

**PENGARUH FILTRAT BUAH PARE (*Momordica charantia*) DENGAN
KONSENTRASI YANG BERBEDA TERHADAP BAKTERI *Vibrio harveyi*
SECARA IN-VITRO**

**SKRIPSI
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN
BUDIDAYA PERAIRAN**

Oleh :
**KARTIKA SEPTIANA KUSUMANINGRUM
NIM. 0310850042**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
MALANG
2009**

**PENGARUH FILTRAT BUAH PARE (*Momordica charantia*) DENGAN
KONSENTRASI YANG BERBEDA TERHADAP 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 :
KARTIKA SEPTIANA KUSUMANINGRUM
0310850042

DOSEN PENGUJI I

Ir. M. RASYID FADHOLI, MSi
TANGGAL :

DOSEN PENGUJI II

Ir. ELLANA SANOESI, MP
TANGGAL :

**MENYETUJUI,
DOSEN PEMBIMBING I**

Prof.Dr.Ir. ARIEF PRAJITNO, MS
TANGGAL :

DOSEN PEMBIMBING II

Ir. SOELISTYOWATI
TANGGAL :

**MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP**

Ir. HAPPY NURSYAM, MS
TANGGAL :

RINGKASAN

KARTIKA SEPTIANA KUSUMANINGRUM. Pengaruh Filtrat Buah Pare (*Momordica charantia*) Dengan Konsentrasi Yang Berbeda Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* Secara In-Vitro (di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS** dan **Ir. SOELISTYOWATI**).

Salah satu penyakit dalam pembenihan udang windu adalah penyakit viral yang disebabkan oleh suatu bakteri dari genus vibrio yang disebut dengan penyakit kunang-kunang. *V. harveyi* merupakan salah satu penyebab utama penyakit ini. Infeksi bakteri *V.harveyi* dapat ditanggulangi dengan penggunaan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang akumulatif sering sulit dikendalikan, karena pada umumnya petani hanya menginginkan hasil yang cepat, mudah dan murah. Sedangkan penggunaan yang berlebihan dapat mengganggu kesehatan udang, secara langsung dapat menghambat pertumbuhan udang dan membahayakan konsumen. Oleh karena itu dikembangkan alternatif pengendalian penyakit udang windu yang aman bagi lingkungan dengan menggunakan bahan alami dari tumbuhan obat.

Tanaman pare (*M. charantia*) adalah tanaman herba berumur satu tahunan lebih yang tumbuh menjalar dan merambat. Buah pare dikenal secara tradisional sebagai keperluan medis sebagai antidiabetes, antikanker, antiinflamasi, antivirus dan dapat menurunkan kolesterol. Buah pare memiliki komponen fenolik yang dapat menjadikannya sebagai antioksidan dan antimutagen. Buah pare yang belum masak juga mengandung saponin, flavonoid dan polifenol; serta glikosida cucurbitacin, charantin, asam butirrat, asam palmitat, asam linoleat dan asam stearat. Oleh karenanya, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas buah pare sebagai alternative pengobatan terhadap infeksi bakteri *V. harveyi*.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada bulan Mei – September 2008. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dan mempelajari pengaruh buah pare (*M. charantia*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap

pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*. Penelitian ini diharapkan mampu memberikan hasil yang dapat digunakan sebagai sumber informasi awal dalam upaya pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *V. harveyi* dengan menggunakan ekstrak buah pare (*M. charantia*).

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 buah pare yaitu 30%, 35%, 40%, 45%, 50% dan 55%. Sebagai parameter utama dalam penelitian ini adalah diameter daerah hambatan filtrat buah pare terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi*, sedangkan parameter penunjang dalam penelitian adalah pH media dan suhu inkubator.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa filtrat buah pare dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap diameter daerah hambatan yang terbentuk. Rata-rata diameter hambatan untuk perlakuan A (30%) adalah 8,90 mm, perlakuan B (35%) sebesar 9,27 mm; perlakuan C (40%) adalah 9,85 mm; perlakuan D (45%) adalah 10,17 mm; perlakuan E (50%) sebesar 10,97 mm dan perlakuan F (55%) sebesar 11,77 mm. Hubungan antara konsentrasi filtrat buah pare dengan diameter daerah hambatan berbentuk regresi linier, dengan persamaan $Y = 0,1129 x + 5,362$ dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,791.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan bahwa untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro* sebaiknya digunakan filtrat buah pare (*M.charantia*) dengan konsentrasi 55%, hasil pemeriksaan anti mikrobial menunjukkan bahwa konsentrasi 30%, 35%, 40%, 45%, 50% dan 55% bersifat bakteristatik serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian filtrat buah pare (*M.charantia*) dengan konsentrasi yang lebih tinggi terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*, yang kemudian dapat dilanjutkan dengan penelitian secara *in vivo*.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena rahmat dan kasih-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 terselesainya penulisan Skripsi ini, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

- Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku Dosen Pembimbing I
- Ibu Ir. Soelistyowati selaku Dosen Pembimbing II
- Bapak dan Mama, serta kakak-kakak yang tercinta, atas dukungan yang diberikan tanpa henti.
- Teman-teman, atas semangat, dukungan 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, Mei 2009

Penulis

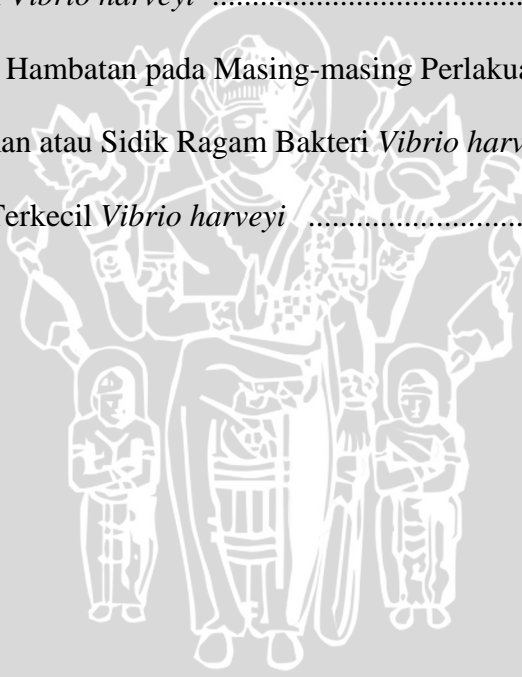
DAFTAR ISI

	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 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Kegunaan Penelitian	6
1.5 Hipotesis	7
1.6 Tempat dan Waktu	7
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Vibrio harveyi</i>	8
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	8
2.1.2 Metabolisme dan Pertumbuhan	9
2.1.3 Habitat dan Daerah Penyebaran	11
2.1.4 Ciri-ciri Serangan dan Sumber Penyebaran	11
2.2 Tanaman Pare (<i>Momordica charantia</i>)	12
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	12
2.2.2 Habitat dan Penyebaran	13
2.2.3 Perbanyakkan Tanaman	14
2.2.4 Jenis-jenis Pare	15
2.2.5 Kandungan Kimia	15
2.2.6 Mekanisme Kerja Antimikroba	17
2.3 Uji Efektivitas Antimikroba Secara In Vitro	21
2.3.1 Metode Pengenceran	21
2.3.2 Metode Cakram	22
3. MATERI DAN METODE	
3.1 Materi Penelitian	23
3.1.1 Alat	23
3.1.2 Bahan	23
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian	24
3.2.1 Metode Penelitian	24

3.2.2 Rancangan Penelitian	25
3.3 Prosedur Penelitian	26
3.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	26
3.3.2 Filtrasi Buah Pare	27
3.3.3 Pembuatan Media	28
3.3.4 Isolasi dan Pemurnian Bakteri	29
3.4 Pelaksanaan Penelitian	29
3.4.1 Uji MIC	29
3.4.2 Uji Cakram	31
3.5 Parameter	33
3.5.1 Parameter Uji	33
3.5.2 Parameter Penunjang	33
3.6 Analisa Data	33
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Kultur Murni Biakan <i>Vibrio harveyi</i>	34
4.2 Daya Hambat Filtrat Buah Pare (<i>Momordica charantia</i>)	36
4.2.1 Uji MIC (<i>Minimum Inhibition Concentration</i>)	36
4.2.2 Uji Cakram	37
4.3 Mekanisme Kerja Antimikroba Filtrat Buah Pare (<i>M. charantia</i>)	42
4.4 Lingkungan Hidup Bakteri <i>Vibrio spp</i>	44
4.4.1 pH	44
4.4.2 Suhu	45
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Konsentrasi Filtrat Buah Pare (<i>Momordica charantia</i>) untuk Uji MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>)	30
2. Konsentrasi Filtrat Buah Pare (<i>Momordica charantia</i>) untuk uji Cakram .	32
3. Komposisi TCBSA	34
4. Komposisi NB	34
5. Kadar Hambat Minimal (MIC) Filtrat Buah Pare (<i>Momordica charantia</i>) Terhadap Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	36
6. Diameter Daerah Hambatan pada Masing-masing Perlakuan	38
7. Analisa Keragaman atau Sidik Ragam Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	40
8. Uji Beda Nyata Terkecil <i>Vibrio harveyi</i>	40



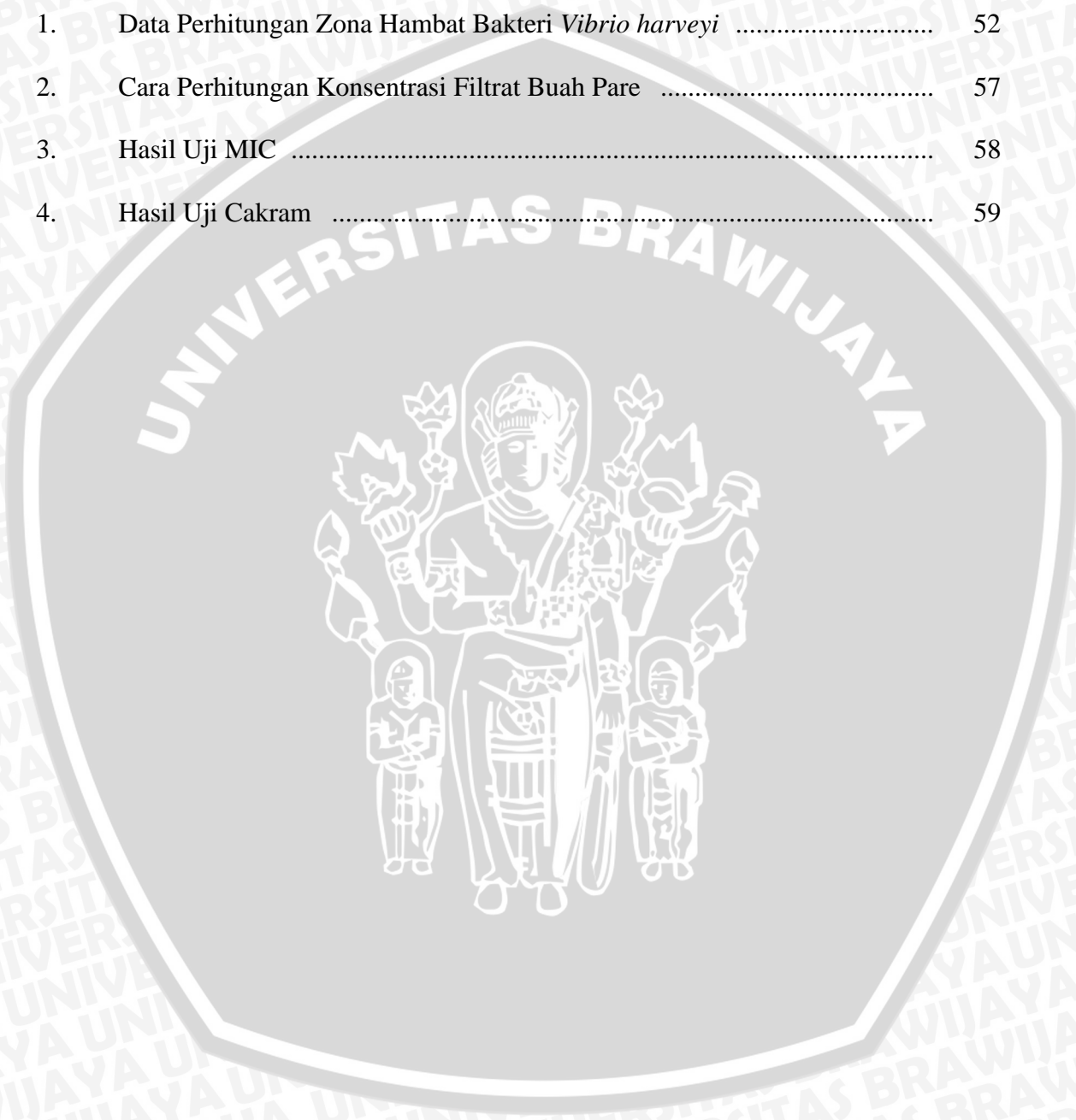
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Buah Pare (<i>Momordica charantia</i>)	13
2. Struktur Kimia dari Cucurbitacin	17
3. Diagram Mekanisme Perusakan Membran Sitoplasma Bakteri Oleh Senyawa Fenol di dalam Cucurbitacin.....	19
4. Diagram Mekanisme Perusakan Membran Sitoplasma Bakteri Oleh Senyawa Fenol	20
5. Denah Penelitian	26
6. Diagram Batang Hubungan Antara Konsentrasi Filtrat Buah Pare (<i>M.charantia</i>) (%) Dengan Rerata Diameter Daerah Hambat Bakteri <i>V.harveyi</i> (mm)	39
7. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Filtrat Buah Pare (<i>M. charantia</i>) (%) Dengan Diameter Daerah Hambat Bakteri <i>V. harveyi</i> (mm)	42



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Perhitungan Zona Hambat Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	52
2. Cara Perhitungan Konsentrasi Filtrat Buah Pare	57
3. Hasil Uji MIC	58
4. Hasil Uji Cakram	59



1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Negara Indonesia dikenal sebagai Negara Bahari dimana wilayah lautnya mencakup tiga perempat luas Indonesia atau 5,8 juta km² dengan garis pantai sepanjang 81.000 km, sedangkan luas daratannya hanya 1,9 juta km². Wilayah laut yang sangat luas tersebut mengandung sumber daya alam (perikanan) dan jasa lingkungan yang sangat berlimpah yang belum dikembangkan secara optimal (Bahar, 2006). Dengan sumber daya alam yang besar tersebut, menurut Irianto (2003), pada tahun 1997 produksi hasil perikanan mencapai 4,8 juta ton per tahun dan 78% diantaranya berasal dari perikanan laut. Dengan produksi sebesar itu berhasil menempatkan Indonesia sebagai negara penghasil ikan terbesar ke-7 setelah China, Peru, Chile, Jepang, Amerika Serikat dan Rusia.

Menurut Bahar (2006), potensi sumberdaya ikan laut dikelompokkan ke dalam tiga kelompok besar, yaitu : ikan pelagis kecil, ikan pelagis besar, ikan demersal dan ikan karang konsumsi sebanyak 0,14 juta ton.

Selain ikan, udang juga merupakan salah satu produk perikanan yang diminati. Menurut Wawa (2006), Udang adalah salah satu komoditas dari perikanan budidaya. Umumnya udang yang terdapat di pasaran sebagian besar terdiri dari udang laut. Hanya sebagian kecil saja yang terdiri dari udang air tawar, terutama di daerah sekitar sungai besar dan rawa dekat pantai. Udang air tawar pada umumnya termasuk dalam keluarga Palaemonidae, sehingga para ahli sering menyebutnya sebagai kelompok udang palaemonid. Udang laut, terutama dari keluarga Penaeidae, yang bisa disebut udang penaeid oleh para ahli. Udang merupakan salah satu bahan makanan sumber protein

hewani yang bermutu tinggi. Bagi Indonesia udang merupakan primadona ekspor non migas (Anonymous, 2005).

Salah satu contoh udang penaeid adalah udang windu, yang dikenal juga dengan nama *Giant Tiger*, merupakan suatu binatang laut berkulit keras yang secara luas dibesarkan untuk makanan (Anonymous, 2007^a). Udang windu adalah jenis udang ekonomis penting di Indonesia (Imron, 1999 dalam Iranawati, *et al* , 2005). Secara biologis udang ini memiliki pertumbuhan yang relatif cepat dibandingkan dengan udang lainnya. Secara teknis, teknologi budidayanya sudah tersedia dan sudah dapat dikuasai oleh petani dengan baik. Beberapa sarana produksi seperti benur, pakan dan lain-lain juga mudah diperoleh (Yanto, 2006).

Perkembangan perdagangan komoditi udang di pasar dunia semakin baik. Permintaan akan udang semakin bertambah besar, sehingga harga udang menjadi tinggi. Kenyataan itu menyebabkan petani tambak makin menyadari bahwa udang harus ditingkatkan produksinya karena dapat mendatangkan keuntungan yang besar. Adapun sistem budidaya udang yang dikenal sekarang ada 3 tingkatan, yaitu: Budidaya ekstensif (tradisional), semi-intensif dan intensif (Mujiman dan Suyanto, 1989). Di dalam perkembangan budidaya tersebut beberapa masalah masih dirasakan merupakan penghambat terhadap keberhasilan produksi. Masalah utama yang merupakan kendala dalam budidaya intensif adalah masalah pakan, manajemen dan penyakit (Cheng, 1989). Soetomo (2002), juga menyebutkan bahwa berbagai macam pengganggu kesehatan udang windu dapat mengakibatkan kematian, terutama pada fase juvenil (post-larva) yang sangat peka terhadap lingkungan dan penyakit. Penyakit biasanya timbul beberapa hari setelah penebaran, baik penyakit parasit, bakterial, virus maupun jamur. Timbulnya penyakit ini diawali dengan adanya perubahan pada lingkungan yang mengakibatkan

stress pada udang. Cheng (1989) menambahkan bahwa stress yang ditimbulkan tersebut dapat menurunkan daya tahan (resisten) udang atau dapat meningkatkan sifat patogenitasnya jasad penyebab penyakit.

Di antara jenis penyakit yang menyerang udang windu, penyakit viral adalah penyakit yang paling ganas dan mengakibatkan kerugian paling besar. Tercatat wabah penyakit kepala kuning dan bercak putih telah melanda pertambakan Indonesia dan mengakibatkan kematian udang berumur antara 1 – 2 bulan (Anonymous, 2004). Prajitno dan Marsoedi (2007) menyebutkan bahwa masalah serius dalam penyediaan benur adalah adanya kematian masal yang disebabkan oleh serangan patogen, terutama penyakit bakteri “udang menyala” (*luminescent vibriosis*) atau dikenal dengan penyakit kunang-kunang. Austin (1993) dalam Feliatra (1999) menyebutkan bahwa jenis *Vibrio* yang bersifat patogen pada ikan dan invertebrata laut adalah *Vibrio alginolyticus*, *V. damsela*, *V. charchariae*, *V. anguillarum*, *V. ordali*, *V. salmonicida*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. pelagia*, *V. splendida*, *V. fischeri* dan *V. harveyi*. Andrews dan Pardo (2001) dalam Prajitno (2007) menyatakan bahwa *Vibrio harveyi* banyak ditemukan pada kerang dan udang windu. Penyakit ini bersifat akut dan ganas karena dapat memusnahkan populasi larva yang terserang hanya dalam waktu 1 – 3 hari sejak gejala awal tampak. Udang yang terserang umumnya sulit diselamatkan, sehingga seluruh larva yang ada terpaksa dibuang atau dimusnahkan sama sekali. Kondisi ini tidak dapat dibiarkan, maka diperlukan satu upaya untuk menanggulangi kendala melalui pengendalian penyakit.

Infeksi *V. harveyi* dapat ditanggulangi antara lain dengan antibiotik. (Rusdi dan Zafran, 1998 dalam Roza *et al*, 2001). Penggunaan jenis pestisida yang akumulatif dan persisten (endrin, thiodan, brestan-60) untuk pemberantasan hama di tambak sering sulit

dikendalikan atau dicegah, karena umumnya petani hanya mau yang mudah, ampuh dan murah. Bahan – bahan tersebut sangat berbahaya bagi kesehatan lingkungan. Penggunaan yang berlebihan dapat mengganggu kesehatan udang, secara langsung minimal memperlambat pertumbuhan dan lebih lanjut dapat membahayakan konsumen (Cheng, 1989). Salah satu alternatif baru dan mulai dikembangkan adalah upaya melakukan pengendalian penyakit udang windu tanpa adanya efek samping dengan menggunakan bahan alami dari tumbuhan obat, yaitu pare.

Tanaman pare (*M. charantia*) adalah tanaman herba berumur satu tahunan lebih yang tumbuh menjalar dan merambat. Tanaman yang merupakan sayuran buah ini mempunyai daun yang berbentuk menjari dengan bunga yang berwarna kuning. Permukaan buahnya berbintil – bintil dan rasa buahnya agak pahit (Santoso, 1996). Biji, buah, daun dan akarnya dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk infeksi mikrobial, pencernaan, stimulan menstruasi, penyembuh luka, inflamasi, pereda panas, tekanan darah tinggi dan obat pencahar (Anonymous, 2007^a). Buah pare dikenal secara tradisional sebagai keperluan medis sebagai antidiabetes, antikanker, antiinflamasi, antivirus dan dapat menurunkan kolesterol. Buah pare ini memiliki komponen fenolik yang dapat menjadikannya sebagai antioksidan dan antimutagen (Budrat dan Shotipruk, 2007). Buah pare yang belum masak mengandung saponin, flavonoid dan polifenol; serta glikosida cucurbitacin, charantin, asam butiric, asam palmitat, asam linoleat dan asam stearat (Begum (1996) dalam Rita *et al*, 2008).

Tidak hanya buah pare saja yang memiliki fungsi sebagai keperluan medis, akan tetapi daun dan bijinya juga dapat digunakan. Menurut penelitian Makkoch *et al* (2008), ekstrak kasar daun pare mengandung aktivitas antimikroba yang dapat melawan *Aspergillus flavus*, *A. niger* dan *A. terreus*. Omoregbe, *et al* (1996) dalam Anonymous

(2007^b) menyebutkan bahwa ekstrak pare (*M. charantia*) juga dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri gram negatif dan gram positif termasuk *E.coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Sterptobacillus*, *Streptococcus* dan organisme parasitik seperti *E. hystolica* dan *Plasidium falciparum*.

1.2 Rumusan Masalah

Masalah utama yang dihadapi pengusaha pembibitan udang dalam beberapa tahun ini adalah tingginya kematian larva selama pemeliharaan yang disebabkan oleh bakteri bercahaya (*V. harveyi*). Kasus penyakit ini tampaknya khas untuk daerah tropis. (Sunaryo dan Mariam, 1986 dalam Mariyono *et al*, 2002). Penelitian tentang pengendalian *Vibrio* banyak dilakukan dengan antibiotika. Pada umumnya bakterisida dari senyawa organologam, pestisida dan antibiotik yang dapat terakumulasi dan persisten di alam, sehingga dikhawatirkan akan menurunkan mutu lingkungan. Penggunaan antibiotik dalam penanganan penyakit bakterial pada larva juga telah mengakibatkan penolakan ekspor ke negara Jepang (Andayani, 2005). Salah satu metode yang dapat dilakukan dalam penanganan penyakit adalah dengan alternatif pengobatan yang tepat dan aman terhadap lingkungan untuk mengontrol pertumbuhan bakteri yaitu dengan pengobatan menggunakan bahan-bahan alami.

Tanaman pare (*M. charantia*) merupakan tanaman sayuran buah yang dapat ditemukan di daerah tropis. Buah, daun dan akarnya telah digunakan Ayurveda sebagai obat untuk menanggulangi beberapa jenis penyakit (Begum, 1997 dalam Puspawati, 2008). Buah pare dikenal secara tradisional dalam keperluan medis sebagai antidiabetes, antikanker, antiinflamasi, antivirus dan dapat menurunkan kolesterol. Buah pare ini memiliki komponen fenolik yang dapat menjadikannya sebagai antioksidan dan

antimutagen (Budrat dan Shotipruk, 2007). Tanaman pare mengandung susunan aktif kimia tumbuhan seperti triterpens, protein dan steroid (Potawale *et al*, 2008). Triterpenoid dapat dipilah sekurang-kurangnya empat golongan senyawa : triterpena sebenarnya, steroid, saponin, dan glikosida jantung. Triterpena berfungsi sebagai pelindung untuk menolak serangga dan serangan mikroba (Harborne, J. B., 1987). Selain itu buah pare yang belum masak mengandung saponin, flavonoid dan polifenol; serta glikosida cucurbitacin, charantin, asam butirrat, asam palmitat, asam linoleat dan asam stearat (Begum (1996) dalam Rita *et al*, 2008).

Dari uraian di atas dapat diperoleh suatu informasi bahwa buah pare (*M.charantia*) dapat dijadikan sebagai alternatif pengendalian penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang uji efektifitas buah pare (*M.charantia*) terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi* sehingga dapat dimanfaatkan secara tepat dalam penanggulangan penyakit.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dan mempelajari pengaruh filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara in vitro.

1.4 Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan hasil yang dapat digunakan sebagai sumber informasi awal dalam upaya pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *V. harveyi* dengan menggunakan filtrat buah pare (*M. charantia*).

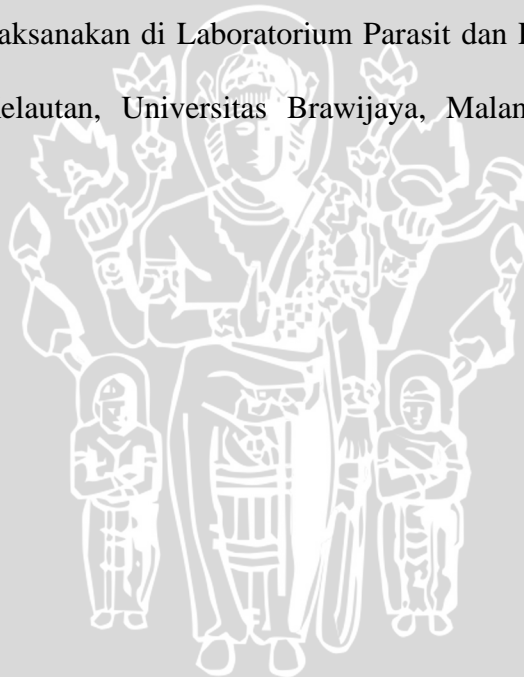
1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga bahwa penggunaan filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara in vitro.

H_1 : Diduga bahwa penggunaan filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara in vitro.

1.6 Tempat dan Waktu

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



2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Vibrio harveyi*

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Bergey's (1962) edisi ke-7 dalam Dwijoseputro (1998), klasifikasi

Vibrio harveyi adalah sebagai berikut :

Phyllum : Protophyta

Class : Shyzomycetes

Ordo : Pseudomondales

Sub Ordo : Pseudomonadinae

Famili : Spirillaceae

Genus : *Vibrio*

Species : *Vibrio harveyi*

Bakteri ini bersifat gram negatif, fakultatif anaerobik, fermentatif, bentuk sel batang dengan ukuran panjang antara 2-3 μm , menghasilkan katalase dan oksidase, bergerak dengan satu flagella pada ujung sel (Austin, 1988 dalam Feliatra, 1999).

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). Kordi (2004) menyebutkan bahwa jasad patogen merupakan sumber penyakit, walaupun pada saat tertentu menjadi penyebab karena ada faktor lain menjadi sumber penyakit. Jasad patogen termasuk organisme yang telah hidup di perairan tersebut, bahkan pada tubuh

ikan, misalnya bakteri *Vibrio* spp. Ditambahkan oleh Irianto (2005), pada dasarnya *Vibrio* merupakan jasad oportunistik, berlangsungnya wabah vibriosis dapat terjadi akibat stres lingkungan. Zafran dan Des Roza (1991) juga menyebutkan 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.

2.1.2 Metabolisme dan Pertumbuhan

Holt (1979) dalam Andayani (2005), menyebutkan bahwa *Vibrio* spp tergolong bakteri gram negatif yang bersifat anaerobik fakultatif dimana metabolisme bisa dilakukan dengan oksigen ataupun tanpa oksigen. Selain itu bakteri ini dapat tumbuh dengan baik pada media mineral yang mengandung ammonium, karbon sederhana dan glutamat.

Pada media agar bakteri *V. harveyi* dan *V. splendidus* dapat menghasilkan cahaya. Cahaya yang dihasilkan oleh bakteri ini diatur oleh sistem kerja enzim, yaitu enzim luciferase. Enzim ini berfungsi sebagai katalisator dalam proses pengoksidasian flavin monokleotida dan aldehyd alipatik rantai panjang menjadi flavin monokleotida asam lemak dan cahaya (Prajitno, 2007).

Menurut Dwijoseputro (1998), bakteri mempunyai lima fase pembiakan, yaitu:

- a. Fase adaptasi adalah fase dimana bakteri selama 1-2 jam setelah pemindahan belum mengadakan pembiakan
- b. Fase pembiakan cepat, dimana pembiakan/pertumbuhan bakteri berlangsung paling cepat.

- c. Fase pembiakan diperlambat, dimana kecepatan pembiakan bakteri mulai berkurang. Pada fase ini tampak sekali adanya penyusutan jumlah sel-sel yang segar, hal ini dapat disebabkan karena faktor-faktor lingkungan seperti perubahan pH, keadaan medium yang memburuk, atau menimbunnya zat kotoran.
- d. Fase konstan, dimana jumlah bakteri yang berbiak sama dengan jumlah bakteri yang mati.
- e. Fase kematian, pada fase ini jumlah bakteri yang mati semakin banyak dan makin melebihi jumlah bakteri yang membelah diri.

Wedmeyer dan Wood (1974) dalam Prajitno (2007) menerangkan bahwa bakteri ini dapat menyerang ikan / udang pada saat oksigen terlarut kurang dari 6 ppm, pada suhu 10 – 15 °C dan salinitas 10 – 15 ppt. Prajitno (2005) menyatakan bahwa pada suhu 4 °C dan 45 °C bakteri tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55 °C akan mati. Bakteri *Vibrio* termasuk jenis bakteri halofilik yaitu bakteri yang dapat hidup pada salinitas tinggi, secara optimum pada salinitas 20 - 30 ppt. Bakteri dapat tumbuh baik pada kondisi alkali pH optimum 7,5 - 8,5.

Vibrio spp bersifat anaerobik fakultatif, dimana metabolisme dapat dilakukan dengan ataupun tanpa oksigen (fermentasi). Selain itu, karbohidrat difermentasi dengan memproduksi asam tetapi bukan dalam bentuk gas. Bakteri ini memiliki enzim katalase, motilitas positif dan mampu menghasilkan enzim oksidase yang bersifat fermentatif. Bakteri ini dapat tumbuh dalam medium mineral yang mengandung D-glukosa dan NH_4Cl . Untuk menstimulasi pertumbuhannya, bakteri ini membutuhkan ion sodium (Baumann *et al*, 1984).

Dikatakan oleh Dwijoseputro (1998) bahwa *Vibrio* spp termasuk kemoorganotropik yaitu mikroba yang dapat menggunakan komponen organik sebagai sumber karbon dan energi. Dijelaskan pula bakteri ini menghasilkan enzim protease, lipase dan khitinase sehingga bakteri dapat merombak dan memanfaatkan bahan organik sebagai sumber karbon dan energi. Medium yang paling cocok bagi kehidupan bakteri adalah medium yang isotonis terhadap isi sel bakteri.

2.1.3 Habitat dan Daerah Penyebaran

Prajitno (2005) menyatakan bahwa pada suhu 4 °C dan 45 °C bakteri tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55 °C akan mati. Bakteri *Vibrio* termasuk jenis bakteri halofilik yaitu bakteri yang dapat hidup pada salinitas tinggi, secara optimum dapat hidup pada salinitas 20 - 30 ppt. Bakteri dapat tumbuh baik pada kondisi alkali dengan pH optimum 7,5 - 8,5.

Menurut Rukyani *et al* (1992), penyakit kunang-kunang ternyata hanya dikenal di daerah tropis seperti Philipina, Thailand, Indonesia dan Equador. Penyakit ini telah menyebar di seluruh Indonesia dan Equador. Penyakit ini telah menyebar di seluruh Indonesia dan kasus serangan dilaporkan terutama terjadi di daerah Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, Sulawesi Selatan, Bali dan Lampung.

2.1.4 Ciri-ciri Serangan dan Sumber Infeksi

Rukyani *et al* (1992) menjelaskan tentang sifat-sifat patogenitas dari bakteri *Vibrio* spp adalah sebagai berikut:

- Umumnya menyerang larva udang stadia zoea, mysis dan pasca larva.
- Memusnahkan larva dalam waktu 1-2 hari sejak gejala awal tampak.
- Serangan ganas, terjadi secara cepat dan menyebabkan kematian massal pada larva.

- Sulit diberantas dengan obat-obatan termasuk antibiotik, larva yang terserang biasanya sulit untuk disembuhkan.
- Mudah menular melalui air, pakan, peralatan maupun aktivitas manusia.
- Menyerang sepanjang tahun tetapi biasanya cenderung terjadi pada saat perubahan iklim atau perubahan suhu mendadak.

Penyakit yang menyerang ikan atau udang budidaya tidak datang begitu saja, melainkan akibat dari interaksi yang tidak serasi antara tiga komponen utama, yaitu lingkungan, ikan atau udang, dan organisme penyebab penyakit (Kordi, 2004). Pada kondisi lingkungan yang tidak seimbang bakteri patogen akan mengeluarkan sejenis racun tertentu yang mempengaruhi kerja enzim dalam tubuh udang sehingga mengganggu pertumbuhannya. Sumber infeksi bakteri *Vibrio* berasal dari kontaminasi induk udang, kontaminasi pakan serta pengaruh kualitas air (Prajitno, 2001).

2.2 Tanaman Pare (*Momordica charantia*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Potawale *et al* (2008), klasifikasi dari tanaman pare (*M. charantia*) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliosida
Order	: Viales
Family	: Cucurbitaceae
Genus	: Momordica
Species	: <i>Charantia</i> sp

Paria atau papare termasuk golongan buah seperti gambas, beligo, waluh, semangka, ketimun dan labu siam (Warsito dan Soedijanto, 1978). Ditambahkan pula oleh Santoso (1996), bahwa tanaman pare atau paria adalah tanaman herba berumur satu tahun atau lebih yang tumbuh menjalar dan merambat. Tanaman yang merupakan sayuran buah ini mempunyai daun yang berbentuk menjari dengan bunga yang berwarna kuning. Permukaan buahnya berbintil-bintil dan rasa buahnya pahit. Basuki (2008) menambahkan pare tergolong tanaman semusim, yang hidupnya menjalar atau merambat, dengan sulur berbentuk spiral. Daunnya tunggal, berbulu, berbentuk lekuk tangan dan bertangkai sepanjang 10 cm. Bunganya berwarna kuning muda. Batangnya masif mempunyai rusuk lima, berbulu agak kasar ketika masih muda, namun setelah tua gundul berwarna hijau. Buahnya buni, bulat telur memanjang, warna hijau, kuning sampai jingga dan rasanya pahit. Bijinya keras warna coklat kekuningan. Bentuk buah pare disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Buah Pare (*M. charantia*)

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Tanaman pare (*M. charantia*) tumbuh di daerah tropis, termasuk bagian dari Amazon, Afrika Timur, Asia dan Kepulauan Karibia. Pare dibudidayakan di Amerika Selatan sebagai makanan dan obat-obatan (Taylor, 2002). Namun belum dipastikan

sejak kapan tanaman ini masuk ke Indonesia. Saat ini tanaman pare sudah dibudidayakan di berbagai wilayah Nusantara. Umumnya pare ditanam di lahan pekarangan atau tegalan atau di sawah bekas padi sebagai penyelang pada musim kemarau (Wirnawan, 2008).

Santoso (1996), menyebutkan bahwa syarat tumbuh pare adalah sebagai berikut :

- Pare mempunyai daya adaptasi yang cukup tinggi,
- Dapat menyesuaikan diri terhadap iklim yang berlainan baik suhu cerah dan curah hujan yang tinggi,
- Dapat hidup sepanjang tahun dan tidak tergantung musim,
- Membutuhkan drainase yang cukup baik,
- Memerlukan tanah yang gembur dan banyak mengandung bahan organik,
- Memerlukan pH antara 5-6
- Ketinggian antara 1 meter hingga 1500 meter dpl.

2.2.3 Perbanyak Tanaman

Perbanyak tanaman pare dapat dilakukan dengan penanaman benih. Ada dua jenis benih yang dapat dipakai untuk penanaman pare. Jenis pertama adalah benih atau biji yang langsung ditanam di lapang dan yang kedua adalah benih yang telah melalui proses persemaian. Pemakaian kedua jenis ini tergantung pada musim dimana penanaman akan dilakukan. Bila penanaman dilakukan pada musim penghujan, sebaiknya penanaman dilakukan dengan benih atau biji langsung, karena daya tumbuh benih di lapang pada kondisi tersebut dapat baik. Sedangkan apabila penanaman dilakukan pada musim kemarau sebaiknya penanaman dilakukan dengan menggunakan benih yang telah disemai terlebih dahulu, karena akan terjamin benih yang akan ditanam di lapang (Santoso, 1996).

2.2.4 Jenis-Jenis Pare

Paria yang biasa ditanam orang ada 3 macam, yaitu paria putih (pare gajah), paria hijau dan paria belut. Jenis paria lainnya yang jarang dimakan karena rasanya pahit sekali adalah paria ayam, paria kodok dan paria alas (Warsito dan Soedijanto, 1978).

Paria putih (pare gajah) mempunyai buah yang besar, bulat panjang, warnanya putih dan permukaan kulitnya tedapat bintil-bintil besar. Setelah tua buahnya menjadi kuning dan bijinya merah. Paria ini sangat digemari orang karena rasanya tidak begitu pahit (Warsito dan Soedijanto, 1978). Santoso (1996), menambahkan bahwa pare putih juga disebut pare mentega, berukuran panjang 30 – 50 cm, dengan diameter 3 – 7 cm dan memiliki berat rata – rata 300 – 500 gram per buah. Pare ini berasal dari India dan Afrika.

Selanjutnya, Warsito dan Soedijanto (1978) menyebutkan bahwa pare hijau mempunyai buah yang kecil, lonjong dan permukaan kulitnya berbintil – bintil halus. Paria ini rasanya lebih pahit daripada paria putih. Menurut Santoso (1996), pare hijau ini mudah sekali pemeliharaannya, tanpa lanjaran atau para-para tanaman pare hijau ini dapat tumbuh baik.

Pare yang ketiga adalah pare belut. Menurut Santoso (1996), pare ini memang kurang populer. Bentuknya memanjang seperti belut. Panjangnya antara 30 – 110 cm dan berdiameter 4 – 8 cm. Pare belut ini tidak termasuk dalam *Momordica* sp , melainkan tergolong jenis *Trichorsantus anguina* L. Meskipun demikian orang lebih terbiasa memasukkan pare belut ini ke dalam jenis pare.

2.2.5 Kandungan Kimia

Buah pare (*M. charantia*) memiliki komponen fenolik yang dapat menjadikannya sebagai antioksidan dan antimutagen (Budrat dan Shotipruk, 2007). Buah pare yang

belum masak mengandung saponin, flavonoid dan polifenol; serta glikosida cucurbitacin, charantin, asam butirat, asam palmitat, asam linoleat, dan asam stearat (Begum *et al*, 1996 dalam Rita *et al*, 2008). Chan, *et al* (1984) dalam Syarif *et al* (2007), menyatakan bahwa senyawa yang terdapat dalam buah pare (*M. charantia*) meliputi : alkaloid, cucurbitacin (zat pahit), momordikosid, momorcharin, resin kalium dan fosfor. Akhtar *et al* (1981) dalam Syarif *et al* (2007) menambahkan bahwa cucurbitacin merupakan zat pahit golongan terpenoida dengan struktur dasar triterpen. Dalam ekstrak daging buah pare dengan metanol ditemukan senyawa triterpenoid, steroid, tanin, asam amino dan protein (Namara, 1990 dalam Syarif *et al*, 2007).

Kandungan kimia seperti alkaloid, charantin, charine, chrytproxanthin, cucurbitins, cucurbitacins, cucurbitanes, cycloartenols, diosgenin, elaeosteraic acids, erythrodiol, galcturonic acids, gentisic acid, goyaglycosides, goyasaponins, guanylate cyclase inhibitors, gypsogenin, hydroxytryptamines, karounidiols, lanosterol, lauric acid, linoleic acid, linolenic acid, momorcharasides, momorcharins, momordenol, momordicilin, momoridicin, momordicinin, momordicosides, momordin, multiflorenol, myristic acid, nerolidol, oleanolic acid, oleic acid, oxalic acid, pentadecans, peptides, petroselinic acid, polypeptides, proteins, ribosome-inactivating proteins, rosmarinic acid, rubixanthin, spinasterol, steroidal glycosides, stigmatasdiol, stigmasterol, taraxerol, trehalose, trypsin inhibitors, uracil, vacine, v-insulin, verbascoside, vicine, zeatin, zeatin riboside, zeaxanthin dan zeinoxanthin dapat ditemukan dalam buah pare (Potawale *et al*, 2008).

Senyawa kimia lain yang terdapat dalam buah pare yang juga bersifat antibakteri adalah cucurbitacin (Syarif *et al*, 2007). Okabe (1980) dalam Syarif *et al* (2007) menyebutkan bahwa cucurbitacin merupakan zat pahit golongan terpenoida dengan

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.

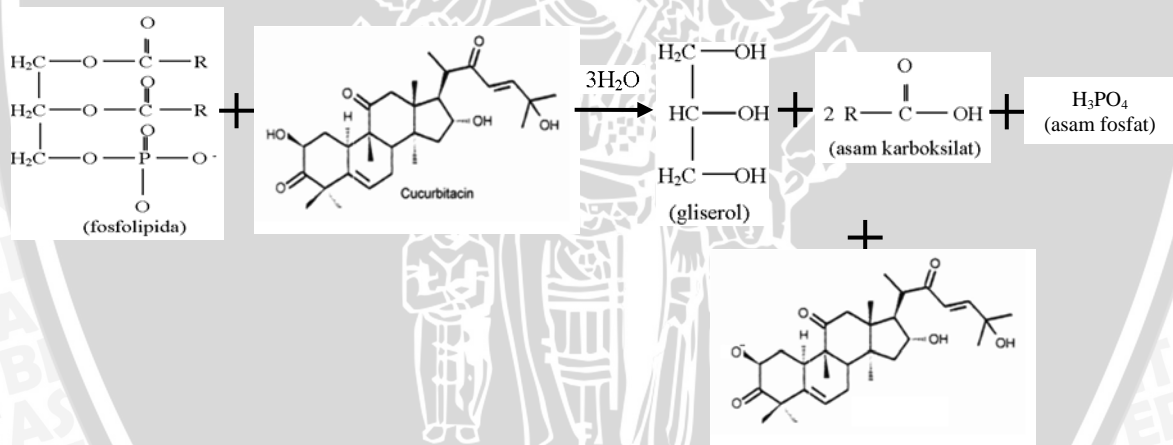
- Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

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

Ditambahkan oleh Prajitno (2007), proses perusakan sel bakteri adalah sebagai berikut : 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. Senyawa fenolik dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini

memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri.

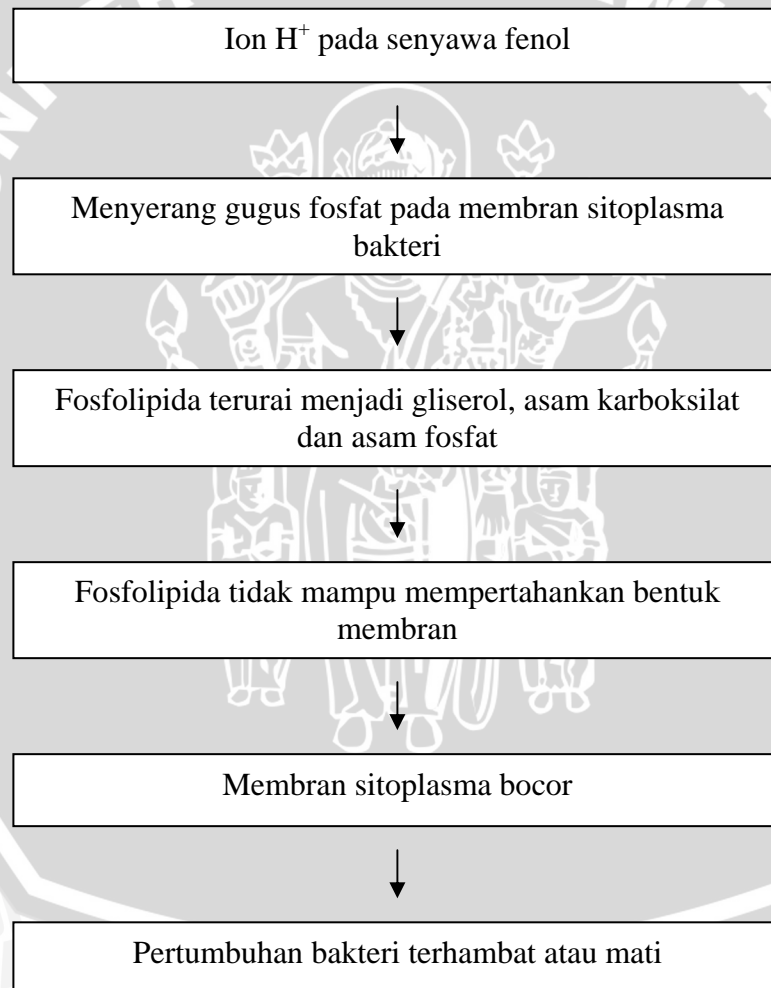
Cucurbitacin merupakan zat pahit golongan terpenoida dengan struktur dasar triterpen. Triterpen merupakan salah satu glikosida umum atau heterosida, dimana heterosida adalah senyawa organik dengan rantai hemiasetal yang biasanya terhubung pada rantai karbon anumerik dari gula (*glycone*) dengan alkohol atau senyawa fenolik dari molekul non gula (*aglycone*) kedua (Anonymous, 2008). Rasa pahit filtrat buah pare ini juga mengindikasikan bahwa pH filtrat bersifat basa, dengan demikian filtrat buah pare juga dapat menimbulkan iritasi pada dinding sel bakteri sehingga terjadi kerusakan membran sel dan bakteri terganggu pertumbuhannya (Syarif *et al*). Reaksi antara fosfolipida dan senyawa cucurbitacin disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi antara fosfolipida dan senyawa cucurbitacin

Selain cucurbitacin, pare juga mengandung flavonoid dan polifenol (Begum *et al*, 1996 dalam Rita, 2008). Kumar, *et al* (2009) menambahkan bahwa aktivitas antibakteri yang tinggi sering dikaitkan dengan keberadaan senyawa fenol yang tinggi. Adapun mekanisme perusakan bakteri diterangkan oleh Prajitno (2007) bahwa senyawa fenol dan turunannya merupakan salah satu antibakteri yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma. Adanya senyawa fenol ini menyebabkan

perusakan membran sitoplasma. Ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya 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 bakteri akan bocor dan bakteri akan mengalami kematian. Diagram mekanisme perusakan membran sitoplasma bakteri oleh senyawa fenol disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram Mekanisme Perusakan Membran Sitoplasma Bakteri Oleh Senyawa Fenol

2.3 Uji Efektivitas Antimikroba Secara In Vitro

Sebelum zat anti mikroba digunakan untuk keperluan pengobatan, maka perlu diuji terlebih dahulu efeknya terhadap spesies bakteri tertentu. Aktivitas jasad renik diukur secara invitro 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.

2.3.1 Metode Pengenceran

Cara pengenceran tabung pada dasarnya untuk menentukan secara kualitatif 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. Perbenihan yang dipakai harus merupakan perbenihan yang dapat membunuh kuman secara optimum dan tidak menetralkan obat yang dipergunakan (Bonang dan Koeswardono, 1982).

2.3.2 Metode 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). 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 (Dwidjoseputro, 1998). Menurut Bonang dan Koeswardono (1982), bahwa hambatan akan terlihat sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan kuman di sekitar kertas cakram. Lebar daerah tergantung pada daya resap obat ke dalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut.



3 MATERI DAN METODE

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat

- Autoclave
- Lemari pendingin
- Timbangan analitik
- Hotplate
- Vortex
- Blender
- Sentrifuge
- Cawan petri
- Beaker glass
- Tabung reaksi
- Erlenmeyer
- Gelas ukur
- Pipet volume
- Pipet tetes
- Mikropipet
- Bola hisap
- Bunsen
- Jarum ose
- Triangle
- Spatula
- Pinset
- Sprayer
- Kompor gas
- Wrapper
- Jangka sorong
- Botol film
- Rak tabung reaksi
- Corongan kecil
- Pisau
- Gunting

3.1.2 Bahan

- Buah pare (*Momordica charantia*)
- Biakan murni *Vibrio harveyi*

- TCBSA (*Thiosulfate Citrate Bilesalt Sucrose Agar*) merek OXOID, 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
- Tissue
- Kain lap

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Tujuan penelitian eksperimental adalah untuk menyelidiki kemungkinan saling hubungan sebab akibat dengan cara mengenakan kepada satu atau lebih kelompok eksperimental satu atau lebih kondisi perlakuan dan memperbandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan (Suryabrata, 1988).

Pembacaan efektivitas filtrat Buah Pare (*M. charantia*) terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara in vitro dengan mengukur daerah hambatan sekitar cakram yang memperlihatkan tidak adanya pertumbuhan bakteri.

3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian 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) :

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

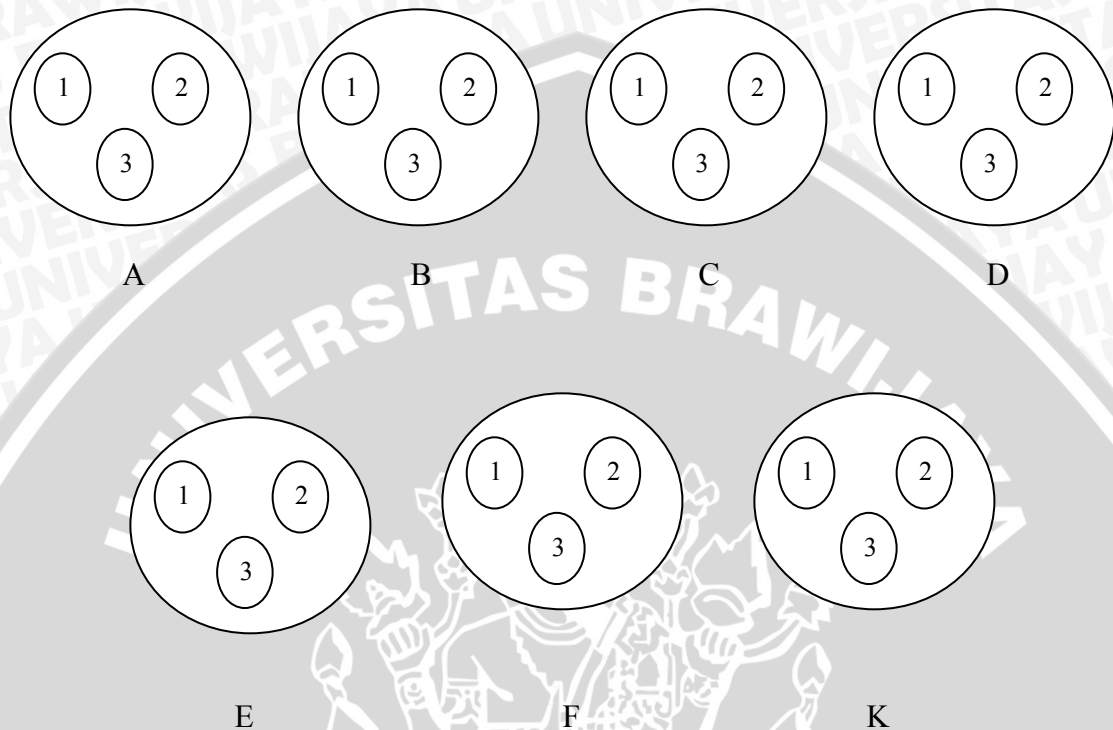
Dimana :

- 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 filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu :

- A = Pemberian filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan konsentrasi 30%
- B = Pemberian filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan konsentrasi 35%
- C = Pemberian filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan konsentrasi 40%
- D = Pemberian filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan konsentrasi 45%
- E = Pemberian filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan konsentrasi 50%
- F = Pemberian filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan konsentrasi 55%
- K = Kontrol (tanpa perlakuan)

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga jumlah sampel yang diamati adalah sebanyak 18. Unit dan denah percobaan disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. 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

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

- Air dimasukkan ke dalam *autoclave* secukupnya, kemudian alat dan bahan yang telah dibungkus kertas perkamen dimasukkan dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan cara mengencangkan baut secara silang.
- Kompor pemanas dinyalakan, setelah beberapa saat manometer pada *autoclave* akan menunjukkan angka 1 atm, jika terjadi kelebihan tekanan udara, kran udara dibuka 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 pada *autoclave* menunjukkan angka 0 (nol), kemudian kran uap dibuka lalu penutup *autoclave* dibuka dengan cara zig-zag.
- Kemudian ditunggu hingga suhunya turun 0 °C.
- Alat dan bahan dikeluarkan dari *autoclave*, alat kemudian disimpan dalam inkubator dan apabila sudah bersuhu ruang, bahan dapat disimpan dalam lemari pendingin.

3.3.2 Filtrasi Buah Pare

Prosedur pembuatan filtrat buah pare (*M. charantia*) menurut Syarif *et al* (2007) :

- Buah pare dibelah, dibuang bijinya, dibersihkan, ditiriskan, kemudian dipotong-potong kecil.
- Dimasukkan ke dalam blender, ditunggu hingga hancur.
- Disaring menggunakan kain saring.
- Disaring lagi bagian atas larutan dengan kertas saring untuk memisahkan endapan yang halus dengan larutan.
- Filtrat yang tidak langsung digunakan dapat disimpan di lemari pendingin.

3.3.3 Pembuatan Media

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

- TCBSA sejumlah 8,8 gram dilarutkan dalam 100 ml air aquadest steril dalam erlenmeyer steril
- Didihkan sambil diaduk hingga larut sempurna dan warna menjadi hijau keruh
- Larutan TCBSA tidak disterilkan
- Setelah itu dalam keadaan panas dituang dalam cawan petri steril setinggi 3 mm, penguangan dilakukan di dekat bunsen yang menyala.
- Media dibiarkan memadat.
- Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari es. 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 dilarutkan dalam erlenmeyer dengan 100 ml air aquadest steril, kemudian diaduk hingga larut sempurna dan berwarna bening.
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan kertas perkamen kemudian disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- Media yang akan dipakai dibiarkan dingin hingga mempunyai suhu 30 °C karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.
- Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari es.

3.3.4 Isolasi dan Pemurnian Bakteri

A. Media Padat

- Disiapkan cawan petri ysng berisi media TCBSA.
- Disiapkan biakan murni *V. harveyi* kemudian diambil sebanyak 1 ose.
- Digoreskan ke dalam media TCBSA secara zig-zag.
- Media TCBSA diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu 35 °C selama 24 jam.

B. Media Cair

- Disiapkan 4ml media NB yang telah disterilkan dengan *autoclave*.
- Dimasukkan biakan murni *V. harveyi* sebanyak 5 ose ke dalam tabung reaksi yang berisi 4 ml media NB tersebut.
- Media yang telah mengandung *V. harveyi* ditutup dengan kapas dan alumunium foil kemudian diinkubasi pada suhu 35 °C di dalam inkubator 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*)

Pengamatan kualitatif terhadap ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada media cair (Nutrient Broth) dilakukan untuk mengetahui *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC), yaitu konsentrasi minimum suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan kontrol sebagai pembanding. Dalam hal ini yang digunakan sebagai kontrol adalah media cair (Nutrient Broth) yang tidak mengandung bakteri (Bonang dan Koeswardono, 1982 *dalam* Rochani, 2000).

Penentuan MIC dilakukan sebagai berikut :

- 5 inokulum biakan murni bakteri *V. 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* (6×10^8 sel/ml).
- 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. Jumlah bakteri dalam suspensi (stok larutan broth) adalah 3×10^6 sel/ml.
- Penentuan konsentrasi perlakuan filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan metode pengenceran. Konsentrasi yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Konsentrasi Filtrat Buah Pare (*M. charantia*) untuk Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Konsentrasi (%)	Larutan stok ekstrak Buah Pare (<i>M. charantia</i>) (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
55	2,75	2,25
60	3,00	2,00
65	3,25	1,75
70	3,50	1,50
75	3,75	1,25
80	4,00	1,00
85	4,25	0,75
90	4,50	0,50

95	4,75	0,25
100	5,00	0,00

- Masing-masing perlakuan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35 °C.
- Diamati pertumbuhan bakteri di dalamnya. Apabila medium tampak keruh menandakan bahwa bakteri dapat tumbuh, hal ini berarti bahwa dosis yang digunakan tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan sebaliknya.
- Karena filtrat buah pare yang berwarna hijau keruh mengganggu pengamatan pertumbuhan bakteri maka setelah pengamatan kekeruhan ditanam kembali pada media TCBSA kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35 °C. Apabila pada TCBSA terlihat adanya pertumbuhan bakteri, ini berarti dosis tersebut bersifat bakteristatis. Tetapi apabila pada agar tidak terdapat pertumbuhan bakteri, berarti dosis tersebut bersifat bakteriosid.

3.4.2 Uji Cakram

Prosedur pelaksanaannya adalah sebagai berikut :

- 5 inokulum biakan murni bakteri *V. 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* (6×10^8 sel/ml).
- Disiapkan botol film steril untuk perlakuan konsentrasi filtrat buah pare. Konsentrasi minimum didapatkan dari hasil uji MIC.
- Untuk menentukan konsentrasi filtrat buah pare yang digunakan menggunakan rumus pengenceran menurut Prianto *et al* (2004) : $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$

Keterangan :

N_1 : Stok yang ada (%)

V_1 : Filtrat yang dibutuhkan (ml)

N_2 : Konsentrasi filtrat buah pare yang digunakan (%)

V_2 : Volume akuades yang digunakan (ml)

- Penentuan konsentrasi filtrat buah pare untuk uji cakram disajikan pada Tabel 2.
- Direndam kertas cakram steril ke dalam filtrat buah pare selama 30 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 ± 6 mm.
- Diratakan bakteri dengan triangle.
- Diletakkan kertas cakram yang telah ditiriskan pada permukaan lempeng agar.
- Dilakukan pembacaan hasil setelah diinkubasi pada suhu ruang (37°C) selama 18-24 jam dengan cara mengukur daerah hambat yang terbentuk.

Tabel 2. Konsentrasi Filtrat Buah Pare (*M. charantia*) untuk Uji Cakram

Konsentrasi (%)	Larutan stok ekstrak Buah Pare (<i>M. charantia</i>) (ml)	Aquades (ml)
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
55	2,75	2,25
0	0,00	5,00

3.5 Parameter

3.5.1 Parameter Uji

Parameter utama dalam penelitian ini menggunakan parameter kuantitatif, yaitu data yang diperoleh dari hasil pengukuran daerah hambatan filtrat buah pare (*M.charantia*) terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi*, pada masing-masing perlakuan yang terlihat di sekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong.

3.5.2 Parameter Penunjang

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

3.6 Analisa Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan, berupa pemberian filtrat buah pare 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 Biakan *Vibrio harveyi*

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang. Selama penelitian, bakteri tersebut dibiakkan dalam media padat, yaitu TCBSA (*Thiosulfate Citrate Bilesalt Sucrose Agar*) dan dalam media cair, yaitu NB (*Nutrient Broth*). Komposisi media TCBSA dan NB yang disajikan dalam Tabel 3 dan Tabel 4.

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
Ox bile	8,0
Sucrose	20,0
Sodium chloride	10,0
Ferric citrate	10,0
Bromothymol blue	0,04
Thymol blue	0,04
Agar	14

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

Pembiakan bakteri pada media padat TCBSA dilakukan dengan metode gores dan diinkubasi selama 18 – 24 jam. Menurut Waluyo (2005), cara penggoresan lebih

menguntungkan bila ditinjau dari sudut ekonomi dan waktu, tetapi memerlukan keterampilan yang diperoleh dari latihan. Penggoresan yang sempurna akan menghasilkan koloni yang terpisah. Menurut Anonymous (2003), 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.

Hasil pengamatan selama penelitian menunjukkan bahwa bakteri *V. harveyi* yang dibiakkan dalam media padat TCBSA membentuk koloni yang membulat dengan warna kekuningan. Warna kekuningan yang dihasilkan ini berkaitan dengan kemampuan *V. harveyi* dalam memanfaatkan sukrosa. Hal ini sesuai dengan Frerichs (1993) yang menyatakan bahwa spesies yang memfermentasi sukrosa (koloni berwarna kuning) berbeda dengan spesies yang tidak memfermentasi sukrosa (koloni berwarna hijau).

Sedangkan pembiakan bakteri di dalam media cair NB, penentuan kepadatan bakteri ditentukan dengan perbandingan hasil biakan dengan larutan standar McFarland. Metode ini dilakukan dengan menyamakan kekeruhan hasil inokulasi dengan kekeruhan standar larutan McFarland secara visual (Peoloengan *et al*, 2006). 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 10^6 sel/ml. Menurut Prajitno (2007), *Vibrio* spp. memerlukan konsentrasi 10^6 sel/ml agar terjadi infeksi yang mematikan pada larva udang.

4.2 Daya Hambat Filtrat Buah Pare (*Momordica charantia*)

4.2.1 Uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*)

Hasil uji kadar hambat minimal (MIC) diperoleh kadar hambat minimal filtrat buah pare (*M. charantia*) terhadap bakteri *V. harveyi* adalah 30 %. Hal ini ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri selama masa inkubasi 24 jam. Karena filtrat buah pare yang berwarna hijau keruh mengganggu pengamatan pertumbuhan bakteri maka setelah pengamatan kekeruhan ditanam kembali pada media TCBSA kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35 °C. Hasil uji kadar hambat minimal filtrat buah pare terhadap bakteri *V. harveyi* disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Kadar Hambat Minimal (MIC) Filtrat Buah Pare (*M. charantia*) Terhadap Bakteri *V. harveyi*

Konsentrasi (%)	Pertumbuhan Bakteri
5	+
10	+
15	+
20	+
25	+
30	-
35	-
40	-
45	-
50	-
55	-
60	-
65	-
70	-
75	-
80	-
85	-
90	-
95	-
100	-
K 1	-
K 2	+

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

Pada lanjutan uji MIC terlihat bahwa setelah ditanam dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35 °C menunjukkan bahwa pada dosis 5% sampai dengan dosis 25% masih dijumpai pertumbuhan bakteri. Sedangkan pada dosis 30% bakteri masih tumbuh akan tetapi dengan kepadatan yang jarang dan semakin berkurang hingga pada dosis 75%. Hal ini dapat dikatakan bahwa pada dosis 30% bakteri telah terhambat dan dosis ini merupakan dosis terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara in vitro. Menurut Edberg (1986) konsentrasi penghambat minimum merupakan konsentrasi antibiotika terendah yang akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme makroskopik. Pada dosis 80 % sampai dengan 100% sudah tidak ada pertumbuhan bakteri.

4.2.2 Uji Cakram

Uji cakram pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa potong kertas Whatman atau kertas saring yang masing-masing direndam dalam larutan filtrat buah pare dalam beberapa waktu yang telah ditentukan, kemudian diletakkan pada kultur murni dari bakteri di plat agar. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dan diamati. Di sekeliling potongan kertas saring tersebut akan tampak daerah bakteri yang tidak tumbuh. Hasil uji daya antibakteri filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan metode cakram menunjukkan bahwa filtrat buah pare tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*. Hal ini ditandai dengan adanya daerah bening di sekitar kertas saring. Menurut Dwidjoseputro (1998), bahwa jika sesudah 24 jam kemudian tidak tampak pertumbuhan bakteri di sekitar kepingan-kepingan kertas tersebut, maka

hal yang demikian itu berarti, bahwa bakteri itu tercekik pertumbuhannya oleh antibiotik yang terkandung dalam kepingan kertas. Selanjutnya dilakukan pengamatan setelah masa inkubasi 48 jam untuk menentukan sifat filtrat buah pare (*M. charantia*) terhadap bakteri *V. harveyi*, apakah bersifat bakteriostatik (menghambat) atau bakteriosidal (membunuh).

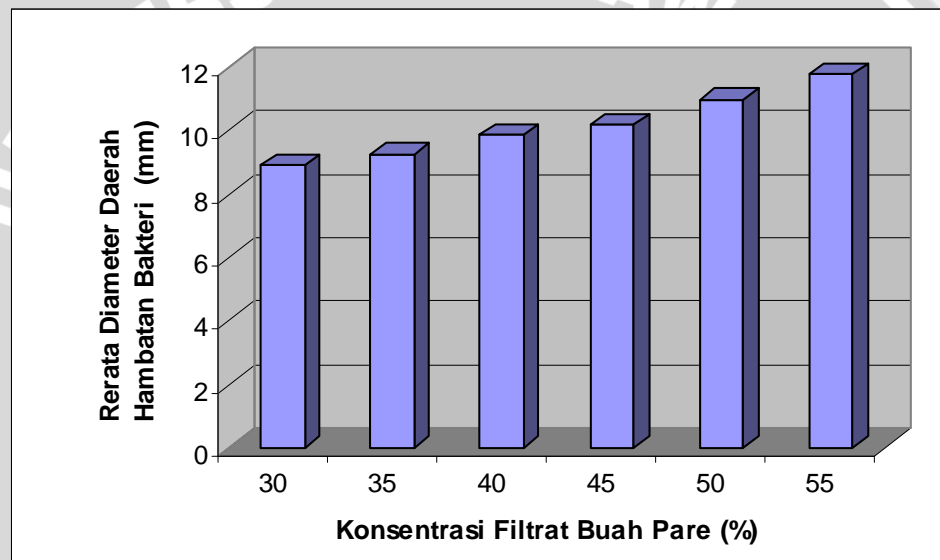
Setelah dilakukan pemeriksaan antimikrobal selama 48 jam diperoleh hasil bahwa filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan konsentrasi 30%, 35%, 40%, 45%, 50% dan 55% bersifat bakteriostatik yaitu hanya menghambat pertumbuhan bakteri *V.harveyi* dimana daerah hambat tampak keruh yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri. Menurut Lay (1994), bahan kimia yang mematikan bakteri disebut bakteriosidal, sedangkan bahan kimia yang menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteriostatik. Sedangkan bahan antimikrobal dapat bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah, namun bersifat bakteriosidal pada konsentrasi tinggi. Hasil uji cakram pada bakteri *V.harveyi* 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		
30	9,00	9,90	7,80	26,70	8,90
35	10,00	8,72	9,10	27,82	9,27
40	10,70	10,15	8,70	29,55	9,85
45	10,32	9,20	11,00	30,52	10,17
50	10,60	12,00	10,30	32,90	10,97
55	11,00	11,60	12,70	35,30	11,77
				$\Sigma = 182,79$	
K	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Berdasarkan Tabel 6 tersebut, rerata daerah hambat terkecil diperoleh pada konsentrasi 30% yaitu 8,90 mm, sedangkan pada konsentrasi 55% rerata daerah hambatannya adalah sebesar 11,77 mm.

Untuk lebih memperjelas peningkatan daerah hambat dengan peningkatan diameter daerah hambat dengan konsentrasi filtrat buah pare (*M. charantia*) dapat digambarkan berupa diagram batang hubungan antara konsentrasi filtrat buah pare (*M.charantia*) dengan daerah hambat yang disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Diagram Batang Hubungan Antara Konsentrasi Filtrat Buah Pare (*M.charantia*) (%) Dengan Rerata Diameter Daerah Hambat (mm)

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi filtrat buah pare (*M. charantia*), 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 konsentrasi filtrat buah pare (*M. charantia*) yang berbeda terhadap bakteri *V. harveyi*, maka dilakukan analisa keragaman atau sidik ragam. Hasil analisa keragaman atau sidik ragam disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Analisa Keragaman atau Sidik Ragam Bakteri *V. harveyi*

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	5	17,11	3,422	4,108 *	3,11	5,06
Acak	12	10,00	0,833			
Total	17	27,11				

Keterangan:

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

Hasil analisa keragaman menunjukkan bahwa pemberian filtrat buah pare dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri *V.harveyi*, yang berarti menolak H_0 dan menerima H_1 .

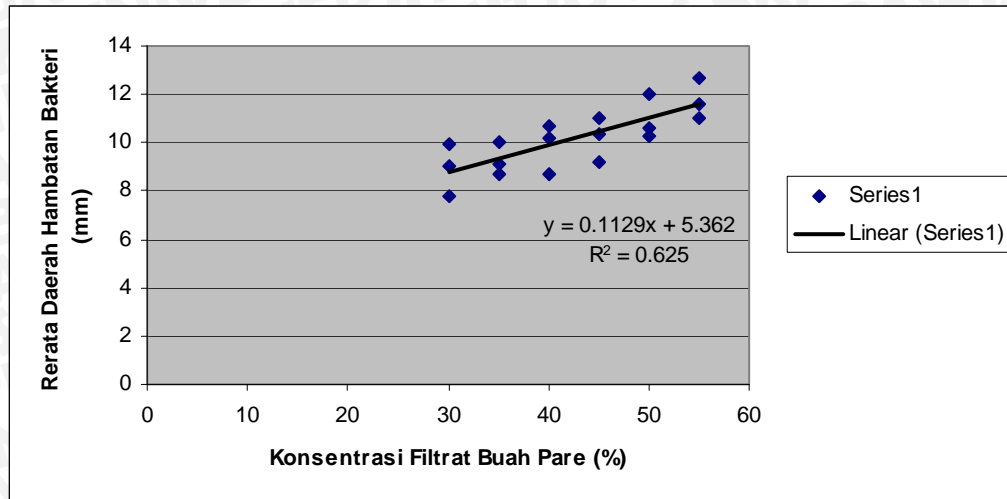
Selanjutnya dilakukan uji BNT untuk mengetahui perbedaan dari masing-masing perlakuan dan untuk mengetahui konsentrasi terbaik, dengan taraf nyata 0,05% (selang kepercayaan 95%) maupun taraf nyata 0,01% (selang kepercayaan 99%). Hasil uji BNT untuk bakteri *V. harveyi* disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Uji Beda Nyata Terkecil *V. harveyi*

Perlakuan	Rerata	Notasi
A (30%)	8,90	a
B (35%)	9,27	a
C (40%)	9,85	ab
D (45%)	10,17	abc
E (50%)	10,97	bc
F (55%)	11,77	c

Dari Tabel 8 terlihat bahwa penggunaan konsentrasi 30% dan 35% memberikan daerah hambatan paling kecil, sedangkan konsentrasi 55% memberikan daerah hambatan terbesar. Mengingat pada pertimbangan efek biologis terhadap lingkungan, tingkat resistensi bakteri terhadap zat antibakteri serta pertimbangan ekonomis, maka Pelczar dan Chan (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 satu obat atau antibiotik. Terbentuknya resistensi dapat dikurangi dengan cara menggunakan dosis yang tepat.

Selanjutnya untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi filtrat buah pare dengan diameter daerah hambatan yang terbentuk digunakan analisa regresi. Hasil analisa menunjukkan bahwa bentuk regresi yang sesuai adalah regresi linier dengan persamaan $Y = 5,362 + 0,01129x$. Berikut Grafik hubungan antara konsentrasi filtrat buah pare dengan zona hambat bakteri *V. harveyi* disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Filtrat Buah Pare (*M.charantia*) dengan Diameter Daerah Hambat Bakteri *V. harveyi*

Gambar 7 menjelaskan bahwa penggunaan filtrat buah pare mempunyai korelasi positif terhadap zona hambat bakteri *V. harveyi* pada uji cakram, yaitu semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin lebar zona hambat yang dihasilkan. Pada konsentrasi terendah (30%) diperoleh zona hambat terendah dengan nilai rerata 8,749 mm, sedangkan pada konsentrasi tertinggi (55%) diperoleh zona hambat dengan nilai rerata 11,572 mm.

4.3 Mekanisme Kerja Antimikroba Filtrat Buah Pare (*M. charantia*)

Hasil uji MIC dan uji cakram membuktikan bahwa filtrat buah pare (*M.charantia*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*. Hal ini didasarkan oleh kandungan senyawa dalam buah pare bersifat antibakteri. Buah pare dikenal secara tradisional sebagai keperluan medis sebagai antidiabetes, antikanker, antiinflamasi, antivirus dan dapat menurunkan kolesterol. Buah pare ini memiliki komponen fenolik yang dapat menjadikannya sebagai antioksidan dan antimutagen (Budrat dan Shotipruk,

2007). Buah pare yang belum masak mengandung saponin, flavonoid dan polifenol; serta glikosida cucurbitacin, charantin, asam butirrat, asam palmitat, asam linoleat dan asam stearat (Begum *et al*, 1996 dalam Rita *et al*, 2008). Chan (1984) dalam Syarif *et al*(2007), menyatakan bahwa senyawa yang terdapat dalam buah pare (*M. charantia*) meliputi : alkaloid, cucurbitacin (zat pahit), momordikosid, momorcharin, resin kalium dan fosfor.

Flavonoid merupakan suatu senyawa yang dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆. Artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon (Robinson, 1995). Efek flavonoid terhadap macam-macam organisme sangat banyak macamnya dan dapat menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid dipakai dalam pengobatan tradisional (Robinson, 1995).

Senyawa kimia lain yang bersifat antibakteri di dalam buah pare adalah kukurbitasin. Okabe (1980) dalam Syarif *et al* (2007) menyebutkan bahwa cucurbitaceae merupakan zat pahit golongan terpenoida dengan struktur dasar triterpen. Senyawa triterpen mempunyai peran sebagai sitotoksik, sitostatik, antibakteri, herbisida, anti inflamasi, spermisida, serta mempengaruhi dan menghambat aktivitas biosintesis sel. Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik yaitu skualena (Harborne, 1987). Robinson (1995), menyebutkan bahwa senyawa triterpenoid merupakan komponen aktif dalam tumbuhan obat yang telah digunakan untuk penyakit termasuk diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati dan malaria. Beberapa senyawa mempunyai nilai ekologi bagi tumbuhan karena

senyawa ini bekerja sebagai antifungus, insektisida, atau antipemangsa, dan beberapa senyawa triterpenoid yang lainnya juga berfungsi sebagai antibakteri atau antivirus. Triterpena tertentu terkenal karena rasanya, terutama kepahitannya, contohnya ialah kukurbitasin (Harborne, 1987). Menurut Robinson (1995), cucurbitacin merupakan senyawa terpahit yang terdapat dalam Curcubitaceae dan Cruciferae tertentu. Syarif *et al* (2007), menyebutkan mekanisme cucurbitacin yang dapat mempengaruhi dan menghambat aktivitas biosintesis sel juga diduga kuat berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri akibat pemberian ekstrak pare. Karena menurut Setiabudi *et al* (2002) dalam Syarif *et al* (2007) berdasarkan mekanisme kerja antibakteri antara lain mengganggu metabolisme sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri, mengganggu permeabilitas sel bakteri dan menghambat atau merusak asam nukleat sel bakteri.

4.4 Lingkungan Hidup Bakteri *Vibrio* spp

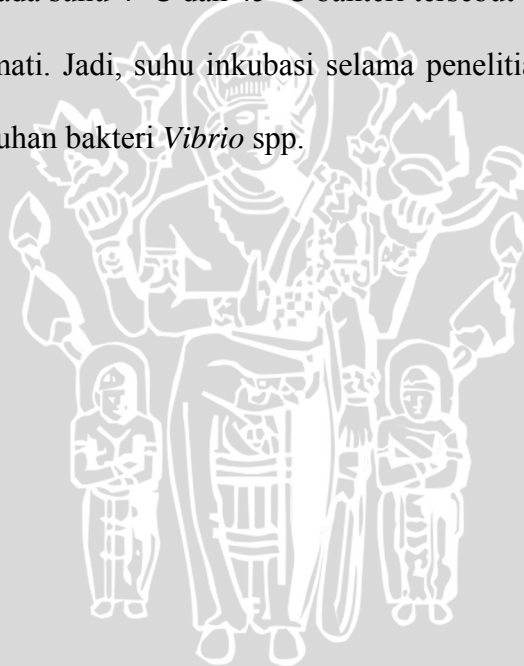
4.4.1 pH

Berdasarkan hasil pengukuran pH media, didapatkan hasil rata – rata sebesar 8,34. kondisi seperti ini pada umumnya baik untuk pertumbuhan bakteri. Menurut Prajitno (2005), bakteri *Vibrio* spp dapat tumbuh dengan baik pada kondisi alkali, yaitu pH optimum berkisar antara 7,5 – 8,5. 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 *Vibrio* spp berkisar antara 30 – 35 °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* spp.



5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian tentang “Pengaruh Filtrat Buah Pare (*Mormordica charantia*) Dengan Konsentrasi Yang Berbeda Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* Secara In Vitro” dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Filtrat buah pare dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap diameter daerah hambatan yang terbentuk pada media.
- Hasil pemeriksaan anti mikrobal selama 48 jam diperoleh hasil bahwa untuk filtrat buah pare dengan konsentrasi 30%, 35%, 40%, 45%, 50% dan 55% bersifat bakteriostatik (hanya menghambat pertumbuhan bakteri).
- Hubungan antara konsentrasi filtrat buah pare (*M. charantia*) dan rerata diameter hambatan pertumbuhan *V. harveyi* berbentuk regresi linear, dengan persamaan : $Y=0,1129 x + 5,362$ dengan nilai koefisien korelasi r sebesar 0,791.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disarankan sebagai berikut :

- Untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara in vitro sebaiknya digunakan filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan konsentrasi 55%.
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan konsentrasi yang lebih besar terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara in vitro yang kemudian dapat dilanjutkan dengan penelitian secara in vivo.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2003. **Bakteriologi Medik**. Tim Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Editor : Sjoekoer. M Dzen, Roekistiningsih, Santosa, S dan Winarsih S. Bayumedia Publishing. 373 hal.
- _____. 2004. **Jenis Penyakit Udang Pada Budidaya Air Payau**. <http://google.com> diakses tanggal 12 September 2008.
- _____. 2005. **Budidaya Udang Windu**. www.iptek.net.id/ind/warintek . diakses tanggal 12 September 2008. 1 hal.
- _____. 2007^a. **Momordica charantia (Bitter Melon)**. Reprinted from Herbal Secrets Of The Rainforest, 2nd Edition. 360-363p. <http://thorne.com/altmedrev/.fulltext/12/4/360.pdf>. . diakses tanggal 2 Desember 2008
- _____. 2007^b. **Udang Windu**. <http://id.wikipedia.org/udangwindu> . diakses tanggal : 12 September 2008. 1 hal.
- _____. 2008. **Phytochemical Screening**. <http://www.scribd.com> diakses tanggal 21 Agustus 2008. 52 p.
- _____. 2009. **Vibrio harveyi**. Washington University School Of Medicine. Department Of Genetics. Genome Sequencing Center. 1 p. <http://genome.wustl.edu/genome.cgi?GENOME=Vibrio%20harveyi> . diakses tanggal 15 Januari 2009.
- Andayani, S. 2005. **Pemanfaatan Bahan Aktif Ubur-Ubur (*Bougainvillia sp.*) Sebagai Bakterisida Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi***. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia Vol. 8 No. 2. hal 100-105.
- Bahar, B. 2006. **Panduan Praktis: Memilih Dan Menangani Produk Perikanan**. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 150 hal.
- Basuki, U. 2008. **Pare, Si Pahit Yang Banyak Khasiat**. <http://mbar.dagdigdug.com/2008/05/15/pare-si-pahit-yang-banyak-khasiat/> . diakses tanggal 2 Agustus 2008. 3 hal.
- 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.
- Bonang, G. dan Enggar S. Koeswardono.1982. **Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik**. PT. Gramedia. Jakarta. 199 hal.

- Budrat, P. dan Artiwan Shotipruk. 2007. **Extraction Of Phenolic Compounds From Fruits Of Bitter Melon (*Momordica charantia*) With Subcritical Water Extraction And Antioxidant Activities Of These Extracts**. Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering Chulalongkorn University. Thailand. 123-130 p. http://www.science.cmu.ac.th/journal-science/351_19ExtracParichat.pdf. diakses tanggal 2 Desember 2008.
- Cheng, L.I. 1989. **Perlakuan Pencegahan Dan Pengendalian Penyakit Udang (Shrimp Diseases, Prevention and Treatment)**. Lokakarya Pengelolaan Budidaya Udang. Pusat Penelitian Dan Pengembangan Perikanan. Surabaya. hal 1-10
- 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.
- Feliatra. 1999. **Identifikasi Bakteri Pathogen (*Vibrio sp*) di Perairan Nongsa Batam Propinsi Riau**. Jurnal Natur Indonesia Volume II Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Riau. hal 28-33. http://www.unri.ac.id/jurnal/jurnal_natur/vol2/5.pdf diakses tanggal 7 Maret 2008.
- 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.
- Harborne, J.B. 1987. **Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan**. Terbitan Kedua. Alih Bahasa : K. Padmawinata dan Iwang S. Penerbit ITB. Bandung. 354 hal.
- Iranawati, F., Sukoso, E. Laras, dan Haryanti. 2005. **Variasi Genetik Udang Windu (*Penaeus monodon fab*) di Sulawesi Selatan Melalui Analisa RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA)**. Jurnal Penelitian Perikanan Vol. 8, No. 1. Juni 2005. hal 18-21.
- Irianto, A. 2003. **Probiotik Akuakultur**. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 125 hal.
- _____. 2005. **Patologi Ikan Teleostei**. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 256 hal.
- Kordi, M. Ghufran H. 2004. **Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan**. PT. Rineka Cipta dan PT. Bina Adiaksara. Jakarta. 194 hal.

- Kumar, S. R., G. Ramanathan, M. Subhakaran dan S. Jacob Ibaneson. 2009. **Antimicrobial Compounds From Marine Halophytes For Silkworm Disease Treatment.** International Journal Of Medicine Sciences Vol. 1 (5) pp 184-191.
- Lay, B. W. 1994. **Analisis Mikroba di Laboratorium.** PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 168 hal.
- Makkoch, J., O. Sutayalai dan Sehanat Prasongsuk. 2008. **Antimicrobial Activity of Crude Extract From Leaf of Bitter Melon (*Momordica charantia*).** The Science Forum 2008. p 82. http://ejournal.sc.chula.ac.th/~sc/images/stories/pdf/abs/abs_symp06.pdf. diakses tanggal 2 desember 2008.
- Mariyono, A. Wahyudi dan Sutomo. 2002. **Teknik Penanggulangan Penyakit Udang Menyala Melalui Pengendalian Populasi Bakteri di Laboratorium.** Buletin Teknik Pertanian Vol. 7, No. 1. 2002. hal 25-27. <http://www.pustaka-deptan.go.id/publikasi/bt071028.pdf>. diakses tanggal 2 Desember 2008.
- Mujiman, A dan Drs. S. Rachmatun Suyanto. 1989. **Budidaya Udang Windu.** Penebar Swadaya. Jakarta. 211 hal.
- Parenrengi, A., Emma S. dan Taufik A. 2002. **Potensi Sponge Penghasil Bakterisida dan Fungisida Alami Belum Banyak Dimanfaatkan.** Balai Penelitian Perikanan Pantai, Maros. Hal 10-15
- Pelczar, Michael 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.
- Peoloengan, M., Chairul, I. Kumala, S. Salmah dan Susan M.N. 2006. **Aktivitas Antimikroba dan Fitokimia Dari Beberapa Tanaman Obat.** Seminar Nasional Teknologi Pertanian Dan Veteriner. hal 974-978. <http://www.peternakan.litbang.deptan.go.id/publikasi/semnas/pro06-146.pdf>. diakses tanggal 10 Juli 2009
- Potawale, S., S. Bhandari, A. Jadhav, H. Dalawat, Y. Vetal, P. Deshpande dan Rani Deshmukh. 2008. **A Review On Photochemical And Pharmacological Properties Of *Momordica charantia* Linn.** Pharmacologyonline 2: 319-335 (2008). hal 319-335. http://www.unisa.it/download/1966_10305_1121496760_31_Potawale.pdf. diakses tanggal 2 Desember 2008

- Prajitno, A. 2001. **Pengendalian Penyakit Bakterial *Aeromonas hydrophyla* dan *Vibrio spp* Menggunakan Jamur Merang (*Volvoriella volvaceae*) dan Kunyit (*Curcuma domestica*)**. Fakultas Perikanan, Universitas Brawijaya. Malang. 30 hal.
- _____. 2005. **Diktat Kuliah Parasit dan Penyakit Ikan**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 104 hal.
- _____. 2007. **Penyakit Ikan-Udang : Bakteri**. Penerbit Universitas Negeri Malang. Malang. 115 hal.
- Prajitno, A dan Marsoedi. 2007. **Uji Sensitivitas Bio-aktif Alami *Halimeda opuntia* Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* Secara In Vitro**. Jurnal Penelitian Perikanan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Vol. 10, No. 1, hal. 22-27
- Prianto, B. , P. Setyono dan Ratna Setyaningsih. 2004. **Penggunaan Larvasida ABG – 65111 (*Bacillus thuringiensis israelensis*) dan *Mesocyclops aspericornis* (Daday) dalam Mengeliminasi Larva Nyamuk *Anopheles aconituz* Donitz**. ENVIRO 4 (1): 17-25. 2004 PPLH Lemlit UNS Surakarta. hal 17-25. <http://www.scribd.com>. Diakses tanggal 21 Agustus 2009.
- Puspawati, N. M. 2008. **Isolation And Identification Momordicin I From Leaves Extract Of *Momordica charantia L.*** Jurnal Kimia 2(1) Januari 2008: 53-56. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana Bukit Jimbaran. hal 53-56. http://ejournal.unud.ac.id/abstract/j_kim_vol2-no1-puspawati.pdf . diakses tanggal 9 Juni 2008.
- Rita, W.S., I.W. Suirta dan Ali Sadikin. 2008. **Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Yang Berpotensi Sebagai Antitumor Pada Daging Buah Pare (*Momordica charantia L.*)**. Jurnal Kimia 2(1) Januari 2008: 1-6. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana Bukit Jimbaran. hal 1-6. http://ejournal.unud.ac.id/abstract/j_kim_vol2%20no1-1.pdf . diakses tanggal 9 Juni 2008.
- Robinson, T. 1995. **Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi**. Edisi Keenam. Penerbit ITB. Bandung. 367 hal.
- Rochani. 2000. **Pemanfaatan Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Sebagai Alternatif Pengendalian Penyakit *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)**. Thesis. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya. Tidak diterbitkan. Malang. 78 hal.
- Roza, D., F. Johnny dan Yunus. 2001. **Pengendalian Vibriosis Pada Larva Kepiting Bakau Melalui Penggunaan Bakterin**. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia Vol. 7, No. 3. Pusat Riset Perikanan Budidaya. Dinas Perikanan dan Kelautan. hal 28-32.

- Rukyani, A, P. Taufik dan Taukhid, 1992. **Penyakit Kunang-kunang (*Luminescent Vibriosis*) di Hatchery Udang Windu dan Cara Penanggulangannya**. Primadona. Bendel Kedua. Edisi April. Jakarta. 61 hal.
- Santoso, W. 1996. **Usaha Tanaman Pare**. Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian DKI Jakarta. hal 1-27 <http://www.pustaka-deptan.go.id/agritek/dkij0118.pdf> . diakses tanggal 9 Juni 2008.
- Soetomo, H. A. Moch. 2002. **Teknik Budidaya Udang Windu**. Sinar Baru Algesindo. Bandung. 180 hal.
- Suryabrata, S. 1988. **Metodologi Penelitian**. CV Rajawali. Jakarta. 126 hal.
- Syarif, A., H. Syawal dan Yusni Ikhwan Siregar. 2007. **Sensitivitas Bakteri *Aeromonas hydrophila* Terhadap Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia L.*)**. http://kesehatanikan.blogspot.com/2007_07_01_archive.html . diakses tanggal 14 Januari 2009. 14 hal.
- Taylor, L. 2002. **Bitter melon**. Dicitak kembali dari Herbal Secrets Of The Rainforest, 2nd Edition. 103 p. <http://www.rain-tree.com/bittermelon-tech.pdf> diakses tanggal 12 September 2008.
- Volk, Wesley A. and Margaret F. Wheeler, 1993. **Mikrobiologi Dasar**. Edisi ke-5. Jilid 1. Erlangga. Jakarta. 396 hal.
- Waluyo, L. 2005. **Mikrobiologi Umum**. UMM Press. Malang. 394 hal.
- Warsito, D. P dan Soedijanto. 1978. **Sayuran Buah**. CV Bhakti wiyata Putera. Jakarta. 96 hal.
- Wawa, J. Eudes. 2006. **Geliat Tambak Tradisional Udang**. <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0603/08/ekonomi/> . diakses tanggal 12 September 2008. 3 hal.
- Wirnawan, F. 2008. **Pare**. F. Wirnawan Weblog. <http://fr3nix.wordpress.com/2008/04/18/pare>. diakses tanggal 2 Agustus 2008. 3 hal.
- Yanto, H. 2006. **Penyakit Viral di Tambak Udang Windu Semi Intensif dan Intensif Serta Panti Benih di Kalimantan Barat**. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia Vol. 9 No. 2. hal 123-132.
- Yitnosumarto, S. 1991. **Percobaan: Perancangan, Analisis dan Interpretasinya**. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 299 hal.

Zafran dan Des Roza B.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.



LAMPIRAN

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

A. Diameter Daerah Hambatan pada Masing-Masing Perlakuan

Perlakuan (%)	Diameter Daerah Hambatan (mm)			Total	Rerata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
30	9,00	9,90	7,80	26,70	8,90
35	10,00	8,72	9,10	27,82	9,27
40	10,70	10,15	8,70	29,55	9,85
45	10,32	9,20	11,00	30,52	10,17
50	10,60	12,00	10,30	32,90	10,97
55	11,00	11,60	12,70	35,30	11,77
				$\Sigma = 182,79$	

B. Perhitungan Jumlah Kuadrat

$$\text{Faktor Koreksi} = (182,79)^2 / 18 = 33.412,18 / 18 \\ = 1856,23$$

$$\text{JK Total} = (9,00)^2 + (9,90)^2 + (7,80)^2 + (10,00)^2 + (8,72)^2 + (9,10)^2 + (10,70)^2 + \\ (10,15)^2 + (8,70)^2 + (10,32)^2 + (9,20)^2 + (11,00)^2 + (10,60)^2 + (12,00)^2 + \\ (10,30)^2 + (11,00)^2 + (11,60)^2 + (12,70)^2 - 1856,23 \\ = 1883,34 - 1856,23 \\ = 27,11$$

$$\text{JK Perlakuan} = \frac{(26,70)^2 + (27,82)^2 + (29,55)^2 + (30,52)^2 + (32,90)^2 + (35,30)^2}{3} - 1856,23 \\ = 5620,02 / 3 - 1856,23 \\ = 1873,34 - 1856,23$$

$$= 17,108$$

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

$$= 27,11 - 17,11$$

$$= 10$$

Lampiran 1. (Lanjutan)

C. Analisa Sidik Ragam

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	5	17,11	3,422	4,108*	3,11	5,06
Acak	12	10,00	0,833			
Total	17	27,11				

Keterangan : * Berbeda nyata

Karena $F \text{ tabel } 5\% < F \text{ hitung} < F \text{ tabel } 1\%$, maka perlakuan pemberian filtrat buah pare (*M. charantia*) dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap zona hambat bakteri *V. harveyi*.

D. Uji BNT untuk 5% dan 1%

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \sqrt{\frac{2KT \text{ Acak}}{\text{ulangan}}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 0,833}{3}} \\
 &= 0,745
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5\% &= t \text{ } 5\% \text{ (db acak)} \times \text{SED} \\
 &= 2,179 \times 0,745 \\
 &= 1,623
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 1\% &= t \text{ } 1\% \text{ (db acak)} \times \text{SED} \\
 &= 3,055 \times 0,745 \\
 &= 2,276
 \end{aligned}$$

E. Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Rataan	A= 8,9	B= 9,27	C= 9,85	D=10,17	E=10,97	F=11,77	Notasi
A= 8,90	-						a
B= 9,27	0,37 ^{ns}	-					a
C= 9,85	0,95 ^{ns}	0,58 ^{ns}	-				ab
D= 10,17	1,27 ^{ns}	0,9 ^{ns}	0,32 ^{ns}	-			abc
E= 10,97	2,07 ^{**}	1,7 [*]	1,12 ^{ns}	0,8 ^{ns}	-		bc
F= 11,77	2,87 ^{**}	2,5 ^{**}	1,92 [*]	1,6 ^{ns}	0,8 ^{ns}	-	c

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
30%	26,70	-5	+5	-5	+1	-1
35%	27,82	-3	-1	+7	-3	+5
40%	29,55	-1	-4	+4	+2	-10
45%	30,52	+1	-4	-4	+2	+10
50%	32,90	+3	-1	-7	-3	-5
55%	35,30	+5	+5	+5	+1	+1
$Q=\sum(Ci*Ti)$		59,21	9	3,56	-0,02	-7,1
$Kr=(\sum Ci^2)r$		210	252	540	84	756
$JK=Q^2/Kr$		16,69	0,32	0,0235	0,000005	0,067

JK Total =17,11

G. Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	17,11	3,422	-		
▪ Linier	1	16,69	16,69	20,04 ^{**}	4,75	9,33
▪ Kuadratik	1	0,32	0,32	0,384 ^{ns}		
▪ Kubik	1	0,0235	0,0235	0,028 ^{ns}		
▪ Kuartik	1	0,000005	0,000005	6×10^{-6} ^{ns}		
▪ Kuintik	1	0,067	0,067	0,0804 ^{ns}		
Acak	12	10	0,833			
Total	17	-				

Keterangan: ** Berbeda sangat nyata
 * Berbeda nyata
 ns Tidak berbeda nyata

Berdasarkan daftar sidik ragam regresi, regresi yang paling sesuai adalah regresi linier, maka nilai koefisien determinasinya :

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &= \frac{JK_{\text{Linier}}}{JK_{\text{Linier}} + JK_{\text{Acak}}} \\
 &= \frac{16,69}{16,69 + 10} \\
 &= 0,625
 \end{aligned}$$

Lampiran 1. (Lanjutan)

Dan nilai koefisien korelasinya adalah :

$$\begin{aligned}
 r &= \sqrt{R^2} \\
 &= \sqrt{0,625} \\
 &= 0,791
 \end{aligned}$$

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	30	8,90	267	900
B	35	9,27	324,45	1225
C	40	9,85	394	1600
D	45	10,17	457,65	2025
E	50	10,97	548,5	2500
F	55	11,77	647,35	3025
	$\sum x = 255$ $\bar{x} = 42,5$	$\sum y = 60,93$ $\bar{y} = 10,16$	$\sum x.y = 2638,95$	$\sum x^2 = 11275$

$$\begin{aligned}
 b_1 &= \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} \\
 &= \frac{2638,95 - \frac{255 * 60,93}{6}}{11275 - \frac{(255)^2}{6}} \\
 &= 0,1129
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 b_0 &= \bar{y} - b_1\bar{x} \\
 &= 10,16 - (0,1129 * 42,5) \\
 &= 10,16 - 4,798 \\
 &= 5,362
 \end{aligned}$$

Sehingga diperoleh persamaan :

$$\begin{aligned}
 Y &= b_0 + b_1x \\
 Y &= 5,362 + 0,1129 x
 \end{aligned}$$

Lampiran 1. (Lanjutan)

Jadi, untuk

$$X = 30 \longrightarrow Y = 0,1129 (30) + 5,362 = 8,749$$

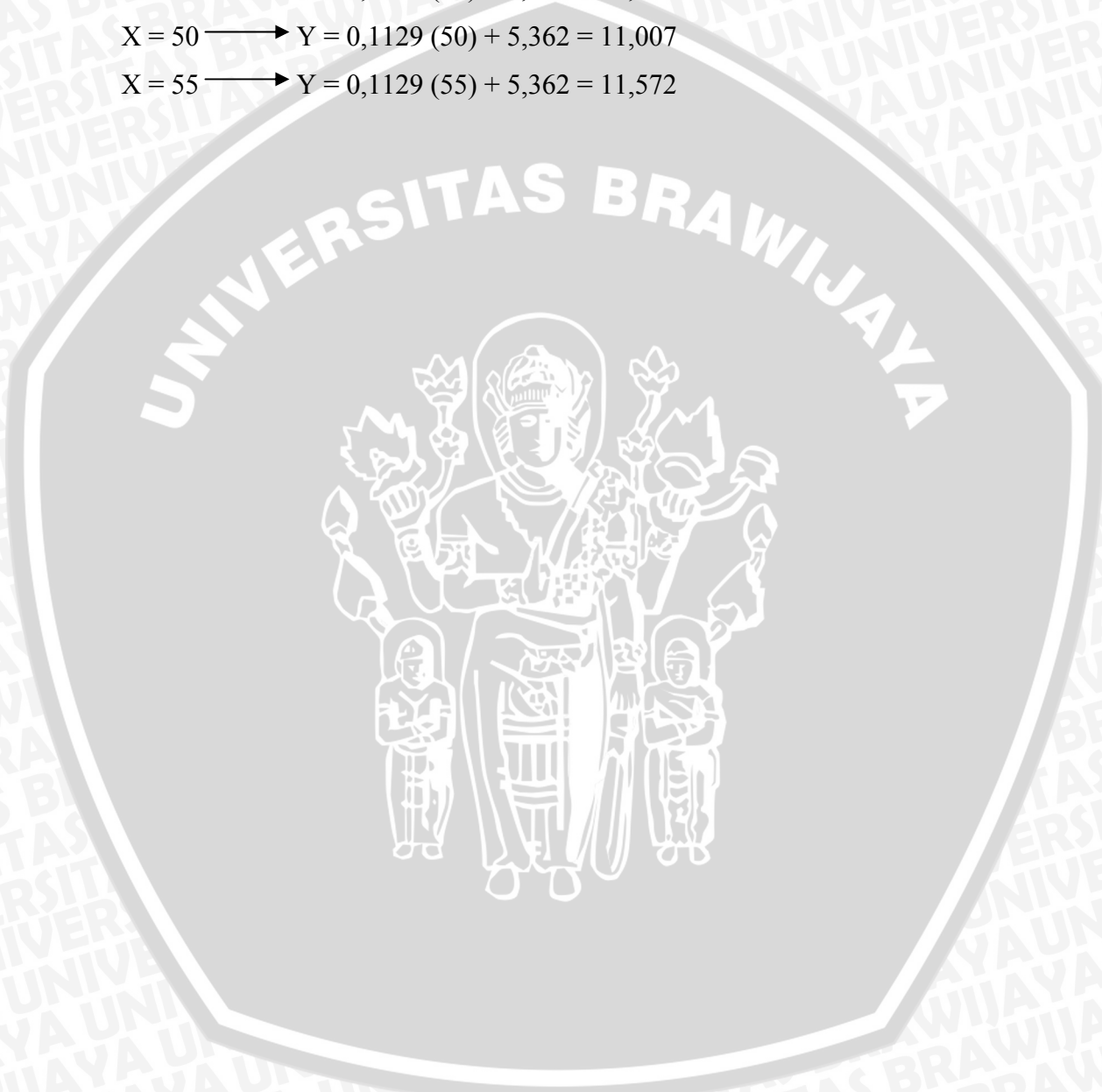
$$X = 35 \longrightarrow Y = 0,1129 (35) + 5,362 = 9,314$$

$$X = 40 \longrightarrow Y = 0,1129 (40) + 5,362 = 9,878$$

$$X = 45 \longrightarrow Y = 0,1129 (45) + 5,362 = 10,443$$

$$X = 50 \longrightarrow Y = 0,1129 (50) + 5,362 = 11,007$$

$$X = 55 \longrightarrow Y = 0,1129 (55) + 5,362 = 11,572$$



Lampiran 2. Cara Perhitungan Konsentrasi Filtrat Buah Pare

Untuk menghitung konsentrasi setiap perlakuan dilakukan pengenceran dengan menggunakan rumus : $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$. Dimana : N_1 = Konsentrasi stok yang ada (100%), V_1 = Volume filtrat buah pare yang diperlukan, N_2 = Konsentrasi filtrat buah pare yang digunakan, V_2 = Volume akuades yang digunakan (5 ml).

1. Konsentrasi 30 %

$$\begin{aligned} 100 \% \times V_1 &= 30 \% \times 5 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{30\% \times 5\text{ml}}{100\%} = 1,50 \text{ ml} \end{aligned}$$

2. Konsentrasi 35 %

$$\begin{aligned} 100 \% \times V_1 &= 35 \% \times 5 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{35\% \times 5\text{ml}}{100\%} = 1,75\text{ml} \end{aligned}$$

3. Konsentrasi 40 %

$$\begin{aligned} 100 \% \times V_1 &= 40 \% \times 5 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{40\% \times 5\text{ml}}{100\%} = 2,00 \text{ ml} \end{aligned}$$

4. Konsentrasi 45 %

$$\begin{aligned} 100 \% \times V_1 &= 45 \% \times 5 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{45\% \times 5\text{ml}}{100\%} = 2,25 \text{ ml} \end{aligned}$$

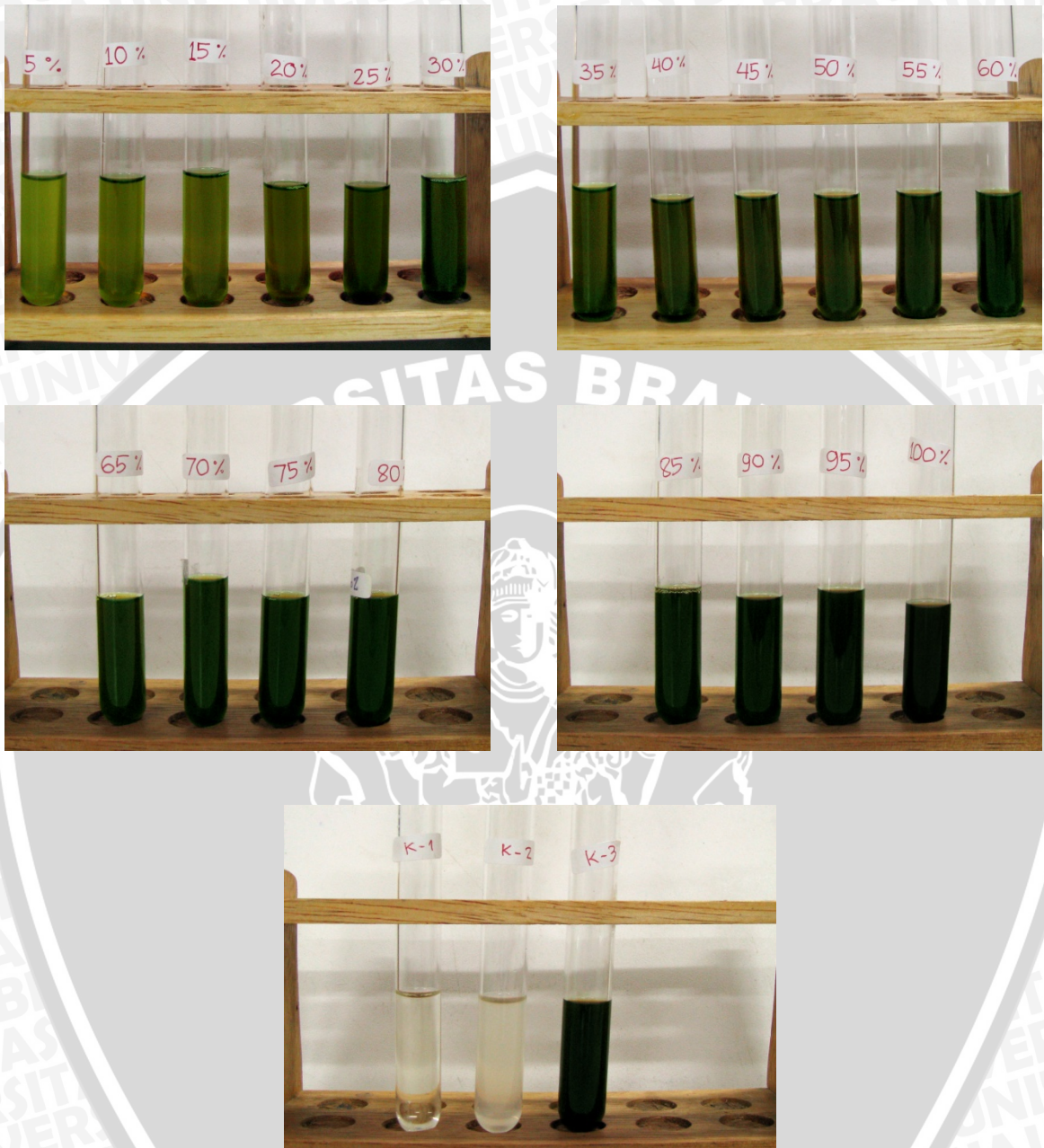
5. Konsentrasi 50 %

$$\begin{aligned} 100 \% \times V_1 &= 50 \% \times 5 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{50\% \times 5\text{ml}}{100\%} = 2,50 \text{ ml} \end{aligned}$$

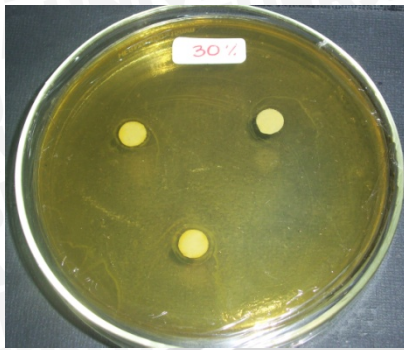
6. Konsentrasi 55 %

$$\begin{aligned} 100 \% \times V_1 &= 55 \% \times 5 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{55\% \times 5\text{ml}}{100\%} = 2,75 \text{ ml} \end{aligned}$$

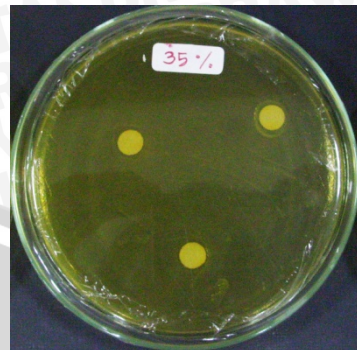
Lampiran 3. Hasil Uji MIC



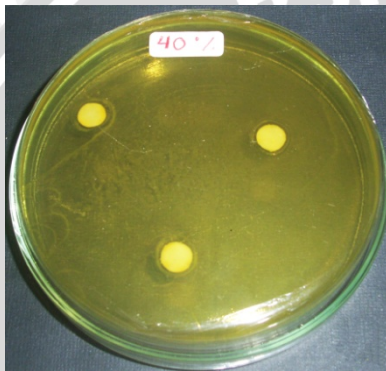
Lampiran 4. Hasil Uji Cakram



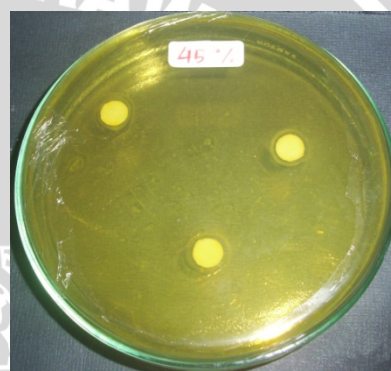
Konsentrasi 30%



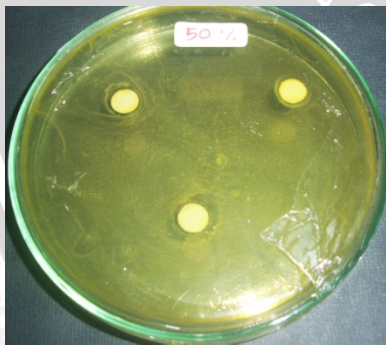
Konsentrasi 35%



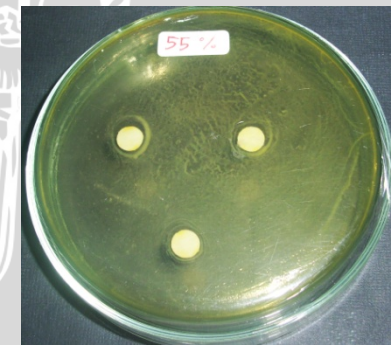
Konsentrasi 40%



Konsentrasi 45%

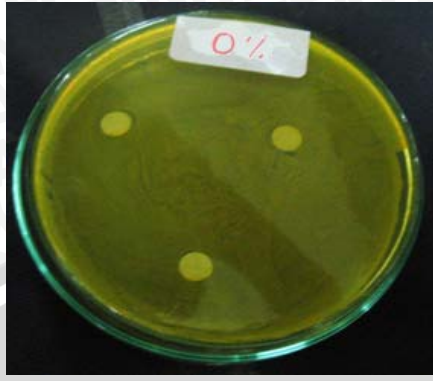


Konsentrasi 50%



Konsentrasi 55%

Lampiran 4. (Lanjutan)



Konsentrasi 0% (Kontrol)

