

EKSTRAK DAUN *Avicennia marina* UNTUK MENEKAN AKTIFITAS BAKTERI *Vibrio* spp. YANG DIISOLASI DARI KEPITING BAKAU (*Scylla serrata*) SECARA *IN VITRO*

Karmila Dewi¹⁾, Ery Gusman²⁾, Mohammad Fadnan Akhmadi²⁾

¹⁾ Mahasiswa Budidaya Perikanan

²⁾ Staf Pengajar Budidaya Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan
E-mail: Karmiladewi422@gmail.com

ABSTRACT

Avicennia marina leaf extract is known to suppress the activity of *Vibrio* spp. using solvent klorform and methanol. Therefore, the authors conducted a further study using different solvents. This research interest determine the ability of extracts of *A. marina* in suppressing the activity of *Vibrio* spp. isolated from mud crab (*Scylla serrata*). *A. Marina* leaf take in Pantai Amal Lama, The process of extraction, isolation and testing of clear zone performed at the Laboratory of the Faculty of Fisheries and Marine Sciences, University of Borneo Tarakan. Stages of research are: manufacture *A. marina* leaf extract, isolation, culture of *Vibrio* spp., and data analysis. The study consisted of 6 treatments, blank control, negative control, positive control, *A. marina* leaf extract concentration of 15%, 25% and 35%, *A. marina* leaf extract in each treatment were significantly different ($P < 0.05$). Diameter of clear zone produced at a concentration of 15% obtained an average value of 12.25 ± 5.37 mm, at a concentration of 25% 24.4 ± 1.41 mm, at a concentration of 35% 30.37 ± 0.95 mm. While the positive control 42.5 ± 0.00 mm. But the blank control and negative controls do not form clear zones. Based on these results it can be concluded that there are indications *A. marina* leaf extract in suppressing the activity of *Vibrio* spp. were tested in vitro.

Keywords: *Avicennia marina*, *Vibrio*, crabs (*Scylla serrata*), in Vitro

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Kota Tarakan merupakan salah satu kota yang terdapat di Provinsi Kalimantan Utara yang memiliki luas sebesar $\pm 657,33$ km². Kota ini terdiri 38, 15% luas daratan dan 61,85% luas lautan sehingga kota ini mempunyai potensi sumberdaya perikanan yang cukup besar. Kota Tarakan merupakan pusat pengumpulan kepiting bakau (*Scylla serrata*) yang berasal dari hasil tangkapan nelayan di wilayah perairan provinsi Kalimantan Utara. Hal ini

disebabkan oleh berbagai macam faktor diantaranya adalah penurunan daya dukung lingkungan, penyakit dan manajemen budidayanya. *Vibrio* spp. adalah salah satu kelompok bakteri yang sangat mengganggu biota yang dibudidayakan (*S. serrata*) sehingga dapat menurunkan produksinya. Bakteri ini merupakan bakteri patogen yang tergolong dalam divisi bakteri, *Class Schizo-micetes*, *Order Eubacteriales*, *Family Vibrionaceae*. Bakteri ini bersifat gram negatif, fakultatif anaerobik, fermentatif, bentuk sel batang dengan ukuran panjang antara 2-3 μ m,

menghasilkan katalase dan oksidase dan bergerak dengan satu flagella pada ujung sel (Austin, 1988).

Seiring dengan perkembangan ilmu dan teknologi, beberapa pakar giat melakukan penelitian tentang mangrove. Penemuan baru dibidang farmasi sangat bermanfaat bagi kehidupan manusia, seperti ditemukannya kandungan senyawa bioaktif dari beberapa jenis mangrove yang dapat digunakan untuk bahan obat-obatan, zat antibiotik, dan bahan kosmetik, akan tetapi sebagian besar potensi sumberdaya hayati ini pemanfaatannya belum optimal. Melihat banyaknya kebutuhan akan bahan baku untuk industri farmasi tersebut, maka diadakan eksploitasi terhadap bahan-bahan yang berasal dari tumbuhan pesisir laut dan salah satu yang menjadi objek penelitian ini adalah mangrove Api- api (*Avicennia marina*).

Menurut Oktavianus (2013), bahwa ekstrak daun *Avicennia marina* diketahui dapat menekan aktifitas bakteri *Vibrio* Spp. dengan menggunakan pelarut klorform dan metanol. Oleh karena itu, penulis melakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan pelarut yang berbeda, menggunakan pelarut Etanol 70%. Maka peneliti tertarik untuk meneliti ekstrak daun *A. marina* dengan menggunakan pelarut yang berbeda untuk melihat hasil ekstrak yang didapatkan dan dapat sebagai anti bakteri pada *Vibrio* spp. yang diisolasi dari kepiting bakau di Kota Tarakan.

Adapun tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun *Avicennia marina* untuk menekan aktifitas bakteri *Vibrio* Spp. yang berpotensi sebagai antibakteri secara *In Vitro*.

METODOLOGI

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2016 sampai Februari 2017. Lokasi pengambilan sampel daun mangrove *A. marina* dilakukan di Desa Pantai Amal Kec. Tarakan Timur Kota Tarakan. Proses ekstraksi, isolasi dan pengujian zona bening dilakukan di Laboratorium lingkungan, nutrisi, biologi perikanan, dan kualitas air Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Borneo Tarakan.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan selama penelitian dibagi atas beberapa bagian : Peralatan ekstraksi daun *A. marina*, isolasi bakteri, kultur bakteri dan perlakuan (eksperimen). Alat yang digunakan dalam ekstraksi antara lain blender (Panasonic), nampan, timbangan, spatula, maserator, beaker glass dan 1 set evaporator. Sterilisasi dan Isolasi : *autoclave*, open pengering, cawan pertri, tabung reaksi, jarum ose, neraca analitik, erlenmeyer, *beaker glass*, gelas ukur, hot plate, mikropipet, *pippet tip*, rak tabung, lumpang, vortex, bunsen, botol semprot, *water bath*.

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi empat yaitu bahan yang digunakan untuk ekstraksi daun *A. marina*, isolasi bakteri, kultur bakteri dan perlakuan. Bahan yang digunakan dalam ekstraksi daun *A. marina*: daun *A. marina* yang telah dihaluskan dan etanol 70%. Bahan yang digunakan dalam isolasi bakteri : kepiting bakau, media agar TCBS (*Thiosulfate citrate balt sucrose*), Alkohol, aquades steril, tisu dan kapas *Chloramphenicol* 250 gr, pelarut etanol 70%, *Alumunium foil*, kertas label, spritus, kertas saring. Perlakuan (eksperimen) : bakteri *Vibrio* spp., ekstrak etanol daun *A. marina*.

Metode Penelitian

1. Persiapan Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan selama proses sterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit (Lim, 1998).

2. Pembuatan Ekstrak Daun *Avicennia marina*

Pengambilan daun *A. marina* dilakukan di Pantai Amal Lama daun *A. marina* diambil sebanyak 2 kg, dikeringkan dalam suhu ruang selama 7 hari. Setelah daun kering ditimbang hingga mendapatkan hasil 1,4 kg lalu diblender hingga halus, setelah halus ditimbang hingga mendapatkan hasil 500 gr kemudian dilakukan perendaman dengan metode maserasi, sebanyak 500 gr : 2 L etanol 70% selama 3 hari. Proses pemanenan dilakukan dengan cara memutar selang kaca yang ada pada alat maserasi untuk mengeluarkan cairan ekstrak. Selanjutnya cairan ekstrak dievaporasi selama 8 jam untuk memisahkan cairan etanol dari ekstrak daun *A. marina*, lalu di uapkan dengan menggunakan *water bath* selama 4 hari untuk mendapatkan ekstrak yang berbentuk pasta.

3. Isolasi

Isolasi dilakukan dengan menggunakan metode tuang (Lim, 1998). Isolasi bakteri *Vibrio* spp. yang berasal dari kepiting bakau dilakukan dengan beberapa tahap, yaitu sterilisasi alat yang dilakukan dengan cara membersihkan seluruh peralatan yang akan digunakan. Peralatan sterilisasi dengan menggunakan 2 macam sterilisasi yaitu sterilisasi basah dan kering. Proses sterilisasi disesuaikan dengan jenis peralatan yang digunakan. Peralatan yang telah digunakan kemudian dibersihkan kembali dan disimpan dalam rak atau tempat penyimpanan. Lalu dilakukan isolasi bakteri, kepiting yang masih segar dimatikan dengan cara menusuk tepat

pada bagian dada kepiting dengan menggunakan benda tajam, bagian yang diambil yaitu insang dari kepiting kemudian ditimbang sebanyak 10 gr lalu dihaluskan dengan menggunakan mortal. Setelah halus sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi aquades sebanyak 90 ml. Setelah itu dilakukan metode pengenceran dengan menyediakan 7 tabung reaksi dengan masing masing kode 10^{-1} sampai dengan 10^{-7} . Selanjutnya 10^{-7} diambil untuk dilakukan kultur bakteri, lalu menyiapkan cawan petri yang telah berisi media agar TCBS (*Thiosulfate citrate bile sucrose*) pengenceran 10^{-7} yang berisi bakteri difortex kemudian diambil sebanyak 1000 μ l dengan menggunakan mikropipet lalu dituang ke cawan petri yang berisi media TCBS, bakteri diratakan menggunakan stik kapas dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 30°C atau suhu ruang.

4. Uji antibakteri ekstrak daun *Avicennia marina*

Uji antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi lempeng agar (Lalitha, 2004). Ekstrak daun *A. marina* ditimbang sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan yaitu 35% (3,5 gr), 25% (2,5 gr), 10% (1,0 gr), masing-masing konsentrasi dilarutkan dengan pelarut aquades sebanyak 10 ml disetiap tabung reaksi. Selanjutnya dihomogenkan dengan menggunakan vortex untuk siap dilakukan pengujian (Abeyasinghe *et.al.*, 2006). Sebagai kontrol positif digunakan *Chloramphenicol* (250 gr) sebanyak 1 buah kapsul dilarutkan dengan akuades sebanyak 10 ml, kontrol negatif yang hanya menggunakan akuades 10 ml, dan pada kontrol blank tidak ada perlakuan. Kontrol positif sebagai tolak ukur menentukan kemampuan ekstrak menghambat bakteri. Jika nilai zona bening yang dihasilkan mendekati atau

melebihi nilai kontrol positif maka ekstrak berpotensi sebagai antibakteri.

Media TCBS yang telah disiapkan dituang secara perlahan ke 24 cawan petri dan dibiarkan memadat. Bakteri yang telah di kultur diambil menggunakan jarum ose yang telah disterilkan dengan bunsen, kemudian diletakkan ditabung reaksi yang berisi akuades sebanyak 10 ml dengan medote miring lalu divortex. Selanjutnya bakteri diambil menggunakan mikropipet 100 μ l dituang ke cawan petri yang telah terisi media TCBS yang padat, lalu diratakan menggunakan stik kapas. Hal ini dilakukan sebanyak 24 kali dengan mengganti setiap stik kapas yang digunakan. Masing-masing 24 cawan petri diberikan label secara acak. Ekstrak daun *A. marina* dan kontrol yang telah dilarutkan diletakkan ke cawan petri, lalu kertas cakram direndam kedalam masing-masing setiap larutan sebanyak 16 kertas cakram yang berukuran 6 mm selama 5 menit. Kemudian kertas cakram diletakkan ke dalam media yang berisi bakteri sesuai dengan label yang diberikan sebanyak 4 kertas cakram, hal itu dilakukan sebanyak 24 kali. Cawan petri diinkubasi selama 24 – 48 jam dengan suhu 30°C. Kemampuan ekstrak sebagai anti mikroba ditunjukkan dengan adanya daya hambat (zona bening) disekitar cawan petri. Untuk mendapatkan nilai zona bening yang dihasilkan dilakukan pengukuran dengan menggunakan penggaris.

5. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan 6 perlakuan 4 kali ulangan dengan perlakuan Kontrol blank, kontrol negatif, Kontrol Positif (*Chloramphenikol* 250 gr), konsentrasi 15 %, konsentrasi 25 % dan konsentrasi 35 %

6. Analisis Data

Data yang telah diperoleh berupa diameter zona bening dari masing-masing perlakuan yang dianalisis secara

deskriptif dengan menampilkan tabel dari gambar mengenai penekanan pengaruh dari masing-masing perlakuan terhadap *Vibrio* spp. maka data diameter zona bening kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis varians (One-Way ANOVA) Untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan dan kontrol. Untuk mengetahui signifikansi perbedaan rata-rata dengan tingkat kepercayaan 95 % (kesalahan yang terjadi hanya 5%). Program yang digunakan untuk menganalisis data tersebut menggunakan software SPSS 16.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun Mangrove *Avicennia marina*

Sampel mangrove yang digunakan adalah daun yang tua dan kondisinya utuh. Sampel daun *Avicennia marina* diambil sebanyak 2 kg, lalu dikering anginkan pada suhu ruangan selama 7 hari. Didapatkan berat kering sampel sebanyak 1,4 kg (70%) dan berat air 0,6 kg (30%). Sampel daun *A.marina* kemudian dihaluskan, lalu ditimbang dan didapatkan berat sampel daun *A.marina* sebanyak 500 gr (35,7%). Selanjutnya dilakukan proses maserasi dengan menggunakan etanol 70% sebanyak 2 liter. Setelah melewati proses maserasi, evaporasi dan Penguapan didapatkan berat ekstrak kasar atau rendemen daun *Avicennia marina* sebanyak 48,45 gr (9,69%). Nilai berat ekstrak diperoleh dari hasil penimbangan ekstrak yang ada pada gelas bekker dengan mengurangi berat bobot awal (*glass bekker* tanpa ekstrak).

Isolasi Bakteri *Vibrio* spp.

Hasil dari isolasi bakteri *Vibrio* spp. pada kepiting bakau (*Scylla serrata*) yang ditumbuhkan pada media

TCBS, media tersebut merupakan media yang cocok untuk menumbuhkan dan menyuburkan bakteri *Vibrio* spp. Beberapa isolat yang tidak mampu tumbuh menunjukkan bahwa media selektif TCBS mampu mendeteksi atau menyeleksi beberapa isolat bakteri yang tidak termasuk bakteri *Vibrio* spp. Isolat yang tumbuh pada media selektif TCBS memiliki beberapa sifat morfologi koloni; warna koloni yang beragam (kuning, orange, hijau, hijau transparan dan hijau kebiruan), bentuk koloni *circular*, tepi koloni *entire* dan elevasi

koloni yang bermacam pula (*law conver*, *conver* dan *effuse*), (Ihsan dan Retnaningrum, 2017).

Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Daun *Avicennia marina*

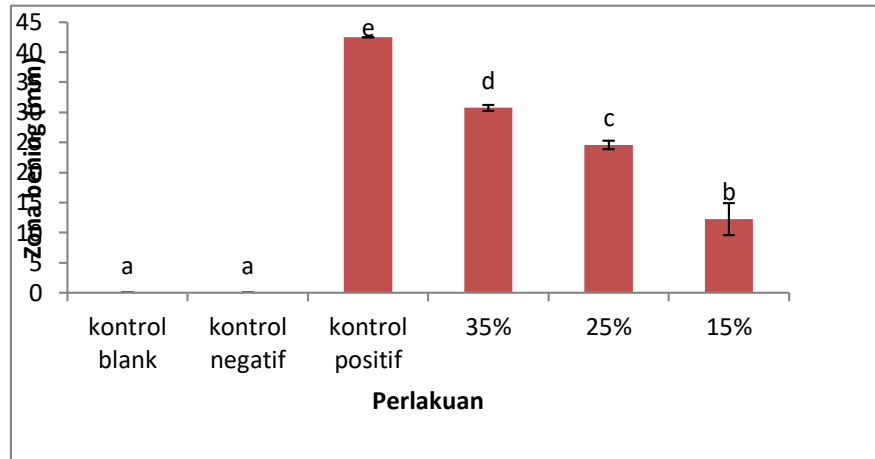
Terbentuknya zona bening akibat adanya aktivitas antibakteri hasil rendaman ekstrak daun *A.marina* Pada ekstrak daun *A. marina* dengan menggunakan etanol 70% zona bening yang dihasilkan menunjukkan hasil yang berbeda. Adapun hasil pengukuran disajikan pada tabel berikut:

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Bakteri *Vibrio* spp.

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-rata	Keterangan
	Ulangan					
Konsentrasi 35 %	32	30	31	30	30,75	Ada
Konsentrasi 25 %	25,5	25,4	25	22,5	24,6	Ada
Konsentrasi 15 %	19,5	11,7	11,3	6,5	12,25	Ada
Kontrol Positif	42,5	42,5	42,5	42,5	42,5	Ada
Kontrol Negatif	0	0	0	0	0	Tidak ada
Kontrol Blank	0	0	0	0	0	Tidak ada

Berdasarkan data Tabel 1 diketahui bahwa ekstrak daun *A. marina* berpengaruh untuk menghambat pertumbuhan Bakteri *Vibrio* spp. Hal ditunjukkan oleh nilai diameter zona bening yang dihasilkan dari daun ekstrak daun *A.marina*. Pada perlakuan yang telah diberikan, hasil tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan dengan konsentrasi 35% dengan zona bening yang dihasilkan adalah sebesar 30,75 mm. Selanjutnya pada perlakuan dengan konsentrasi 25% dihasilkan zona bening sebesar 24,6 mm dan pada perlakuan 15% dihasilkan zona bening terendah sebesar 12,25 mm. Hasil zona bening yang didapatkan dari ke 3 perlakuan dapat diketahui bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak daun *A.marina* yang diberikan maka semakin besar zona bening yang dihasilkan.

Sementara diameter zona bening yang dihasilkan oleh kontrol positif (*Chloramphenicol*) sebesar 42,5 mm hal ini dikarenakan *Chloramphenicol* cukup efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri, karena *Chloramphenicol* merupakan antibiotik bakteristatik dan bakterizidal, sedangkan pada kontrol negatif dan kontrol blank tidak menghasilkan zona bening di karenakan Aquades, media dan kertas cakram yang digunakan bukan sebagai antibakteri.



Gambar 11. Grafik Rata- rata diameter zona hambat (mm) bakteri *Vibrio* spp.

Berdasarkan hasil analisis statistik anova penggunaan ekstrak daun *A. marina* memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0.05$). Nilai rata – rata diameter zona bening yang dihasilkan perlakuan ekstrak daun *A. marina* menunjukkan perbedaan pada konsentrasi 15% didapatkan rata- rata 12,25 mm $\pm$ 5,37, pada konsentrasi 25% rata- rata diameter zona bening 24,4 mm $\pm$ 1,41 dan pada konsentrasi 35% rata- rata diameter yang didapatkan 30,37 mm $\pm$ 0,95 sedangkan pada kontrol positif yang menggunakan *Chloramphenicol* menghasilkan diameter zona bening yang lebih besar dibandingkan dengan perlakuan lainnya dimana rata- rata diameter zona bening yang dihasilkan adalah 42,5 mm $\pm$ 0,00 sedangkan pada kontrol negatif (Aquades) dan blank tidak terbentuk zona bening. Selanjutnya berdasarkan Uji BNT (uji Beda Nyata Terkecil), perlakuan terbaik didapatkan pada perlakuan kontrol positif, sedangkan perlakuan terbaik dari 3 (tiga) perlakuan ekstrak daun *A. Marina* (konsentrasi 15%, 25% dan 35%), didapatkan perlakuan terbaik pada konsentrasi 35%.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Ekstrak daun *A. marina* mampu menekan aktifitas bakteri *Vibrio* spp.

2. Ekstrak daun *A. marina* memiliki potensi sebagai obat antibakteri pada bakteri *Vibrio* spp. dengan konsentrasi yang terbaik adalah 35% dengan diameter zona bening 30,75 mm, namun masih dibawah *Chloramphenicol* dengan diameter zona bening 42,5 mm.

Saran

1. Pada penelitian ini didapatkan pada konsentrasi 35% menunjukkan zona bening yang besar maka, Perlu dilakukan Analisis lebih lanjut mengenai Ekstrak daun *A.marina* dalam penentuan konsentrasi yang optimal.
2. Di perlukan uji lanjutan secara *In vivo* pada keping yang di uji tantang dengan pemberian bakteri *Vibrio* spp. untuk mengetahui tingkat aktivitas antibakteri pada Ekstrak Daun *A.marina*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abeyasinghe, P. D., & Wanigatunge, R. P. 2006. Evaluation of antibacterial activity of different mangrove plant extracts. *Ruhuna Journal of Science*, 1, 104-112.
- Austin B. 1988. Marine microbiology, Cambridge university press. Cambridge. England 222p.

- Awaludin, R. Ahmad 2015. Analisis Kematangan Gonad Induk Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*) setelah Pemberian Ekstrak Etanol Karamunting (*Melastoma malabathricum*). Tesis. SITH ITB.
- Ihsan B, Retnaningrum E. 2017. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Vibrio* sp. Pada Kerang Kapah (*Meretrix meretrix*) di Kabupaten Trenggalek. *Jurnal Harpodon Borneo* Vol.10. No.1. April. 2017 hal 24-25
- Lalitha, M.K. 2004. *Manual on Antimicrobial Susceptibility Testing*. Christian Medical College. Vellore, Tamil Nadu.
- Lim, 1998, *Microbiology, a Laboratory Manual*, Adison-Wesley Publishing company, California.
- Oktavianus, S. 2013. *Uji daya hambat ekstrak daun mangrove jenis Avicennia marina terhadap bakteri Vibrio parahaemolyticus*. Skripsi. Universitas Hasanuddin: Makassar.