

**PENGUJIAN EFEKTIVITAS EKSTRAK KULIT BATANG *Rhizophora mucronata*
SEBAGAI ANTIBAKTERI UNTUK MENCEGAH INFEKSI BAKTERI
Streptococcus iniae PADA IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)**

*(The Effectiveness of Skin Stem Extract *Rhizophora mucronata* as Antibacterials
for Preventing Bacterial Infections *Streptococcus iniae* on Tilapia
(*Oreochromis niloticus*))*

¹Satriyadi, ²Dwi Suryanto, ³Indra Lesmana

¹Mahasiswa Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Pertanian,
Universitas Sumatera Utara, Medan (e-mail : satriyadi1992@gmail.com)

²Departemen Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia
20155

³Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas
Sumatera Utara, Medan, Indonesia 20155

ABSTRACT

*This research was aimed to know the antimicrobial potential of *R. mucronata* bark extract against *S. iniae* pathogenic bacteria, determine their toxicity to tilapia (*Oreochromis niloticus*), as well as determine the effect of immersion bark extract *R. mucronata* stem against the survival of tilapia fish seeds infected *S. iniae* bacteria. Extraction is done by maceration single use methanol, ethyl acetate and n-hexane. Tests conducted bacterium *S. iniae* characteristics and returns the bacterial virulence. Toxicity tested bark extract *R. mucronata* with a concentration of 0 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 375 ppm and 500 ppm, the mortality rate of fish in maing each concentration is 0%, 20%, 56.67%, 86.67%, 100% and obtained LC₅₀ at 195.39 ppm. The extract used to challenge test was *R. mucronata* bark extract with ethyl acetate solvent. Tilapia were used as much as 350 tails with size 1-2 cm aged 1-2 weeks and infected with the bacterium *S. iniae* density of 10⁷ CFU / ml by immersion. The test results bark extract *R. mucronata* rod solvent ethyl acetate that concentration had ability as an antibacterial that was at a concentration of 19.54 ppm with results tilapia fish survival percentage was 100%. Immersion bark extract *R. mucronata* rods significant ($P < 0.05$) on survival seeds tilapia infected bacteria *S. iniae*. Calculation of the number of colonies bacteria with methods TPC (Total Plate Count). Reduced the number of bacterial colonies after immersion of the average rate of 3.52×10^4 CFU / ml to 3.38×10^2 CFU / ml.*

Keywords: Extraction, *Streptococcus iniae*, *Rhizophora mucronata*, Tilapia, Test toxicity

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan satu diantara komoditas ikan air tawar yang mendapat perhatian besar bagi usaha perikanan terutama dalam usaha peningkatan gizi masyarakat di

Indonesia. Hal ini disebabkan ikan nila memiliki sifat-sifat menguntungkan, yaitu mudah berkembang biak, tumbuh cepat, dagingnya tebal dan kompak, toleran terhadap lingkungan yang kurang baik, dapat hidup dan berkembang biak

di air payau serta mempunyai respon yang luas terhadap makanan. Sifat-sifat tersebut yang mendorong ikan ini diintroduksi dari Taiwan ke Indonesia sebagai ikan budidaya pada tahun 1969.

Satu diantara faktor pembatas dalam keberhasilan usaha budidaya perikanan adalah penyakit infeksi yang diakibatkan oleh bakteri, virus, jamur dan parasit. Menurut Nur dkk., (2004), budidaya ikan nila pada saat ini menghadapi kendala yang serius, yaitu ikan rentan terhadap penyakit terutama karena bakterial. Salah satu jenis bakteri penyebab penyakit tersebut adalah *Streptococcus iniae*. Jenis bakteri ini dapat menimbulkan kematian ikan yang tinggi pada ikan nila dalam berbagai ukuran, termasuk pada stadia benih.

Selama ini pencegahan dan pengobatan terhadap serangan bakteri dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia untuk menekan berbagai macam penyakit yang disebabkan oleh pathogen berbahaya. Hafez dkk. (2013), menunjukkan bahwa pengobatan menggunakan terapi antibiotik pada saat ini banyak menyebabkan masalah, diantaranya seperti, anitibiotik yang menyebabkan resistensi, hipersensitivitas, toksisitas langsung, imunosupresi yang disebabkan antibiotik dan super-infeksi. Strategi baru dengan penggunaan bahan alami yang dapat menjadi imunomodulator baru untuk pengobatan terapi non-antibiotik sangat dibutuhkan untuk menghindari efek samping dari penggunaan antibiotik.

Spesies dari tumbuhan Mangrove yang memiliki potensi sebagai antibiotik alami adalah *Rhizophora mucronata*. *Rhizophora* sp. telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir untuk pengobatan alami seperti pada bagian kulit kayu, bunga, dan daunnya. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Pradana dkk. (2014), menunjukkan hasil

uji fitokimia ekstrak kulit batang *R. mucronata* mengandung senyawa alkaloid, tanin, terpen/steroid, dan saponin sedangkan, hasil uji antimikroba senyawa fitokimia ekstrak kulit batang *R. mucronata* tersebut terhadap bakteri *S. agalactiae* menunjukkan ekstrak etil asetat kulit batang *R. mucronata* tergolong kuat sampai dengan sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. agalactiae*.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan dari bulan Oktober 2015 sampai Maret 2016. Pembuatan ekstrak kulit batang *R. mucronata* di lakukan di Laboratorium Kimia Bahan Alam, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara. Pengujian daya hambat ekstrak kulit batang *R. mucronata* terhadap bakteri *S. iniae* dan Pengujian In Vivo dilakukan di Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Medan I. Pengujian LC₅₀ 48 jam dilakukan di Laboratorium Budidaya Perairan, Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.

Alat dan Bahan

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah alat tulis, kamera digital, pisau, timbangan analitik, stoples kaca, gelas ukur, corong, *blender*, Erlenmeyer, *vortex*, aluminium foil, *rotary evaporator*, spatula, cawan petri, karet gelang, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *hot plate*, ayakan, *beaker glass*, *cotton bud*, *autoclave*, *laminar air flow*, *refrigerator*/lemari es, *sprayer*, api bunsen, jarum ose, jarum suntik, pinset, *magnetic stirrer*, tisu, kapas, kertas cakram, mikropipet, jangka sorong, *inkubator*, *water bath* (penangas air), botol vial, plat TLC, spreader,

pinset, akuarium ukuran 10 x 10 x 10 cm³ sebanyak 18 buah, aerator 6 buah, DO meter, Thermometer, pH meter.

Adapun bahan yang digunakan adalah pelarut n-heksana (non polar), etil asetat (semi polar), metanol (polar), kulit batang *R. mucronata*, akuades steril, alkohol 70 %, spiritus, isolat *S. iniae*, Dimethyl sulfoxide (DMSO), *Tryptic Soy Agar* (TSA), Media agar Darah, BHIA, BHI Cair, kloramfenikol, larutan Mc. Farland 0.5, larutan NaCl 0,9%, larutan NaCl 6,5%, media Aesculine, media gula-gula manitol, safranin, parafin, kristal Violet, iodin, KOH 3%, Alkohol, Hidrogen Peroksida 3%, kertas oksidase, media O/F, dan benih ikan nila berukuran 1 – 2 cm sebanyak 350 ekor.

Persiapan dan Ekstraksi Kulit Batang *R. mucronata*

Kulit batang tumbuhan *R. mucronata* dikumpulkan sebanyak 25 kg dalam berat basah dari kawasan hutan Mangrove desa Denai Kuala, Kec. Pantai Labu, Kab. Deli Serdang. Pemanenan kulit batang *R. mucronata* hanya dilakukan pada pohon dengan diameter lebih dari 30 cm. Kulit batang *R. mucronata* dicuci dengan air mengalir dan dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan selama 7 hari dengan cara diangin-anginkan untuk mengurangi penguapan senyawa yang terkandung di dalamnya. Proses pengeringan ini bertujuan menurunkan kadar air sehingga tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri serta menghilangkan aktivitas enzim yang dapat menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif yang terdapat di kulit batang tumbuhan tersebut (Gunawan dan Sri, 2004). Kulit batang yang sudah kering selanjutnya dihaluskan dengan blender hingga berbentuk serbuk. Serbuk selanjutnya diayak menggunakan ayakan hingga diperoleh serbuk yang halus dan seragam. Serbuk hasil ayakan sebanyak

7,6 kg kemudian disimpan ke dalam stoples kaca.

Langkah selanjutnya adalah ekstraksi bahan aktif. Ekstraksi dalam penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi yaitu proses pengambilan senyawa zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk dalam pelarut yang sesuai dengan kepolarannya. Dalam penelitian ini digunakan tiga pelarut dengan kepolaran berbeda yaitu n-heksana (non polar), etil asetat (semi polar) dan metanol (polar). Serbuk sampel masing-masing sebanyak 4,4 kg direndam dengan 9 L pelarut etil asetat dan 1,1 kg direndam 5L pelarut metanol dan sebanyak 2,1 direndam dengan 5 L n-heksana di dalam erlenmeyer. Erlenmeyer yang berisi rendaman tersebut kemudian ditutup dengan alumunium foil selama 24 jam sambil sesekali diaduk untuk mempercepat kontak antara sampel dengan pelarut. Setelah itu sampel disaring dengan kapas sehingga diperoleh filtrat dan ampas. Filtrat yang diperoleh kemudian pelarutnya dievaporasi menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental dari kulit batang *R. mucronata*. Ekstrak kental yang diperoleh tersebut dipekatkan dengan penangas air (*water bath*) agar seluruh pelarutnya habis menguap dan diperoleh ekstrak pekat/kering. Ekstrak tersebut kemudian disimpan di dalam botol *vial* tertutup.

Uji Karakteristik dan Uji Virulensi Bakteri *S. iniae*

Isolat bakteri diperoleh dari koleksi Laboratorium BKIPM 1 Medan 1, Deli Serdang, Sumatera Utara. Pengujian karakteristik bakteri *S. iniae* dilakukan untuk memastikan bahwa isolat yang digunakan benar-benar isolat *S. iniae*. Penentuan karakteristik bakteri dilakukan dengan : Uji Morfologi meliputi : Pewarnaan Gram,

karakteristik bentuk dan ukuran koloni; karakteristik sel dengan mengamati bentuk dan uji motilitas; Uji Biokimia meliputi : toleransi pertumbuhan pada suhu inkubasi 10° C dan 45° C selama 24 jam dan 6,5 % NaCl, Aktifitas haemolisis dalam media darah; uji oksidasi dan fermentasi (O/F); uji katalase; kemampuan menghidrolisis Aesculin agar dan uji asam D manitol sesuai dengan pustaka SNI 7545.3: 2009.

Setelah dilakukan pengujian karakteristik pada bakteri tersebut, selanjutnya dilakukan pengujian virulensi bakteri *S. iniae*. Pengujian virulensi bertujuan untuk mengembalikan tingkat virulensi (revirulensi). Untuk mengembalikan virulensi bakteri uji, *S. iniae* yang digunakan untuk injeksi pada 10 ekor ikan nila masing-masing sebanyak 0,1 ml secara intraperitoneal (Maryadi, 2009). Uji virulensi dilakukan selama empat hari. Selama masa uji dilakukan pengamatan gejala klinis dan patologis apabila ditemukan ikan yang memperlihatkan gejala klinis terinfeksi streptococcosis dilakukan isolasi. Isolat yang diperoleh selanjutnya diinokulasikan pada agar BHI dan diidentifikasi dengan uji biokimia.

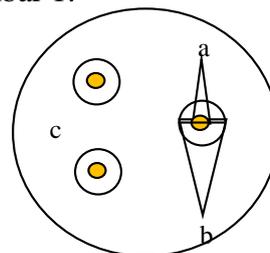
Uji daya hambat ekstrak kulit batang *R. mucronata* terhadap *S. iniae*

Penelitian ini dilakukan dengan menguji cobakan secara langsung konsentrasi ekstrak kulit batang *R. mucronata* terhadap pertumbuhan bakteri *S. iniae*. Sebelum melakukan pengujian daya hambat, dilakukan pengenceran ekstrak dan bakteri. Pengenceran bakteri uji dilakukan untuk mendapatkan larutan bakteri dengan jumlah yang sama sedangkan pengenceran ekstrak dilakukan untuk mendapatkan larutan ekstrak dengan konsentrasi yang diinginkan.

Pengujian daya hambat ekstrak kulit batang *R. mucronata* terhadap pertumbuhan bakteri menggunakan rancangan percobaan acak lengkap dengan 8 perlakuan yakni :

- a. Perlakuan dengan pelarut DMSO (K-),
- b. Perlakuan dengan kloroamfenikol (K+),
- c. Perlakuan konsentrasi ekstrak kulit batang *R. mucronata* 5%,
- d. Perlakuan konsentrasi ekstrak kulit batang *R. mucronata* 10%,
- e. Perlakuan konsentrasi ekstrak kulit batang *R. mucronata* 15%,
- f. Perlakuan konsentrasi ekstrak kulit batang *R. mucronata* 30%,
- g. Perlakuan konsentrasi ekstrak kulit batang *R. mucronata* 40%,
- h. Perlakuan konsentrasi ekstrak kulit batang *R. mucronata* 50%.

Masing - masing perlakuan diulang sebanyak 3 ulangan. Parameter yang diukur adalah luas daerah hambat. Diameter zona hambat dideskripsikan dengan Gambar 1.



Gambar 1. Perhitungan diameter zona hambat antibakteri

Keterangan:

- a = Diameter kertas cakram (mm)
- b = Zona hambat yang terbentuk (mm)
- c = Daerah yang ditumbuhi bakteri
- $b - a$ = Diameter zona hambat

Uji LC₅₀ ekstrak kulit batang *R. mucronata* terhadap Ikan Nila

Ekstrak kulit batang *R. mucronata* yang paling efektif pada uji daya hambat kulit batang *R. mucronata* terhadap *S. iniae* selanjutnya digunakan pada uji LC₅₀. Konsentrasi uji yang digunakan

adalah konsentrasi ekstrak kulit batang *R. mucronata* dengan pelarut etil asetat terhadap benih ikan nila yang berukuran 1 - 2 cm sebanyak 10 ekor per akuarium yang berisi 1 liter air dengan 5 perlakuan yakni:

- a. Tanpa perlakuan 0 ppm (Kontrol),
- b. Perlakuan ekstrak kulit batang *R. mucronata* 125 ppm,
- c. Perlakuan ekstrak kulit batang *R. mucronata* 250 ppm,
- d. Perlakuan ekstrak kulit batang *R. mucronata* 375 ppm,
- e. Perlakuan ekstrak kulit batang *R. mucronata* 500 ppm,

Masing-masing sebanyak 3 ulangan. Parameter yang diamati adalah jumlah mortalitas benih ikan nila terhadap konsentrasi ekstrak kulit batang *R. mucronata* yang berbeda dengan tetap menjaga kualitas air.

Asai Ekstrak Kulit Batang *R. mucronata* dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Infeksi *S. iniae* pada Ikan Nila

Metoda infeksi yang digunakan adalah dengan rendaman. Tiap ikan uji akan direndam dengan media yang di campur larutan bakteri *S. iniae* yang berumur lebih dari 24 jam. Kepadatan bakteri yang digunakan untuk rendaman berdasarkan hasil uji LD₅₀ yang telah dilakukan Nur dkk (2004) $\approx 10^7$ CFU/ml. Ikan uji yang telah terinfeksi *S. iniae* dipelihara dalam akuarium yang diaerasi secara terus-menerus. Ikan uji direndam dalam larutan dengan 5 perlakuan konsentrasi rendaman berbeda yang didapatkan dari hasil uji LC₅₀ ekstrak tersebut terhadap benih ikan nila. Perlakuan dengan konsentrasi rendaman yang berbeda tersebut dilakukan sebanyak 3 ulangan.

Parameter yang diamati adalah gejala klinis ikan nila (meliputi perubahan tingkah laku ikan, tingkah

laku renang, gejala klinis anatomi tubuh eksternal, morfologi tubuh, kecerahan warna tubuh dan mata, pendarahan pada tubuh, dan penjernihan operculum), kelulushidupan ikan nila (SR) dilakukan dari awal penelitian hingga akhir penelitian.

Perhitungan Koloni Bakteri *S. iniae* pada Ikan Nila

Proses penghitungan jumlah koloni bakteri *S. iniae* dengan metode cawan tuang (*pour plate*) dengan pengenceran dan untuk menghitung koloni menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Ikan yang telah terinfeksi selama 24 jam kemudian dibedah dengan mengambil organ tubuhnya. Tahap pengenceran yang digunakan yaitu 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , dan 10^{-4} .

Ukuran ikan yang digunakan sebagai ikan sampel adalah 1 - 2 cm yang berumur 2-3 minggu. Sampel organ diambil sebanyak 1 gram dan diencerkan menggunakan media BHI cair sebanyak 10 ml. Empat buah tabung reaksi diisi media BHI cair sebanyak 9 ml. Biakan bakteri diambil sebanyak 1 ml dari campuran bakteri dengan pengenceran 10^{-1} agar mendapatkan bakteri dengan pengenceran 10^{-2} , begitu seterusnya sampai pengenceran 10^{-4} . Sampel yang sudah diencerkan di *vortex* kemudian dituang sebanyak 1 ml ke media BHIA dan diberi label sesuai pengenceran. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C kemudian dihitung koloni bakteri dengan metode TPC dan dilakukan perhitungan jumlah bakteri dengan rumus berikut:

$$N_i = N_o \times \frac{1}{f_p}$$

Keterangan:

N_i = Jumlah sel bakteri (CFU/ml)

N_o = Jumlah koloni bakteri yang tumbuh

f_p = Faktor pengenceran

Pengamatan Kualitas Air

Pengamatan kualitas air dilakukan untuk menghilangkan resiko eror

penelitian yang diakibatkan oleh faktor-faktor kualitas air yang tidak mendukung kehidupan ikan Nila dalam akuarium. Penyiponan setiap hari untuk menjaga kualitas air selama percobaan dilakukan. Parameter kualitas air yang diamati adalah suhu, DO dan pH. Pengukuran dilakukan setiap hari, pada pagi dan sore hari.

Analisis Data

Pada pengujian aktivitas antibakteri data hasil pengukuran zona bening dirata-ratakan dan dianalisis dengan metode deskriptif dalam bentuk tabel dan gambar. Pengaruh pemberian ekstrak kulit batang *R. mucronata* pada berbagai konsentrasi uji terhadap toksisitas ikan nila dapat dihitung dengan analisis probit untuk menentukan LC₅₀. Perhitungan LC₅₀ dilakukan dengan persamaan regresi linear $y = a +$

bx yang didapatkan dari grafik hubungan antar log konsentrasi dengan mortalitas probit menggunakan program Microsoft excel.

Data pengujian kerentanan ikan nila terhadap infeksi bakteri *S. iniae* meliputi mortalitas (Effendi, 2002), gejala klinis pada ikan nila dan perhitungan jumlah koloni bakteri dianalisis secara deskriptif. Data kelulushidupan ikan nila dianalisa dengan analisis ragam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi/perendaman serbuk kulit batang *Rhizophora mucronata* dengan menggunakan pelarut metanol, n-heksana, dan etil asetat. Hasil ekstraksi kulit batang tumbuhan *R. mucronata* dapat dilihat pada Tabel 1.

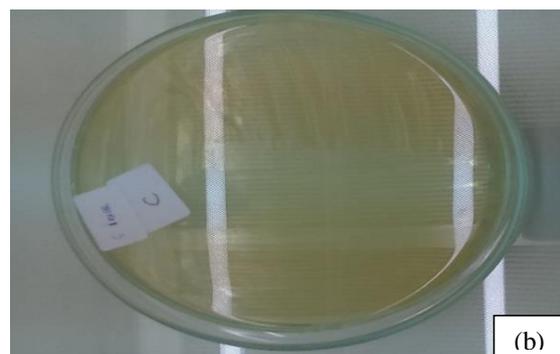
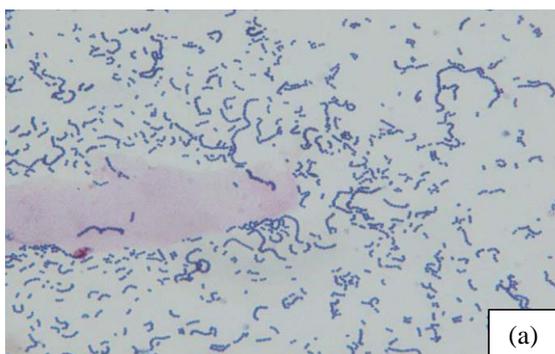
Tabel 1. Hasil ekstraksi kulit batang tumbuhan *R. mucronata*.

No.	Hasil	Metanol	Etil asetat	N-heksana
1.	Berat sampel (g)	1100	4400	2200
2.	Berat ekstrak (g)	250	20	3
3.	Bentuk	Pasta	Pasta kering	Pasta agak cair
4.	Warna	Merah kehitaman	Cokelat kemerahan	Hijau kekuningan

Uji Karakteristik Bakteri *S.iniae* dan Pengembalian Virulensi

Uji karakteristik bakteri dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri yang berasal dari isolat koleksi milik BKIPM

1 MEDAN 1 adalah bakteri *S. iniae*. Hasil pewarnaan gram dan hasil uji biokimia bakteri *S. iniae* yang dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 2



Gambar 2. Bakteri *S. iniae* (a) pewarnaan gram (b) *S. iniae* pada media BHIA

Tabel 2. Hasil pengamatan morfologi dan uji biokimia bakteri *S. iniae*

Parameter	Hasil	Pustaka SNI
Bentuk dan Warna Koloni	Putih transparan	Putih transparan
Pewarnaan Gram	+	+
Motilitas	-	-
Oksidasi O/F	F	F
Katalase	-	-
Bile Salt 40%	-	-
Pertumbuhan dalam NaCl 6,5%	-	-
Hemolisis	γ hemolysis	α hemolisis, β hemolisis, γ hemolisis
Aesculine Hydrolysis	+	+
Asam dari D-Manitol	+	+

Keterangan :

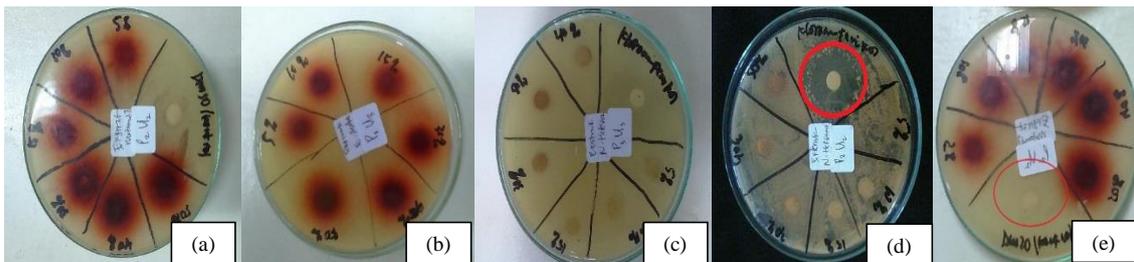
- (-) = Reaksi Negatif
- O/F = Oksidatif/Fermentatif
- (+) = Reaksi Positif
- F = Fermentatif

Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang *R. mucronata* Terhadap Bakteri *S. iniae*

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram yang menggunakan *blank disc* ukuran 6 mm. Hasil pengujian ekstrak kulit batang *R. mucronata* terhadap pertumbuhan bakteri *S. iniae* menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. iniae*. Besarnya daya hambat ekstrak kulit batang *R. mucronata* terhadap pertumbuhan bakteri *S. iniae* diketahui dengan mengukur zona bening yang menghambat pertumbuhan bakteri *S. iniae* menggunakan jangka sorong. Pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri *S. iniae* dilakukan selama 24 jam. Daya hambat ekstrak kulit batang *R. mucronata* yang paling besar terlihat pada ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 50% sebesar 21,35 mm. Zona hambat ekstrak kulit batang *R. mucronata* terhadap bakteri *S. iniae* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Zona hambat ekstrak kulit batang *R. mucronata* terhadap bakteri *S. iniae*.

Ekstrak dengan Pelarut	Rata-rata diameter zona hambat (mm)						Kontrol
	50%	40%	30%	15%	10%	5%	
Metanol	18,62	16,62	16,05	12,92	10,90	8,73	
Etil Asetat	21,35	19,16	16,27	14,42	13,66	11,93	
N-heksana	0	0	0	0	0	0	
Kloramfenikol							29,58
DMSO							0



Gambar 3. Hasil pengujian antibakteri terhadap bakteri *S. iniae*; (a) ekstrak dengan pelarut metanol (b) ekstrak dengan pelarut etil asetat (c) ekstrak dengan pelarut n-heksana (d) kontrol positif/kloramfenikol (e) kontrol negatif (DMSO).

Uji LC₅₀ Ekstrak Kulit Batang *R. mucronata* Terhadap Ikan Nila

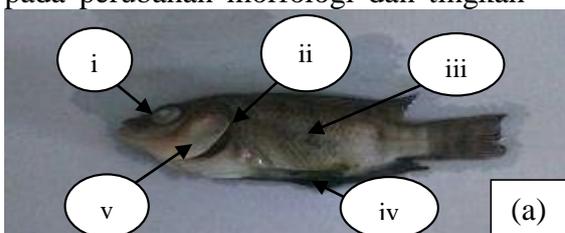
Ekstrak yang paling efektif menghambat pada uji daya hambat diaplikasikan dalam uji LC₅₀, yaitu ekstrak etil asetat. Hasil uji LC₅₀ ekstrak etil asetat dari kulit batang *R. mucronata* dapat dilihat pada Tabel 4.

Konsentrasi (ppm)	Total Populasi	Jumlah Kematian	Persen Mortalitas (%)	LC ₅₀ (ppm)
0	30	0	0	195,39
125	30	6	20	
250	30	17	56,67	
375	30	26	86,67	
500	30	30	100	

Mortalitas ikan nila terhadap ekstrak etil asetat menunjukkan bahwa pada konsentrasi 125 ppm ikan mengalami kematian sebesar 20% dari total populasi dan pada konsentrasi 500 ppm ikan sudah mengalami kematian sebesar 100%. Pada pemberian konsentrasi 250 ppm ikan mati sebanyak 56,67%. Dari hasil perhitungan uji LC₅₀ menggunakan grafik hubungan Log Konsentrasi dengan nilai probit didapatkan nilai konsentrasi yang dapat mematikan ikan sebanyak 50% adalah 195,39 ppm. Pada saat dilakukan pengujian Lc₅₀ juga dilakukan pengujian kualitas air untuk menghindari eror pada penelitian ini.

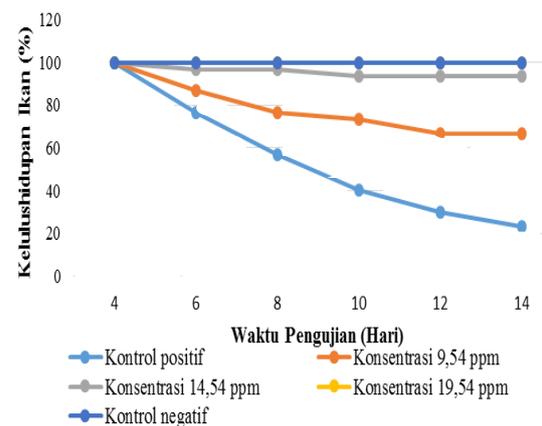
Asai Ekstrak Kulit Batang *R. mucronata* dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Infeksi *S. iniae* pada Ikan Nila

Ikan nila yang telah terinfeksi dilihat pada perubahan morfologi dan tingkah



Gambar 5. Uji tantangan (a) ikan setelah diinfeksi bakteri *S. iniae* (i) mata membesar, (ii) terjadi lesi pada sisik, (iii) geripi sebagian tubuh, (iv) pembengkakan pada anus, (v) pembengkakan pada insang dan (b) ikan setelah direndam ekstrak.

lakunya. Salah satu perubahan ikan yang terinfeksi bakteri *S. iniae* yaitu tubuhnya pucat, hilangnya sisik akibat luka dan dapat menyebabkan pendarahan bahkan kematian. Ikan yang terinfeksi kemudian dilakukan isolasi dan uji biokimia untuk memastikan ikan tersebut terinfeksi bakteri *S. iniae*. Setelah itu dilakukan asai dengan cara perendaman ekstrak. Grafik rata-rata kelulushidupan ikan nila setelah diinfeksi bakteri dan direndam ekstrak selama 14 hari pengujian dapat dilihat pada Gambar 4.



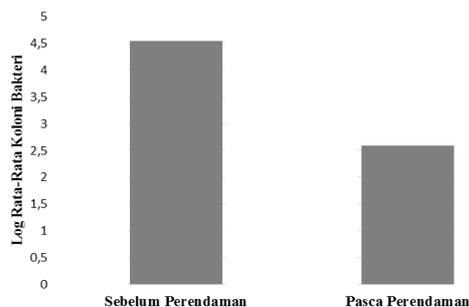
Gambar 4. Grafik akumulasi kelulushidupan ikan selama 14 hari pasca perendaman menggunakan ekstrak kulit batang *R. mucronata* dengan pelarut etil asetat.

Infeksi bakteri *S. iniae* menyebabkan perubahan warna menjadi gelap pada ikan nila, terlihat tonjolan mata yang tidak normal dan terdapat geripi pada sebagian tubuh ikan tersebut. Secara visual benih ikan nila tersebut dapat dilihat pada Gambar 5.



Perhitungan Koloni Bakteri Sebelum dan Sesudah Asai

Ikan nila yang telah terinfeksi bakteri uji dan telah dilakukan perendaman ekstrak, kemudian dihitung jumlah koloni bakteri dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Grafik penurunan jumlah koloni bakteri *S. iniae* pada ikan nila sebelum dan sesudah perendaman ekstrak dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik penurunan jumlah koloni bakteri *S. iniae* pada ikan nila sebelum direndam dan setelah perendaman ekstrak.

Parameter Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diamati untuk kelangsungan hidup ikan adalah suhu, DO dan pH. Pengukuran dilakukan setiap pagi dan sore selama pengamatan. Kisaran pengukuran parameter kualitas air dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kisaran rata-rata pengukuran kualitas air

Parameter	Kisaran Pengamatan Pagi – Sore	Kisaran Normal*
Suhu (°C)	26 – 29	25 – 33
DO (ppm)	5,3 – 5,8	5 – 8
pH	6,3 – 6,7	7 – 8

Sumber: *Dirjen Perikanan (1991)

Pembahasan Ekstraksi

Penelitian ini menggunakan tiga jenis pelarut yaitu metanol, etil asetat dan N-heksana, hal ini didasarkan pada tingkat kepolaran dari masing-masing pelarut, yakni polar, semi polar dan

pelarut non polar. Hal ini sebagaimana telah dijelaskan oleh Achmadi (1992) pada prinsipnya pemilihan pelarut adalah *like dissolve like*, artinya pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non-polar.

Dari hasil penelitian didapatkan ekstrak metanol kulit batang *R. mucronata* merupakan ekstrak dengan hasil tertinggi sedangkan ekstrak n-heksana merupakan ekstrak dengan hasil terendah. Ekstrak dengan pelarut metanol menghasilkan berat ekstrak sebesar 250 g dari 1100 g sampel dalam bentuk pasta dan berwarna merah kehitaman. Ekstrak etil asetat didapatkan sebesar 20 g dari 4400 g sampel, berbentuk pasta kering dan berwarna coklat kemerahan sedangkan ekstrak n-heksana sebesar 3 g dari 2200 g sampel, berbentuk pasta agak cair dan berwarna hijau kekuningan. Elya dkk. (2009) menambahkan bahwa perbedaan kandungan pada ekstrak disebabkan karena perbedaan sifat kepolaran dari golongan senyawa-senyawa kimia tersebut.

Uji Karakteristik Bakteri *S. iniae* dan Pengembalian Virulensi

Hasil pengamatan morfologi dan uji biokimia dapat dilihat pada Tabel. 3. Faizal (2010) menjelaskan bahwa morfologi bakteri *S.iniae* adalah koloni tumbuh pada suhu 25-45°C (suhu optimum 37°C) selama 24-48 jam, berdiameter 0,5 mm, warna putih transparan pada media BHIA, bentuk rata, permukaan convex, dan pada agar darah ada yang α hemolitik, β hemolitik dan γ hemolitik. Morfologi bakteri juga meliputi Gram positif, bentuk coccus dalam bentuk berpasangan atau rantai pendek, tidak motil, tidak membentuk spora, tidak membentuk kapsul dan bersifat *acid fast* negatif. Sifat biokimia

antara lain anaerob fakultatif dan katalase negatif.

Streptococcus iniae yang dibiakan pada media agar darah menunjukkan hasil γ hemolisis. Hal ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya lisis pada media darah yang menyebabkan tidak terjadinya perubahan warna pada media darah atau menyebabkan media darah menjadi terang disekitar tumbuhnya bakteri tersebut. γ hemolisis pada media darah juga menunjukkan bahwa tingkat virulensi bakteri tersebut adalah yang paling lemah diantara yang lainnya. Maryadi (2009) menjelaskan beberapa *Streptococcus* memproduksi hemolisin yang merupakan sekresi protein ekstra seluler dari membran lipid. Kemampuan melisis sel darah merah (hemolisis) dapat dilihat dari keadaan yang terjadi di sekitar koloni *Streptococcus* pada media agar darah. Pada γ hemolisis, aktifitas hemolisis tidak tampak atau lisis sel darah merah di sekitar koloni tidak terdeteksi.

Dalam uji pengembalian virulensi terjadi perubahan tingkah laku pada ikan uji. Ikan uji mengalami ketidaknormalan dalam aktifitasnya sampai akhirnya mengalami kematian. Hasil pengamatan gejala klinis memperlihatkan adanya perubahan berupa menurunnya respon terhadap rangsang gertak ataupun sentuh, penurunan nafsu makan, gerakan renang lemah dan sering berenang dipermukaan. Warna tubuh menjadi gelap; hemoragi pada bagian bawah tubuh, bawah sirip pectoralis dan sekitar operkulum; sirip kaudal geripis; pembesaran abdomen. Pada area injeksi terdapat lesi berupa luka dengan disertai rontok sisik. Perubahan makroskopis menunjukkan insang pucat, hati membesar dan pucat, lesi berupa erosi pada bagian lamella insang dan limpa relatif lebih gelap yang terjadi pada beberapa ekor ikan uji (Marayadi, 2009).

Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang *R. mucronata* terhadap *S. iniae*

Ekstrak kulit batang mangrove *R. mucronata* dengan pelarut etil asetat memiliki daya hambat tertinggi terhadap bakteri uji. Zona bening ekstrak dengan pelarut etil asetat pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, 30%, 40% dan 50% berkisar antara 11,93 – 21,35 mm. Berdasarkan hasil identifikasi kandungan fitokimia ekstrak kulit batang tumbuhan *R. mucronata* pada penelitian Pradana dkk. (2014), bahwa ekstrak etil asetat positif mengandung alkaloid, terpen/steroid dan saponin. Mekanisme kerja senyawa-senyawa antibakteri dalam ekstrak etil asetat bersifat sinergis atau saling mendukung sehingga terjadi penambahan efek bila terdapat dua zat aktif atau lebih. Hal ini yang menyebabkan ekstrak kulit batang *R. mucronata* dengan pelarut etil asetat menimbulkan daya hambat tertinggi terhadap bakteri uji.

Ekstrak dengan pelarut etil asetat memiliki aktivitas antibakteri yang paling besar karena memiliki zona bening yang paling besar pada bakteri *S. iniae* tersebut. Aktivitas antibakteri ekstrak dengan pelarut etil asetat pada bakteri *S. iniae* tergolong kuat sampai sangat kuat karena zona bening yang dihasilkan berkisar antara 10 – 20 mm untuk konsentrasi 5% (11,93 mm), 10% (13,66 mm), 15% (14,42 mm), 30% (16,27 mm), 40% (19,16 mm) serta lebih dari 20 mm untuk konsentrasi 50% (21,35 mm). Pengujian antibakteri ekstrak dengan pelarut metanol mampu menghambat bakteri *S. iniae* dengan aktivitas antibakteri tergolong kuat karena berkisar antara 10 – 20 mm sedangkan ekstrak n-heksana tidak menunjukkan terbentuknya zona hambat. Pradana dkk. (2014), menjelaskan dalam penelitiannya hasil uji fitokimia ekstrak n-heksana terhadap senyawa golongan alkaloid, fenolik (tanin dan flavonoid),

terpen/steroid dan saponin didapatkan hasil yang negatif. Hasil negatif tersebut menunjukkan tidak ditemukannya semua dari senyawa tersebut didalam ekstrak dengan pelarut n-heksana.

Ekstrak dengan pelarut metanol mampu menghambat bakteri *S. iniae*. Namun daya hambatan yang terbentuk lebih kecil dari daya hambatan yang dihasilkan oleh ekstrak dengan pelarut etil asetat. Hal ini disebabkan karena senyawa dalam ekstrak metanol bersifat kontradiktif atau menimbulkan efek yang berkebalikan jika terdapat dua bahan aktif atau lebih sehingga menimbulkan diameter hambatan yang lebih kecil (Pradana dkk., 2014). Hazimah dkk. (2013) menjelaskan dalam penelitiannya bahwa metanol merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan hampir sebagian besar komponen senyawa yang terdapat dalam daun *Plectranthus amboinicus* sehingga konsentrasi senyawa antibakteri terlalu kecil atau bahkan tidak nampak sama sekali.

Dari pengujian aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. iniae* didapatkan hasil bahwa kontrol negatif (DMSO) tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri karena tidak adanya zona bening ataupun zona keruh di sekitar cakram pada bakteri uji. Menurut Widowati dan Harfia (2009), DMSO merupakan pelarut yang dapat digunakan untuk melarutkan sebagian ekstrak yang tidak dapat larut dalam air dan pada konsentrasi dibawah 3% biasanya DMSO tidak toksik kepada sel.

Pengujian antibakteri digunakan kloramfenikol sebagai kontrol positif dimana menunjukkan aktivitas zona hambat yang sangat besar pada *S. iniae* yaitu berkisar 27,31 – 33,00 mm. Menurut Wattimena dkk. (1987), kloramfenikol bekerja menghambat sintesis protein bakteri dan juga sel eukariot. Antibiotik ini berpenetrasi

dengan mudah ke dalam sel bakteri, kemungkinan dengan proses difusi terfasilitasi. Antibiotik ini mengikat secara reversible unit ribosom 50 S yang akan mencengah ikatan antara asam amino yang mengandung ujung dari aminoasil t-RNA.

Pada pengujian daya hambat yang dilakukan menunjukkan hasil bahwa bakteri *S. inae* sensitif terhadap ekstrak dengan pelarut etil asetat dan metanol. Perbedaan sensitifitas antibakteri juga disebabkan oleh perbedaan pada dinding sel bakteri tersebut. Dinding sel bakteri Gram positif relatif lebih sederhana, hanya terdiri dari komponen peptidoglikan dan asam teikoat (Mulyani, 2009). Berbeda halnya dengan bakteri gram negatif yang lebih banyak mengandung lipid, sedikit peptidoglikan, membran luar berupa bilayer yang berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik (Pradana dkk., 2014). Sehingga bakteri *S. inae* terlihat sangat sensitif terhadap pengujian ekstrak tersebut.

Uji LC₅₀ Ekstrak Kulit Batang *R. mucronata* Terhadap Ikan Nila

Pengujian LC₅₀ 48 jam yang digunakan adalah ekstrak kulit batang *R. mucronata* dengan pelarut etil asetat dengan konsentrasi yang berbeda. Ekstrak dengan konsentrasi 125 ppm menunjukkan mortalitas ikan sebesar 20%, konsentrasi 250 ppm menunjukkan kematian 56,67%, konsentrasi 375 ppm menunjukkan kematian sebesar 86,67% dan konsentrasi 500 ppm menunjukan kematian pada ikan uji sebesar 100%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi pemberian konsentrasi ekstrak maka semakin meningkat pula kematian pada ikan.

Hasil perhitungan LC₅₀ 48 jam dengan menggunakan analisa probit

menunjukkan konsentrasi ekstrak 195,39 ppm menyebabkan kematian 50% pada ikan uji. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang *R. mucronata* dengan pelarut etil asetat merupakan ekstrak yang bersifat toksik terhadap ikan uji. Semakin tinggi konsentrasi, maka semakin tinggi mortalitas ikan nila. Juniarti dkk. (2009) menjelaskan suatu zat dikatakan aktif atau toksik apabila nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ untuk ekstrak dan $< 30 \mu\text{g/ml}$ untuk suatu senyawa.

Ukuran ikan dalam pengujian LC_{50} yang digunakan adalah 1-2 cm yang berumur 2 minggu hingga 3 minggu yakni pada masa stadia post larva. Hal ini juga mempengaruhi mortalitas pada ikan uji tersebut. Ikan uji yang digunakan merupakan ikan uji yang masih dalam tahap rentan terhadap faktor luar. Dari hasil pengujian disimpulkan bahwa semakin kecil ukuran ikan akan semakin meningkatkan toksisitas ekstrak kulit batang *R. mucronata* terhadap ikan tersebut.

Pada pengujian fitokimia ekstrak kulit batang *R. mucronata* dengan pelarut etil asetat yang telah dilakukan Pradana dkk. (2014) positif mengandung senyawa alkaloid, terpen/steroid dan saponin. Tingginya mortalitas pada ikan nila terjadi karena tingginya aktivitas bioaktif dari ekstrak kulit batang *R. mucronata* yang mengandung senyawa seperti alkaloid, saponin, dan fenolik (Rohaeti dkk, 2010). Saponin merupakan golongan senyawa glikosida yang dapat menimbulkan busa bila dikocok dalam air dan dapat menyebabkan hemolisis eritrosit dan dapat bersifat racun pada hewan akuatik/ikan. Saponin masuk ke dalam peredaran darah melalui insang, ketika mengambil oksigen dari air, saponin masuk ke dalam tubuh dan mengikat hemoglobin sehingga menyebabkan ikan kekurangan oksigen

dan dapat menyebabkan kematian (Lukistyowati, 2012).

Asai Ekstrak Kulit Batang *R. mucronata* dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Infeksi *S. iniae* pada Ikan Nila

Pada perlakuan kontrol negatif ikan uji dimasukkan kedalam akuarium dan dilakukan perendaman ekstrak yang telah dilarutkan dengan konsentrasi 19,54 ppm. Perendaman ekstrak tersebut dilakukan setelah 2 hari ikan berada didalam akuarium. Pada pengamatan selama 14 hari didapatkan ikan dalam keadaan normal (sehat) dan jumlah kelangsungan hidup ikan 100%. Hal ini dikarenakan nilai konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah nilai yang aman (10% dari nilai LC_{50}) terhadap ikan uji dan tanpa penginfeksian bakteri uji pada ikan tersebut.

Pada perlakuan kontrol positif didapatkan ikan mengalami kelulushidupan sebesar 23,33% dari total ikan uji yang diamati selama 14 hari. Infeksi bakteri *S. iniae* terhadap ikan uji dilakukan dengan cara merendamkan bakteri tersebut sebesar 10^7 CFU/ml pada masing-masing akuarium (Nur dkk., 2004). Setelah dilakukan perendaman bakteri terhadap ikan uji pada hari pertama dan kedua belum menunjukkan adanya tanda-tanda serangan bakteri uji terhadap ikan uji. Namun pada hari keempat, ikan uji menunjukkan mulai terinfeksi bakteri uji. Tanda tersebut berupa nafsu makan ikan uji yang menurun secara drastis. Penurunan nafsu makan pada ikan yang diberi perlakuan diduga disebabkan oleh stress sebagai akibat perlakuan dan masuknya bahan atau benda asing yang masuk kedalam tubuh. Perbedaan tingkat kepadatan bakteri juga diduga mempengaruhi tingkat stress dari masing-masing kelompok perlakuan (Maryadi, 2009).

Pada perlakuan kontrol positif menunjukkan ikan mengalami kematian

sebesar 76,67% dari hari ke-4 sampai hari ke-7 pengujian dilakukan. Namun pada hari ke-8 hingga hari terakhir pengujian menunjukkan sebesar 23,33% ikan hidup dengan normal yang ditandai dengan meningkatnya nafsu makan ikan tersebut. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Maryadi (2009) bahwa peningkatan nafsu makan pada akhir penelitian untuk kelompok perlakuan 10^6 sel/ml diduga dipengaruhi tingkat kesehatan yang sudah pulih, hal itu dapat terjadi karena respon kekebalan tubuh telah mampu menetralkan masuknya *S. iniae*.

Perlakuan ikan uji yang telah terinfeksi bakteri dengan rendaman konsentrasi ekstrak sebesar 9,54 ppm menunjukkan angka kelulushidupan ikan sebesar 66,67%, dengan rendaman konsentrasi ekstrak sebesar 14,54 ppm menunjukkan angka kelulushidupan ikan uji sebesar 93,33% dan dengan rendaman ekstrak 19,54 ppm menunjukkan angka kelulushidupan ikan uji sebesar 100%. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak terbaik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. iniae* adalah konsentrasi yang aman (10% dari LC_{50}) yaitu 19,54 ppm. Hal ini semakin menguatkan penelitian Pradana dkk. (2014) dari hasil uji fitokimia dapat diketahui bahwa secara keseluruhan kulit batang *R. mucronata* mengandung senyawa antibakteri yang meliputi alkaloid, fenolik (tanin), terpen/steroid, dan saponin yang terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dan *S. agalactiae*.

Hasil pengamatan memperlihatkan bahwa ikan yang terinfeksi bakteri *S. iniae* berupa nafsu makan yang menurun, respon (gerak dan sentuh) yang lemah dan cara berenang ikan yang lemah serta selalu berenang ke permukaan sedangkan gejala patologi yang diamati berupa adanya lesio area

injeksi, warna tubuh menjadi gelap, terdapat hemoragi pada operculum dan sebagian tubuh serta pada rahang bawah ikan uji, sirip yang mengalami geripis bagian caudal, insang yang mengalami erosi, hati yang mengalami pucat dan bengkak, limpa yang mengalami hemoragi dan pembengkakan dan gelembung renang yang membesar (Maryadi, 2009).

Hasil uji ANOVA menunjukkan kelulushidupan benih ikan nila yang diberi larutan ekstrak kulit batang *R. mucronata* secara rendaman selama 14 hari menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata bila dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini diduga karena senyawa yang terkandung dalam ekstrak dengan pelarut etil asetat pada konsentrasi 19,54 ppm dalam keadaan seimbang dan saling menguatkan antara senyawa yang satu dan lainnya dalam menghambat bakteri *S. iniae*. Sehingga mampu membunuh bakteri *S. iniae* tanpa menimbulkan efek yang nyata pada ikan uji tersebut.

Perhitungan Koloni Bakteri Sebelum dan Sesudah Asay

Jumlah rata-rata bakteri *S. iniae* dalam CFU/ml setelah di logaritma, yaitu sebelum perendaman 4,55 dan pasca perendaman 2,59. Hal ini membuktikan bahwa pertumbuhan dan perkembangbiakan sel bakteri *S. iniae* menurun setelah pemberian ekstrak. Seperti hasil yang dibuktikan pada uji tantangan bahwa pemberian ekstrak dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Perbedaan yang terjadi pada perkembangan koloni bakteri *S. iniae* antara sebelum pemberian ekstrak dan pasca pengobatan dipengaruhi oleh kandungan ekstrak tersebut. Ekstrak kulit batang *R. mucronata* mengandung senyawa-senyawa yang bekerja saling mendukung dalam menghambat dan mencegah pertumbuhan bakteri tersebut (Pradana

dkk., 2014). Kandungan senyawa dari ekstrak tersebut tidak hanya menghambat atau mencegah pertumbuhan bakteri, namun juga membunuh bakteri tersebut. Hal ini ditandai dengan hasil perhitungan koloni bakteri pada pengujian menggunakan ekstrak dengan konsentrasi 19,54 ppm yang tidak menunjukkan terjadinya pertumbuhan bakteri uji pada ikan uji tersebut.

Parameter Kualitas Air

Kisaran suhu pada penelitian ini adalah 26–29 °C, suhu tersebut masih dalam keadaan sesuai dengan kebutuhan bagi ikan nila. Menurut Dirjen Perikanan (1991) bahwa suhu optimal untuk pertumbuhan ikan nila antara 25–33 °C dan suhu minimal untuk pertumbuhannya adalah 14–38 °C.

Derajat keasaman (pH) dalam penelitian ini berkisar antara 6,3–6,7. Kisaran pH tersebut merupakan kondisi yang baik untuk habitat dan pertumbuhan ikan nila. Menurut El-Sherif (2009), kisaran pH pertumbuhan optimal pada ikan nila terjadi pada pH 7–8, sedangkan pH untuk habitat ikan nila antara 6–8.

Kandungan oksigen terlarut (DO) dalam penelitian ini berkisar antara 5,3–5,8 ppm. Kisaran DO tersebut merupakan kisaran optimum dalam pertumbuhan ikan nila. Setyo (2006) menjelaskan dalam tesisnya DO yang ideal untuk ikan nila tumbuh adalah 5–8 ppm dan minimumnya adalah 2–4 ppm.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Hasil uji antimikroba terhadap bakteri *S. iniae* menunjukkan ekstrak kulit batang *R. mucronata* dengan pelarut etil asetat memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar daripada metanol dan n-heksana.

2. Nilai hasil uji LC₅₀ ekstrak kulit batang *R. mucronata* dengan pelarut etil asetat yang mematikan benih ikan Nila sebanyak 50% adalah dengan konsentrasi 195,39 ppm.
3. Konsentrasi ekstrak kulit batang *R. mucronata* terbaik yang mampu mencegah infeksi *S. iniae* pada ikan nila dan memberikan tingkat kelulushidupan tertinggi ikan nila tersebut adalah 19,54 ppm.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji histopatologi untuk mengetahui kerusakan jaringan organ tubuh akibat serangan bakteri *S. iniae*. Selain itu perlu juga dilakukan isolasi terhadap senyawa metabolit sekunder kulit batang *R. mucronata* untuk mengetahui senyawa apa atau kombinasi senyawa apa yang memiliki potensi antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, S.S. 1992. Teknik Kimia Organik. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Dirjen Perikanan. 1991. Parameter Kehidupan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Kementrian Pertanian. Jakarta.
- Effendi, M. I. 2002. Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nusantara. Jakarta.
- El-Sherief, M. dan S., A.M. I. El-Feky. 2009. Pefomance Of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fingerlings I Effect of pH. International Journal of Agriculture Biology 11: 297–300.
- Elya B., A. Soemiati dan Farida. 2009. Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Manggis Hutan (*Garcinia rigida* Miq.). Majalah Ilmu Kefarmasian. 6(1): 9 – 17.

- Faizal, I. 2010. Pengembangan Produksi Vaksin DNA *Streptococcus iniae* untuk Pencegahan Penyakit Streptococcosis pada Ikan Nila. [Laporan Akhir]. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. Jakarta.
- Gunawan D. dan S. Mulyani. 2004. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Hafez S., M. A., A. B. Ismael, M. B. Mahmoud, A. K. A. Elaraby. 2013. Development of New Strategy for Non-Antibiotic Therapy: Bovine Lactoferrin Has a Potent Antimicrobial and Immunomodulator Effects. *Advances in Infectious Diseases*. 3: 185-192.
- Hazimah, H. Y. Teruna, C. Jose. 2013. Aktivitas Antioksidan dan Antimikrobal dari Ekstrak *Plectranthus amboinicus*. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*. 1(2): 39 – 42.
- Lukistyowati, I. 2012. Studi Efektifitas Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) untuk Mencegah Penyakit *Edwardsiellosis* pada Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). *Jurnal Berkala Perikanan Terubuk*. 40(2): 56 – 74.
- Maryadi, 2009. Studi Perkembangan Gejala Klinis dan Patologi pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang Diinfeksi dengan *Streptococcus iniae*. [Tesis]. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Mulyani, Y., E. Bachtiar, M.U. Kurnia. 2013. Peranan Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Mangrove terhadap Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Jurnal Akuatika*. 4(1):1- 9.
- Nur, Sukenda, D. Dana. 2004. Ketahanan Benih Ikan Nila Gift (*Oreochromis niloticus* LINN.) dari Hasil Induk yang Diberi Vaksin terhadap Infeksi Buatan *Streptococcus iniae*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 3 (1): 37 - 43.
- Pradana, D., D. Suryanto, Y. Djayus. 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora mucronata* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae* dan Jamur *Saprolegnia* sp. Secara *In Vitro*. *Jurnal Aquacoastmarine*. 2(1): 78 – 92.
- Rohaeti, E., I. Batubara, A. L. L. Nurrefriyanti, L. K. Darusman. 2010. Potensi Ekstrak *Rhizophora* sp. Sebagai Inhibitor Tirosinase. *Prosiding Semnas Sains III*. IPB, Bogor, 13 November 2010. p. 196-201.
- Setyo, B. P. 2006. Efek Konsentrasi Kromium (Cr³⁺) dan Salinitas Berbeda Terhadap Efisiensi Pemanfaatan Pakan Untuk Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). [Tesis]. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro. Semarang.
- Wattimena, J. R., N. C. Sugiarto, M. B. Widianto, E. Y. Sukandar, A. A. Soemardji, dan A. R. Setiadi. 1987. *Farmokodinamika dan Terapi Antibiotika*. Gajah Mada Press University, Yogyakarta.
- Widowati L dan Harfiah M. 2009. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 50% Umbi Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme* (Lood) Bi) terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 *In Vitro*. *Media Litbang Kesehatan* 19 (1): 9-14.