

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn) pada *Vibrio Harveyi* dan *Aeromonas hydrophila*

Antibacterial Activity of *Jatropha curcas* (Linn) Leaves Extract against *Vibrio harveyi* and *Aeromonas hydrophila*

Nasrullah Bai Arifin^{*1}, Imas Marthapratama¹, Ellana Sanoesi¹ & Arief Prajitno²

¹Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145

²Laboratorium Parasit dan Penyakit ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis untuk korespondensi, email: arifin.n604@ub.ac.id

Abstrak

Penggunaan produk alami sebagai agen antimikroba merupakan upaya alternatif pengendalian patogen resisten antibiotik sintesis. *A. hydrophila* dan *V. harveyi* berturut-turut ialah bakteri patogen pada organisme budidaya air tawar dan air laut. Jarak pagar (*Jatropha curcas*, Linn) dikenal sebagai tanaman yang memiliki kandungan senyawa antibakteri. Tujuan penelitian ini ialah menganalisa daya hambat ekstrak air daun jarak pagar terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi* dan *A. hydrophila*. Penelitian ini menggunakan ekstrak air daun jarak pagar pada konsentrasi yang berbeda dengan metode uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan Difusi Cakram Kertas. Konsentrasi terkecil untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada uji MIC adalah 0,10 g/ml untuk *A. hydrophila* dan 0,15 g/ml untuk *V. harveyi*. Pada uji cakram kertas dengan konsentrasi yang berbeda diperoleh bahwa konsentrasi 0,35 g/ml memiliki diameter zona hambat tertinggi sebesar $11,3 \pm 0,2$ mm untuk *A. hydrophila* dan 0,40 g/ml memiliki diameter zona hambat tertinggi sebesar $11,2 \pm 0,3$ mm untuk *V. harveyi*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak air daun jarak pagar dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji.

Kata kunci: *Aeromonas hydrophila*, difusi cakram kertas, *Jatropha curcas* Linn, uji *minimum inhibitory concentration*, *Vibrio harveyi*

Abstract

The use of natural products as an antimicrobial agent is an alternative way in the treating drug-resistant pathogens. *A. hydrophila* and *V. harveyi* are pathogenic bacteria both in freshwater and marine culture, respectively. Physic nut (*Jatropha curcas*, Linn) has been known as an herbal plant that has an antibacterial agent. The purpose of this study was to analyze inhibition ability of an extract of physic nut leaves on the growth of *V. harveyi* and *A. hydrophila*. In this study, water extract of physic nut leaves was determined to evaluate the antibacterial activity against *V. harveyi* and *A. hydrophila* using the Minimum Inhibitory Concentration Test (MIC) and Paper Disk Diffusion Method. The smallest concentration on the MIC was 0.10 g/ml for *A. hydrophila* and 0.15 g/ml for *V. harveyi*, respectively. The Paper Disk Diffusion Method used difference concentrations (0.10 g/ml; 0.15 g/ml; 0.20 g/ml; 0.25 g/ml; 0.30 g/ml; 0.35 g/ml; dan 0.40 g/ml) and Control (0 g/ml). The concentration of 0.35 g/ml had the highest inhibition zone diameter in 11.3 ± 0.2 mm for *A. hydrophila* and 0.40 g/ml had the highest inhibition zone in 11.2 ± 0.3 mm for *V. harveyi*. The result showed that water extract of physic nut leaves was able to inhibit both tested bacteria.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*, paper disk diffusion, *Jatropha curcas* Linn, minimum inhibitory concentration test, *Vibrio harveyi*

Pendahuluan

Vibrio harveyi dan *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri patogen pada organisme budidaya air tawar dan air laut (Cipriano *et al.*, 1984; Austin & Zhang, 2006). Bakteri *V. harveyi* yang merupakan bakteri berbahaya (*Luminous bacteria*), sering kali dikaitkan sebagai penyebab penyakit Vibriosis dalam budidaya ikan dan udang (Jun & Woo, 2003). Bakteri ini menyebabkan kematian masal pada organisme

budidaya (Austin & Zhang, 2006). Strains *Vibrio* adalah bakteri dominan di air laut dan umumnya menginfeksi udang budidaya maupun udang liar (Hervio-Heath *et al.*, 2002). Sementara itu, *A. hydrophila* yang merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang, juga menyebabkan kematian yang signifikan pada organisme budidaya (Laith & Najiah, 2013). Oleh karena itu, salah satu faktor dalam keberhasilan budidaya organisme air adalah

pengendalian penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen.

Penggunaan antibiotik merupakan salah satu cara yang telah digunakan untuk mengendalikan penyakit bakteri (Vaseeharan & Ramasamy, 2003; Sivaram, 2004). Akan tetapi, penggunaan antibiotik dapat menyebabkan pembentukan resistensi pada bakteri patogen. Hameed et al. (2003) dan Nonaka et al. (2000) secara berturut-turut melaporkan bahwa *Vibrio* yang diisolasi dari larva dan post-larva udang *Macrobrachium rosenbergii* dan usus ikan resisten terhadap antibiotik Oxytetracycline (OTC). *Vibrio* sp. yang diisolasi dari ikan sakit menunjukkan resistensi tinggi terhadap antibiotik tersebut pada dosis MIC 125-500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Nonaka et al., 2002; Kim et al., 2003). Pada penelitian lain, Laith & Najiah (2013) melaporkan bahwa *A. hydrophila* yang diisolasi dari ikan lele yang sakit resisten terhadap antibiotik ampicillin. Sehingga pengembangan metode pengobatan alternatif sangat diperlukan untuk mengendalikan penyakit bakteri.

Jarak pagar, *Jatropha curcas* Linn merupakan tanaman herbal yang memiliki aktivitas antimikroba (Sharma et al., 2010; Subba & Basnet, 2014). Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa aktivitas antimikroba ekstrak bagian tanaman jarak pagar terkait dengan adanya senyawa fitokimia yang terkandung di dalamnya (Igbinosa et al., 2009; Arekemase et al., 2011; Daniyan et al., 2011; Narayani et al., 2012; Nyambo et al., 2012). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi konsentrasi dan diameter zona hambat ekstrak air daun jarak pagar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* dan *A. hydrophila*.

Metode Penelitian

*Persiapan dan Ekstraksi Daun Jarak Pagar (*J. curcas* Linn)*

Daun jarak pagar (*J. curcas* Linn) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari daerah perkebunan di wilayah Malang, Jawa Timur. Ekstraksi daun jarak pagar mengacu pada metode yang dilakukan oleh Adamu et al. (2013) dengan modifikasi. Sampel daun jarak pagar dikering anginkan pada suhu ruang ($28 \pm 2^\circ\text{C}$). Setelah itu, sampel dihaluskan hingga menjadi serbuk. Kemudian, sampel serbuk dimaserasi menggunakan aquades dengan perbandingan 1:10 (100 gr sampel dalam 1.000 mL aquades) pada suhu ruang ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) selama tiga hari. Selanjutnya hasil maserasi diendapkan pada suhu ruang selama 24 jam, kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring (Whatman No 1). Hasil penyaringan dikeringkan dengan menggunakan vaccum evaporator. Ekstrak yang tidak langsung digunakan disimpan pada suhu

4 °C untuk penggunaan selanjutnya.

*Bakteri *V. harveyi* dan *A. hydrophila*.*

Penelitian ini menggunakan bakteri *V. harveyi* dan *A. hydrophila* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang. Kedua bakteri tersebut kemudian ditumbuhkan pada media cair (*Nutrient Broth*) sebelum digunakan untuk uji aktivitas antibakteri.

Uji Minimum Inhibitory Concentration/MIC

Uji MIC pada penelitian ini menggunakan metode yang telah diterapkan oleh Adamu et al. (2013) dengan beberapa modifikasi. Biakan murni bakteri dikultur pada media cair (*Nutrient Broth*) dalam tabung reaksi dan diinkubasi hingga mencapai kepadatan 10^8 CFU/ml pada suhu 35 °C selama 3 jam. Ekstrak air daun jarak pagar (*J. curcas* Linn) diencerkan dari 0,05 hingga 0,50 g/ml, kemudian dimasukkan 0,1 ml inokulan bakteri uji dari media cair (*Nutrient broth*) ke dalam setiap pengenceran. Masing-masing perlakuan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35 °C. Selanjutnya kultur bakteri dari tabung reaksi ditumbuhkan pada media agar TCBSA untuk *V. harveyi* dan TSA untuk *A. hydrophila* kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35 °C untuk mengetahui konsentrasi hambatan minimum pertumbuhan bakteri.

Uji Cakram Kertas

Teknik difusi cakram kertas (Taie et al., 2013) digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak air daun jarak pagar. Media agar TCBSA dan TSA diinokulasi bakteri 10^8 CFU/ml, untuk masing-masing *V. harveyi* dan *A. hydrophila*. Cakram kertas (Diameter 6 mm, Filter Whatman No 3) dimasukkan ke dalam 5 ml ekstrak pada masing-masing konsentrasi (0,1 g/ml; 0,15 g/ml; 0,20 g/ml; 0,25g/ml; 0,30 g/ml; 0,35g/ml untuk *A. hydrophila* dan 0,15 g/ml; 0,20 g/ml; 0,25g/ml; 0,30 g/ml; 0,35g/ml; 0,40 g/ml untuk *V. harveyi*) dan kontrol (0,000 gr/ml), kemudian ditempatkan pada media agar. Setelah diinkubasi dengan suhu 37 °C selama 24 jam, diameter dari zona hambatan diukur luasannya (mm). Aktivitas positif dapat ditunjukkan dengan luasan zona hambatan di sekeliling cakram. Cakram kertas steril tanpa perendaman dengan ekstrak digunakan sebagai kontrol perlakuan.

Hasil dan Pembahasan

Uji Minimum Inhibitory Concentration/MIC

Uji kadar hambat minimal (MIC) ekstrak air daun jarak pagar *Jatropha curcas* Linn terhadap bakteri uji menunjukkan hasil yang berbeda (Tabel 1). Nilai MIC yang didapat pada penelitian ini lebih rendah dari yang diperoleh pada penelitian Adamu et al. (2013) yang menunjukkan nilai MIC terendah

ekstrak air daun jarak pagar sebesar 25 mg/ml pada *S. aureus* dan *A. niger*. Adamu et al. (2013) juga mendapatkan bahwa nilai MIC beragam pada setiap mikroorganisme uji, dimana nilai MIC pada *S. pyogenes*, *E. coli*, *P. fellutanum* dan *Candida* sp. adalah 50 mg/ml. Hasil yang sama didapatkan pada penelitian ini yang menunjukkan MIC pada *V. harveyi* diperoleh pada konsentrasi 0,15 g/ml. Sementara itu, konsentrasi 0,10 g/ml merupakan nilai MIC pada *A. hydrophila*. Hal ini dapat dikarenakan perbedaan karakteristik bakteri uji yang digunakan (Adamu et al., 2103). *A. hydrophila* merupakan patogen bagi organisme air tawar (Cipriano et al., 1984) sedangkan *V. harveyi* ialah patogen bagi organisme air payau dan laut (Austin & Zhang, 2006). Menurut Edberg (1986), konsentrasi penghambat minimum merupakan konsentrasi antibiotik terendah yang akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme mikroskopik.

Tabel 1. Kadar hambat minimal (MIC) ekstrak air daun jarak pagar (*Jatropha curcas*, Linn) terhadap *V. harveyi* dan *A. hydrophila*.

Konsentrasi gr/ml	Pertumbuhan <i>V. harveyi</i>	Pertumbuhan <i>A. hydrophila</i>
0,05	+	+
0,10	+	-
0,15	-	-
0,20	-	-
0,25	-	-
0,30	-	-
0,35	-	-
0,40	-	-
0,45	-	-
0,50	-	-
K -	-	-
K +	+	+

Keterangan : (+) : Tidak ada hambatan

(-) : Ada hambatan

K- : Kontrol Media NB

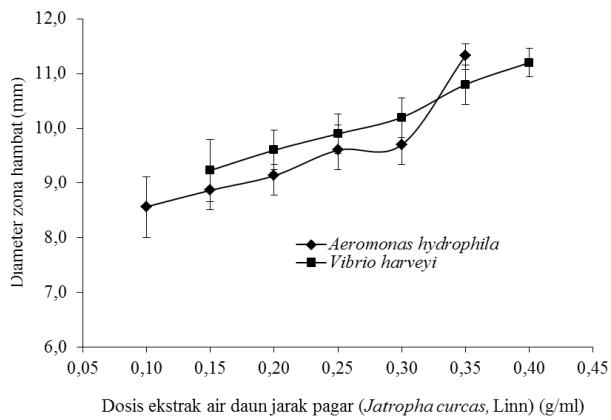
K+ : Kontrol Media dan Bakteri

Uji Cakram Kertas

Aktivitas antibakteri ekstrak air daun jarak pagar menunjukkan pola yang sama pada kedua jenis bakteri uji (Gambar 1). Hasil penelitian menunjukkan bahwa luas diameter zona hambat meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang digunakan. Pada konsentrasi 0,35 g/ml ekstrak daun jarak pagar, luas diameter zona hambat *A. hydrophila* lebih besar dibandingkan dengan *V. harveyi*. Diameter zona hambat pada konsentrasi tersebut untuk bakteri

A. hydrophila dan *V. harveyi* secara berturut-turut adalah $11,3 \pm 0,2$ mm dan $11,2 \pm 0,3$ mm.

Gambar 1. Aktivitas anti bakteri daun jarak pagar (*Jatropha curcas*, Linn) pada *V. harveyi*



dan *A. hydrophila*.

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak bagian tanaman jarak pagar memiliki aktivitas antimikroba (Igbinosa et al., 2009; Arekemase et al., 2011; Adamu et al., 2013; Dada et al., 2014; dan Setha et al., 2014). Aktivitas antimikroba mungkin disebabkan oleh adanya kandungan senyawa fitokimia tertentu seperti saponin, tanin, alkaloid dan glikosida (Arekemase et al., 2011; Igbinosa et al., 2009). Pada penelitian ini, ekstrak air daun jarak pagar dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji. Arekemase et al. (2011) melaporkan bahwa ekstrak air akar jarak pagar dapat menghambat pertumbuhan *Neisseria gonorrhoea*, *E. coli*, dan *S. aureus*, akan tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa* dan *C. albicans* pada konsentrasi yang diuji. Hasil yang serupa juga didapat oleh Igbinosa et al. (2009) bahwa ekstrak air kulit batang jarak pagar dapat menghambat beberapa jenis bakteri yang diuji kecuali *Klebsiella pneumonia*. Di sisi lain, Narayani et al. (2012) melaporkan bahwa ekstrak air daun jarak pagar tidak dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri uji yang meliputi *E. coli*, *Proteus* sp., *S. aureus*, *P. aeruginosa*. Akan tetapi Nyembo et al. (2012) melaporkan bahwa ekstrak air daun jarak pagar (dengan konsentrasi 500 µg/cakram) dapat menghambat beberapa bakteri uji kecuali *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Citrobacter diversus*, dan *P. aeruginosa*. Keragaman kemampuan ekstrak daun jarak dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme mungkin disebabkan oleh perbedaan konsentrasi dan juga strain mikroorganisme yang diuji (Adamu et al., 2013). Hasil penelitian ini bersama dengan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak air daun jarak pagar dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri patogen. Adanya

kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji menunjukkan bahwa ekstrak air daun jarak pagar berpotensi sebagai bahan alternatif dalam pengendalian bakteri patogen pada budidaya ikan air tawar maupun air laut.

Senyawa antibakteri yang terkandung dalam daun jarak pagar adalah persenyawaan fenol seperti flavonoid dan tannin. Alamsyah (2006) menyebutkan bahwa daun dan ranting jarak pagar mengandung flavonoid (apigenin), vitexin, dan isovitexin. Selain itu, daun jarak pagar juga mengandung dimmer dari triterpene alkohol dan dua flavonoid glikosida. Persenyawaan fenol seperti flavonoid dan tannin telah dikenal memiliki aktivitas antimikroba (Cushnie & Andrew, 2005; Cowan, 1999; Chen et al., 2005; Mun'im, 2005; Jones et al., 1994). Hasil penelitian Prasetyaningsih (2004) menyebutkan bahwa ekstrak daun jarak pagar mengandung senyawa aktif tannin dan flavonoid. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa kadar tannin dalam daun jarak pagar sekitar 7,41-8,28 % (Hazril, 2005).

Senyawa fenol mungkin bekerja terutama dengan cara mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel. Persenyawaan fenol dapat bersifat bakterisidal atau bakteriostatik tergantung pada konsentrasi yang digunakan (Pelczar & Chan, 1988). Volk & Wheeler (1983) menambahkan apabila digunakan dalam konsentrasi tinggi fenol bekerja dengan merusak membran sitoplasma secara total dan mengendapkan protein sel. Akan tetapi dalam konsentrasi rendah, fenol merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting, dan disamping itu, menginaktivkan sejumlah sistem enzim bakteri. Prajitno (2007^a) menjelaskan bahwa senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) merupakan salah satu abtibakteri yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma. Volk & Wheeler (1983) menjelaskan kerusakan pada membran memungkinkan ion anorganik yang penting, nukleotida, koenzim dan asam amino merembes ke luar sel. Selain itu, dapat mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel karena membran sitoplasma juga mengendalikan pengangkutan aktif ke dalam sel. Sehingga mengakibatkan kematian sel atau ketidakmampuan sel untuk tumbuh. Prajitno (2007^a) menjelaskan bahwa ion H⁺ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid, tannin) 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. Selain bekerja dengan menguraikan fosfolipid pada membran

sel, fenol juga bekerja dengan cara mendenaturasi protein. Proses denaturasi protein menurut Prajitno (2007^b), adalah gugus karbonil yang bersifat reaktif akan bereaksi dengan gugus amino 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.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Ekstrak air daun jarak pagar dapat menghambat pertumbuhan *Vibrio harveyi* dan *Aeromonas hydrophila*. Konsentrasi hambat minimal (MIC) ekstrak air daun jarak pagar terhadap pertumbuhan *V. harveyi* lebih tinggi daripada *A. hydrophila*. Pada uji cakram, zona hambat semakin luas seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang digunakan. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak air daun jarak pagar berpotensi sebagai bahan alternatif dalam pengendalian bakteri patogen pada budidaya ikan air tawar maupun air laut.

Saran

Penelitian secara *in vivo* perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun jarak pagar terhadap hewan uji.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya atas fasilitas yang telah disediakan demi terselesaikannya penelitian ini. Kami juga mengucapkan terimakasih kepada rekan sejawat dan mahasiswa program studi budidaya perairan dan semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Adamu, L.G.O., B. Edeghagba., Omolara., M. Abiola, A.I. Elijah & O.T. Ezeokoli. 2013. Antimicrobial activity of extracts of *Jatropha curcas* and *Calotropis procera* leaves against pathogenic isolates from motorcycle helmets in Lagos metropolis. International J. of Current Microbiology and Applied Sciences. 2: 292-302.
- Alamsyah, A.N. 2006. Biodiesel Jarak Pagar Bahan Bakar Alternatif Yang Ramah Lingkungan. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Arekemase, M.O., R.M.O. Kayode & A.E. Ajiboye.

2011. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Jatropha curcas* plant against some selected microorganisms. International J. of Biology. 3: 52-59.
- Austin, B. & X-H. Zhang. 2006. *Vibrio harveyi*: a significant pathogen of marine vertebrates and invertebrates. Letter in Applied Microbiology. 43: 119-124.
- Chen, L., X. Cheng., W. Shi., Q. Lu., V. L. Go., D. Heber & L. Ma. 2005. Inhibition of growth of *Streptococcus mutans*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, and vancomycin-resistant Enterococci by kurarinone, a bioactive flavonoid isolated from *Sophora flavescens*. J. of Clinical Microbiology. 43: 3574-3575.
- Cipriano, R.C., G.L. Billock & S.W. Pyle. 1984. *Aeromonas hydrophila* and motile aeromonad septicemias of fish. US Fish and Wildlife publication Paper 134.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews 12: 564-582.
- Cushnie, T.P.T & J.L. Andrew. 2005. Review antimicrobial activity of flavonoids. International J. of Antimicrobial Agents. 26: 343-356
- Dada, E.O., F.O. Ekundayo & O.O. Makanjuola. 2014. Antibacterial activities of *Jatropha curcas* (Linn) on coliform isolated from surface water in Akure, Nigeria. International J. of Biochemical Science. 10: 25-30.
- Daniyan, S.Y., M.E. Abalaka., O.M. Elemba & S.A. Aransiola. 2012. In vitro antimicrobial activity and phytochemical screening of *Jatropha curcas* seed extract. International Research J. of Pharmacy. 2: 60-64.
- Edberg, S.C. 1986. Tes Kerentanan Antimikroba Dalam Antibiotika Dan Infeksi. Alih bahasa: Chandra Sanusi. CV EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 845 hal.
- Hameed, A.S.S., K.H. Rahaman., A. Alagan & K. Yoganandhan. 2003. Antibiotic resistance in bacteria isolated from hatchery-reared larvae and post larvae of *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture. 217: 39-48.
- Hazril, G.A. 2005. Evaluasi Potensi Tanin Dari Tanaman Jarak Pagar (*Jatrophacurcas*).<http://abstraksita.fti.itb.ac.id/?abstraksi=1&details=1&id=764&tahun=2005>.
- Hervio-Heath, D., R.R. Colwell., A. Derrien., A. Robert-Pillot., J.M. Fournier & M. Pommepuy. 2002. Occurrence of pathogenic vibrios in coastal areas of France. J. of Applied Microbiology. 92: 1123-1135.
- Igbinosa, O.O., E.O. Igbinosa & O.A. Aiyeoro. 2009. Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). African J. of Pharmacy and Pharmacology. 3: 58-62.
- Jones, G.A., T.A. Mc-Allister., A.D. Muir & K.J. Chen. 1994. Effects Of Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) Condensed Tannins on Growth and Proteolysis by Four Strains Of Ruminal Bacteria. Applied and Environmental Microbiology 60: 1374-1378.
- Jun, L & N.Y.S. Woo. 2003. Pathogenicity of vibrios in fish: an overview. J. of Ocean University of Qingdao. 2: 117-128.
- Kim, S.R., L. Nonaka., M.J. Oh., Lavilla-Pitago & S. Suzuki. 2003. Distribution of oxytetracycline resistance determinant tet (34) among marine bacterial isolated of a Vibrio spesies. Microbes and Environments. 18: 74-81.
- Laith, A.R & M. Najiah. 2013. *Aeromonas hydrophila*: antimicrobial susceptibility and histopathology of isolates from diseased catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). J. Aquaculture Research Development. 5: 2-7.
- Mun'im, A. 2005. Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Flavonoida dari Crotalaria Anagyroides. Majalah Ilmu Kefarmasian. 2: 22-29.
- Narayani, M., M. Johnson., A. Sivaraman & N. Jnanakiraman. 2012. Phytochemical and antibacterial studies on *Jatropha curcas* L. J. of Chemical and Pharmaceutical Research. 4: 2639-2642.
- Nonaka, L., T. Isshiki & S. Suzuki. 2000. The occurrence of oxytetracycline resistance bacteria in the fish intestine and seawater environment. Microbes and Environments. 15: 223-228.
- Nonaka, L., T. Isshiki & S. Suzuki. 2002. Distribution of oxytetracycline resistance determinant, tet 34 among bacteria isolated from diseased fish. Microbes and Environments. 17: 26-31.
- Nyembo, K., N. Kikakedimau., H. Mutambel., N. Mbaya., T. Ekalakala & O. Bulubulu. 2012. In vitro antibacterial activity and phytochemical screening of crude extracts from *Jatropha curcas* Linn. European J. of Medical Plants. 2: 242-251.
- Pelczar, M.J & E.C.S. Chan. 1988. Dasar-

- dasar Mikrobiologi jilid 2. Penerjemah: R.S Hadioetomo, Teja I, S. Sutarmi, S.L Angka. Penerbit Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Prajitno, A. 2007^a. Penyakit Ikan-Udang : Bakteri. Penerbit Universitas Negeri Malang. Malang.
- Prajitno, A. 2007^b. Uji Sensitivitas Bio-Aktif Alami *Halimeda opuntia* terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* secara In Vitro (Uji Patogenitas Bakteri *Vibrio harveyi*). Jurnal Penelitian Perikanan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya 10: 22-27.
- Setha, B., A. Laga., M. Mahendradatta & Firdaus. 2014. Antibacterial activity of leaves extract of *Jatropha curcas*, Linn against *Enterobacter aerogenes*. International journal of scientific and technology research. 3: 129-131.
- Sharma, A., S. Saxena., U. Rani., S. Rajore & A. Batra. 2010. Broad-spectrum antimicrobial properties of medicinally important plant *Jatropha curcas*. International J. of Pharmaceutical Sciences Review and Research. 3: 11-14.
- Sivaram, V. 2004. Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections. Aquaculture. 237: 9-20.
- Subba, B & P. Basnet. 2014. Antimicrobial activity of some medicinal plants from East and central part of Nepal. International J. of Applied Sciences and Biotechnology. 2: 88-92.
- Taie, H.A.A., M.M.I. Helal., W.A. Helmy & H. Amer. 2013. Chemical composition and biological potentials of aqueous extracts of fennel (*Foeniculum vulgare L*). J. of Applied Sciences Research. 9: 1759-1767.
- Vaseeharan, B & P. Ramasamy. 2003. Control of pathogenic *Vibrio* spp. By *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon*. Letters in Applied Microbiology. 3: 83-87.
- Volk, W.A & F.W. Margaret. 1983. Mikrobiologi Dasar. Edisi ke-5. Jilid 1. Erlangga. Jakarta.