0 mikron x 1,0-3,5 mikron. Dengan satu pengecualian mereka termasuk satu polar flagellum. Tidak berbentuk spora, merupakan bakteri fakultatif anaerob. *Aeromonas hydrophila* adalah gram negatif, bakteri hemolitik yang berbentuk batang yang sangat berbahaya bagi ikan dan reptil (Anonymous, 2008). Bonang dan Koeswardono (1982) menjelaskan bahwa *Aeromonas hydrophila* mempunyai ciri-ciri sel lurus berbentuk batang dengan ujung bulat atau berbentuk koloid. Ukuran sel 1,0-4,4 mikrometer. Bergerak dengan flagel monotrik pada ujung sel. Meragikan glukosa, fruktosa, maltosa dan trehalosa menjadi asam atau asam dan gas. Nitrat direduksi menjadi nitrit. Pertumbuhan terbatas pada pH 5,5-9,0.

Aeromonas hydrophila merupakan Gram Negatif, bakteri fakultatif anaerob dan termasuk dalam famili Aeromonadaceae (Anonymous, 2008). Dijelaskan oleh Dwijoseputro (1987), bakteri fakultatif anaerob akan tumbuh tersebar di seluruh medium jika diinokulasikan pada medium cair. Penemuan selama dua dekade lalu bahwa dunia ini didiami oleh jenis sel yang sangat beragam (yakni, sel eukariotik dan sel prokariotik) telah menyebabkan munculnya usulan yang lebih lanjut bahwa mikroorganisme eukariotik (protozoa, alga, fungi) dianggap sebagai protista tinggi dan sel prokariotik

seperti alga hijau-biru dianggap sebagai protista rendah. Akan tetapi, sekalipun dengan terminologi yang lebih baru, mikroorganisme masih tetap diklasifikasikan dalam cara tradisional yang menempatkan mikroorganisme ke dalam ordo, famili dan seterusnya, sehingga satu-satunya inovasi nyata adalah pengakuan akan adanya kingdom baru dan kenyataan bahwa kingdom tersebut mencakup jenis-jenis dua sel (Volk dan Margaret, 1990).

Klasifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* menurut Holt (1979) dalam Prajitno (2008) adalah sebagai berikut:

Divisio	: Pharyngozoa
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Sub ordo	: Pseudomonadineae
Famili	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Species	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

2.1.2 Habitat

Menurut Suriawiria (1993), bakteri secara umum hidup bebas secara kosmopolitan dimana-mana, khususnya di udara, di tanah, di dalam air, pada bahan makanan, pada tubuh manusia, hewan ataupun tanaman. Adapula yang hidup bersimbiosis dengan jasad-hidup lain, baik hewan ataupun tanaman. Bakteri *Aeromonas* adalah bakteri yang hidup di air tawar yang mengandung bahan organik tinggi dan senang hidup di lingkungan bersuhu 15-30°C dan pH antara 5,5-9 (Gufran dan Kordi, 2004). Dijelaskan pula oleh Afrianto dan Liviawaty (1992) bahwa bakteri *Aeromonas hydrophila* pada umumnya hidup pada air tawar terutama yang mengandung bahan

organik tinggi serta diakui sebagai bakteri patogen dari hewan akuatik yang berdarah dingin.

2.1.3 Metabolisme dan perkembangan

Metabolisme merupakan jumlah keseluruhan reaksi kimiawi yang terjadi pada makhluk hidup (termasuk bakteri) dan reaksi tersebut saling tumpang tindih (*overlapping*). Dalam melakukan proses metabolisme, disamping bakteri memerlukan energi juga menghasilkan energi dan energi yang dihasilkan tersebut digunakan untuk biosintesis, pertumbuhan, pergerakan (*motilitas*), luminisasi dan untuk keperluan yang lain. Sistem enzim yang ikut berperan dan mempengaruhi jalannya reaksi biokimia tersebut sangat kompleks dan tiap enzim hanya mempengaruhi satu macam reaksi spesifik, misalnya enzim yang berperan pada metabolisme protein tidak dapat mempengaruhi atau berperan pada metabolisme karbohidrat atau lemak (Anonymous, 2003). Menurut Adelberg's (2001), pertumbuhan mikrobial memerlukan polimerisasi bahan bangunan biokimia menjadi protein, asam nukleat, polisakarida dan lemak. Bahan bangunan harus berbentuk jadi dalam medium atau harus disintesa sel yang tumbuh.

Pada umumnya bakteri berkembang dengan cara membelah diri atau menjadi dua, dua menjadi empat dan seterusnya yang disebut *Binary fission*. Pembelahan diri tersebut terjadi secara transversal yang dimulai dengan terjadinya elongasi dan perlekukan membran sitoplasma di bagian tengah yang diikuti penebalan dan pertumbuhan ke dalam dinding sel pada daerah tersebut. Apabila inti sel telah terbagi dua secara merata, terbentuklah sekat transversal yang akan membagi sel induk menjadi dua anak sel yang masing-masing memiliki sifat seperti induknya (Anonymous, 2003).

2.1.4 Infeksi dan tanda-tanda penyerangan

Penyebab penyakit pada ikan kolam paling umum terjadi akibat infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri yang memiliki motil jenis *Aeromonas* dan juga sistem sirkulasi air (Camus, Durborow, Hemstreet, Thune and Hawke, 2008). Pada umumnya bakteri *Aeromonas* bersifat patogen, terhadap hewan berdarah dingin, kecuali bakteri *Aeromonas hydrophila* yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia, yaitu berupa *osteomyelitis*, *septicemia* atau infeksi sekunder pada luka-luka (Anonymous, 2003). Pada hewan berdarah dingin khususnya ikan dijelaskan lebih lanjut oleh Gufran dan Kordi (2004) bahwa penyakit bercak merah atau *Septicemia Haemorrhagica* disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri *Aeromonas hydrophila* menyerang hampir semua jenis ikan air tawar dan ikan kakap putih yang dipelihara di tambak bersalinitas rendah.

Aeromonas hydrophila merupakan agensia penyebab *hemoragik septicemia* pada beragam spesies ikan air tawar. Pada dasarnya *A hydrophila* merupakan oportunist karena penyakit yang disebabkan nya mewabah pada ikan- ikan yang mengalami stress atau pada pemeliharaan dengan padat tebaran tinggi. Tanda- tanda klinis *A hydrophila* bervariasi tetapi umumnya ditunjukkan adanya hemoragik pada kulit, insang, rongga mulut dan borok pada kulit. Sering pula tanda klinis ditunjukkan dengan terjadinya eksophtalmia, asites maupun pembengkakan limfa dan ginjal (Anonymous, 2008)

Ikan yang terserang bakteri ini biasanya memperlihatkan gejala-gejala berupa: warna tubuh ikan menjadi gelap, kemampuan berenang menurun, mata ikan rusak dan agak menonjol, sisik terkuak, seluruh sirip rusak, insang berwarna merah keputihan, ikan terlihat megap-megap di permukaan air, insangnya rusak sehingga sulit bernafas, kulit ikan menjadi kasat dan timbul pendarahan. Selanjutnya diikuti dengan luka-luka borok,

perut ikan kembang dan apabila dilakukan pembedahan maka akan kelihatan pendarahan pada hati, ginjal dan limpa (Gufran dan Kordi, 2004).

Gejala serangan yang diakibatkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah pendarahan kulit, borok pada kulit, warna kulit gelap dan kusam, pernafasan terganggu, berenang lemah dan pendarahan organ dalam (hati, ginjal, limpa) (Djaridjah, 2001). Menurut Prajitno (2007), serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* kalau tidak diiringi dengan virus akan lebih mudah diatasi, dengan ciri-ciri ikan yang terserang antara lain :

- Ikan tampak stress.
- Nafsu makan turun (anoreksi).
- Hemoragi pada permukaan tubuh dan sirip.
- Penimbunan cairan pada rongga perut.
- Ulcer nekrotik (tukak) pada kulit.

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan "Motile *Aeromonas Septicemia*" (MAS), Hemorrhagic Septicemia atau bintik merah. Beberapa gejala dari penyakit tersebut berhubungan dengan luka-luka yang disebabkan oleh bakteri yang mengandung septicemia dimana racun bakteri tersebut banyak terdapat pada organ ikan, sedangkan pada bagian kulit banyak ditemukan luka (Swann, 2008).

2.2 Daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*)

2.2.1 Morfologi dan klasifikasi

Tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) diketahui mempunyai 4 varietas, yaitu varietas cape Verde, Nicaragua, Ife-Nigeria dan varietas Mexico. Varietas yang paling banyak dijumpai adalah Cape Verde. Varietas ini bersifat toksik (mengandung racun) karena memiliki senyawa lektine dan ester forbol. Varietas Nicaragua mempunyai ciri-

ciri berdaun bulat dengan biji berukuran besar. Satu-satunya varietas yang tidak beracun adalah varietas Mexico. Varietas Mexico mempunyai kenampakan yang mirip seperti varietas Cape Verde (Taufan dan Taufiq, 2007)

Menurut Alamsyah (2006), jarak pagar pagar (*Jatropha curcas* L.) termasuk tanaman semak besar dengan cabang yang tidak teratur. Umur tanaman ini bisa mencapai 50 tahun. Cabang pohonnya mengandung getah (lateks). Daunnya lebar berbentuk jantung dan bertangkai panjang. Daunnya daun tunggal, tersebar di sepanjang batangnya. Permukaan atas dan bawah daun berwarna hijau, tetapi permukaan bawah lebih pucat dari permukaan atas. Daun lebar, berbentuk jantung atau bulat telur melebar, dengan panjang dan lebar hampir sama, yaitu sekitar 5–15 cm. Helai daun bertoreh, 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 (Anonymous, 2008).

Menurut Taufan dan Taufiq (2007), tanaman jarak pagar satu famili dengan karet dan ubi kayu, dengan klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Classis	: Dicotyledoneaea
Ordo	: Euphorbiales
Familia	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Jatropha</i>
Spesies	: <i>Jatropha curcas</i> L.



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

2.2.2 Ekologi dan penyebarannya

Tanaman ini tumbuh liar atau ditanam penduduk sebagai tanaman pagar, sebab itu disebut jarak pagar. Dapat tumbuh baik di tanah yang tidak begitu subur dan beriklim panas, dari dataran rendah sampai ketinggian 300 meter di atas permukaan laut. Tumbuhan ini berasal dari Amerika tropis, sekarang tersebar di beberapa negara tropis, termasuk Indonesia. Di Indonesia banyak ditanam di Pulau Jawa dan Madura (Anonymous, 2008). Tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah, antara lain di tanah berbatu, tanah berpasir, tanah liat, bahkan di tanah yang kurang subur (Alamsyah, 2006).

Menurut Taufan dan Taufiq (2007), secara agronomis, tanaman jarak pagar dapat beradaptasi dengan lahan maupun agroklimat di Indonesia. Bahkan, tanaman ini dapat tumbuh dengan baik pada kondisi kering maupun pada lahan dengan kesuburan rendah seperti lahan marjinal dan lahan kritis. Lahan kritis di Indonesia yang cocok ditanami tanaman jarak adalah lahan kritis di daerah Nangroe Aceh Darussalam, Sumatra Utara, Bengkulu, Sumatra Barat, Jawa, Bali, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Papua dan Sulawesi. Untuk sekala besar, wilayah yang sesuai untuk pengembangan

tanaman ini adalah di wilayah Indonesia Timur, terutama Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Sulawesi Tenggara, Gorontalo, Maluku dan Papua.

Jatropha curcas berasal dari Amerika Tengah dari Caribbean, *Jatropha curcas* disebarkan oleh orang Portugis melalui pulau Cape Verde dan negara Portugis Guinea yang sekarang dikenal dengan Guenia Bissau. Dari dua negara tersebut penyebaran *Jatropha curcas* sampai ke Afrika dan Asia. Pada zaman sekarang ini *Jatropha curcas* dibudidayakan hampir di seluruh negara tropis dan subtropis sebagai pagar untuk melindungi taman dan ladang (Anonymous, 2008)

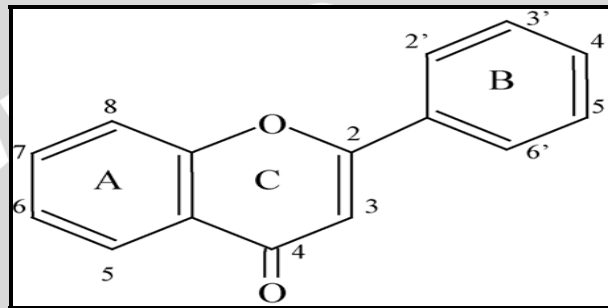
2.2.3 Manfaat daun jarak pagar

Daun jarak pagar digunakan untuk mengobati bengkak karena terpukul, terkilir, patah tulang, luka berdarah, gatal-gatal, eksim, jamur di sela-sela jari kaki. Selain juga dipergunakan untuk mencegah masuk angin bagi bayi, mengobati penyakit lepra, kencing nanah, rematik, obat cacing dan juga untuk menyuburkan rambut (Anonymous, 2008). Pada daun jarak, karena terdapat kandungan kimia seperti senyawa polifenol, flavonoida, saponin dan tannin, diduga tanaman jarak pagar dapat digunakan sebagai obat anti bakteri.

2.2.4 Komposisi kimia daun jarak pagar

Daun dan ranting muda pada tanaman jarak pagar juga mengandung flavonoid, apigenin, vitexin dan isovitexin. Selain komponen di atas, daun jarak pagar juga mengandung dimer dari triterpene alkohol ($C_{63}H_{117}O_9$) dan dua flavonoid glikosida (Alamsyah, 2006). Menurut Lenny (2006), senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuhan. Hasil penelitian Hazril (2005) menunjukkan bahwa kadar tannin dalam daun

jarak 7,41-8,28%. Kandungan kimia yang terdapat pada daun jarak pagar meliputi saponin, flavonoida, tannin dan senyawa polifenol (Anonymous, 2008). Dijelaskan lebih lanjut oleh Miller (2008) bahwa flavonoid atau bioflavonoid adalah kelompok kandungan polyphenolic yang terdapat di banyak tumbuhan, biji-bijian, kulit kayu dan bunga. Flavonoid terdapat juga disebagian besar tumbuhan obat-obatan, seperti yang dilaporkan oleh para penulis sebagai antibakteri.



Gambar 2. Struktur Kimia dari Flavonoid

2.2.5 Mekanisme Kerja Antimikroba

Antimikroba adalah suatu zat yang mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba. Mekanisme kerja antimikroba antara lain dengan jalan merusak dinding sel, merusak membran sitoplasma, mendenaturasi protein sel dan menghambat kerja enzim dalam sel (Pelczar dan Chan, 1986). Prajitno (2008) menjelaskan bahwa antimikroba adalah suatu zat yang mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba.

Menurut Pelczar dan Chan (1988), cara kerja zat antimikrobia 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

Dijelaskan oleh Gilman *et al.* (1991) dalam Prajitno (2007), bahwa ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) 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.

2.3 Uji efektivitas antimikroba invitro

Beberapa bahan antimikrobia tidak membunuh tetapi hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Bahan antimikrobia bersifat menghambat bila digunakan

dalam konsentrasi kecil, namun bila digunakan dalam konsentrasi tinggi dapat mematikan mikroorganisme, oleh karena itu perlu diketahui MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MKC (*Minimum Killing Concentration*) bahan antimikroial terhadap mikroorganisme (Lay, 1994). Edberg (1986) menyarankan bahwa sebelum uji kerentanan, mikroba sebaiknya diisolasi dalam kultur murni pada media buatan, karena uji yang dilakukan secara langsung dari contoh bahan klinik mempunyai insiden hasil palsu yang tinggi. Sekarang ini telah banyak cara-cara yang diketemukan dan masing-masing cara mempunyai kelebihan dan kekurangan sendiri-sendiri. Di bawah ini beberapa cara penentuan kepekaan kuman terhadap obat-obatan yang lazim digunakan:

2.3.1 Cara pengenceran tabung

Cara pengenceran tabung pada dasarnya untuk menentukan secara kuantitatif konsentrasi terkecil suatu obat yang dapat menghambat pertumbuhan kuman (Bonang dan Koeswardono, 1982). Menurut Lay (1994), uji pengenceran dilakukan dengan mengencerkan antibiotik, kemudian ditambahkan bakteri penguji. Dengan cara ini dapat ditentukan jumlah terendah yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme secara *in vitro*, jumlah terendah ini disebut *minimal inhibitory concentration* (MIC).

Pada prinsipnya cara menentukan MIC dengan pengenceran tabung ini adalah penghambatan pertumbuhan kuman dalam perbenihan cair oleh suatu obat yang dicampur ke dalam perbenihan. Perbenihan yang dipakai harus merupakan perbenihan yang dapat menumbuhkan kuman secara optimum dan tidak menetralkan obat yang dipergunakan (Bonang dan Koeswardono, 1982).

2.3.2 Uji cakram

Uji ini diperkenalkan oleh Wilian Kirby dan Alfred Bauer pada tahun 1966. pada uji lempengan agar disemai dengan mikroorganismepenguji. Cakram kertas yang berisi zat antimikroba diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganismepenguji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganismepengujioleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah jernih sekitar pertumbuhan mikroorganismepengujioleh zat antimikroba (Lay, 1994). Menurut Bonang dan Koeswardono (1982) bahwa lebar hambatan ini tergantung pada daya resepeobat ke dalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut. Dwidjoseputro (1998) menjelaskan bahwa pada medium agar yang telah disebar bakteri diletakkan beberapa kepingan kertas masing-masing mengandung zat antimikroba dalam konsentrasi tertentu. Jika dalam 24 jam tidak tampak pertumbuhan bakteri di sekitar kertas (daerah kosong atau kelihatan bening), maka hal ini menunjukkan bahwa bakteri terhambat pertumbuhannya oleh zat antimikroba yang terdapat dalam kepingan kertas tersebut.

3 MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi penelitian

3.1.1 Bahan yang digunakan dalam penelitian

- Ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*)
- Biakan murni *Aeromonas hydrophila*
- TSA (*Tripticase Soya Agar*) Merek OXOID, dosis penggunaan 40gram/l
- NB (*Nutrient Broth*) merek OXOID, dosis penggunaan 13 gram/l
- Aquades
- Alkohol 70%
- Spirtus
- Tali
- Kain saring
- Kertas saring
- Kertas alumunium foil
- Kertas label
- Kapas
- Tissue
- Kain lap



3.1.2 Alat yang digunakan dalam penelitian

- Autoklaf
- Lemari pendingin
- Inkubator
- Timbangan analitik
- Hotplate
- Vortex

- Blender
- Sentrifuge
- Cawan petri
- Beaker glass
- Tabung reaksi
- Erlenmeyer
- Gelas ukur
- Pipet volume
- Pipet tetes
- Bola hisap
- Bunsen
- Jarum ose
- Triangle
- Spatula
- Pinset
- Sprayer
- Mikroskop
- Obyek glass
- Jangka Sorong
- Botol film
- Rak tabung reaksi
- Corongan kecil
- Pisau
- Gunting
- Saringan
- Kompor pemanas

3.2 Metode dan rancangan penelitian

3.2.1 Metode penelitan

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan mengukur daerah hambatan di sekitar kertas cakram yang memperlihatkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Menurut Nazir (1988), metode eksperimen yaitu mengadakan percobaan untuk melihat hasil. Hasil yang didapat akan menegaskan bagaimana hubungan kausal antara variabel - variabel yang diselidiki dan berapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimental dan menyediakan kontrol untuk perbandingan.

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 adalah sebagai berikut (Yitnosumarto, 1991).

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

Keterangan :

Y : Nilai pengamatan

μ : Nilai rata-rata harapan

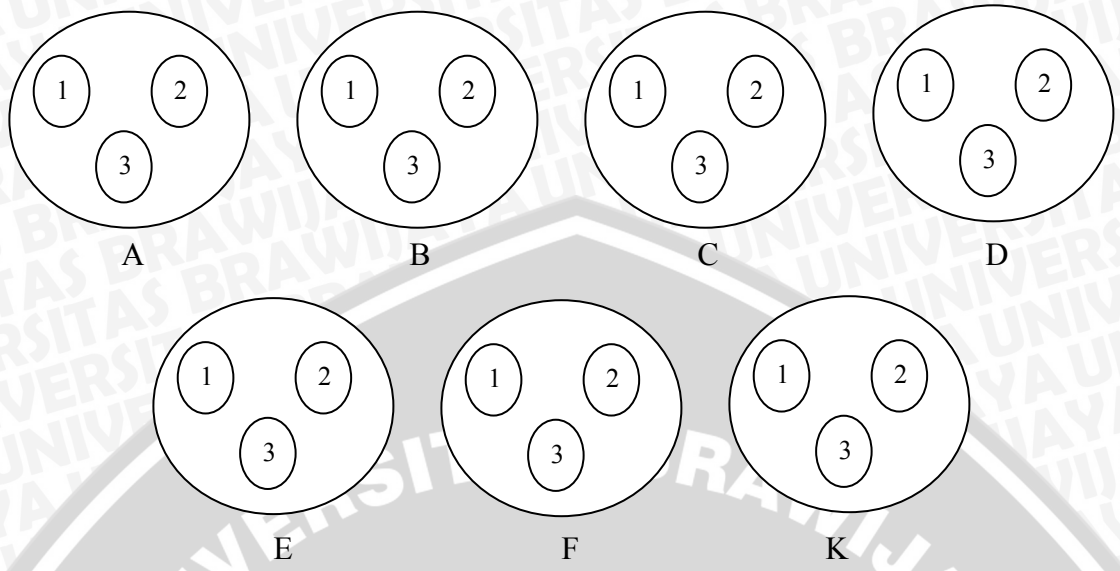
T : Pengaruh perlakuan

ε : Galat

Penelitian terdiri dari 6 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan 1 kontrol. Sebagai perlakuan adalah pemberian ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) dengan konsentrasi yang berbeda. Adapun perlakuan tersebut adalah sebagai berikut:

- A = Pemberian ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 10 %
- B = Pemberian ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 15 %
- C = Pemberian ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 20 %
- D = Pemberian ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 25 %
- E = Pemberian ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 30 %
- F = Pemberian ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 35 %
- K = Kontrol (tanpa perlakuan)

Masing-masing perlakuan maupun kontrol diulang sebanyak 3 kali, sehingga jumlah keseluruhan media penelitian sebanyak 21 unit eksperimen. Penempatan perlakuan dilakukan secara acak dengan denah percobaan seperti 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 Masa persiapan

a) Sterilisasi alat dan bahan

- Alat-alat yang akan disterilisasi dibungkus dengan menggunakan kertas perkamen atau kertas koran, kemudian diikat dengan 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 silang.

- Kompor pemanas dinyalakan, setelah beberapa saat manometer akan menunjukkan angka 1 atm, jika terjadi kelebihan tekanan buka kran udara hingga manometer menunjukkan angka 1 atm kembali.
 - Keadaan tekanan uap jenuh dapat terjadi berulang kali sampai suhu 121°C dan manometer menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit.
 - Kompor dimatikan. Tunggu beberapa saat sampai termometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka kran uap lalu buka penutup *autoclave* dengan cara zig-zag.
 - Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
 - Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.
- b) Pembuatan media
- Pembuatan media cair *Nutrient Broth* (NB) merek OXOID
Nutrient Broth sejumlah 13 gram dilarutkan dalam aquadest 1 liter dan dididihkan. Selanjutnya larutan nutrient broth disterilkan di dalam autoclave, setelah steril dituang ke dalam tabung reaksi
 - Pembuatan media *Trypticase Soya Agar* (TSA)
Trypticase Soya Agar sejumlah 40 gram dilarutkan dalam aquadest sejumlah 1 liter dan dididihkan. TSA yang sudah steril dituang ke dalam cawan petri
- c) Pembuatan biakan murni bakteri *Aeromonas hydrophila*
- Disiapkan petridisk yang berisi media TSA yang telah steril
 - Jarum Ose dipanaskan diatas pembakar bunsen sampai berpijar. Setelah dingin disentuh pada koloni bakteri *Aeromonas hydrophila*.

- Jarum ose yang sudah berisi bakteri dioleskan pada permukaan media TSA, dan petridisk ditutup serta sekelilingnya dipanaskan di atas pembakar bunsen, sedang jarum ose juga dipanaskan kembali
- Media yang telah berisi bakteri diinkubasi pada suhu pada suhu 35°C selama 18-24 jam kemudian dapat disimpan dalam lemari es.

3.3.2 Pembuatan ekstrak daun jarak pagar

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan cara infundasi. Menurut Anonymous (1986), infundasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Prosedur ekstraksi daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) sebagai berikut:

- Daun jarak pagar segar dibersihkan dan dikeringkan
- Daun jarak pagar yang kering diblender hingga halus.
- Ditimbang sebanyak 30 gr dan dimasukkan ke dalam beakerglas
- Ditambahkan air (aquadest) sebanyak 300 ml
- Dipanaskan di atas hotplate selama 15 menit dihitung mulai suhu di dalam panci mencapai 90°C-98°C, sambil sesekali diaduk.
- Bahan disaring menggunakan kain saring, penyaringan ini dilakukan pada saat cairan masih panas, ini bertujuan agar hasil ekstrak tidak terkontaminasi.
- Penyaringan dilanjutkan menggunakan kertas saring
- Bahan dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditutup rapat menggunakan Aluminium foil
- Ekstrak yang tidak langsung digunakan dapat disimpan di lemari pendingin

3.3.3 Uji Efektivitas Ekstrak daun jarak pagar

3.3.3.1 Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

Uji MIC dilakukan untuk menentukan konsentrasi minimum yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Konsentrasi minimum yang didapatkan dengan mengamati tingkat kekeruhan sampel larutan NB dan daun jarak pagar dengan metode pengenceran berseri yang kemudian diinokulasi bakteri *Aeromonas hydrophila*, serta diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Cara penentuan MIC dilakukan sebagai berikut: 5 inokulum biakan murni bakteri *Aeromonas hydrophila* ditanam dalam 4 ml media cair NB (Nutrient Broth) dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 3 jam sehingga terbentuk kekeruhan yang sama dengan Mc Farland atau jumlah bakteri 10^8 sel/ml. Selanjutnya membuat stok larutan Nutrient Broth yang diinokulasi bakteri dengan cara mengambil 0,5 ml biakan bakteri dalam Nutrient Broth dan dimasukkan dalam 100 ml NB yang sudah disterilkan. Penentuan konsentrasi perlakuan ekstrak daun jarak pagar dengan metode pengenceran. Konsentrasi yang digunakan dapat disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Konsentrasi Ekstrak daun jarak pagar untuk Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Konsentrasi (%)	Larutan stok ekstrak Daun jarak pagar (ml)	Larutan stok broth yang dinokulasi bakteri (ml)
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

3.3.3.2 Uji Cakram

Menurut Pelczar dan Chan (1986), salah satu cara untuk menguji antimikrobia dapat dilakukan dengan uji cakram. Pada prinsipnya uji ini adalah mengukur daerah hambatan yang terjadi di sekitar kertas cakram yang sudah mengandung ekstrak daun jarak dengan konsentrasi sesuai dengan perlakuan.

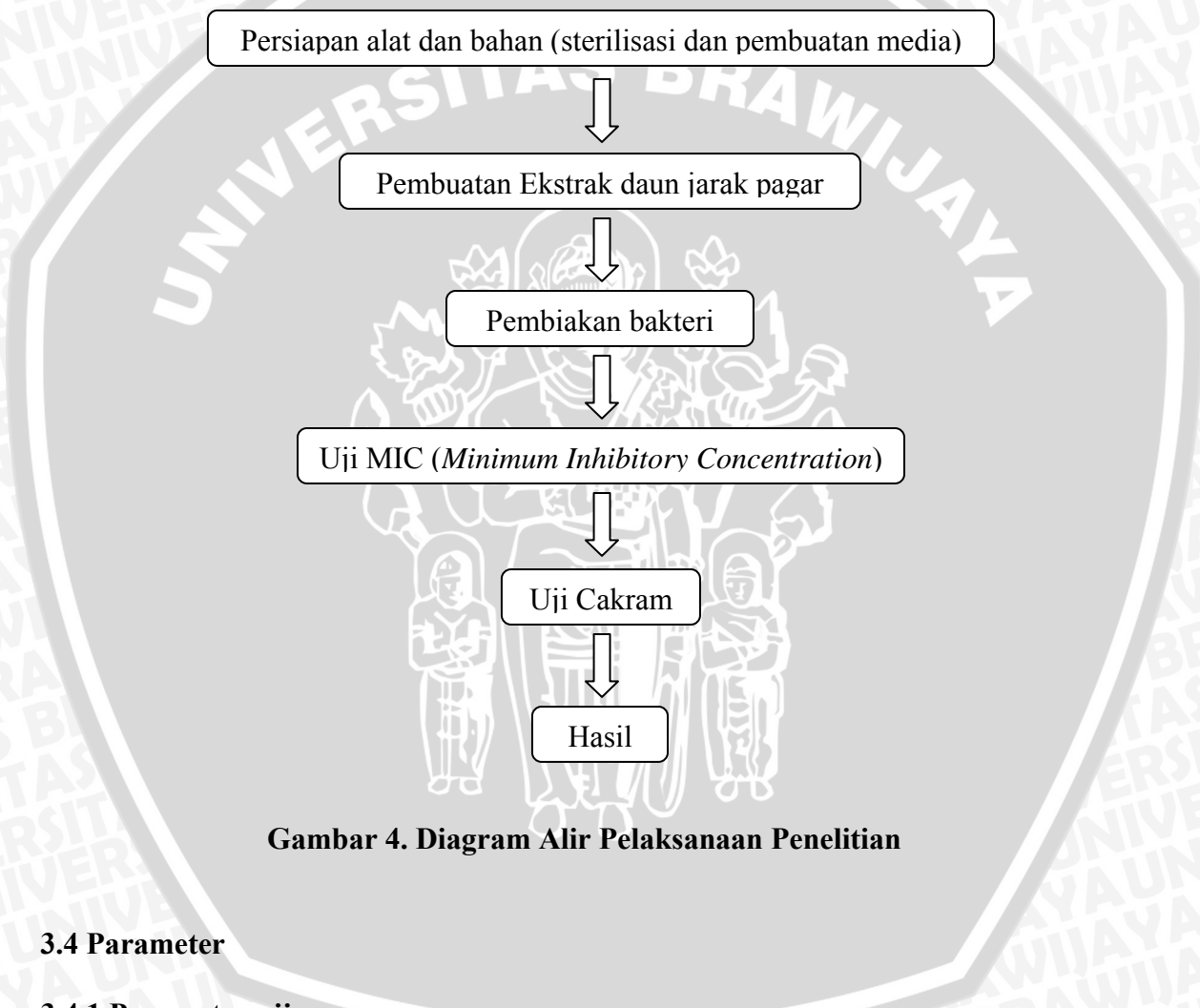
Tahapan uji cakram meliputi :

- Ditanam isolat murni bakteri *Aeromonas hydrophila* sebanyak 5 inokulum ke dalam 4 ml Nutrient Broth (NB) sehingga terbentuk kekeruhan standar Mc Farland (6×10^8 sel/ml)
- Disiapkan tabung reaksi steril untuk perlakuan konsentrasi ekstrak daun jarak pagar. Konsentrasi minimum didapatkan berdasarkan hasil uji MIC.
- Kertas cakram yang mengandung ekstrak daun jarak pagar disediakan untuk membuat seri konsentrasi ekstrak daun jarak: 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%. Penentuan dosis disajikan pada Tabel 2.
- Direndam kertas cakram steril ke dalam ekstrak daun jarak pagar selama 15 menit berdasarkan konsentrasi yang telah ditentukan.
- Diambil 0,05 ml bakteri (6×10^8 sel/ml) dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media agar dengan ketebalan 5 mm.
- Diratakan bakteri dengan triangle
- Diletakkan kertas cakram yang telah ditiriskan pada permukaan lempeng agar
- Dilakukan pembacaan hasil setelah diinkubasi pada suhu (35°C) selama 18-24 jam dengan cara mengukur daerah hambat yang terbentuk
- Diukur diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong.

Keseluruhan rangkaian penelitian disajikan pada Gambar 4.

Tabel 2. Penentuan Konsentrasi Ekstrak daun jarak pagar untuk Uji Cakram

Konsentrasi (%)	Larutan stok ekstrak Daun jarak pagar (ml)	Aquades (ml)
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



Gambar 4. Diagram Alir Pelaksanaan Penelitian

3.4 Parameter

3.4.1 Parameter uji

Parameter uji menggunakan parameter kuantitatif, yaitu data yang diperoleh dari pengukuran daerah hambatan ekstrak daun jarak pagar terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

3.4.2 Parameter penunjang

Sebagai parameter penunjang pada penelitian ini adalah suhu inkubator dan pH media yang keduanya merupakan faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Menurut Pelczar dan Chan (1986), penggunaan suhu tinggi digabung dengan kelembapan tinggi merupakan salah satu metode paling efektif untuk mematikan mikroorganisme. Suhu tinggi juga dapat diberikan sebagai panas kering.

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.

3.5 Analisa data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan dilakukan analisis keragaman atau uji F dan apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji BNT untuk menentukan perlakuan mana yang memberikan respon terbaik pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95 %). Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil dilakukan perhitungan analisis regresi yang tujuannya untuk mengetahui sifat dan fungsi regresi yang memberikan keterangan tentang pengaruh respon terhadap perlakuan.

4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Kultur Murni *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *Aeromonas hydrophila* yang digunakan dalam penelitian ini adalah biakan murni yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Biakan ini kemudian diremajakan dan diperbanyak dengan metode streak (gores) pada media padat TSA (*Trypticase Soya Agar*) dan dengan metode tuang pada media cair NB (*Nutrient Broth*). Menurut Irianto (2005) secara goresan dilakukan hanya dengan menyentuhkan ujung jarum ose. Ditambahkan oleh Volk dan Wheeler (1993) bahwa waktu generasi beraneka menurut jenis organisme, kadar nutrisi dalam medium dan suhu inkubasi. Kondisi lain seperti pH, persediaan oksigen bagi yang bersifat aerob, akan mempengaruhi pula. Menurut Bonang dan Koeswardono (1982) bakteri *Aeromonas* pertumbuhannya terbatas pada suhu 15-30°C dan pH berkisar antara 5,5-9,0. Berikut kandungan TSA dan NB yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi TSA dan NB dari OXOID

Media	Unsur-unsur	Jumlah (g/l)
TSA	Tryptone	15,0
	Soya peptone	5,0
	Sodium chloride	5,0
	Agar	15,0
NB	Lab lemco powder	1,0
	Yeast extract	2,0
	Peptone	5,0
	Sodium chloride	5,0

Metode gores pada media TSA bertujuan untuk memperoleh biakan murni dari bakteri. Dengan menumbuhkan bakteri pada media agar (padat) maka akan tampak atau tumbuh beberapa bakteri. Jika terjadi kontaminasi pada media tersebut, maka dapat

dipilih atau diambil bakteri yang selanjutnya dapat ditumbuhkan kembali pada media TSA (padat) dan media NB (cair). Menurut Pelzcar dan Chan (1986), setelah diinkubasi, sel-sel mikroba individu itu memperbanyak diri sedemikian cepatnya sehingga di dalam waktu 18 sampai 24 jam terbentuklah massa sel yang dapat dilihat dan dinamakan koloni. Koloni ini tampak oleh mata bugil. Irianto (2005) menyatakan media pertumbuhan dasar yang biasa digunakan untuk bakteri perairan atau yang diisolasi dari hewan perairan tawar yaitu media TSA (*Trypticase Soya Agar*). Kultur murni *Aeromonas hydrophila* disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Kultur Murni *Aeromonas hydrophila*

Hasil pengamatan pada saat penelitian, bakteri *Aeromonas hydrophila* yang ditanam pada media agar TSA (*Trypticase Soya Agar*) membentuk koloni yang berwarna kuning pucat dan bentuk koloni pada *Aeromonas hydrophila* membulat dengan permukaan cembung. Prajitno (2007) menjelaskan bahwa bakteri aeromonas merupakan bakteri fakultatif anaerob, yaitu bakteri yang dapat berkembang dalam keadaan dengan atau tanpa oksigen, meskipun perkembangannya lebih cepat pada lingkungan yang ada oksigen. Bakteri fakultatif anaerob akan tersebar di seluruh medium jika diinokulasi

pada medium cair, bersifat heterotropik, yaitu mampu mengoksidasi bermacam-macam persenyawaan organik sebagai sumber karbon.

4.2 Kadar Hambat Minimal (MIC) Daun Jarak Pagar

Cara pengenceran tabung menentukan secara kuantitatif konsentrasi terkecil suatu obat yang dapat menghambat pertumbuhan kuman. Prinsip dari cara ini adalah penghambatan pertumbuhan kuman dan pembedahan cair oleh suatu obat yang dicampurkan ke dalam pembedahan. Pembedahan yang dipakai harus merupakan pembedahan yang dapat menumbuhkan kuman secara optimum dan tidak menetralkan obat yang dipergunakan (Bonang, 1982).

Secara kuantitatif, konsentrasi terkecil suatu obat yang dapat menghambat pertumbuhan kuman dapat ditentukan dengan uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). Pada uji MIC ekstrak daun jarak pagar tidak dapat dinikmati hasilnya secara langsung. Hal ini disebabkan sulit membedakan kekeruhan media yang disebabkan oleh bakteri ataupun keruh oleh ekstrak daun jarak pagar. Oleh karena itu perlu uji lanjutan, yaitu dengan menanam dari setiap tabung hasil uji MIC pada media TSA sebagai uji lanjutan untuk melihat pertumbuhan bakteri pada tabung uji MIC.

Ekstrak daun jarak pagar pada konsentrasi 5 % tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* ditandai dengan adanya pertumbuhan bakteri setelah dilakukan uji lanjutan. Adanya hambatan pertumbuhan baru terlihat pada konsentrasi 10%. Pelczar dan Chan (1986), menyatakan bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi antibakteri yang digunakan maka semakin cepat bakteri akan terbunuh, namun tidak efektif menggunakan konsentrasi yang terlalu tinggi dalam pengobatan.

Hasil uji kadar hambat minimal ekstrak daun jarak pagar terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Kadar Hambat Minimal (MIC) ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila*

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

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

4.3 Daya Antibakterial Ekstrak Daun Jarak Pagar (Metode Cakram)

Pemeriksaan daya antibakterial ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan metode cakram menunjukkan bahwa ekstrak daun jarak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Hal ini ditandai dengan terlihatnya daerah hambatan di sekitar kertas cakram (zona bening) yang mengandung ekstrak daun jarak pagar.

Pada obat-obat sintetik seperti antibiotik dapat diketahui kepekaan kuman terhadap suatu antibiotik dari lebar daerah hambatan yang terbentuk pada uji cakram, karena untuk antibiotik 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 standartnya, karena sejauh ini belum ada penelitian tentang resistensi kuman terhadap ekstrak daun jarak pagar, sehingga pada penelitian ini tidak dapat ditentukan apakah bakteri *Aeromonas hydrophila* 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 hambatan yang terbentuk dari beberapa dosis ekstrak daun jarak pagar terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* disajikan pada Tabel 5.

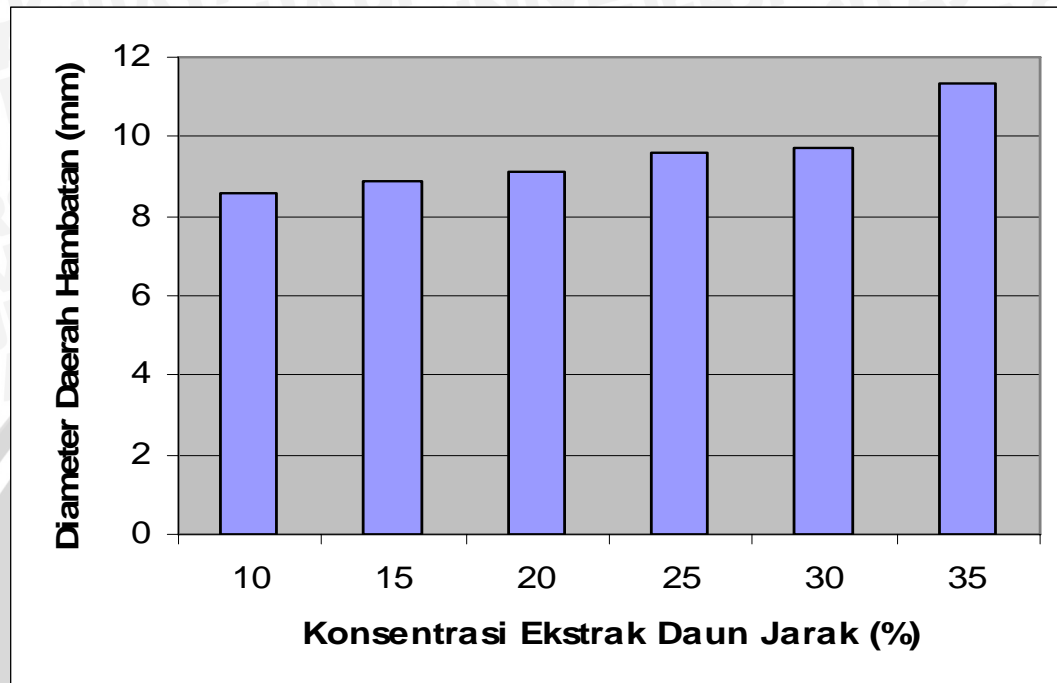
Tabel 5. Diameter Daerah Hambatan Pada Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Perlakuan (%)	Diameter Daerah Hambatan (mm)			Total	Rata-rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
10	8,2	8,3	9,2	25,7	8,56
15	8,4	9,3	8,9	26,6	8,86
20	8,9	9,3	9,2	27,4	9,13
25	9,5	10,1	9,2	28,8	9,6
30	10,1	9,9	9,1	29,1	9,7
35	11,1	11,5	11,4	34	11,33
				$\Sigma = 171,6$	

Berdasarkan Tabel 5 diatas diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun jarak pagar maka diameter daerah hambatan akan semakin besar. Menurut Lay (1994), bahan kimia yang mematikan bakteri disebut bakteriosidal, sedangkan bahan kima yang menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteriostatik.

Untuk lebih memperjelas peningkatan diameter daerah hambatan dengan semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak daun jarak pagar dapat digambarkan berupa

diagram batang hubungan antara konsentrasi ekstrak daun jarak dengan diameter daerah hambatan yang disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Diagram Batang Hubungan antara Konsentrasi Ekstrak Daun Jarak Pagar (%) dengan Diameter Daerah Hambatan (mm)

Dari Gambar 6 terlihat variasi diameter daerah hambatan pada setiap perlakuan konsentrasi ekstrak daun jarak pagar yang berbeda. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun jarak pagar maka diameter daerah hambatan yang diperoleh juga semakin besar. Hal ini disebabkan semakin tinggi konsentrasi dari perlakuan maka jumlah senyawa antibakterinya semakin banyak. Jika jumlah senyawa antibakteri semakin tinggi, maka daya hambat terhadap bakteri akan semakin besar.

Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh pemberian konsentrasi ekstrak daun jarak pagar yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*, maka dilakukan analisis keragaman (Lampiran 1) dengan hasil seperti pada Tabel 6.

Tabel 6. Analisa Keragaman/Sidik Ragam Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	5	14,43	2,886	15,96 **	3,11	5,06
Acak	12	2,17	0,1808			
Total	17	16,6				

Keterangan:

F Hitung < F 5% = tidak berbeda nyata (non significant)

F 5% < F Hitung < F 1% = berbeda nyata (*)

F Hitung > F 1% = berbeda sangat nyata (**)

Berdasarkan hasil analisa keragaman menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun jarak pagar dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*, yang berarti menolak H_0 dan menerima H_1 .

Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan dari masing-masing perlakuan dan untuk mengetahui perlakuan terbaik, 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 untuk bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat disajikan pada Tabel 7.

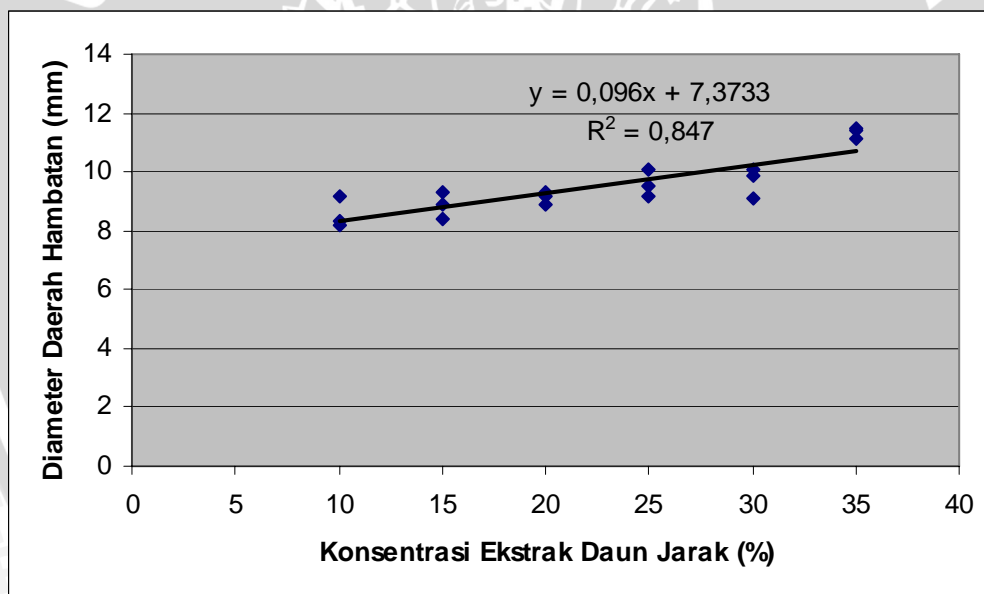
Tabel 7. Uji Beda Nyata Terkecil *Aeromonas hydrophila*

Perlakuan	Rerata	Notasi
A	8,56	a
B	8,86	ab
C	9,3	abc
D	9,6	bc
E	9,7	c
F	11,33	d

Dari uji BNT, secara statistik dapat diketahui bahwa perlakuan A (10%), B (15%), C (20%), D (25%) dan E (30%) memberikan hasil yang berbeda dan menunjukkan bahwa untuk perlakuan F (35%) adalah perlakuan terbaik. Pelczar *et al.*

(1988) menyatakan bahwa terbentuknya resistensi setidak – tidaknya pada beberapa bakteri gram negatif, ialah bahwa organisme resisten mempunyai gen yang berfungsi melindungi bakteri tersebut dari pengaruh bakterisidal suatu obat atau antibiotik. Terbentuknya resistensi dapat dikurangi dengan cara menggunakan dosis yang tepat.

Selanjutnya untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak daun jarak pagar dengan diameter daerah hambatan yang terbentuk digunakan analisa regresi. Dari hasil analisa regresi tersebut, diperoleh bentuk regresi linier dengan persamaan $y = 0,096x + 7,3733$ dan nilai koefisien korelasi r sebesar 0,920. Berikut Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak daun jarak pagar dengan zona hambat bakteri *Aeromonas hydrophila* disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) (x) dengan Diameter Daerah Hambatan Bakteri *Aeromonas hydrophila* (y)

Dari persamaan regresi diketahui bahwa semakin besar konsentrasi daun jarak pagar yang diberikan, maka diameter daerah hambatan yang terbentuk semakin luas. Hal ini didasarkan oleh kandungan daun jarak pagar yang mengandung senyawa antibakteri.

Alamsyah (2006) menjelaskan bahwa daun dan ranting jarak pagar mengandung flavonoid, apigenin, vitexin dan isovitexin. Selain itu daun jarak pagar juga mengandung dimer dari triterpene alkohol ($C_{63}H_{117}O_9$) dan dua flavonoid glikosida. Dijelaskan lebih lanjut oleh Miller (2008) bahwa flavonoid atau bioflavonoid adalah kelompok kandungan polyphenolic yang terdapat di banyak tumbuhan, biji-bijian, kulit kayu dan bunga. Flavonoid terdapat juga di sebagian besar tumbuhan obat-obatan, seperti yang dilaporkan sebagai antibakteri.

Hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa ekstrak daun jarak pagar bersifat bakteriostatik, karena daerah hambatan dipenuhi oleh bakteri setelah dilakukan inkubasi selama 48 jam. Bahan antimikrobal dapat bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah, namun bersifat bakteriosidal pada konsentrasi tinggi (Lay, 1994).

Dijelaskan oleh Gillman *et al.* (1991) dalam Prajitno (2007), bahwa ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) 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.

Turunan fenol bekerja sebagai antiseptik dan desinfektan dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri. Turunan fenol tersebut berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein-fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami penguraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel yang menyebabkan denaturasi protein protoplasma sel atau menyebabkan sel mengalami lisis, yaitu dengan mengubah struktur membran sel sehingga menyebabkan kebocoran isi sel (Siswandono dan Sukarjo, 1995).

4.4 Lingkungan Hidup Bakteri *Aeromonas hydrophila*

4.4.1 pH

Berdasarkan hasil pengukuran pH media, didapatkan hasil rata – rata sebesar 7. Kondisi seperti ini pada umumnya baik untuk pertumbuhan bakteri. Menurut Prajitno (2007), bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat tumbuh dengan baik pada kondisi alkali, yaitu pH optimum berkisar antara 5,5-9,0. Dijelaskan oleh Volk dan Wheeler (1993), 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 ada satupun bakteri yang dapat tumbuh baik pada pH lebih dari 8, sebagian besar bakteri dapat tumbuh baik pada pH netral (pH = 7) atau pada pH yang sedikit basa (pH = 7,4).

4.4.2 Suhu

Suhu yang diterapkan selama masa inkubasi dapat mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri, karena mempengaruhi laju semua reaksi seluler. Selain itu, suhu dapat juga mempengaruhi pola metabolisme, persyaratan nutrisi dan komposisi sel-sel bakteri (Dwijoseputro, 1998). Suhu inkubator selama penelitian adalah 35 °C. Menurut Prajitno (2005), suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* berkisar antara 20⁰-35⁰C. Menurut Inglis, Ronald and Niall (1993) suhu optimal untuk pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah 22-28⁰C. Menjelaskan bahwa seperti halnya makhluk hidup tingkat tinggi, untuk pertumbuhannya, bakteri perlu suhu tertentu Anonymous (2003). Atas dasar suhu yang diperlukan untuk tumbuh, bakteri dapat dibagi dalam beberapa golongan sebagai berikut:

- Psikrofil (*cold loving bacteria*), yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu antara (0-20)⁰C. Misalnya; golongan mikroba laut.

- Mesofil (*moderate temperature loving bacteria*), yaitu bakteri ini tumbuh antara suhu (25-40)⁰C dengan suhu optimal 37⁰C, misalnya golongan bakteri patogen.
- Termofil (*heat loving bacteria*), yaitu bakteri yang tumbuh antara suhu (50-60)⁰C.



5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian “Uji Efektivitas Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro” dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Konsentrasi ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* secara in vitro.
- Daun jarak pagar bersifat bakteristatik atau hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*.
- Rata-rata diameter hambatan pada bakteri *Aeromonas hydrophila* untuk perlakuan A (10 %) adalah 8,56 mm; perlakuan B (15 %) rata-rata diameter daerah hambatannya sebesar 8,86 mm; perlakuan C (20 %) rata-ratanya 9,13 mm; perlakuan D (25 %) rata-ratanya 9,60 mm; perlakuan E (30%) rata-rata diameter hambatannya sebesar 9,70 mm dan perlakuan F (35%) rata-rata diameter daerah hambatannya sebesar 11,33 mm.
- Hubungan antara konsentrasi ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan diameter daerah hambat yang terbentuk, berupa regresi linier $Y = 0,096x + 7,3733$ dengan nilai $r = 0,920$.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disarankan sebagai berikut :

- Sebaiknya dilakukan penelitian lanjutan tentang uji efektivitas ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas*

hydrophila di atas konsentrasi 35 % sehingga dapat diketahui konsentrasi terbaik dari ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*)

- Perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) secara in vivo terhadap organisme air yang terserang bakteri *Aeromonas hydrophila*.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 1986. **Sediaan Galenik**. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Bakti Husada. Jakarta. 61 hal.
- _____. 2003. **Bakteriologi Medik**. Tim mikrobiologi. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Bayumedia Publishing. Malang 373 hal.
- _____. 2004. **Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia**. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Volume 1. 159 hal
- _____. 2008a. **Aeromonas sp.** <http://jogjavet.wordpress.com>. Diakses 8 November 2008
- _____. 2008b. **Aeromonas**. <http://www.who.int>. Diakses 25 Oktober 2008
- _____. 2008c. **Bacterial Waterborne Pathogen-Current and Emerging Organisms of Concern**. <http://www.hc-sc.gc>. Diakses 8 November 2008
- _____. 2008d. **Jatropha curcas L.** <http://bebas.vlsm.org>. Diakses 25 Oktober 2008.
- _____. 2008e. **Penyakit Bakterial (*Aeromonas hydrophilla*) Di Kanagarian Lubuk Pandan Kab. Padang Pariaman**. <http://www.disnaksumbar.org>. Diakses 8 November 2008
- _____. 2008f. **Jatropha curcas L. in Afrika**. <http://www.underutilized-species.org>. diakses 25 Oktober 2008.
- Adelberg's, Jawetz, Melnick. 2001. **Mikrobiologi Kedokteran Medical Microbiology**. Salemba Medika. Jakarta. 528 hal
- Afianto, E. dan E. Iviawaty. 1992. **Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan**. Kanisius. Yogyakarta. 88 hal
- Alamsyah, N. A. 2006. **Biodiesel Jarak Pagar Bahan Bakar Alternatif Yang Ramah Lingkungan**. PT Agromedia Pustaka. Bogor. 115 hal.
- Bonang, G. dan E. S. Koeswardono. 1982. **Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik**. PT. Gramedia. Jakarta. 199 hal.
- Camus A C, R.M. Durborow, W.G. Hemstreet, R.L. Thune and J.P. Hawke. 2008. **Aeromonas Bacterial Infections Motile Aeromonad Septicemia**. <http://govdocs.aquake.org>. Diakses 8 November 2008.

- Cholik F, Ateng G. J, R. P. Poernomo, A. Jauzi. 2005. **Akuakultur Tumpuan Harapan Masa Depan Bangsa**. Masyarakat Perikanan Nusantara (MPN) dengan Taman Aquarium Air Tawar Taman Mini Indonesia Indah.
- Djarajah A. S. 2001. **Pembenihan Ikan Mas**. Kanisius. Yogyakarta. 85 hal
- Dwidjoseputro, D. 1987. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Penerbit Djambatan. Jakarta. 214 hal.
- _____. 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.
- Gufnan, M. dan H. Kordi. 2004. **Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan**. Rineka Cipta dan Bina Adiaksa. Jakarta. 190 hal.
- Inglis V, Ronald J. Robert and Niall R. Bromage. 1993. **Bacterial Diseases Of Fish**. Institute Of Aquaculture. Blakwell Science. USA. 312 hal.
- Irianto Agus. 2005. **Patologi Ikan Teleostei**. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 256 hal.
- Lay, B. W. 1994. **Analisis Mikroba di Laboratorium**. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 168 hal.
- Lenny, S. 2006. **Karya Ilmiah: Flavonoida, Fenilpropanoida, dan Alkaloida**. Departemen Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara. Medan. 25 hal.
- Miller A. L. 2008. **Antioxidant Flavonoids: Structure, Function and Clinical Usage**. <http://www.thorne.com>. Diakses 25 Oktober 2008.
- Munajat, A. dan N. S. Budiana. 2003. **Pestisida Nabati Untuk Penyakit Ikan**. Penebar Swadaya. Jakarta. 87 hal
- Murtidjo A. B. 2001. **Beberapa Metode Pembenihan Ikan Air Tawar**. Kanisius. Yogyakarta. 107 hal.
- Natzir, M. 1998. **Metode Penelitian**. Ghalia Indonesia. Jakarta. 212 hal.
- Pelczar, M. J. Dan E C S Chan. 1986. **Dasar – dasar Mikrobiologi 1**. UI-Press. Jakarta. 443 hal.

- _____. 1988. **Dasar – Dasar Mikrobiologi 2**. UI-Press. Jakarta. 997 hal.
- Prajitno, A. 2007. **Penyakit Ikan – Udang : Bakteri**. Penerbit Universitas Negeri Malang. Malang. ISBN 978-979-3506-91-3. 115 hal.
- Robinson, T. 1995. **Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi**. Penerbit ITB. Bandung. 367 hal.
- Siswandono dan B. Sukardjo. 1995. **Kimia Medisinal**. Airlangga University Press. Surabaya.
- Sumantadinata, K. 1981. **Pengembangbiakan Ikan-ikan Peliharaan Di Indonesia**. PT Sastra Hudaya. Bogor. 117 hal.
- Sundana, A. dan Mariyono. 2008. **Teknik Pencegahan Penyakit dan Pencegahan Penyakit Bercak Merah Pada Ikan Air Tawar Yang Disebabkan Oleh Bakteri Aeromonas Hydrophila**. <http://www.pustaka-deptan.go.id>. Diakses 8 November 2008.
- Suriawiria, U. 1993. **Mikrobiologi Air**. PT Alumni, Bandung. Bandung. 330 hal.
- Swann, L. and M. Randy White. 2008. **Diagnosis and Treatment of “Aeromonas hydrophila” Infection of Fish**. <http://www.ces.purdue.edu>. Diakses 25 Oktober 2008.
- Taufan, M. L. dan H. Taufiq. 2007. **Budidaya Tanaman Jarak Pagar (Penghasil Biodiesel)**. Aneka Ilmu. Semarang. 83 hal
- Volk, W. A. dan Margaret F. Wheeler, 1993. **Mikrobiologi Dasar**. Edisi ke-5. Jilid 1. Erlangga. Jakarta. 396 hal.
- Yitnosumarto, S. 1991. **Percobaan: Perancangan, Analisa dan Interpretasinya**. PT Gramedia Petaka Utama. Jakarta. 299 hal.
- 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 *Aeromonas hydrophila*

A. Diameter Daerah Hambatan pada Masing-Masing Perlakuan

Perlakuan (%)	Diameter Daerah Hambatan (mm)			Total	Rata-rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
A	8,2	8,3	9,2	25,7	8,56
B	8,4	9,3	8,9	26,6	8,86
C	8,9	9,3	9,2	27,4	9,13
D	9,5	10,1	9,2	28,8	9,6
E	10,1	9,9	9,1	29,1	9,7
F	11,1	11,5	11,4	34	11,33
				$\Sigma = 171,6$	

B. Perhitungan Jumlah Kuadratik

$$\text{Faktor Koreksi} = (171,6)^2 / 18 = 29446,56 / 18$$

$$= 1635,92$$

$$\begin{aligned} \text{JK Total} &= ((8,2)^2 + (8,3)^2 + (9,2)^2 + (8,4)^2 + \dots + (11,4)^2) - \text{FK} \\ &= (67,24 + 68,89 + 84,64 + 70,56 + \dots + 129,96) - 1635,92 \\ &= 1652,52 - 1635,92 \\ &= 16,6 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{(25,7)^2 + (26,6)^2 + (27,4)^2 + (28,8)^2 + (29,1)^2 + (34)^2}{3} - 1635,92 \\ &= 4951,06 / 3 - 1635,92 \\ &= 1650,35 - 1635,92 \\ &= 14,43 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 16,6 - 14,43 \\ &= 2,17 \end{aligned}$$

Lampiran 1. (Lanjutan)

C. Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	5	14,43	2,886	15,96 **	3,11	5,06
Acak	12	2,17	0,1808			
Total	17	16,6				

Keterangan:

F Hitung < F 5% = tidak berbeda nyata (non significant)

F 5% < F Hitung < F 1% = berbeda nyata (*)

F Hitung > F 1% = berbeda sangat nyata (**)

Karena F Hitung > F 1% maka perlakuan pemberian ekstrak daun jarak pagar dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap zona hambat bakteri *Aeromonas hydrophila*.

D. Uji BNT untuk 5% dan 1%

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{\frac{2KT \text{ Acak}}{\text{ulangan}}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \times 0,1808}{3}} \\ &= 0,347 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ 5\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 2,179 \times 0,347 \\ &= 0,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ 1\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 3,055 \times 0,347 \\ &= 1,06 \end{aligned}$$

Lampiran 1. (Lanjutan)

E. Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Rataan	A=8,56	B=8,86	C=9,13	D=9,6	E=9,7	F=11,33	Notasi
A = 8,56	-						a
B = 8,86	0,3 ^{ns}	-					ab
C = 9,13	0,57 ^{ns}	0,27 ^{ns}	-				abc
D = 9,6	1,04 [*]	0,74 ^{ns}	0,47 ^{ns}	-			bc
E = 9,7	1,14 ^{**}	0,84 [*]	0,57 ^{ns}	0,1 ^{ns}	-		c
F = 11,33	2,74 ^{**}	2,47 ^{**}	2,2 ^{**}	1,73 ^{**}	1,63 ^{**}	-	d

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

F. Tabel Analisa Regresi

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)				
		Linier	Kuadrati k	Kubik	Kuartik	Kuintik
10 %	25,7	-5	+5	-5	+1	-1
15 %	26,6	-3	-1	+7	-3	+5
20 %	27,4	-1	-4	+4	+2	-10
25 %	28,8	+1	-4	-4	+2	+10
30 %	29,1	+3	-1	-7	-3	-5
35 %	34	+5	+5	+5	+1	+1
Q=∑(Ci*Ti)		50,4	18	18,4	4,5	9,8
Kr=(∑Ci ²)r		210	252	540	84	756
JK=Q ² /Kr		12,09	1,28	0,62	0,24	0,12

G. Tabel Analisa Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	14,35	2,87	-		
▪ Linier	1	12,09	12,09	66,86 ^{**}	4,75	9,33
▪ Kuadratik	1	1,28	1,28	7,07 [*]		
▪ Kubik	1	0,62	0,62	3,43 ^{ns}		
▪ Kuartik	1	0,24	0,24	1,32 ^{ns}		
▪ Kuintik	1	0,12	0,12	0,66 ^{ns}		
Acak	12	2,17	0,1808			
Total	17	-				

Lampiran 1. (Lanjutan)

Keterangan:

F Hitung < F 5% = tidak berbeda nyata (non significant)

F 5% < F Hitung < F 1% = berbeda nyata (*)

F Hitung > F 1% = berbeda sangat nyata (**)

H. Koefisien Determinasi:

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{12,09}{(12,09) + (2,17)}$$

$$= 0,847$$

$$r = 0,920$$

$$R^2 \text{ Kuadrat} = \frac{1,28}{(1,28) + (2,17)}$$

$$= 0,371$$

$$r = 0,609$$

Berdasarkan daftar sidik ragam regresi dan nilai koefisien determinasi maka bentuk regresi yang paling sesuai adalah Regresi Linier, karena memiliki nilai yang paling besar. R^2 linier > R^2 kuadrat, jadi regresi linier lebih sesuai dengan kurva respon.

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

Persamaan Umum : $Y = b_0 + b_1X$

Perlakuan	X (Konsentrasi)	Total (mm)	x.y	x^2
	x	y		
A	10	8,56	85,6	100
B	15	8,86	132,9	225
C	20	9,13	182,6	400
D	25	9,6	240	625
E	30	9,7	291	900
F	35	11,33	396,55	1225
	$\sum x = 135$	$\sum y = 57,18$	$\sum x.y = 1328,65$	$\sum = 3475$
	$\bar{x} = 22,5$	$\bar{y} = 9,53$		

Lampiran 1. (Lanjutan)

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

$$= \frac{1328,65 - \frac{135 * 57,18}{6}}{3475 - \frac{(135)^2}{6}}$$

$$b_1 = 0,096$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1x$$

$$= 9,53 - (0,096) * (22,5)$$

$$b_0 = 7,37$$

$$Y = b_0 + b_1x$$

$$Y = 7,37 + 0,096x$$

Sehingga persamaan yang diperoleh :

$$y = 7,37 + 0,096x$$

$$\text{Jadi, untuk } x = 10 \text{ maka } y = 7,37 + 0,096(10) = 8,33$$

$$x = 15 \text{ maka } y = 7,37 + 0,096(15) = 8,81$$

$$x = 20 \text{ maka } y = 7,37 + 0,096(20) = 9,29$$

$$x = 25 \text{ maka } y = 7,37 + 0,096(25) = 9,77$$

$$x = 30 \text{ maka } y = 7,37 + 0,096(30) = 10,25$$

$$x = 35 \text{ maka } y = 7,37 + 0,096(35) = 10,73$$

Lampiran 2. Cara Perhitungan Konsentrasi Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L)

Pengenceran menggunakan Rumus : $N_1 * V_1 = N_2 * V_2$.

Keterangan : N_1 = Konsentrasi yang digunakan, V_1 = Volume ekstrak daun jarak pagar yang diperlukan, N_2 = Konsentrasi stok ekstrak daun jarak pagar (100%), dan V_2 = Volume yang digunakan (5 ml).

1. Konsentrasi 10 %

$$10\% * 5 \text{ ml} = 100\% * V_1$$
$$V_1 = \frac{10\% \times 5 \text{ ml}}{100\%} = 0,5 \text{ ml}$$

2. Konsentrasi 15 %

$$15\% * 5 \text{ ml} = 100\% * V_1$$
$$V_1 = \frac{15\% \times 5 \text{ ml}}{100\%} = 0,75 \text{ ml}$$

3. Konsentrasi 20 %

$$20\% * 5 \text{ ml} = 100\% * V_1$$
$$V_1 = \frac{20\% \times 5 \text{ ml}}{100\%} = 1,00 \text{ ml}$$

4. Konsentrasi 25 %

$$25\% * 5 \text{ ml} = 100\% * V_1$$
$$V_1 = \frac{25\% \times 5 \text{ ml}}{100\%} = 1,25 \text{ ml}$$

5. Konsentrasi 30 %

$$30\% * 5 \text{ ml} = 100\% * V_1$$
$$V_1 = \frac{30\% \times 5 \text{ ml}}{100\%} = 1,50 \text{ ml}$$

6. Konsentrasi 35 %

$$35\% * 5 \text{ ml} = 100\% * V_1$$
$$V_1 = \frac{35\% \times 5 \text{ ml}}{100\%} = 1,75 \text{ ml}$$

Volume aquades = 5 ml - volume ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*)

Lampiran 3. Biakan Murni Bakteri *Aeromonas hydrophila*

**A. Hasil Biakan Murni Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Media TSA
(menggunakan cawan petri)**

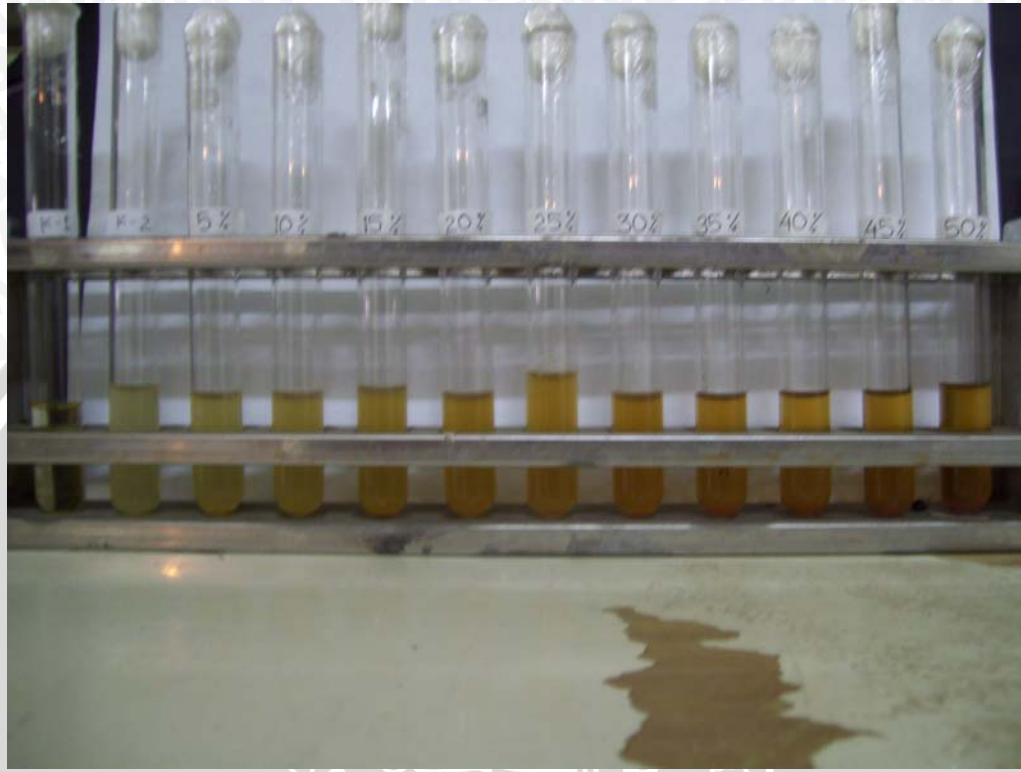


**B. Hasil Biakan Murni Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Media TSA
(menggunakan tabung reaksi)**

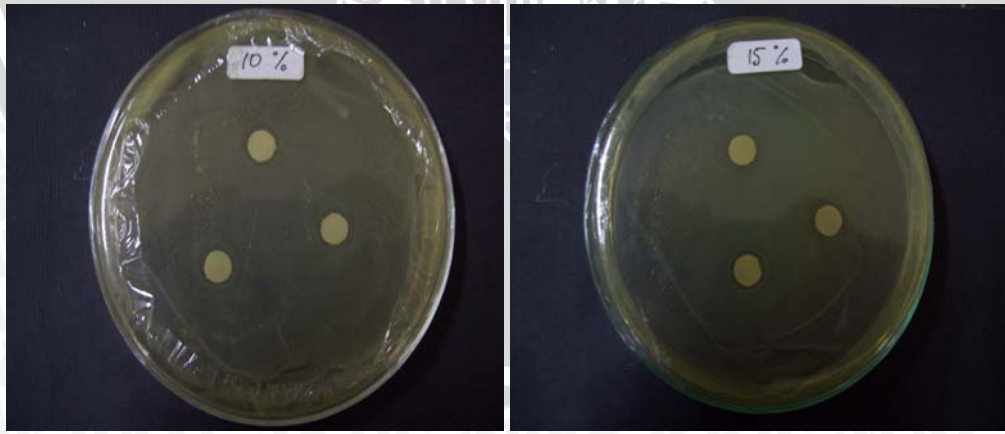


Lampiran 4. Hasil Uji MIC dan Uji Cakram

A. Hasil Uji MIC Bakteri *Aeromonas hydrophila*



B. Hasil Uji Cakram Bakteri *Aeromonas hydrophila*



(A)

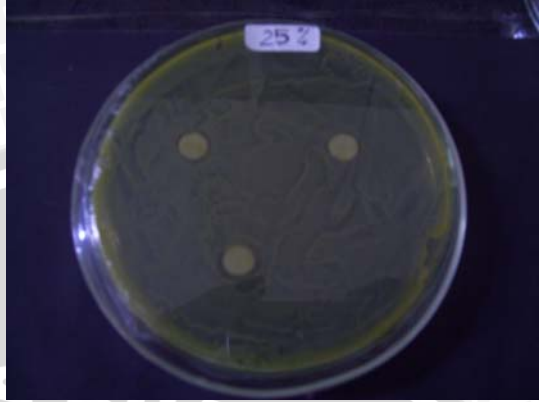
(B)



Lampiran 4. (lanjutan)



(C)



(D)



(E)



(F)

