

**EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN *Rhizophora mucronata* DALAM
MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Aeromonas salmonicida*
DAN *Vibrio harveyi***

**EFFECTIVITY OF *Rhizophora mucronata* LEAF EXTRACT TO INHIBIT
Aeromonas salmonicida AND *Vibrio harveyi***

Anisa Suciati^{*}, Wardiyanto^{*} dan Sumino[†]

ABSTRACT[‡]

Infectious diseases lead to reducing aquaculture productivity. The using of chemical antibiotic was avoided since their negative effect was known, i.e. created resistant bacteria, contaminating environment and fish meat. The purpose of the research is to find the active compound from *Rhizophora mucronata* leaf and their activity to inhibit pathogenic bacteria *Aeromonas salmonicida* and *Vibrio harveyi*. Extraction procedure conducted by using maceration technique to extract type of mangrove leaf (tip, main leaf, dried leaf), and organic solvent (hexan, ethylacetate, methanol). The result of this research showed that active compound from *Rhizophora mucronata* give negative response inhibiting *Aeromonas salmonicida* while postif to *Vibrio harveyi* . The tip of *Rhizophora muncronata* leaf is more effective to inhibit pathogenic bacteria, and ethylacetate is the best solvent to extract *Rhizophora muncronata* leaf. Lethal concentration (LC-50) from *Rhizophora macronata* is 200 ppm.

^{*} Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Lampung

[†] Stasiun Karantina Ikan Panjang Lampung

[‡] Corresponding Author : jrtbp@yahoo.com

Pendahuluan

Hambatan yang sering dihadapi oleh pembudidaya ikan adalah timbulnya penyakit. Banyak faktor yang menyebabkan timbulnya penyakit diantaranya lingkungan yang buruk, virus, dan bakteri. Penularan penyakit yang disebabkan oleh bakteri dapat menyebabkan kerugian yang cukup besar, bahkan kadang dapat menyebabkan proses budidaya terhenti (Feliatra, 1999). Selama ini pencegahan terhadap serangan bakteri pada umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik. Akan tetapi, penggunaan antibiotik ternyata dapat menimbulkan efek samping bagi patogen itu sendiri maupun terhadap ikan yang dipelihara. Pemberian antibiotik secara terus menerus dapat menyebabkan organisme patogen menjadi resisten dan lebih berbahaya. Selain itu, residu dari antibiotik dapat mencemari lingkungan perairan yang mengakibatkan kualitas air menjadi turun (Nanin, 2011).

Salah satu alternatif yang dapat digunakan adalah bahan aktif dari *mangrove*. Disamping jumlahnya yang melimpah, *mangrove* juga telah banyak dimanfaatkan sebagai obat-obatan alamiah. Beberapa spesies *mangrove* bahkan secara tradisional telah digunakan sebagai bahan insektisida dan pestisida alami (Hery, 2004). Tumbuhan *mangrove* banyak tumbuh di pesisir Lampung. Jenisnya beraneka ragam mulai dari *Rhizophora* sp. *Sonneratia alba* dan lain sebagainya. *Rhizophora* sp. banyak ditemukan di Pantai Ringgung, Pesisir Lampung Timur, hingga pesisir Lampung Barat. Feliatra (2000), melaporkan bahwa beberapa spesies *mangrove* memiliki sifat antimikroba khususnya terhadap bakteri *Vibrio* sp. Sedangkan hasil

penelitian Yasmon (2000), menyebutkan bahwa ekstrak daun lebih efektif dibandingkan buah dan kulit batangnya. Maka dari itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis daun *mangrove* yang berpotensi sebagai bahan antibakteri alami, juga jenis pelarut yang paling efektif serta efektifitas ekstrak *Rhizophora mucronata* dalam menghambat bakteri *Aeromonas salmonicida* dan *Vibrio harveyi*.

Bahan dan Metode

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: 250 gram serbuk daun *Rhizophora mucronata* yang diambil dari pesisir Teluk Lampung, larutan metanol, etil asetat, dan hexan, media TSA, MHB (*muller hilton broth*), biakan *A. salmonicida* dan *V. harveyi*.

Peralatan yang digunakan adalah: sterofoam, blender, kain saring, timbangan analitik, *vacuum evaporator*, *beaker glass*, *paper disc*, cawan petri, batang kaca penyebar, mikropipet, tabung reaksi, rak tabung reaksi, dan inkubator serta *colony counter*.

Pembuatan ekstrak daun *Rhizophora mucronata* dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Bagian daun yang digunakan adalah pucuk daun, daun tua dan daun kering. Daun dicuci sampai bersih kemudian dikeringkan pada suhu ruangan dengan bantuan cahaya matahari, selanjutnya daun dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak dengan saringan sampai didapatkan bubuk halus. Kemudian sebanyak 250 gram serbuk daun diekstrak dengan tiga pelarut yaitu metanol, etil asetat, dan hexan. Kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring supaya didapatkan ekstrak yang siap digunakan.

Bakteri *A. salmonicida* dan *V. harveyi* diinokulasikan pada media agar dalam cawan petri yang telah diberi label. Isolat dengan kepadatan 10^7 CFU/ml diambil sebanyak 0,1 ml menggunakan mikropipet dan disebar menggunakan batang kaca penyebar kemudian cawan petri diinkubasi selama 24 jam (Meylia, 2010).

Uji *in vitro* dilakukan untuk melihat aktivitas antibakteri dari ekstrak daun *mangrove* terhadap bakteri *A. salmonicida* dan *V. harveyi* uji ini dilakukan dengan menggunakan uji MIC (*minimum inhibitory concentration*) menggunakan *paper disk*. Metode ini dilakukan dengan cara menentukan konsentrasi terendah dari ekstrak daun *mangrove* yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji.

Pengujian MIC dilakukan dengan metode *serial tube dilution* dengan cara membuat larutan ekstrak pada media *muller hinton broth* (MHB) dengan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm. Kemudian pada masing-masing tabung dinokulasikan bakteri dengan kepadatan 10^7 CFU/ml dan diinkubasi selama 24 jam, Uji antibakteri dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 ml biakan bakteri dan dituangkan ke dalam cawan petri yang berisi media TSA padat. Selanjutnya potongan *peper disk* yang telah dicelupkan pada ekstrak daun *mangrove* diletakkan pada permukaan media bakteri uji, biakan kemudian diinkubasikan selama 24 jam (Meylia, 2010).

Pengamatan dilakukan dengan melihat ada tidaknya daerah/ zona hambatan atau daerah jernih yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar kertas. Zona yang terbentuk diukur diameternya (Ambarwati, 2007).

Selanjutnya untuk melihat kepadatan bakteri pada masing perlakuan diambil dengan ose dan ditanam pada media TSA 2,5% dengan cara *spread* dan dihitung jumlah bakteri dengan *colony counter* setelah sebelumnya diinkubasi selama 24 jam.

Analisis nilai LC-50 dilakukan dengan menggunakan metode Finney (1971). Analisis ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan kematian bakteri uji sebanyak 50% dari populasi awal, yaitu 10^7 CFU/ml. Pengujian dilakukan dengan menggunakan lima konsentrasi, yaitu 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm. Pengamatan dilakukan dengan mengamati tingkat kekeruhan pada tabung reaksi dan dilihat pada batas konsentrasi berapa bakteri masih dapat tumbuh pada tabung reaksi.

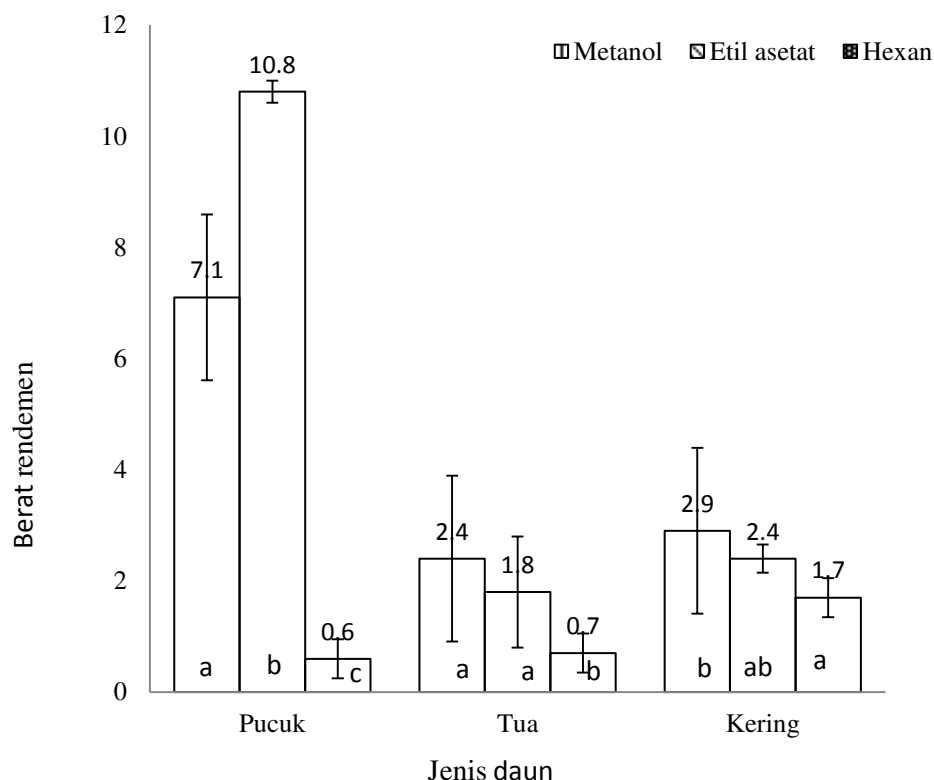
Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini menggunakan tiga jenis pelarut yaitu metanol, etil asetat dan hexan, hal ini didasarkan pada tingkat kepolaran dari masing-masing pelarut, yakni polar, semi polar dan pelarut non polar. Maksud dari penggunaan berbagai pelarut ini adalah untuk mengekstrak semua jenis bahan aktif yang mungkin dimiliki oleh daun *Rhizophora macronata*. Menurut Markham (1988), komponen yang terbawa pada proses ekstraksi adalah komponen yang berpolaritas sesuai dengan pelarutnya, sehingga jenis pelarut yang digunakan dapat mempengaruhi jumlah rendemen yang dihasilkan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan jenis daun berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) terhadap rendemen dari bahan aktif yang dihasilkan, nilai rendemen tertinggi

berturut-turut adalah daun pucuk, daun tua dan daun kering. Sedangkan pengaruh perbedaan jenis pelarut juga bersifat nyata ($P < 0,05$) terhadap rendemen yang dihasilkan, nilai rendemen tertinggi adalah menggunakan pelarut etil asetat, diikuti metanol dan heksan.

Penggunaan pelarut etil asetat menghasilkan rendemen ekstrak yang paling banyak (Gambar 1) yaitu sebanyak 10,8 gram dari jenis daun pucuk. Hal ini dimungkinkan pada pucuk daun masih banyak terdapat senyawa tumbuh baik berupa pigmen maupun zat pertumbuhan lainnya yang terekstrak oleh pelarut.



Gambar 1. Rendemen bahan aktif daun *Rhizophora mucronata*

Senyawa etil asetat merupakan pelarut semi polar, sehingga dimungkinkan banyaknya zat aktif daun *Rhizophora* yang bisa terlarut di dalamnya yang menyebabkan tingginya nilai rendemen yang dihasilkan. Menurut Correl, *et al.*, (1955), kandungan senyawa dalam

daun *mangrove* adalah golongan fenolik, alkaloid, saponin dan beberapa senyawa lainnya yang terkait dengan industri obat-obatan. Harbonne (1987), mengatakan bahwa senyawa etil asetat mampu mengekstrak senyawa fenol dan terpenoid, sedangkan metanol

mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid dan tanin, dan senyawa nonpolar heksan dapat mengekstrak golongan triterpenoid/ steroid

Bahan yang mampu larut dalam etil asetat juga berupa senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman, yang bisa dijumpai pada bagian daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga dan biji (Pramono dkk., 1993).

Uji *in vitro* bertujuan untuk menentukan jenis sampel ekstrak daun

mangrove yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida* dan *V. harveyi* secara *in vitro*. Pengujian ini didahului dengan pengujian sensitifitas bahan aktif terhadap bakteri pathogen *A. salmonicida* dan *V. harveyi*. Hasil ekstraksi dari tiga bagian daun yaitu daun pucuk (DP), daun tua (DT) dan daun rontok (DR), dengan tiga macam pelarut yaitu hexan (H), etil asetat (E) dan metanol (M), sehingga didapatkan sembilan kombinasi perlakuan yang berbeda (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Uji Sensitifitas

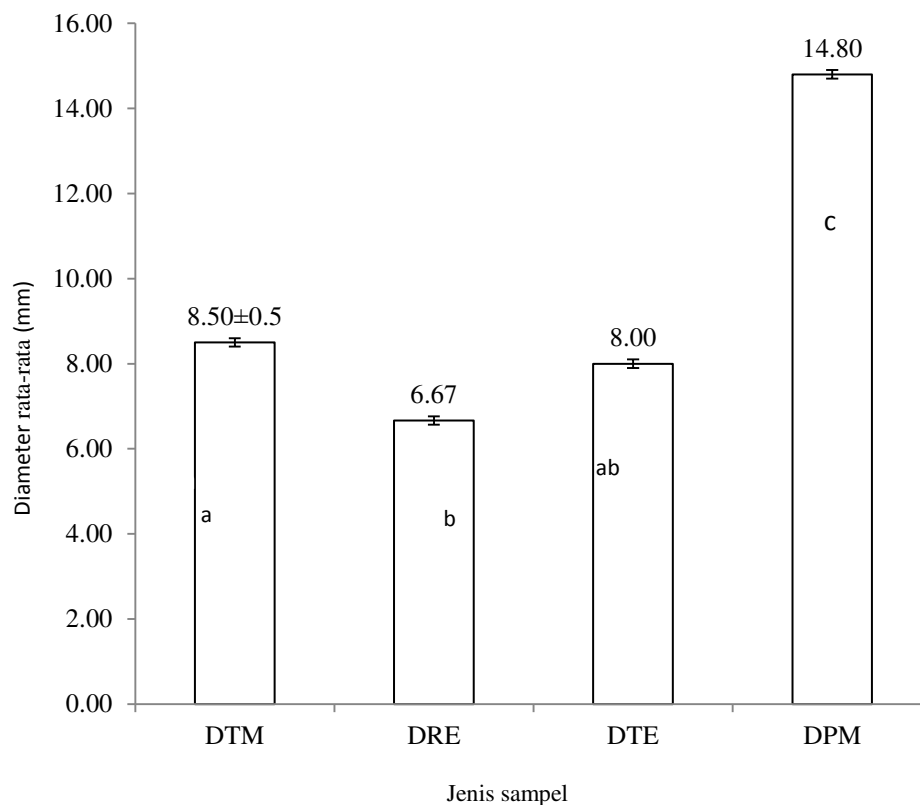
Jenis Sampel	Jenis Bakteri	
	<i>Aeromonas salmonicida</i>	<i>Vibrio harveyi</i>
DPM	-	++
DTM	-	++
DRM	-	-
DPE	-	-
DRE	-	+
DTE	-	+
DPH	-	-
DTH	-	-
DRH	-	-

Keterangan: (+) = terbentuk zona hambat

(-) = tidak terbentuk zona hambat

Bahan aktif daun *Rhizophora macronata* tidak memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. salmonicida*. Hal ini mungkin terjadi dikarenakan bakteri *A. salmonicida* merupakan bakteri yang banyak terdapat di lingkungan air tawar (Kordi, (DRE), dan daun tua etil asetat (DTE) sedangkan sampel lainnya tidak menunjukkan adanya zona hambat.

2005). Sedangkan daun *mangrove* merupakan tumbuhan dengan habitat air payau. sedangkan pada bakteri *V. harveyi*, memiliki aktifitas penghambatan terutama pada sampel daun pucuk methanol (DPM), daun tua metanol (DTM), daun rontok etil asetat



Gambar 2. Uji *in vitro* ekstrak *Rhizophora mucronata* terhadap *Vibrio harveyi*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis sampel DPM memiliki diameter zona hambat yang paling besar dibandingkan jenis sampel yang lainnya (Gambar 2). Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Feliatra (2000), yang dilakukan terhadap beberapa spesies *mangrove* memiliki antibakteri terhadap bakteri *Vibrio* sp.

Dari pengamatan diperoleh bahwa jenis sampel DPM mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* mulai pada konsentrasi 200 ppm. Pada konsentrasi yang lebih rendah yaitu 100 ppm dan 200 ppm hasil pengamatan menunjukkan bahwa warna kedua media tersebut sama dengan kontrol positif. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun *mangrove* berarti kandungan bahan antibakteri

juga semakin banyak, sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*. Perhitungan jumlah koloni bakteri *V. harveyi* (Tabel 2), dimana pada konsentrasi 300 ppm mampu menekan pertumbuhan secara signifikan dari 1×10^7 CFU/ml menjadi $5,502 \times 10^3$ CFU/ml.

Sifat antimikroba suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas yang tinggi terhadap apabila nilai konsentrasi penghambatan bakteri yang terendah (MIC) kecil, tetapi mempunyai diameter penghambatannya besar (Irianto, 2007). Suatu bahan dikatakan mempunyai aktivitas antibakteri apabila diameter hambatan yang terbentuk lebih besar atau sama dengan 6 mm (Bell, 1984).

Tabel 2. Uji MIC Ekstrak *Rhizophora mucronata* terhadap *Vibrio harveyi*.

Konsentrasi (ppm)	Pertumbuhan (TPC)
100	9,927x10 ⁶
200	8,870x10 ⁶
300	5,502x10 ³
400	3,930x10 ³
500	1,585x10 ³

Hasil perhitungan LC-50 dapat diketahui bahwa ekstrak daun mangrove (*Rhizophora mucronata*) adalah terdapat pada konsentrasi sebesar 200 ppm, hal ini sesuai dengan pernyataan Juniarti (2009) suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai LC-50 < 1000 ppm untuk suatu senyawa.

Daftar Pustaka

- Ambarwati. 2007. Efektivitas Zat Antibakteri Biji Mimba (*Azadirachta indica*) untuk Menghambat Pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Bell, S.M. 1984. Antibiotic Sensivity Testing by CDS Methods dalam: Clinical Microbiology UP Date Programme. Hertwig N, editor. New South Wales
- Correll, D.S., B. G. Schubert, H. S. Gentry and W. D. Hawley. 1955. The Search for Plant Precursors of Cortisone. Economic Botany. 52:307-375.
- Feliatra. 1999. Identifikasi Bakteri Patogen (*Vibrio* sp) di Perairan Nongsa Batam Provinsi Riau. Jurnal Natur Indonesia II .
- Feliatra. 2000. Studi Awal Tumbuhan Mangrove sebagai Antimikroba. Lembaga Penelitian Universitas Riau. 22 hal.
- Finney, D.J. 1971. Probit Analysis. Third Edition. Agricultural Research Council Unit of Statistics. United States.
- Harborne. 1987. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Penerjemah: K. Padmawinata dan I. Soediro. Penerbit ITB. Bandung.
- Hery, P. 2004. Potensi Mangrove sebagai Tanaman Obat. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Irianto, K. 2007. Mikrobiologi: Menguak Dunia Mikroorganisme. CV. Yrama Widya. Bandung
- Kordi, G.H. 2005. Penanggulanagn Hama dan Penyakit Ikan. Rineka Cipta dan Bina Adiaksara. Jakarta.
- Markham, LG. 1988. Fish Hatchery Management. United State Departemen of The Interior Fish and Wildlife Service: Washington DC. 304-306 p.
- Meylia , F. 2010. Efektivitas Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Ketahanan Tubuh Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) yang Diinfeksi *Aeromonas*

- Salmonicida*. Universitas Lampung. Lampung.
- Nanin. 2011. Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete* L.) Terhadap Bakteri *Vibrio Alginolyticus*. ITS. Surabaya.
- Pramono S., Sumarno, Wahyono S., 1993, Flavonoid Daun *Sonchus arvensis* L. Senyawa Aktif Pembentuk Komplek dengan Batu Ginjal Berkalsium. Warta Tumbuhan Obat Indonesia. Vol 2. Jakarta.
- Yasmon, A. 2000. Sensitifitas *Vibrio Parahaemolyticus* terhadap Ekstrak Mangrove *Rhizophora Apiculata* di Dalam Lumpur dan Air Laut. Skripsi Sarjana Fakultas Perikanan dan IlmuKelautan Universitas Riau. 37p.