

4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembiakan Kultur Bakteri Murni *Vibrio harveyi*

Bakteri *Vibrio harveyi* yang digunakan dalam penelitian ini adalah biakan murni yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Biakan ini kemudian diremajakan dan diperbanyak dengan metode strik (gores) pada media padat TCBSA dan media tuang pada media cair NB. Adapun komposisi media TCBSA dan NB disajikan pada Lampiran 2.

Tujuan dari metode gores pada media TCBSA adalah 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 TCBSA (padat) dan pada media NB (cair). Menurut Tim Mikrobiologi FK UB (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 .

Berdasarkan hasil pengamatan selama penelitian, bakteri *Vibrio harveyi* yang tumbuh pada media padat TCBSA secara visual membentuk koloni berwarna kuning dan bentuk koloni membulat dengan permukaan cembung. Dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Koloni Bakteri *Vibrio harveyi* hasil biakan Laboratorium Mikrobiologi Kedokteran

Sesuai pendapat Bonang dan Koeswardono (1982) menyebutkan bahwa kuman ini akan membentuk koloni yang berwarna kuning muda pada pembenihan TCBSA. Hal ini berkaitan dengan kemampuan *Vibrio harveyi* untuk memanfaatkan sukrosa.

Bakteri *Vibrio harveyi* yang tumbuh pada media TCBSA membentuk koloni dengan warna kuning. Hal ini disebabkan kemampuan bakteri *Vibrio harveyi* dalam menguraikan sukrosa. *Vibrio harveyi* yang tidak mampu mensintesa sukrosa, koloninya tetap akan berwarna hijau (Sumargono,2004)

4.2 Kadar Hambat Minimum (MIC)

Hasil kadar hambat minimal ekstrak daun binahong terhadap bakteri *Vibrio harveyi* disajikan pada Tabel 2, sedangkan gambar hasil uji MIC dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 2. Kadar Hambat Minimal MIC Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*

Konsentrasi (%)	Pertumbuhan Bakteri
1	+
2	+
3	-
4	-
5	-
10	-
15	-
20	-
25	-
30	-
35	-
K1	-
K2	+

Keterangan : + : Ada pertumbuhan bakteri
 - : Tidak ada pertumbuhan bakteri
 K 1 : Kontrol media
 K 2 : Kontrol media dan bakteri

Dari hasil uji kadar hambat minimal (MIC) diperoleh bahwa kadar hambat minimal ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap bakteri *Vibrio harveyi* adalah 3%. Dimana pada konsentrasi 3% jumlah bakteri berkurang (hasil biakan mulai tampak jernih) setelah masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 35⁰ C, hal ini ditandai dengan penurunan derajat kekeruhan apabila dibandingkan dengan kontrol (media dan bakteri).

Pelczar dan Chan^a (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.

Dari hasil uji MIC ini maka didapatkan konsentrasi ekstrak daun binahong pada uji cakram, seperti terlihat pada Tabel 3

Tabel 3. Konsentrasi Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) untuk Uji Cakram

Perlakuan	Konsentrasi (%)	Larutan Ekstrak Daun Binahong (ml)	Aquadest (ml)
A	3%	0,15	4,85
B	5%	0,25	4,75
C	7%	0,35	4,65
D	9%	0,45	4,55
E	11%	0,55	4,45
F	13%	0,65	4,35
K (Kontrol)	0%	0	5.0

4.3 Daya Anti Bakterial Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*)

Pemeriksaan daya antibakteri ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dengan metode cakram menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong mampu sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, hal ini dapat dijelaskan dengan adanya daerah berwarna bening di sekitar kertas cakram yang merupakan daerah hambatan.

Kepekaan bakteri terhadap zat antibakteri dapat diketahui dari diameter daerah hambatan yang terbentuk pada uji cakram. Luas wilayah jernih merupakan petunjuk kepekaan mikroorganisme terhadap antibakteri. Berdasarkan hasil yang diperoleh, diameter daerah hambat (daerah yang tidak ditumbuhi bakteri) yang terbentuk bervariasi pada masing-masing perlakuan. Daerah hambat hasil uji cakram yang terbentuk

pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4, dan data perhitungan zona hambat dapat dilihat pada Lampiran 4.

Tabel 4. Diameter Daerah Hambatan Pada Bakteri *Vibrio harveyi*

Perlakuan (%)	Diameter Daerah Hambatan (mm)			Total	Rata-rata	STD
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3			
3	6,4	7,7	7,5	21,60	7.20	0,7
5	8,4	9.3	7.7	25.40	8.47	0,802
7	9.3	9.7	10.1	29.10	9.70	0,4
9	10.5	10.9	8,2	29.60	9.87	1,457
11	9.9	10.3	9.5	29.70	9.90	0,4
13	10.5	10.9	9.4	30.80	10.27	0,77
				$\Sigma =$ 166.20		

Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak daun binahong maka diameter 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 tinggi juga. Menurut Dwidjoseputro (1998), besar kecilnya daerah kosong sekitar kepingan kertas sesuai dengan konsentrasi antibiotik yang terkandung di dalamnya. Gambar hasil uji cakram dapat dilihat pada Lampiran 5.

Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh pemberian konsentrasi ekstrak daun binahong yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* maka dilakukan analisis keragaman dengan hasil seperti yang ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Analisa Keragaman/Sidik Ragam Bakteri *Vibrio harveyi*

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	5	20.56	4,11	5,902**	3,11	5,06
Acak	12	8.36	0,70			
Total	17					

Keterangan :

F Hitung > F 1%

= berbeda sangat nyata (**)

Berdasarkan hasil analisa keragaman menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun binahong dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, 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 selang kepercayaan 95% maupun selang kepercayaan 99%. Hasil uji BNT untuk bakteri *Vibrio harveyi* dapat dilihat pada Tabel 6.

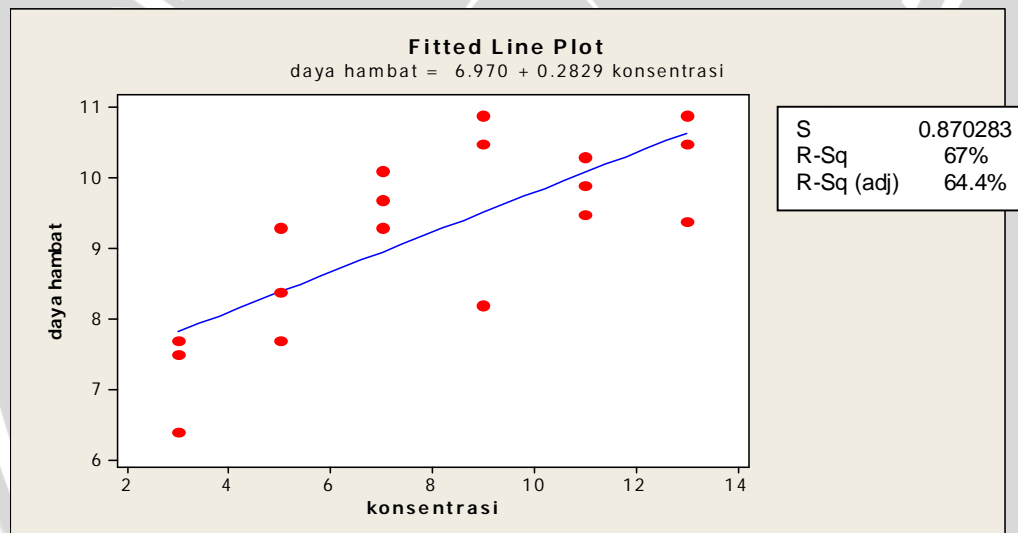
Tabel 6. Uji Beda Nyata Terkecil *Vibrio harveyi*

Perlakuan	Rataan	Notasi
A = 3%	7,20	a
B = 5%	8,47	ab
C = 7%	9,70	bc
D = 9%	9,87	bc
E = 11%	9,90	bc
F = 13%	10,27	c

Uji BNT secara statistik dapat diketahui bahwa perlakuan yang memiliki nilai daya hambat tertinggi adalah F (13%), lalu diikuti oleh

perlakuan E (11%), D (9%) dan perlakuan C (7%), selanjutnya adalah perlakuan B (5%) dan terakhir perlakuan A (3%).

Selanjutnya untuk mengetahui hubungan konsentrasi ekstrak binahong dengan diameter daerah hambatan yang terbentuk digunakan analisa regresi. Dari hasil analisa regresi tersebut, diperoleh bentuk regresi linier dengan persamaan $Y = 0,28 x + 6,97$ dan nilai koefisien korelasi r sebesar 0,82. Berikut grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak daun binahong dengan zonaambat bakteri *Vibrio harveyi* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) (x) Dengan Diameter Daerah Hambatan Bakteri *Vibrio harveyi* (y)

Persamaan regresi Gambar 5, diketahui bahwa regresi yang diperoleh merupakan regresi linier yang positif berarti semakin besar konsentrasi ekstrak daun binahong yang diberikan, maka diameter daerah hambatan yang terbentuk semakin luas. Hal ini didasarkan oleh kandungan ekstrak daun binahong yang mengandung senyawa anti

bakteri. Menurut Anonymous^d (2009), pada daun binahong terkandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, terpenoid dan saponin. Senyawa-senyawa ini dapat berperan sesuai fungsinya masing-masing. Kemampuan binahong untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit ini berkaitan erat dengan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya seperti flavonoid. Flavonoid dapat berperan langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganismenya seperti bakteri dan virus.

Menurut Sumono (2009), Flavonoid mempunyai aktivitas antibakteri karena flavonoid mempunyai kemampuan berinteraksi dengan DNA bakteri. Hasil interaksi tersebut menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom.

Menurut Prajitno^b (2007), bahwa ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya (flavanoid) 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.

Hasil seluruh rangkaian penelitian dapat dijelaskan bahwa meningkatnya konsentrasi perlakuan akan meningkat pula konsentrasi bahan aktif dan sifat-sifat antibakteri ekstrak daun binahong, sehingga menimbulkan pengaruh semakin lebar diameter daerah hambatan yang terbentuk. Jadi semakin besar konsentrasi ekstrak daun binahong maka

semakin besar pula kandungan bahan aktifnya, sehingga meningkatkan gangguan metabolisme dalam sel dan menyebabkan kematian bakteri. Dari hasil regresi diperoleh perlakuan F (konsentrasi 13% merupakan hasil yang terbaik).

Hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong bersifat bakteristatik. Hal ini dikarenakan daerah hambatan sudah ditumbuhi bakteri setelah dilakukan inkubasi lanjutan selama 48 jam. Menurut Lay (1994), bahan kimia yang mematikan disebut bakteriosidal. Bahan kimia yang menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteristatik. Bahan antimikrobia dapat bersifat bakteristatik pada konsentrasi rendah, namun bersifat bakteriosidal pada konsentrasi tinggi.

4. 4 Lingkungan Hidup Bakteri *Vibrio Harveyi*

4. 4. 1 pH

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

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 35⁰ C. Menurut Prajitno (2005), suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio sp* berkisar antara 30-35⁰ C. Sedangkan pada suhu 4⁰ C dan 45⁰ C bakteri tersebut tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55⁰C akan mati. Jadi, suhu inkubasi selama penelitian berada pada kisaran optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

