

**DAYA ANTIBAKTERIAL EKSTRAK TANAMAN  
KUCING-KUCINGAN (*Acalypha indica* L.) TERHADAP  
BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

**PROGRAM STUDI S-1 BUDIDAYA PERAIRAN**



**Oleh :**

**ZAKI MUHAMMAD WIJAYA**  
**JOMBANG – JAWA TIMUR**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2005**

**DAYA ANTIBAKTERIAL EKSTRAK TANAMAN  
KUCING -KUCINGAN (*Acalypha indica* L.) TERHADAP  
BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA *IN VITRO***

**Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Perikanan pada Program Studi S-1 Budidaya Perairan  
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga**

**Oleh :**

**ZAKI MUHAMMAD WIJAYA**

**NIM. 060110028 P**

**Menyetujui,  
Komisi Pembimbing,**

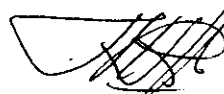


**Ir. Rahayu Kusdarwati M.Kes.**  
NIP. 131 576 464



**Didik Handijatno MS., Drh.**  
NIP. 130 933 208

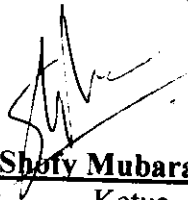
**Mengetahui,  
Ketua Program Studi S-1  
Budidaya Perairan**



**Prof. Dr. Sri Subekti B.S., DEA. Drh.**  
NIP. 130 687 296

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa laporan skripsi ini, baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar **Sarjana Perikanan**.

Menyetujui,  
Panitia Penguji



Ahmad Shofy Mubarak M.Si., S.Pi.  
Ketua



Ir. Kismiyati M.Si.  
Sekretaris



Dr. Hari Suprpto M.Agr., Ir.  
Anggota



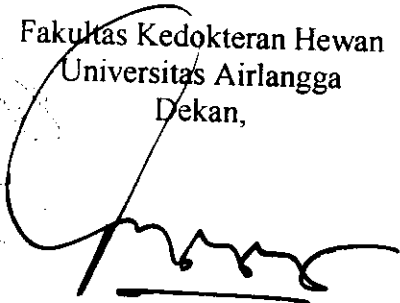
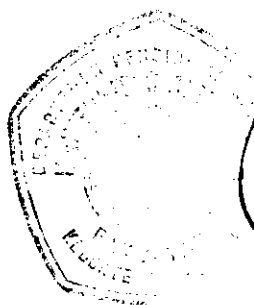
Ir. Rahayu Kusdarwati M.Kes.  
Anggota



Didik Handijatno MS., Drh.  
Anggota

Surabaya, 18 Agustus 2005

Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga  
Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh.  
NIP. 130 687 297

## RINGKASAN

**ZAKI MUHAMMAD WIJAYA. Daya Antibakterial Ekstrak Tanaman Kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*. Dosen pembimbing Ir. RAHAYU KUSDARWATI M.Kes. dan DIDIK HANDIJATNO, M.S. Drh.**

Pengendalian penyakit pada budidaya ikan menggunakan antibiotik sering menimbulkan dampak yang kurang baik yaitu mencemari lingkungan, menimbulkan resistensi pada patogen dan dapat menimbulkan akumulasi residu pada tubuh inang. Penyakit yang menyerang ikan air tawar salah satunya adalah MAS atau Motil *Aeromonas* Septicaemia. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* yang banyak menyebabkan kematian pada ikan dan mengakibatkan kerugian yang tidak sedikit.

Penelitian ini mencoba untuk mencari obat alternatif dalam mengobati penyakit MAS. Bahan yang dipakai adalah tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) yang banyak terdapat di kebun atau lapangan. Tanaman ini diekstrak untuk mendapatkan senyawa aktifnya dan kemudian ditantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dari ekstrak tanaman kucing-kucingan terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 28 April – 24 Juni 2005 bertempat di Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya dan Laboratorium Bahan Organik Fakultas MIPA.

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan sepuluh perlakuan dan lima kali ulangan. Parameter yang diamati adalah *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC). Hasil pengamatan kemudian dianalisis menggunakan analisis probit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tanaman kucing-kucingan mempunyai daya antibakterial terhadap *Aeromonas hydrophila*. Berdasarkan hasil analisis probit yaitu hambatan pertumbuhan bakteri (MIC) terdapat pada

konsentrasi 7,5 %, sedangkan pada konsentrasi 38,6 % sudah dapat membunuh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Daya antibakterial zat kimia dipengaruhi oleh konsentrasi, suhu, jumlah mikroorganisme dan spesies mikroorganisme. Saran dari penelitian ini adalah untuk mengetahui lebih lanjut tentang efektivitas dari ekstrak tanaman kucing-kucingan secara *in vivo*.

## SUMMARY

**ZAKI MUHAMMAD WIJAYA.** Antibacterial activity of Indian *Acalypha* (*Acalypha indica* L.) to *Aeromonas hydrophila* with *in vitro* Method. Counselor lecturer Ir. **RAHAYU KUSDARWATI M.Kes.** and **DIDIK HANDIJATNO, M.S. Drh.**

Disease control in aquaculture with antibiotic often cause negative impact to environment, such as pollution, resistance to pathogen and cause an accumulation residue in the body. One of the disease that attack freshwater fish is Motile *Aeromonas* Septicemia (MAS). Pathogen of this disease is *Aeromonas hydrophila* that have made a lot of death to fish and causes much loses.

This research is trying to find alternative medicine to threat this disease. Material used in this research is Indian *Acalypha* (*Acalypha indica* L.) that growth lot in the garden and field. This plant extracted to get active compound and then challenged to *Aeromonas hydrophila* with *in vitro*.

Purpose of this research was to know Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) from kucing-kucingan extract plant to *Aeromonas hydrophila*. Research was done on 28 April to 24 June 2005 in Part of Microbiology, Faculty of Medical Veterinary, Airlangga University Surabaya and Organic Material Laboratory Faculty of MIPA.

The research use experimental method completely randomized design with ten treatments and five times repetitions. Parameters observed are Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). The result of observation analyzed with probit analysis.

Result of research shows that Indian *acalypha* extract have antibacterial activity against *Aeromonas hydrophila*. According to probit analysis, MIC show at concentrate of extract 7,5 %, and MBC at 38,6 % that can kills *Aeromonas hydrophila*. Antibacterial activity of chemical substance are influenced by concentration, temperature, account of microorganism and species of microorganism. Suggestion of this research is to find more about effectively of extract of Indian Nettle plants with *in vivo* method.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji atas kehadiran Allah SWT. yang telah memberikan kesehatan selama masa penelitian dan kelancaran dalam menyelesaikan skripsi yang berjudul “Daya Antibakterial Ekstrak Tanaman Kucing-Kucingan (*Acalypha indica* L.) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*”. Penulisan laporan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi syarat dalam memperoleh gelar sarjana di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan penghargaan serta ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Ir. Rahayu Kusdarwati M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Pertama yang telah memberikan arahan dan masukan dalam proses penelitian dan penulisan skripsi.
2. Didik Handijatno M.S., Drh. selaku Dosen Pembimbing Kedua, yang telah membimbing penulis baik pada proses penelitian maupun penulisan skripsi.
3. Prof. Dr. Drh. Sri Subekti, DEA., selaku Ketua Program Studi S1 Budidaya Perairan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga sekaligus Dosen Wali Penulis yang telah memberikan motivasi selama proses perkuliahan.
4. Prof. Dr. Ismudiono, Drh., M.S., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
5. Bapak, Ibu dan adik yang telah memberikan dukungan material dan spiritual hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

6. Kepala serta staf dosen pengajar Bagian Mikrobiologi FKH yang telah membantu dalam menyediakan peralatan dan bahan selama penulis melakukan penelitian.
7. Teman-teman Fakultas Matematika dan IPA yang telah membantu dalam proses penelitian.
8. Teman-teman satu angkatan, teman-teman kost Sutorejo dan Multeng atas dukungan terhadap penulis selama ini.

Akhirnya penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan laporan, semoga makalah skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya.

Surabaya, Agustus 2005

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN .....	iv
SUMMARY .....	vi
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
<b>BAB I : PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan .....	4
1.4 Manfaat .....	5
<b>BAB II : TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>6</b>
2.1 Tinjauan Tanaman <i>Acalypha indica</i> L. ....	6
2.1.1 Klasifikasi <i>Acalypha indica</i> L. ....	6
2.1.2 Nama Daerah .....	6
2.1.3 Morfologi .....	7
2.1.4 Habitat dan Penyebaran .....	8
2.1.5 Kandungan Kimia .....	8
2.1.6 Khasiat dan Kegunaan .....	8
2.2 Tinjauan <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	9
2.2.1 Klasifikasi .....	9
2.2.2 Morfologi dan Sifat Pewarnaan .....	9
2.2.3 Sifat Biakan .....	10
2.2.4 Resistensi .....	10
2.2.5 Patogenesis .....	10
2.3 Tinjauan Uji Sensitivitas .....	11

<b>BAB III : KONSEPTUAL PENELITIAN DAN HIPOTESIS</b> .....	14
3.1 Konseptual Penelitian .....	14
3.2 Hipotesis .....	15
<b>BAB IV : METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	16
3.1 Tempat dan Waktu .....	16
3.2 Materi Penelitian .....	16
3.3 Metode Penelitian.....	16
3.3.1 Rancangan Penelitian.....	16
3.3.2 Prosedur Kerja.....	17
3.3.3 Parameter.....	21
3.3.4 Analisis Data .....	21
<b>BAB V : HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	22
<b>BAB VI : KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	29
5.1 Kesimpulan .....	29
5.2 Saran .....	29
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	30
<b>LAMPIRAN</b> .....	33

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Hasil Identifikasi Bakteri.....	23
2. Hasil Pengamatan MIC Ekstrak Tanaman Kucing-kucingan terhadap <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	23
3. Hasil Pengamatan MBC Ekstrak Tanaman Kucing-kucingan terhadap <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	24

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Tanaman kucing-kucingan.....	7
2. Foto Hasil Pengamatan MIC .....	43
3. Foto Hasil Pengamatan MBC.....	43

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Kerangka Konseptual Penelitian .....	33
2. Prosedur kerja secara skematis.....	34
3. Komposisi Media .....	35
4. Hasil Analisis Probit MIC .....	37
5. Hasil Analisis Probit MBC .....	40

**BAB I**  
**PENDAHULUAN**

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Kebutuhan masyarakat dunia terhadap pemenuhan gizi khususnya protein hewani yang dibutuhkan untuk kesehatan dan kecerdasan semakin tinggi, termasuk kedalamnya adalah permintaan terhadap ikan. Ikan merupakan salah satu komoditas perairan yang mempunyai kandungan protein hewani yang tinggi dan dibutuhkan untuk pemenuhan kebutuhan gizi. Berdasarkan PROTEKAN (Program Peningkatan Ekspor Perikanan) 2003, tingkat konsumsi ikan per kapita penduduk Indonesia pada tahun 1998 baru mencapai 19,25 kg/kapita/tahun atau 72,5 % dari standar kecukupan pangan akan ikan yaitu 26,55 kg/kapita/tahun (Kusumastanto, 2001 *dalam* Djazuli, 2002).

Sumberdaya hayati perairan merupakan salah satu modal dasar pembangunan nasional yang sangat penting. Kontribusi perikanan telah nyata terhadap penerimaan devisa negara dan di masa mendatang perlu lebih ditingkatkan. Sejalan dengan itu, Direktorat Jendral Perikanan telah mencanangkan PROTEKAN 2003, dengan nilai US \$ 7,6 milyar (Alifudin, 2001).

Proses budidaya perikanan tidak terlepas dari beberapa kendala, salah satu kendala yang menghambat usaha ini adalah munculnya penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme. Penyakit ini banyak berpengaruh terhadap proses budidaya, antara lain wabah penyakit yang terjadi pada tahun 1951 yang disebabkan oleh parasit sporozoa *Myxobolus pyriformis* di Jawa, tahun 1953 *Lerneae cypriniceae* yang menyerang ikan mas dan gurami, serta pada tahun 1980 penyakit bercak merah (*haemorrhagic septicemia*) pada ikan mas, gurami dan ikan lele yang

disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*, sehingga berakibat 125 ton ikan mati serta 528 ton lainnya terserang penyakit ini (Pasaribu, 1990). Pada tahun 2002, bakteri ini menyerang ikan mas (karper) di beberapa daerah di Jawa Tengah dan mengakibatkan kematian ikan sebanyak 165 ton (Arwan, 2002). *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri Gram negatif yang sering menyerang ikan air tawar dan banyak mengakibatkan kematian pada ikan.

Timbulnya penyakit pada ikan merupakan hasil interaksi antara ikan, lingkungan dan patogen. Ikan yang stres akan lebih mudah terserang penyakit karena daya tahan tubuhnya menurun, kondisi ini juga dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yang buruk. Keberadaan patogen pada kondisi seperti ini, akan lebih mudah menyerang ikan dan akhirnya dapat menyebabkan kematian (Zonneveld, 1991).

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri sering didukung oleh tingginya kadar bahan organik yang ada di perairan. Kondisi lingkungan yang tidak stabil juga menjadi penyebab timbulnya penyakit misalnya konsentrasi amonia, fluktuasi suhu, pH dan parameter kualitas air lainnya. Keadaan ini biasanya terjadi pada saat pergantian musim dari musim kemarau ke musim penghujan (Zonneveld, 1991). Kondisi lain yang menyebabkan timbulnya penyakit yaitu tingkat kepadatan yang tinggi, penanganan ikan yang buruk, transportasi, kadar oksigen (DO) dan kadar nutrisi yang rendah, serta infeksi jamur atau parasit (Adisukresno, 1994; Aoki, 1998).

Pengendalian penyakit yang ditimbulkan oleh *Aeromonas hydrophila* tidak mudah karena penyebaran bakteri di lingkungan perairan sangat tinggi, secara



normal bakteri ini dapat diisolasi dari lingkungan, baik dari air, lumpur, tanaman air, tubuh maupun saluran pencernaan ikan (Austin and Austin, 1993).

Metode penanggulangan yang banyak digunakan adalah dengan antibiotik. Jenis antibiotik yang sering digunakan antara lain oksitetrasiklin, ampicilin, kloramfenikol, nitrofurantoin, novobiocin dan streptomisin. Penggunaan bahan-bahan tersebut selain relatif mahal, juga dapat mengakibatkan dampak yang tidak baik bagi lingkungan, penggunaan secara terus menerus dan tidak sesuai dengan dosis yang dianjurkan dapat menyebabkan resistensi bakteri terhadap antibiotik serta dapat menimbulkan akumulasi residu pada tubuh inang.

Bahan alternatif pengganti antibiotik sebagai obat penyakit yang disebabkan bakteri secara ilmiah perlu dilakukan penelitian, misalnya dengan menggunakan bahan kimia yang diperoleh secara alami, salah satunya diperoleh dari tanaman yang diekstraksi. Tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) diketahui mempunyai khasiat sebagai antibakterial karena mempunyai kandungan berupa flavonoid dan tanin (Dalimartha, 1999).

Pemilihan metode ekstrak didasarkan pada senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.), untuk menarik senyawa-senyawa tersebut digunakan etanol sebagai pelarutnya. Tanaman ini diharapkan dapat mempunyai daya hambat (bakteriostatik) maupun daya bunuh (bakterisidal) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penelitian yang dapat membuktikan kandungan antibakterial berupa flavonoid dan tanin pada tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* perlu dilakukan.

## 1.2 Perumusan Masalah

Penelitian ini diharapkan dapat menjawab pertanyaan sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*.
2. Berapa konsentrasi minimum ekstrak tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) yang dapat menghambat pertumbuhan (MIC) bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro* ?
3. Berapa konsentrasi minimum ekstrak tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) yang dapat membunuh (MBC) bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro* ?

## 1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui :

1. *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dari ekstrak tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*.
2. *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dari ekstrak tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*.

MIC adalah konsentrasi minimum yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri sedangkan MBC adalah konsentrasi terendah dalam mg/ml obat yang dapat membunuh 99,9 % bakteri yang diuji (Cowan and Steel's, 1974; Gillespie, 1994; Astuti, 2004).

### 1.5 Manfaat

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah diketahuinya konsentrasi minimum yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan konsentrasi minimum yang dapat membunuh bakteri atau *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dari ekstrak tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Memberikan informasi tentang khasiat ekstrak tanaman kucing-kucingan dalam menghambat dan membunuh bakteri *Aeromonas hydrophila*.

**BAB II**  
**TINJAUAN PUSTAKA**

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan Tanaman Kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.)

##### 2.1.1 Klasifikasi *Acalypha indica* L.

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivision	: <i>Spermatophyta</i>
Division	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclass	: <i>Rosidae</i>
Order	: <i>Euphorbiales</i>
Family	: <i>Euphorbiaceae</i>
Genus	: <i>Acalypha</i> L.
Species	: <i>Acalypha indica</i> L. (Indian copperleaf P.)

Sumber <http://plants.usda.gov>

##### 2.1.2 Nama Daerah

Tanaman ini dalam bahasa Indonesia dinamakan kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.). Nama lain dari tanaman ini yaitu Chika mas (Bahasa Melayu), Indian Nettle, Kuppi Dan Dadaro (Dalimartha 1999). Bengali: *Muktajhuri*; Gujarati : *Vanchhi-kanto, Dadano*; Hindi: *Kuppi, Khokli*; Kannada: *Kuppigidda, Chalmari, Tuppakire*; Konkan: *Kunkmiphai, Kolea xhempddi*; Malayalam: *Kuppamani*; Marathi: *Khokla, Khajoti*; Oriya.: *Indramaris*; Tamil: *Kuppameni, Poonamayakki*; Telugu: *Kuppichettu, Moor-kondachettu*,

*Pappantichettu, Mulakan-dachettu; Sanskrit: Harita-manjari, Muktavarchas, Rudra, Aritamanjari ; English : Indian Acalypha (Raj and Singh, 2000).*

### 2.1.3 Morfologi



Gambar 1. Tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.)

Morfologi tanaman kucing-kucingan dapat dilihat pada Gambar 1 di atas. Tanaman ini merupakan herba semusim, tegak, tinggi 30-50 cm, bercabang dengan garis memanjang kasar, berambut halus. Daun tunggal, bertangkai panjang, letak tersebar. Helaian daun berbentuk bulat telur sampai lanset, tipis, ujung dan pangkal runcing, tepi bergerigi, panjang 2,5-8 cm, lebar 1,5-3,5 cm, berwarna hijau. Bunga majemuk, berkelamin satu, keluar dari ketiak daun, kecil-kecil, dalam rangkaian berbentuk bulir. Buahnya buah kotak, bulat, hitam. Biji bulat panjang, berwarna cokelat. Akarnya akar tunggang, berwarna putih kotor (Dalimartha, 1999).

Menurut Raj and Singh (2000) tanaman ini mempunyai tinggi 30-100 cm dengan panjang daun 2,5 – 7,5 cm dan lebar 2-2,5 cm. Bunga betina berserak berjumlah 3-7 mengelilingi batang pendek, besar dan rindang. Daun pada bunga kecil dengan banyak cabang kecil bergaris tengah 6-8 mm yang didalamnya terdapat bungasari.

#### **2.1.4 Habitat dan Penyebaran**

Tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) merupakan gulma yang sangat umum ditemukan tumbuh liar di pinggir jalan, lapangan rumput, maupun di lereng bukit. Terdapat juga di kawasan sampah atau tanah hitam. Tanaman ini tersebar luas di Indonesia (Dalimartha, 1999, Raj and Singh, 2000).

#### **2.1.5 Kandungan Kimia**

Daun, batang dan akar tanaman ini mengandung saponin dan tanin. Batangnya juga mengandung flavonoid dan daunnya mengandung minyak atsiri. (Dalimartha, 1999). Tanaman ini juga mengandung bahan aktif seperti Acalyphin (sejenis sianogenik glikosid) dan hydrosianik acid. Unsur utama *Acalypha* adalah resin, tannin, volatile oil, dan alkaloid acalyphine ([www.ibiblio.org](http://www.ibiblio.org)).

Raj and Singh (2000) menyebutkan kandungan kimia dari tanaman kucing-kucingan adalah Acalyphamide (sebagai asetat), aurantia-mide dan asetatnya, succinimide calypho lacetate, 2-methyl anthraquinon, asam tri-O-methylellagic, b-sitosterol dan b-D-glucoside (daun), sianogenik glikosid, acalyphine, dua alkaloids dan triacetoneamine, minyak esensial n-octacosanol, kaempferol, quebrachitol, b-sitosterol acetate, tanin (seluruh tanaman) dan stigmasterol (akar).

### 2.1.6 Khasiat Tanaman

Tanaman ini mempunyai ciri rasa pahit dan sifatnya sejuk. Herba ini berkhasiat antiradang, antibakterial, peluruh kencing, pencahar dan penghenti perdarahan. Seluruh bagian tumbuhan ini dapat digunakan sebagai obat, dalam bentuk segar atau yang telah dikeringkan.

Dalam pengobatan herba ini digunakan untuk mengobati disentri basiler, disentri amuba, diare, gangguan pencernaan makanan, perdarahan, seperti mimisan, muntah darah, berak darah, kencing darah, malaria dan susah buang air besar (Dalimartha, 1999). Tanaman dan buahnya di negara India digunakan sebagai obat asma, batuk, bronkitis, sakit telinga, pereda batuk, pencahar, radang paru-paru, dan rematik. Bagian daun dari tanaman ini juga dapat digunakan untuk mengobati penyakit kulit seperti kurap, kudis dan skabies (Raj and Singh, 2000, Carter, 2001).

## 2.2 Tinjauan *Aeromonas hydrophila*

### 2.2.1 Klasifikasi

Kingdom : *Bacteria*

Filum : *Proteobacteria*

Kelas : *Zimobacteria*

Ordo : *Aeromonadales*

Famili : *Vibrionaceae*

Genus : *Aeromonas*

Spesies : *Aeromonas hydrophila* (Holt *et al.*, 1994)



### 2.2.2 Morfologi dan Sifat Pewarnaan

*Aeromonas hydrophila* termasuk bakteri Gram negatif yang mempunyai bentuk batang pendek/ tongkat berukuran  $0,7-0,8 \mu\text{m} \times 1,0 - 1,5 \mu\text{m}$  (Nugroho *dkk.*, 1988), sedangkan menurut Holt *et al.* (1994) bakteri ini berukuran  $0,3-1,0 \mu\text{m} \times 1,0-3,5 \mu\text{m}$ . Bergerak dengan bulu cambuk/ flagel yang terletak di bagian ujung berbentuk batang, pewarnaan Gram dengan metode ulasan menghasilkan warna merah yang menunjukkan bakteri Gram negatif.

### 2.2.3 Sifat Biakan

Biakan *Aeromonas hydrophila* bersifat motil, aerobik dan fakultatif anaerobik, uji katalase positif, oksidase positif, cytochrome oksidase positif, fermentasi gula dan produksi gas (Nabib *et al.*, 1989). Mempunyai sifat merusak arginin, tumbuh pada suhu  $5-37^{\circ}\text{C}$  dan tanpa NaCl, tidak tumbuh pada pH 9. Bakteri ini dapat tumbuh dengan medium KCN, OPNG positif, indol positif, hidrolisis gelatin tetapi tidak menghidrolisis chitin (Cowan dan Steel's, 1974, Holt *et al.*, 1994). Uji methyl red positif, memproduksi gas  $\text{H}_2\text{S}$ , D-glucose, L-arabinose, maltose, D-mannitol, sucrose dan trehalose (Holt *et al.*, 1994).

### 2.2.4 Resistensi

Bakteri *Aeromonas hydrophila* mempunyai organ sel yang bernama Resisten plasmid. R plasmid merupakan untai DNA yang terdapat dalam tubuh bakteri yang dapat memberikan resistensi terhadap beberapa bahan antimikrobal yang dapat membunuhnya. Faktor ini telah ditemukan pada beberapa spesies patogen ikan termasuk *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida* dan *Edwardsiella tarda*. *Aeromonas hydrophila* telah dilaporkan resisten terhadap

bahan antimikrobia skala luas, termasuk ampicilin, kloramfenikol, erythromycin, nitrofurantoin, novobiocin, streptomisin, sulphonamides dan tetrasiklin (Aoki, 1988 dan De Paola *et al.* 1988 dalam Austin and Austin, 1993; Aoki, 1998).

### 2.2.5 Patogenesis

Bakteri *Aeromonas hydrophila* sering menyerang hewan air/ ikan, bahkan beberapa laporan menyebutkan bakteri ini juga menyerang manusia. Pada ikan bakteri ini menyebabkan kerusakan pada sirip dan ekor, pendarahan pada pangkal sirip dan *haemorrhagic septicaemia*, sering disebut *Motil Aeromonas Septicaemia* (MAS). Septicaemia biasanya bersamaan dengan adanya luka pada permukaan tubuh, haemoragi pada insang dan anus, terjadi pendarahan pada hati, ginjal dan limpa, bermanah, *abscesses*, mata membesar dan abdominal membengkak. Kondisi lain dari infeksi *Aeromonas hydrophila* dikenal dengan penyakit sirip merah yang diketahui dari adanya permukaan haemoragi dan pengikisan sisik. Penularan penyakit dapat melalui kontaminasi air dan penularan dari ikan yang terserang (Adisukresno, 1994; Moeller, 1994; Hayes, 2000; Ryandini *dkk*, 2004).

### 2.3 Tinjauan Uji Sensitivitas

Pengendalian suatu penyakit yang disebabkan oleh bakteri salah satunya adalah dengan pengobatan. Suatu obat sebelum digunakan untuk pengobatan, terlebih dahulu harus ditentukan potensinya terhadap bakteri tersebut. Pemeriksaan uji kepekaan bakteri terhadap zat antibakterial dinamakan uji sensitivitas. Zat antibakterial adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) atau membunuh bakteri (bakterisidal). Metode yang

digunakan dalam uji ini ada dua macam metode utama, yaitu uji secara difusi disk dan uji pengenceran.

### 1. Metode difusi disk

Metode ini merupakan metode untuk menguji kepekaan kuman terhadap antibakterial dengan melihat daya hambatnya terhadap suatu bakteri. Daya hambat ini terlihat dengan adanya daerah bening atau jernih disekeliling kertas disk. Kepekaan bakteri dikelompokkan dalam tiga kategori yaitu sangat peka, kurang peka atau tidak peka.

Bakteri dikategorikan peka terhadap antibakterial tertentu apabila dengan konsentrasi tertentu dapat terjadi diameter hambatan pertumbuhan kuman yang besar, kurang peka apabila diameter hambatan tidak terlalu besar dan tidak peka jika diameter hambatan sangat kecil atau tidak terjadi daerah hambatan. Penentuan daya hambat beberapa antibakterial telah terdapat standar ukuran diameter hambatannya. Jumlah kuman yang digunakan dalam pengujian ini adalah  $10^8$  sel/ml.

### 2. Uji pengenceran

Pada pengujian ini medium yang digunakan harus memperhatikan beberapa persyaratan yaitu :

- a. Harus dapat mendukung pertumbuhan optimum bagi bakteri.
- b. Tanpa penambahan serum atau darah, untuk mencegah beberapa variabel yang tidak diinginkan dalam pengujian.
- c. Hendaknya medium tidak mengandung ion bivalent ( $Mg^{2+}$ ) dan  $Ca^{2+}$  karena akan mempengaruhi hasil yang diperoleh jika antibiotik yang digunakan aminoglycosida, polymixin dan tetrasiklin (Gillespie, 1994).

Pengujian ini mensuspensikan inokulan bakteri dengan kepadatan tertentu pada larutan antibakterial atau zat kimia yang diuji dengan beberapa konsentrasi kemudian diinkubasikan selama 24 jam. Sesudah diinkubasi selama 24 jam diamati pertumbuhan bakteri, apabila medium keruh bakteri masih tumbuh, bila media bening berarti bakteri tidak tumbuh. Langkah selanjutnya adalah dengan menanamkan suspensi bakteri dan zat kimia ke dalam media tumbuh untuk melihat apakah zat kimia yang diuji memiliki aktivitas membunuh bakteri (Jawetz *et al.*, 1995; Astuti, 2004).

**BAB III**  
**KONSEPTUAL PENELITIAN**  
**DAN HIPOTESIS**

## BAB III

### KONSEPTUAL PENELITIAN DAN HIPOTESIS

#### 3.1 Konseptual Penelitian

Peningkatan produksi perikanan selain didapatkan dari hasil penangkapan juga berasal dari budidaya ikan. Keberhasilan budidaya ikan ditentukan oleh manajemen yang baik, salah satu kendala yang dapat menurunkan hasil produksi adalah munculnya penyakit. Penyakit timbul karena pengaruh tiga faktor yaitu lingkungan tempat habitat ikan, kondisi inang dan keberadaan dari patogen (Zonneveld, 1991; Adisukresno, 1994).

Penggunaan antibiotik untuk pengendalian penyakit terutama yang disebabkan oleh bakteri telah banyak digunakan, namun dipihak lain pemakaian antibiotik yang terus menerus dikhawatirkan dapat berakibat timbulnya galur bakteri yang resisten terhadap antibiotika tersebut serta dapat menyebabkan pencemaran lingkungan dan residu obat pada tubuh inang (Nugroho, 1988, Pasaribu, 1990, Zonneveld, 1991, Ryandini, *dkk.*, 1994).

Pengobatan alternatif dapat digunakan tanaman yang mempunyai sifat antibakterial. Tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) yang mempunyai kandungan senyawa fenol yaitu flavonoida dan tanin yang bersifat antimikroba (Dalimartha, 1999; Raj and Singh, 2000). Evans (1989) menyebutkan fungsi flavonoid sebagai antiinflamasi, antibakteri dan antiparasit. Untuk mendapatkan zat yang lebih murni maka dilakukan ekstrak menggunakan etanol dan diharapkan ekstrak tanaman ini dapat menggantikan penggunaan antibiotik untuk mengobati penyakit pada ikan khususnya yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Dengan dasar

ini, maka penelitian ini mencoba untuk memberikan perlakuan pada bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan pemberian ekstrak tanaman kucing-kucingan. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan sepuluh perlakuan dan lima kali ulangan.

Parameter yang diukur adalah MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*). Hasil penelitian diharapkan ekstrak tanaman kucing-kucingan dapat menghambat atau membunuh bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*.

### **3.2 Hipotesis**

Ekstrak tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*.

**BAB IV**  
**METODOLOGI PENELITIAN**



## BAB IV

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 28 April - 24 Juni 2005. Penelitian utama dilakukan di Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga Surabaya. Pembuatan ekstrak tanaman kucing-kucingan dilakukan di Laboratorium Bahan Organik Fakultas MIPA Universitas Airlangga Surabaya.

#### 3.2 Materi Penelitian

Bahan penelitian berupa bakteri *Aeromonas hydrophila* yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) yang diperoleh dari daerah Sutorejo Surabaya, Trypticase Soy Agar (TSA), TSIA (Triple Sugar Iron Agar), SIM (Sulfide Indol Motility), Nutrien broth (NB), Mc Farland's No. 0,5, kristal violet, safranin, lugol, aquades, Dimetilsulfoksida (DMSO) 5 % dan etanol.

Sedangkan alat yang digunakan meliputi tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, pembakar bunsen, ose, mikroskop, object glass, cover glass, autoclave, pipet ukur, gelas volume, neraca timbangan, incubator, rotary vacuum evaporator.

#### 3.3 Metode Penelitian

##### 3.3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menguji ekstrak etanol

tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*. Uji yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode pengenceran untuk mengetahui *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC). Penelitian ini dilakukan dengan sepuluh perlakuan dan lima kali ulangan (Kusriningrum, 1989).

### 3.3.2 Prosedur Kerja

#### A. Tahap Persiapan

##### 1. Pembuatan serbuk tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.)

Tanaman kucing-kucingan didapat dari daerah Surabaya pada bulan April 2005 dan kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari. Untuk mendapatkan hasil yang optimal bahan dikeringkan secepat-cepatnya tanpa menggunakan suhu tinggi atau dalam keadaan terkontrol, setelah tanaman kucing-kucingan kering dipotong-potong dan dihaluskan hingga berbentuk serbuk (Harborne, 1987).

##### 2. Ekstraksi serbuk tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.)

Serbuk tanaman kucing-kucingan sebanyak 500 gram dimaserasi menggunakan pelarut etanol selama 3 x 24 jam pada suhu kamar, kemudian pelarutnya diuapkan dengan menggunakan rotary vacuum evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.).

##### 3. Sterilisasi Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit agar bebas dari bakteri sehingga menghindari adanya kontaminasi.

#### 4. Identifikasi Bakteri

Isolat bakteri *Aeromonas hydrophila* diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya atas kebaikan dari Bapak Didik Handijatno. Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* dilakukan menggunakan metode Cowan and Steels (1974) antara lain pewarnaan Gram, Uji TSIA, Urease, Indol, Nitrat.

##### 1. Metode pewarnaan Gram bakteri

- Gelas obyek direndam dalam alkohol 95 % kemudian dibersihkan dan diberi label.
- Gelas obyek dilewatkan di atas nyala api sampai kering.
- Ambil satu koloni bakteri dengan ose yang telah dipanaskan kemudian oleskan pada gelas obyek, ratakan sampai tipis dengan ditambah akuades, biarkan sampai kering.
- Beri warna dengan kristal violet, diamkan selama 1 menit.
- Cuci dengan air mengalir kemudian kering anginkan.
- Beri pewarnaan lugol kemudian diamkan selama 1 menit.
- Cuci dengan air mengalir dan keringkan.
- Cuci dengan alkohol 95% atau alkohol acetone sampai warna hilang.
- Cuci dengan air mengalir kemudian keringkan.
- Beri pewarnaan safranin kemudian cuci dengan air mengalir.
- Amati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x, diamati warna dan bentuk bakteri.

- Jika bakteri berwarna merah berarti sel bakteri bersifat Gram negatif, sedangkan jika sel bakteri berwarna ungu atau biru berarti bakteri bersifat Gram positif.

## 2. Uji TSIA

Medium yang digunakan adalah Triple Sugar Iron Agar (TSIA). Bakteri di inokulasikan secara tusukan pada medium tegak atau goresan pada medium miring, kemudian di inkubasi selama 18-24 jam. Hasil yang diamati untuk uji penggunaan gula adalah media berwarna merah (basa) atau kuning (asam). Sedangkan untuk pembebasan  $H_2S$  positif diketahui dengan melihat warna kehitaman sepanjang goresan pada medium.

## 3. Uji Indole

Inokulasikan biakan bakteri dengan cara tusukan pada medium Sulfide Indol Motility (SIM). Inkubasikan selama 1-2 hari, kemudian tambahkan reagen Kovacs. Hasil dapat dilihat setelah 20 menit, reaksi menunjukkan positif jika terbentuk warna merah muda sampai tua pada lapisan reagen.

## 4. Uji Reduksi Nitrat

Inokulasikan bakteri dengan ose pada medium Nitrate Broth, inkubasi selama 2 jam. Tambahkan 5 tetes sulphanilic acid dan 5 tetes  $\alpha$ -naphthylamine. Hasil reaksi positif jika terbentuk warna merah 1-2 menit setelah penambahan reagen. Jika tidak terbentuk warna merah tambahkan sedikit serbuk zink, jika terbentuk warna merah berarti reaksi negatif (nitrat tidak tereduksi).

## 5. Uji Urease

Inokulasikan bakteri pada media agar yang diberi base urea kemudian inkubasikan selama 24 jam sampai terlihat pertumbuhan. Hasil uji positif jika

terjadi perubahan warna menjadi merah muda. Bakteri *Aeromonas hydrophila* yang telah diidentifikasi kemudian diambil 4-5 koloni dan tanamkan pada media broth kemudian inkubasi sampai kekeruhannya sama dengan standar Mc. Farland No. 0,5 yang menunjukkan kepadatan bakteri  $10^8$  CFU/ml (Koneman, 1992).

## B. Pelaksanaan Penelitian

### 1. Penyiapan larutan dengan berbagai konsentrasi

Metode yang digunakan adalah broth mikrodilution dengan beberapa konsentrasi pengenceran. Larutan stok dengan konsentrasi 100 % di dapatkan dengan mengambil 1 ml larutan ekstrak kucing-kucingan. Pengenceran konsentrasi ekstrak *Acalypha indica* L. dilakukan dengan cara mengambil 1 ml larutan stok kemudian ditambah dengan 1 ml DMSO 5% untuk mendapatkan larutan 50%, selanjutnya diambil 1 ml dari larutan hasil (50%) dimasukkan dalam tabung reaksi yang baru dan ditambahkan 1 ml DMSO 5% sehingga diperoleh larutan konsentrasi 25%, cara yang sama dilakukan untuk mendapatkan hasil pengenceran 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, 0,4%. Pada pengenceran terakhir yaitu 0,2% larutan diambil 1 ml kemudian dibuang. Larutan kontrol (0 %) diisi dengan 1 ml DMSO 5%. Hasil pengenceran ekstrak kucing-kucingan diulang sebanyak lima kali ulangan.

### 2. Uji sensitivitas dengan metode dilusi

Penentuan MIC dilakukan setelah pengenceran, pada tiap-tiap tabung reaksi dimasukkan 1 ml suspensi bakteri yang telah disamakan kekeruhannya dengan Mc. Farland No. 0,5. Larutan campuran tadi kemudian di inkubasi pada suhu kamar selama 24 jam, setelah itu dilihat kekeruhannya. Medium keruh

menandakan bakteri masih tumbuh, artinya ekstrak tanaman kucing-kucingan tidak menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan apabila media jernih berarti ekstrak kucing-kucingan efektif menghambat pertumbuhan bakteri (sifat bakteristatik).

Penentuan MBC dilakukan untuk menentukan daya bakterisidal dari ekstrak tanaman kucing-kucingan dengan menanamkan hasil uji MIC ke media TSA kemudian di inkubasikan selama 24 jam. Apabila pada medium agar teramati adanya pertumbuhan bakteri berarti ekstrak tanaman kucing-kucingan tidak bersifat bakterisidal, sedangkan apabila tidak ada pertumbuhan bakteri berarti bersifat bakterisidal.

### 3. Pewarnaan Gram

Setelah dilakukan penentuan MBC, kemudian koloni bakteri yang tumbuh diperiksa menggunakan pewarnaan Gram untuk memastikan bentuk dan jenis Gram bakteri.

#### 3.3.3 Parameter

Parameter yang diukur pada penelitian ini ialah konsentrasi pengenceran terendah dari ekstrak tanaman kucing-kucingan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (MIC) dan konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri (MBC) *Aeromonas hydrophila*.

#### 3.3.4 Analisis Data

Hasil penelitian ini kemudian akan dianalisis menggunakan analisis probit memakai program komputer SPSS untuk Windows.

**BAB V**  
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak tanaman kucing-kucingan yang dihasilkan dari 500 gram bahan kering tanaman adalah sebanyak 20 ml larutan ekstrak. Hasil ekstraksi berbentuk kental dan berwarna hijau gelap. Sebagaimana dinyatakan oleh Bernasconi *et al.* (1995) bahwa ekstraksi adalah pemisahan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larut yang berbeda dari komponen dalam campuran. Pemisahan terjadi karena pelarut menembus kapiler-kapiler dalam bahan padat dan melarutkan ekstrak. Larutan ekstrak dengan konsentrasi yang tinggi terbentuk di bagian dalam bahan ekstraksi. Dengan cara difusi akan terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan tersebut dengan larutan di luar bahan padat.

Zat aktif yang sesuai didapatkan dengan memilih pelarut yang sesuai pula. Ekstraksi flavonoid didapatkan dengan baik menggunakan metanol, etanol atau aseton. Tanin tidak larut dalam air atau etil asetat, tetapi dapat diekstrak dengan aseton atau etanol sedangkan saponin larut baik dalam air maupun etanol tetapi tidak dalam eter (Robinson, 1995).

Tanaman kucing-kucingan mengandung senyawa fenol yang mempunyai efek antibakterial yaitu flavonoid dan tanin. Dari hasil penelitian didapatkan bahwa ekstrak tanaman ini mempunyai daya hambat dan daya bunuh terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. Pemilihan ekstraksi dengan etanol adalah karena senyawa aktif dapat ditarik oleh pelarut ini.

Hasil identifikasi bakteri yang digunakan sebagai bahan penelitian adalah sebagaimana yang ditunjukkan pada tabel 1.



**Tabel 1. Hasil Identifikasi Bakteri**

Uji Biokomia	Hasil
Motil	+
Indol	+
Glukosa	+
Laktosa	+
Sukrosa	+
Produksi gas	+
H <sub>2</sub> S	+
Reduksi Nitrat	+
Urease	+
Pewarnaan Gram	Merah/ Batang pendek

Hasil identifikasi bakteri menunjukkan bahwa isolat bakteri adalah bakteri *Aeromonas hydrophila*. Karakteristik ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Holt *et al.* (1994) dan Cowan and Steel (1974) bahwa sifat bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah batang pendek, Gram negatif, motil, indol positif, fermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa, urease positif, mereduksi nitrat dan produksi gas.

Pengamatan MIC didapatkan bahwa ekstrak tanaman kucing-kucingan mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Hambatan pertumbuhan terjadi pada konsentrasi diatas 6,25% atau 62,5 mg ekstrak/ ml pelarut, hasil pengamatan uji MIC dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil Pengamatan MIC Ekstrak Tanaman Kucing-kucingan terhadap *Aeromonas hydrophila***

Konsentrasi	Ulangan				
	1	2	3	4	5
100 %	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh
50 %	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh
25 %	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh
12,5 %	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh
6,25 %	Bening	Bening	Bening	Bening	Bening
3,125 %	Bening	Bening	Bening	Bening	Bening
1,56 %	Bening	Bening	Bening	Bening	Bening
0,78 %	Bening	Bening	Bening	Bening	Bening
0,39 %	Bening	Bening	Bening	Bening	Bening
0 %	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh

Hasil analisis probit menunjukkan konsentrasi minimal ekstrak tanaman kucing-kucingan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu pada konsentrasi 7,5 % atau 75 mg ekstrak/ ml pelarut. Pengamatan MIC dilakukan dengan melihat kekeruhan pada tabung reaksi, untuk penghambatan bakteri ditunjukkan dengan terlihat jernihnya campuran antara suspensi kuman dengan ekstrak.

Hasil pengamatan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dilakukan setelah inokulasi bakteri yang digunakan pada uji MIC di media TSA yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengamatan dapat diamati pada Tabel 3 dibawah ini.

**Tabel 3. Hasil Pengamatan MBC Ekstrak Tanaman Kucing-kucingan terhadap *Aeromonas hydrophila***

Ulangan	Konsentrasi									
	100%	50%	25%	12,5%	6,25%	3,125%	1,56%	0,78%	0,39%	0%
1	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
3	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
4	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan : - : bakteri tidak tumbuh  
+ : bakteri tumbuh

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa daya bunuh ekstrak tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* terjadi pada konsentrasi pengenceran di atas 25% atau 250 mg ekstrak/ ml pelarut. Hasil analisis probit menunjukkan konsentrasi yang dapat membunuh 99,9 % bakteri adalah pada konsentrasi 38,6 % atau 386 mg ekstrak/ ml pelarut. Pada

konsentrasi ini pertumbuhan bakteri tidak terlihat tumbuh pada media agar sehingga dengan demikian pada konsentrasi ini sudah dapat bersifat bakterisidal terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. Sebagaimana dikatakan oleh Pelczar *et al.* (1988) bahwa kerja antimikroba dipengaruhi konsentrasi zat antimikrobia, jumlah mikroorganisme, suhu dan spesies mikroorganisme.

Berdasarkan hasil analisis probit diketahui bahwa ekstrak tanaman kucing-kucingan mempunyai daya antibakterial terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*. Hasil pengamatan MIC terdapat pada konsentrasi 7,5 % sedangkan MBC pada konsentrasi 38,6 %. Perbandingan konsentrasi hambatan pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan konsentrasi yang dapat membunuh bakteri beberapa kali lebih besar. Bahan antibakterial yang mempunyai sifat bakterisidal, pada konsentrasi rendah dapat bersifat bakteristatik, menghambat proses metabolisme dan dapat pula tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri. Pengenceran ekstrak tanaman kucing-kucingan dalam konsentrasi yang semakin tinggi mempunyai daya hambat dan daya bunuh yang semakin tinggi terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. Raj and Singh (2000) melaporkan bahwa ekstrak alkohol tanaman kucing-kucingan juga menunjukkan aktivitas penghambatan pada *Micrococcus pyogens* dan *Escherichia coli*.

Larutan pada tabung reaksi yang tidak diberi ekstrak tanaman kucing-kucingan yaitu pada perlakuan 0 % hanya berisi DMSO 5% dan suspensi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Inokulasi larutan ini pada media TSA tidak menghambat pertumbuhan bakteri, hal ini dapat dijelaskan bahwa pelarut ekstrak yaitu DMSO bukan merupakan zat yang membunuh *Aeromonas hydrophila* melainkan ekstrak tanaman kucing-kucingan. Kepadatan bakteri  $10^8$  CFU/ml dipakai sebagai bakteri

uji karena pada kepadatan ini bakteri *Aeromonas hydrophila* mempunyai sifat patogen terhadap inang. Secara visual penentuan kepadatan bakteri dapat dilakukan dengan membandingkan kekeruhan bakteri dengan kekeruhan Mc Farlands No. 0,5 dimana kekeruhannya setara dengan kepadatan bakteri  $10^8$  CFU/ml (Koneman, 1992).

Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol, dan senyawa ini terdapat pada satu tumbuhan dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida (Harborne, 1987). Senyawa ini mempunyai kemampuan bakteristatik terhadap *Aeromonas hydrophila*, seperti yang dilaporkan oleh Ryandini *dkk.* (2004) bahwa adanya senyawa fenol pada ekstrak polar kayu bengkirai menyebabkan penghambatan pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas fluorescens* yang tinggi. Berbagai jenis flavonoid telah dilaporkan dapat memberikan pengaruh yang berbeda secara alami sebagai senyawa antimikroba dan metabolisme stres, sedangkan alkaloid dan tanin banyak digunakan sebagai antiseptik (Robber, 1996).

Mekanisme kerja senyawa fenol dalam menghambat atau membunuh bakteri menurut Cappucino and Sherman (1983) dan Volk and Wheeler (1984) adalah bahwa senyawa fenol mempunyai efek bakterisidal dengan merubah struktur protein sebagai hasil dari denaturasi protein. Senyawa ini juga merupakan agen permukaan aktif yang mengendapkan protein selular dan mengganggu permeabilitas membran sel. Pada konsentrasi yang tinggi fenol bekerja dengan merusak membran sitoplasma secara total. Konsentrasi fenol yang rendah merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting dan disamping itu juga menginaktifkan sejumlah sistem enzim bakteri.

Mekanisme penghambatan bakteri oleh senyawa golongan fenol juga dijelaskan oleh Ryandini *dkk.*, (2004) adalah melalui proses denaturasi protein. Denaturasi protein awalnya terjadi pada membran sel yang menyebabkan membran sel rusak. Rusaknya membran sel ini berupa bentuk tidak normal dan pori-porinya membesar. Proses perusakan fenol terjadi karena senyawa ini mempunyai sifat ampifilik yaitu sebagian molekulnya larut air (hidrofilik) dan sebagian lagi tidak larut air (hidrofobik).

Membran sel juga terdiri dari dua lapisan utama lipid yaitu lapisan hidrofilik pada bagian luar dan lapisan hidrofobik pada bagian dalam membran sehingga dikatakan bersifat ampifilik (Murray *et al.*, 1996). Bercampurnya senyawa fenol dengan membran akan menyebabkan kerusakan pada membran (Harborne, 1987). Ujung hidrofobik senyawa fenol berikatan dengan bagian hidrofobik protein membran sel dengan menggeser sebagian besar unsur lipid yang terikat. Ujung polar senyawa fenol menjadi bebas dan membuat protein menjadi larutan (Murray *et al.*, 1996). Pelepasan sebagian unsur lipid menyebabkan mudahnya senyawa fenol masuk ke dalam membran sel, kemudian merusak struktur membran sel. Keadaan ini didukung dengan tingkat konsentrasi ion hidroksil ( $\text{OH}^-$ ) dalam senyawa fenol yang menyebabkan hidrolisis dan denaturasi potein (Volk and Wheeler, 1993).

Kerusakan pada membran sel menyebabkan membran tidak dapat mengatur fungsi selektif permeabel membran, sehingga berpengaruh terhadap mekanisme kerja beberapa enzim. Senyawa fenol yang masuk ke dalam sel akan berikatan dengan protein sehingga berpengaruh terhadap metabolisme yang meliputi reaksi biosintesis penting dan reaksi penting yang menghasilkan energi

(Volk and Wheeler, 1993). Kondisi ini menyebabkan terhambatnya pembelahan dan pertumbuhan sel, bahkan sel mengalami lisis dan mati (Ryandini *et al.*, 2004). Senyawa tanin mampu mengkoagulasi protein dan mengganggu sintesis dinding sel sehingga mendukung kerusakan sel bakteri.

Mekanisme kerja sebagian besar zat antimikrobia menurut Jawetz *et al.* (1996) secara umum dapat dibagi menjadi empat macam cara yaitu :

- (1) Penghambatan sintesis dinding sel
- (2) Penghambatan fungsi selaput sel
- (3) Penghambatan sintesis protein (hambatan translasi dan transkripsi bahan genetik), dan
- (4) Penghambatan sintesis asam nukleat.

Mekanisme penghambatan fungsi selaput sel oleh antibiotik adalah dengan mengganggu integritas fungsi selaput sitoplasma sehingga mengakibatkan makromolekul dan ion di dalam sel lolos keluar sel dan terjadilah kerusakan atau kematian sel. Membran sitoplasma antar bakteri memiliki struktur yang berbeda, sehingga hanya obat yang berikatan dengan membran sel, efektif sebagai antimikrobia (Jawetz *et al.*, 1996).

Pewarnaan bakteri setelah uji MBC menunjukkan warna merah, yaitu Gram negatif dan berbentuk batang pendek. Morfologi bakteri ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Holt *et al.* (1994) bahwa bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri Gram negatif yang mempunyai bentuk batang pendek atau tongkat dan hasil pewarnaan dengan metode ulsan menghasilkan warna merah.

**BAB VI**  
**KESIMPULAN DAN SARAN**

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1 Kesimpulan

Kesimpulan hasil penelitian yang dapat diambil adalah :

1. Ekstrak tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) mempunyai daya antibakterial terhadap *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*.
2. *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) ekstrak tanaman kucing-kucingan terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah pada konsentrasi 7,5 % atau 75 mg ekstrak /ml pelarut.
3. *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) ekstrak tanaman kucing-kucingan terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah konsentrasi 38,6% atau 386 mg ekstrak /ml pelarut.

#### 6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan ekstrak tanaman kucing-kucingan (*Acalypha indica* L.) secara *in vivo* yang meliputi pengaruh ekstrak tanaman kucing-kucingan terhadap lingkungan perairan, LD (Lethal Dosis) 50 dan SC (*Safe Concentration*) pada ikan.



# **DAFTAR PUSTAKA**

## DAFTAR PUSTAKA

- Adisukresno, S. 1994. Petunjuk Pelaksanaan Penanggulangan Penyakit Ikan. Direktorat Jendral Perikanan. Direktorat Bina Sumber Hayati. Jakarta. 41 hal.
- Alifuddin, M. 2001. Pengembangan Budidaya Tambak Udang Windu Berkelanjutan Dalam Perspektif Perundangan. Makalah Falsafah Sains (PPs 702). Program Pasca Sarjana / S3. Institut Pertanian Bogor.
- Aoki, T. 1998. Motil Aeromonads (*Aeromonas hydrophila*). Fish Disease disorders, Vol. 3 : Viral, Bacterial and Fungal Infection. Editor P.T.K. Woo and D.W. Bruno). Cab International. p. 427-453.
- Arwan, P. 2002. Ilmuwan Diminta Temukan Obat Mujarab. Harian Suara Merdeka. 5 Agustus 2002 : 10.
- Astuti, S. M. 2004. Diagnosis Penyakit Bakteri. Laboratorium Manajemen Kesehatan Hewan Aquatik. Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau. Jepara. 56 hal.
- Austin, B., and D.A. Austin. 1993. Bacterial Fish Pathogens. Disease in Farmed and Wild Fish, second edition. Ellis Horwood. UK. Hal 171-182.
- Bernasconi, G.H. Gerster, H. Hauser, H. Stäuble, E. Schneiter. 1995. Teknologi Kimia 2. Di Indonesiakan Lienda Handojo, M. Pradnya Paramita. Jakarta. 218 hal.
- Cappucino, J.G. and N. Sherman. 1983. Microbiology : A Laboratory Manual. Addison Wesley Publishing Company. p. 263-278.
- Carter, G. M. 2001. Handbook of Traditional Tibetan Drugs. A comparative analysis of some actions, uses in various traditions. A Brief Herbal Guide for Dr. Namgyal Tenzin. Dharamsala, India. [www.aidsinfonyc.org/fiar/tibet-table.html](http://www.aidsinfonyc.org/fiar/tibet-table.html).
- Cowan and Steel's. 1974. Manual for the Identification of Medical Bacteria. Second edition. Cambridge University Press. Cambridge New York. Hal 101-102.
- Dalimartha, S. 1999. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid 2. Ungaran : Trubus Agriwidya.
- David, S. and I.E. Barry. 1999. Mechanism of Microbial Disease. Third Edition. Edited Moselio S., N. Cary E., Barry, I.E. Gerald, M. Lippincott William & Wilkins. Hal 52-61.
- Djazuli, N. 2002. Penanganan dan pengolahan produk perikanan budidaya dalam menghadapi pasar global : peluang dan Tantangan. Makalah Pengantar Falsafah Sains (PPS702). Program Pasca Sarjana / S3. Institut Pertanian Bogor. 16 hal.

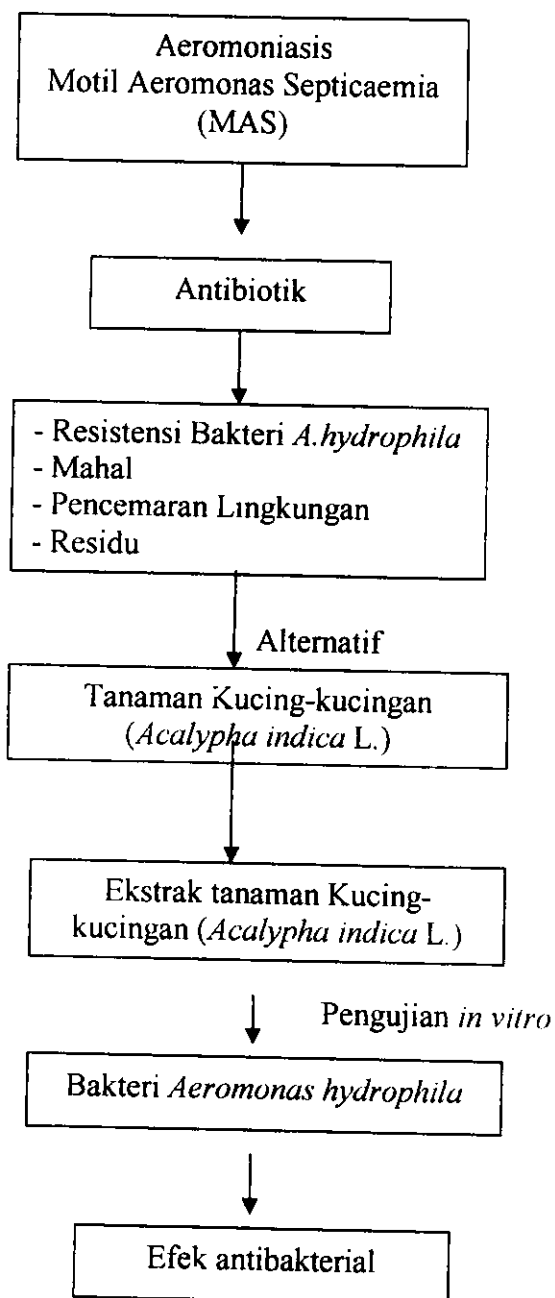
- Evans, W.C. 1989. *Pharmacognosy Trease*, Evans 12<sup>th</sup> edition. Billiere Tindal. London. Hal 386-388.
- Gillespie, S.H. 1994. *Medical Microbiology Illustrated*. Butterworth-Heinemann. London. p. 234-247.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia. Penuntun cara modern menganalisa tumbuhan*. Edisi 2. ITB Bandung. Hal 6-7; 47-109.
- Hayes, J. 2000. MB592 - Diseases of Fish. *Aeromonas hydrophila*. Spring Term 2000 Project. Oregon State University.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, S.T. William. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriologi*. Ninth edition. Williams & Wilkins. A. Waverly Company. USA. Hal 190-191; 254-255.
- [http://plants.usda.gov/classification/output\\_report.cgi](http://plants.usda.gov/classification/output_report.cgi).
- <http://www.ibiblio.org/herbmed/eclectic/bpc1911/acalypha.html>.
- Jawetz, E., J.L. Melnick, E.A. Adelberg, G.F. Brooks, J.S. Butel, L.N. Ornston. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*. Edisi 20. Alih Bahasa E. Nugroho, RF. Maulany, I. Setiawan. Penerbit Buku Kedokteran. EGC. Jakarta. Hal. 153-167.
- Koneman, E.W., S.T. Allen, W.M. Janda, PC. Schreckenberger, Win, C. Washington Jr. 1992. *Diagnostic Microbiology*. Fourth edition. J.B. Lippicott Company. Philadelphia. Hal 649-650; 618-638.
- Kusriningrum, 1989. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal 53-92.
- Moeller, R. B. Jr., 1994. *Disease Of Fish*. Armed Forces Institute of Pathology Washington, D.C. DVM LTC, VC, USA.
- Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes, V.W. Rodwell. 1996. *Biokimia Harper*. Edisi 24. Penerbit buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal 494-505.
- Nabib R., F. Pasaribu. 1989. *Patologi dan Penyakit Ikan*. Departemen P dan K. Direktorat Jenderal Perguruan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. IPB. Hal 120-129.
- Nugroho, E., F. Pasaribu. 1988. *Peningkatan Daya Tahan Ikan Terhadap Infeksi Aeromonas hydrophila dengan Cara Vaksinasi*. Seminar Nasional II Penyakit Pada Ikan dan Udang. Hal 83-86.
- Pasaribu, F.H., N. Dalimunthe, M. Poeloengan. 1990. *Pengobatan dan Pencegahan Penyakit Ikan Bercak Merah*. Proceeding Seminar Nasional II Penyakit Ikan dan Udang. Hal 143-152.

- Pelczar, M.J., ECS. Chan, Pelczar, Merna Foss. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi 2. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. Hal 486-544.
- Raj, J and K.P. Singh. 2000. *Acalypha Indica*. CCRH Quarterly Bulletin. Vol. 22 (1&2) 2000. 6 p.
- Robber, J.E., M.K. Speedie, V.E. Tyler. 1996. Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology. Williams & Wilkins. p. 139-143.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan tinggi. Penerbit ITB. Bandung. 367 hal.
- Ryandini, D., T.B. Suparyana, S. Priyanto. 2004. Sensitivitas *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas fluorescens* Terhadap Ekstrak Polar Kayu Bengkirai. Proceeding Seminar Penyakit Ikan dan Udang Purwokerto. Kelompok B. Hal. 127 – 133.
- Volk, W.A., M.F. Wheeler. 1993. Mikrobiologi Dasar. Jilid 1 Edisi Kelima. Penerit Erlangga. Jakarta. 396 hal.
- Zonneveld, N. E.A. Huisman, J.H. Boon. 1991. Prinsip-Prinsip Budidaya Ikan. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 311 hal.

# **LAMPIRAN**

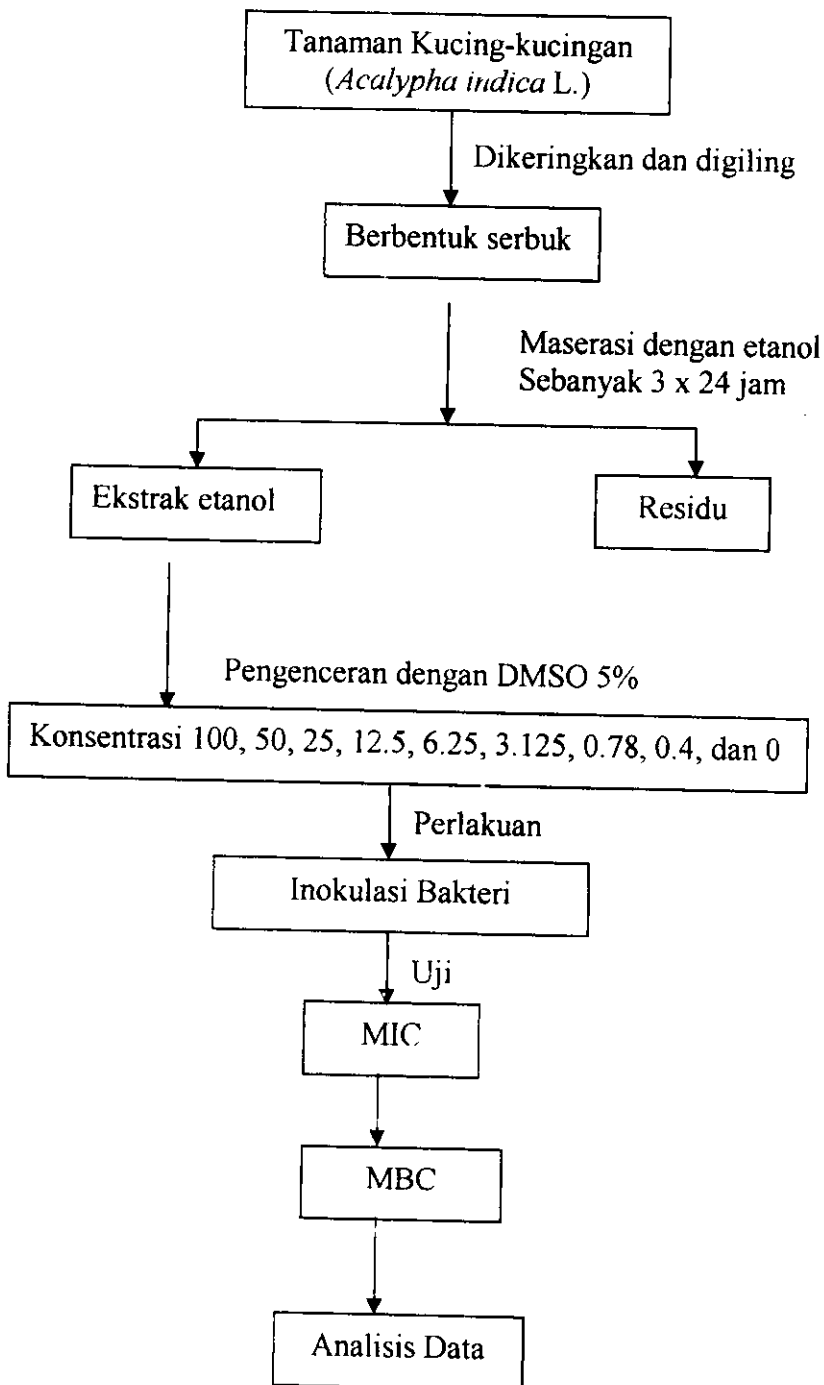
## Lampiran 1

Gambar 1. Bagan Kerangka Konseptual Penelitian



## Lampiran 2

Gambar 2. Prosedur kerja secara skematis



### Lampiran 3

#### Komposisi Trypticase Soy Agar (TSA)

- Lab-Lemco Powder	1 gram
- Yeast Extract	2 gram
- Peptone	15 gram
- Sodium Chloride	5 gram
- Agar	15 gram

#### Komposisi Nutrien Broth (NB)

- Lab-Lamco Powder	1 gram
- Yeast Extract	2 gram
- Peptone	5 gram
- Sodium Chloride	5 gram
- PH 7,4 ± 0,2	

#### Komposisi Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

- Peptone from Casein	15 gram
- Peptone from meat	5 gram
- Meat extract	3 gram
- Yeast extract	3 gram
- Sodium chloride	5 gram
- Lactose	10 gram
- Sukrose	10 gram
- Glukose	10 gram
- Ammonium iron (III) citrate	0,5 gram
- Sodium thiosulphate	0,5 gram
- Phenol red	0,024 gram
- Agar-agar	12 gram



**Komposisi Sulphate Indol Motility (SIM)**

- Bacto Peptone 30 gram
- Bancto Beef extract 3 gram
- Peptonized iron 0,2 gram
- Sodium Thosulfate 0,025 gram
- Bacto Agar 3 gram

**Komposisi Mc Farland No. 0,5**

- 0,048 M BaCl<sub>2</sub> 0,5 ml
- 0,36 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 9,5 ml

**Komposisi Gentian Violet**

- Crystal violet 4 gram
- Alkohol 96% 20 ml
- Ammonium oxalate 0,8 gram
- Aquades 80 ml

**Komposisi Lugol**

- Iodine (I) 1 gram
- Kalium Iodine (KI) 2 gram
- Aquades 300 ml

**Komposisi alkohol aceton**

- Alkohol 96% 70 ml
- Aceton 30 ml

## Lampiran 4

Hasil analisis probit uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

## DATA Information

50 unweighted cases accepted.  
 0 cases rejected because of out-of-range group values.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 5 cases are in the control group.

## Group Information

ULANGAN	Level	N of Cases	Label
	1	10	1
	2	10	2
	3	10	3
	4	10	4
	5	10	5

## MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

>Warning # 13520  
 >All the ratios (response count over observation count) adjusted for the  
 >specified natural response rate are out of range. The plot is skipped.

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Parameter estimates converged after 17 iterations.  
 Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
KONSEN	.14380	.05162	2.78559

Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.	ULANGAN
-1.09210	.56606	-1.92932	1
-1.09210	.56606	-1.92932	2
-.65905	.53670	-1.22798	3
-1.09210	.56606	-1.92932	4
-1.09210	.56606	-1.92932	5

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 38.943 DF = 44 P = .688

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Observed and Expected Frequencies

ULANGAN	KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
1	100.00	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
1	50.00	1.0	1.0	1.000	5.3674E-10	1.00000
1	25.00	1.0	1.0	.994	.006	.99384
1	12.50	1.0	1.0	.760	.240	.75973
1	6.25	1.0	.0	.423	-.423	.42335
1	3.13	1.0	.0	.260	-.260	.26020
1	1.56	1.0	.0	.193	-.193	.19276
1	.78	1.0	.0	.164	-.164	.16356
1	.39	1.0	.0	.150	-.150	.15010
1	.00	1.0	1.0	.137	.863	.13739
2	100.00	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
2	50.00	1.0	1.0	1.000	5.3674E-10	1.00000
2	25.00	1.0	1.0	.994	.006	.99384
2	12.50	1.0	1.0	.760	.240	.75973
2	6.25	1.0	.0	.423	-.423	.42335
2	3.13	1.0	.0	.260	-.260	.26020
2	1.56	1.0	.0	.193	-.193	.19276
2	.78	1.0	.0	.164	-.164	.16356
2	.39	1.0	.0	.150	-.150	.15010
2	.00	1.0	1.0	.137	.863	.13739
3	100.00	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
3	50.00	1.0	1.0	1.000	3.2636E-11	1.00000
3	25.00	1.0	1.0	.998	.002	.99834
3	12.50	1.0	1.0	.873	.127	.87254
3	6.25	1.0	1.0	.595	.405	.59473
3	3.13	1.0	.0	.417	-.417	.41697
3	1.56	1.0	.0	.332	-.332	.33186
3	.78	1.0	.0	.292	-.292	.29223
3	.39	1.0	.0	.273	-.273	.27327
3	.00	1.0	1.0	.255	.745	.25493
4	100.00	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
4	50.00	1.0	1.0	1.000	5.3674E-10	1.00000
4	25.00	1.0	1.0	.994	.006	.99384
4	12.50	1.0	1.0	.760	.240	.75973
4	6.25	1.0	.0	.423	-.423	.42335
4	3.13	1.0	.0	.260	-.260	.26020
4	1.56	1.0	.0	.193	-.193	.19276
4	.78	1.0	.0	.164	-.164	.16356
4	.39	1.0	.0	.150	-.150	.15010
4	.00	1.0	1.0	.137	.863	.13739
5	100.00	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
5	50.00	1.0	1.0	1.000	5.3674E-10	1.00000

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

5	25.00	1.0	1.0	.994	.006	.99384
5	12.50	1.0	1.0	.760	.240	.75973
5	6.25	1.0	.0	.423	-.423	.42335
5	3.13	1.0	.0	.260	-.260	.26020
5	1.56	1.0	.0	.193	-.193	.19276
5	.78	1.0	.0	.164	-.164	.16356
5	.39	1.0	.0	.150	-.150	.15010
5	.00	1.0	1.0	.137	.863	.13739

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Confidence Limits for Effective KONSEN

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	-8.58284	-40.57791	-.69019
.02	-6.68721	-34.60673	.84730
.03	-5.48449	-30.88364	1.88823
.04	-4.57973	-28.12616	2.71453
.05	-3.84378	-25.91625	3.41975
.06	-3.21737	-24.06253	4.04726
.07	-2.66813	-22.46066	4.62095
.08	-2.17636	-21.04721	5.15545
.09	-1.72910	-19.78063	5.66045
.10	-1.31741	-18.63212	6.14269
.15	.38712	-14.08590	8.34820
.20	1.74183	-10.76478	10.39313
.25	2.90405	-8.16329	12.39524
.30	3.94776	-6.04047	14.40659
.35	4.91491	-4.25708	16.45412
.40	5.83265	-2.72234	18.55456
.45	6.72056	-1.37231	20.72161
.50	7.59440	-.15944	22.97005
.55	8.46824	.95332	25.31860
.60	9.35616	1.99620	27.79274
.65	10.27389	2.99593	30.42824
.70	11.24104	3.97785	33.27725
.75	12.28475	4.96994	36.41933
.80	13.44697	6.00806	39.98481
.85	14.80168	7.14809	44.21084
.90	16.50621	8.50057	49.61007
.91	16.91791	8.81621	50.92518
.92	17.36516	9.15494	52.35803
.93	17.85694	9.52276	53.93816
.94	18.40618	9.92828	55.70821
.95	19.03259	10.38457	57.73315
.96	19.76854	10.91302	60.11983
.97	20.67330	11.55265	63.06398
.98	21.87602	12.38808	66.99257
.99	23.77165	13.67634	73.21297

## Lampiran 5

### Hasil analisis probit uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC)

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

#### DATA Information

50 unweighted cases accepted.  
 0 cases rejected because of out-of-range group values.  
 10 cases rejected because of missing data.  
 5 cases are in the control group.

#### Group Information

ULANGAN2	Level	N of Cases	Label
	1	10	1
	2	10	2
	3	10	3
	4	10	4
	5	10	5

#### MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

>Warning # 13520  
 >All the ratios (response count over observation count) adjusted for the  
 >specified natural response rate are out of range. The plot is skipped.

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

>Warning # 13527  
 >Parameter estimates did not converge in maximum number of iterations.

Number of iterations = 20  
 Optimal solution not found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
KONSEN2	-.12857	.05370	-2.39420

	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.	ULANGAN2
	2.63916	1.19602	2.20662	1
	4.59420	2.35481	1.95099	2
	8.04897	3.50713	2.29503	3
	2.63916	1.19602	2.20662	4
	4.59420	2.35481	1.95099	5

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 1.592 DF = 44 P = 1.000

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Observed and Expected Frequencies

ULANGAN2	KONSEN2	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
1	100.00	1.0	.0	8.2098E-25	-8.2098E-25	8.2E-25
1	50.00	1.0	.0	.000	.000	.00008
1	25.00	1.0	.0	.283	-.283	.28258
1	12.50	1.0	1.0	.849	.151	.84896
1	6.25	1.0	1.0	.967	.033	.96679
1	3.13	1.0	1.0	.987	.013	.98737
1	1.56	1.0	1.0	.993	.007	.99263
1	.78	1.0	1.0	.994	.006	.99444
1	.39	1.0	1.0	.995	.005	.99519
1	.00	1.0	1.0	.996	.004	.99584
2	100.00	1.0	.0	7.0873E-17	-7.0873E-17	7.1E-17
2	50.00	1.0	.0	.033	-.033	.03329
2	25.00	1.0	1.0	.916	.084	.91618
2	12.50	1.0	1.0	.999	.001	.99859
2	6.25	1.0	1.0	1.000	.000	.99992
2	3.13	1.0	1.0	1.000	.000	.99999
2	1.56	1.0	1.0	1.000	.000	.99999
2	.78	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
2	.39	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
2	.00	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
3	100.00	1.0	.0	.000	.000	.00000
3	50.00	1.0	1.0	.947	.053	.94741
3	25.00	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
3	12.50	1.0	1.0	1.000	5.9038E-11	1.00000
3	6.25	1.0	1.0	1.000	2.1561E-13	1.00000
3	3.13	1.0	1.0	1.000	1.0214E-14	1.00000
3	1.56	1.0	1.0	1.000	2.1094E-15	1.00000
3	.78	1.0	1.0	1.000	8.8818E-16	1.00000
3	.39	1.0	1.0	1.000	6.6613E-16	1.00000
3	.00	1.0	1.0	1.000	4.4409E-16	1.00000
4	100.00	1.0	.0	8.2098E-25	-8.2098E-25	8.2E-25
4	50.00	1.0	.0	.000	.000	.00008
4	25.00	1.0	.0	.283	-.283	.28258
4	12.50	1.0	1.0	.849	.151	.84896
4	6.25	1.0	1.0	.967	.033	.96679
4	3.13	1.0	1.0	.987	.013	.98737
4	1.56	1.0	1.0	.993	.007	.99263
4	.78	1.0	1.0	.994	.006	.99444
4	.39	1.0	1.0	.995	.005	.99519
4	.00	1.0	1.0	.996	.004	.99584
5	100.00	1.0	.0	7.0873E-17	-7.0873E-17	7.1E-17
5	50.00	1.0	.0	.033	-.033	.03329

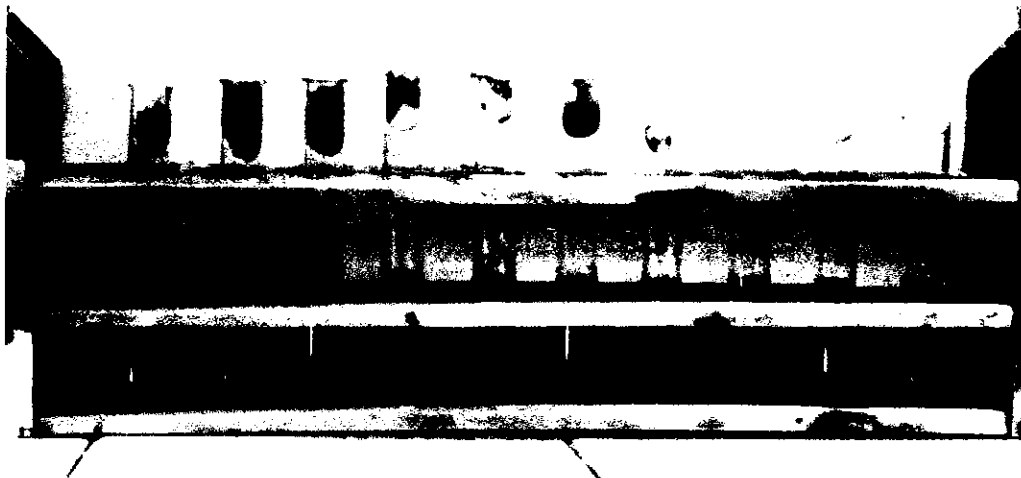
\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

5	25.00	1.0	1.0	.916	.084	.91618
5	12.50	1.0	1.0	.999	.001	.99859
5	6.25	1.0	1.0	1.000	.000	.99992
5	3.13	1.0	1.0	1.000	.000	.99999
5	1.56	1.0	1.0	1.000	.000	.99999
5	.78	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
5	.39	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000
5	.00	1.0	1.0	1.000	.000	1.00000

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

Confidence Limits for Effective KONSEN2

Prob	KONSEN2	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
.01	38.61968	23.23287	151.26106
.02	36.49952	21.65522	139.98229
.03	35.15435	20.61575	132.86476
.04	34.14243	19.81040	127.53392
.05	33.31931	19.13845	123.21454
.06	32.61870	18.55329	119.55131
.07	32.00441	18.02925	116.35034
.08	31.45438	17.55060	113.49368
.09	30.95415	17.10695	110.90401
.10	30.49369	16.69106	108.52772
.15	28.58727	14.88145	98.77696
.20	27.07210	13.32159	91.14899
.25	25.77222	11.87516	84.71309
.30	24.60489	10.47200	79.03768
.35	23.52318	9.06604	73.88428
.40	22.49675	7.62050	69.10563
.45	21.50366	6.10085	64.60331
.50	20.52632	4.47026	60.30740
.55	19.54898	2.68557	56.16559
.60	18.55589	.69248	52.13671
.65	17.52946	-1.58131	48.18631
.70	16.44775	-4.23713	44.28278
.75	15.28042	-7.42533	40.39240
.80	13.98054	-11.38586	36.47060
.85	12.46537	-16.54475	32.44167
.90	10.55894	-23.80336	28.13990
.91	10.09848	-25.67134	27.21571
.92	9.59826	-27.74617	26.25721
.93	9.04823	-30.07892	25.25466
.94	8.43394	-32.74333	24.19405
.95	7.73333	-35.85187	23.05420
.96	6.91021	-39.58966	21.80067
.97	5.89829	-44.29651	20.37133
.98	4.55311	-50.71560	18.63342
.99	2.43295	-61.13173	16.19311



Gambar 2. Foto hasil pengamatan MIC



Gambar 3. Foto hasil pengamatan MBC