



JIPK

JURNAL ILMIAH PERIKANAN DAN KELAUTAN

Research Article

Daya Antibakteri Ekstrak Daun Api-Api (*Avicennia alba*) terhadap *Vibrio harveyi* Penyebab Vibriosis secara Invitro

***In Vitro* Antibacteria Activity of Api-Api (*Avicennia alba*) Leave Extract Against *Vibrio harveyi* Causes Vibriosis**

Zurica Melati Fitri¹, Kismiyati² dan Ahmad Shofy Mubarak^{3*}

¹Program Study of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Marine, Universitas Airlangga, Surabaya, East Java, Indonesia 60115

²Departement of Fish Health Management and Aquaculture, Faculty of Fisheries and Marine, Universitas Airlangga, Surabaya, East Java, Indonesia 60115

³Department of Marine, Faculty of Fisheries and Marine, Universitas Airlangga, Surabaya, East Java, Indonesia 60115

ARTICLE INFO

Received: September 03, 2018

Accepted: November 20, 2018

*) Corresponding author:
 E-mail: shofy.ua@gmail.com

Kata Kunci:

Avicennia alba, Antibakteri,
Vibrio harveyi, *In vitro*

Keywords:

Avicennia alba, Antibacterial,
Vibrio harveyi, *In vitro*

Abstrak

Budidaya udang dihadapkan pada berbagai kendala penyakit yang timbul dan dapat menyebabkan kematian masal pada larva udang windu, salah satunya *vibriosis* yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi*. Zat antibakteri yaitu : flavonoid, saponin dan tanin terbukti dapat membunuh beberapa bakteri patogen. Daun api – api *Avicennia alba* mengandung zat anti bakteri sehingga berpotensi digunakan untuk membunuh bakteri *Vibrio harveyi*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi optimum ekstrak daun api-api (*Avicennia alba*) dalam menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan perlakuan konsentrasi ekstrak daun api-api (*Avicennia alba*) sebesar 100%, 90% 80%, 70%, 60%, 50%, 40%. 30%, 20%, 10%, 0%. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan pertumbuhan koloni pada uji *Minimum Bacteria Concentration* (MBC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi 60% ekstrak daun *Avicennia alba* dapat menghambat pertumbuhan *V.harveyi*. Sedangkan pada konsentrasi 90% ekstrak daun *Avicennia alba* menyebabkan bakteri *V.harveyi* terbunuh.

Abstract

Shrimp culture has various obstacles such as the emergence of diseases that can cause deaths in tiger shrimp larvae such as vibriosis caused by *Vibrio harveyi*. Some antibacterial substances such as: flavonoid, saponin and tanin inhibit and kill of several pathogenic bacteria. *Avicennia alba* leaves contain anti-bacterial substances that have the potential to be used to kill *Vibrio harveyi* bacteria. This study was aims to determined the minimum concentration of of *Avicennia alba* leaves extract for inhibit and kill the growth of *Vibrio harveyi*. This study used an experimental method, using *Avicennia alba* leaves extract concentration treatment of 100%, 90% 80%, 70%, 60%, 50%, 40%. 30%, 20%, 10%, 0%. The parameters observed in this study were Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and bacteria colony growth in Minimum Bacteria Concentration (MBC) test. The results showed that at a concentration of 60% *Avicennia alba* leaves extract could inhibit the growth of *V.harveyi*. While at a concentration of 90% *Avicennia alba* leaves extract, *Vibrio harveyi* bacteria was killed.

Cite this as: Zurika M. F., Kismiyati & Shofy M., (2018). Daya Antibakteri Ekstrak Daun Api-Api (*Avicennia alba*) terhadap *Vibrio harveyi* Penyebab Vibriosis secara Invitro. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 10(2):131–136. <http://doi.org/10.20473/jipk.v10i2.10527>

1. Pendahuluan

Udang merupakan komoditas budidaya yang memberi kontribusi besar dalam perolehan devisa dari ekspor komoditas perikanan dimana menyumbang devisa negara sebesar 7,6 miliar dolar Amerika (Kusumastanto, 2002). Budidaya udang dihadapkan pada berbagai kendala, salah satu adalah terjangkit berbagai penyakit udang yang menyebabkan kegagalan panen, diantara vibriosis, yang disebabkan oleh infeksi *Vibrio Harvey*. Vibriosis ini banyak menyerang larva udang. Larva udang yang terserang *Vibrio harveyi* terlihat berbahaya pada kondisi gelap, sehingga penyakit ini sering disebut penyakit kunang-kunang atau *luminescent vibriosis* (Lightner, 1996). Mortalitas akibat serangan bakteri ini mencapai 80 persen dalam beberapa hari (Isarangkura and Sae-Hae, 2002).

Upaya telah dilakukan untuk menanggulangi vibriosis pada udang, yakni dengan menggunakan obat kimia dan antibiotik. Penggunaan obat kimia dan antibiotik dapat membawa dampak yang serius karena menimbulkan residu pada udang dan menyebabkan timbul resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut (Muliani *et al.*, 2003). Pengendalian penyakit bakterial pada budidaya udang diarahkan pada penggunaan bahan yang ramah lingkungan yang mudah didapat sehingga tidak menimbulkan resistensi.

Burhanuddin *et al.*, (2007) mengemukakan bahwa *Avecenia* sp. yang terdapat di Indonesia mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, dan glikosida dimana senyawa tersebut dapat bertindak sebagai anti inflamasi, antioksidan, antibakteri, dan antivirus (Withanawasam, 2002). Hasil analisis fitokimia daun *Avicennia alba* diketahui mempunyai bahan kimia aktif yaitu flavonoid, saponin, dan tanin. Senyawa saponin dapat merusak membran sitoplasma dan membunuh sel bakteri (Assani, 1994). Senyawa flavonoid dapat menyebabkan denaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Pelczar *et al.*, 1998). Mulyadi (1996) membuktikan bahwa tanin mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Zat aktif tanin, saponin, dan flavonoid ekstrak daun api-api (*Avicennia alba*) diharapkan dapat menjadi alternatif untuk menghambat pertumbuhan vibriosis, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai pengendalian *Vibrio harveyi* yang ramah lingkungan dan tidak menimbulkan residu pada udang.

2. Bahan dan Metode

2.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Balai Karantina Ikan Kelas I Juanda. Bahan yang digunakan adalah daun Api-Api (*Avicennia alba*), suspensi bakteri *Vibrio harveyi*. *Tryptic Soy Broth* (TSB), aquades, etanol, DMSO 5%. Sedangkan Alat yang digunakan ini adalah cawan petri, tabung reaksi, bunsen, jarum ose, mikro pipet, sparel bengkong, erlenmeyer, laminary air flow, gelas volume, autoklaf, inkubator, rotary vacuum evaporator.

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental. Penelitian dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode pengenceran berseri (*dilution method*). Penelitian ini menggunakan 11 perlakuan konsentrasi ekstrak yaitu 0% hingga 100% dengan masing masing 3 ulangan. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah konsentrasi pengenceran terendah dari ekstrak *Avicennia alba* berupa kekeruhan dari hasil uji (MIC) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* serta pertumbuhan koloni (MBC) bakteri *Vibrio harveyi* pada media agar.

2.2.2 Prosedur Penelitian

a) Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan disterilisasi dengan autoklaf suhu 120 °C dan tekanan uap air tinggi salam 15 menit. Sedangkan untuk alat yang tidak tahan panas cukup dibilas dengan alkohol 70%.

b) Identifikasi Bakteri

Isolat bakteri *Vibrio harveyi* diperoleh dari Laboratorium Hama dan Penyakit Ikan BBPAP Jepara. Identifikasi bakteri *Vibrio harveyi* menggunakan pengamatan morfologi koloni bakteri dan pengamatan secara mikroskopik menggunakan pewarnaan gram serta pengujian sifat biokimia dari bakteri tersebut.

c) Pembuatan Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apa pun. Daun Api-Api sebanyak 1 kg dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dengan suhu kamar 25°C. Setelah kering, bahan kemudian dipotong kecil-kecil lalu digiling.

d) Pembuatan Ekstrak *Avicennia alba*

Ekstrak daun api-api (*Avicennia alba*) yang digunakan sebanyak 500 gram daun kering yang telah digiling menjadi serbuk yang kemudian direndam (maserasi) dengan etanol 2,5 liter selama 3 x 24 jam. Hasil maserasi *Avicennia alba* tersebut disaring menggunakan kertas saring dan filtrat ditampung di dalam tabung erlenmeyer. Filtrat tersebut kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 30°C selama 4 jam.

e) Persiapan Larutan Ekstrak *Avicennia alba*

Penelitian ini menggunakan sebelas konsentrasi ekstrak daun api api sebesar 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% pada media TSB. Pada konsentrasi 10% – 90% ditambahkan 1 ml suspensi bakteri *Vibrio harveyi* dengan formulasi sebagai berikut:

1. Konsentrasi 0% : 1 ml *Vibrio harveyi* + 1 ml DMSO 5% + TSB (kontrol negatif).
2. Konsentrasi 10% : 0,1 ml ekstrak *Avicennia alba* + 0,9 ml TSB
3. Konsentrasi 20% : 0,2 ml ekstrak *Avicennia alba* + 0,8 ml TSB
4. Konsentrasi 30% : 0,3 ml ekstrak *Avicennia alba* + 0,7 ml TSB
5. Konsentrasi 40% : 0,4 ml ekstrak *Avicennia alba* + 0,6 ml TSB
6. Konsentrasi 50% : 0,5 ml ekstrak *Avicennia alba* + 0,5 ml TSB
7. Konsentrasi 60% : 0,6 ml ekstrak *Avicennia alba* + 0,4 ml TSB
8. Konsentrasi 70% : 0,7 ml ekstrak *Avicennia alba* + 0,3 ml TSB
9. Konsentrasi 80% : 0,8 ml ekstrak *Avicennia alba* + 0,2 ml TSB
10. Konsentrasi 90% : 0,9 ml ekstrak *Avicennia alba* + 0,1 ml TSB
11. Konsentrasi 100% : 1 ml ekstrak *Avicennia alba* + 1 ml DMSO 5% + TSB (kontrol positif).

f) Persiapan Suspensi Bakteri *Vibrio harveyi*

Suspensi bakteri yang akan digunakan terlebih dahulu disetarkan dengan larutan standar *Mc. Farland* 0,5. Koloni bakteri dari cawan petri dilarutkan dalam aquades lalu diratakan dan diinkubasi selama 3-4 jam, kemudian disetarkan dengan standar *Mc.Farland* 0,5 yang mengandung koloni 10^7 CFU/ml.

2.3 Analisis Data

Data hasil penelitian disajikan secara deskriptif, yaitu penyajian data dalam bentuk tabel dan grafik guna mendapatkan gambaran tentang data penelitian sehingga lebih mudah dibaca dan dipahami (Dergibson dan Sugiarto, 2002)

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan secara visual pada uji MIC diperoleh hasil bahwa ekstrak *Avicennia alba* memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan *Vibrio harveyi*. Berdasarkan Tabel 1 kontrol positif terlihat jernih, yang berarti tidak ada pertumbuhan bakteri. Kontrol negatif terlihat keruh yang menandakan ada pertumbuhan bakteri yang diinokulasikan pada media TSB. Pada konsentrasi 60% hingga 90% terlihat suspensi ekstrak *Avicennia alba* jernih meskipun diinokulasikan bakteri *V.harveyi*. Hasil pengujian MIC menunjukkan bahwa ekstrak daun *Avicennia alba* mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan *V.harveyi* pada konsentrasi 60%.

Daya bunuh ekstrak daun *Avicennia alba* terhadap *Vibrio harveyi* diuji berdasarkan pengujian MBC, yaitu uji pertumbuhan bakteri yang telah diinkubasi dengan ekstrak pada media agar. Berdasarkan Tabel 2 bakteri tumbuh pada media agar dari inokulan yang diinkubasi dalam ekstrak daun *Avicennia alba* konsentrasi 60% 70% dan 80%, meskipun dalam uji MIC terlihat jernih. Peningkatan konsentrasi ekstrak daun api api menyebabkan penurunan jumlah koloni bakteri *Vibrio harveyi* dalam media agar. Pertumbuhan koloni tidak terlihat pada inokulasi bakteri setelah diinkubasi pada media dengan konsentrasi ekstrak daun api api 90%. Dari hasil uji MBC dapat disimpulkan bahwa ekstrak *Avicennia alba* memiliki aktifitas membunuh bakteri pada konsentrasi 90%,

Daun Api-Api (*Avicennia alba*) diketahui memiliki zat-zat yang mampu berfungsi sebagai zat antibakteri (Withanawasam, 2002). Fitokimia daun *Avicennia alba* mempunyai bahan kimia aktif berupa flavonoid, saponin, dan tannin (Assani, 1994). Menurut Pelczar dan Chan (1986), semakin tinggi konsentrasi antibakteri yang digunakan maka akan semakin banyak bakteri yang terbunuh. Namun penggunaan antibakteri dengan konsentrasi

tinggi dan terus menerus dapat menyebabkan resistensi dan berbahaya terhadap *host* (udang).

Pertumbuhan koloni tidak terlihat pada konsentrasi 90%. Tidak ada pertumbuhan koloni pada konsentrasi tersebut menunjukkan ekstrak *Avicennia alba* memiliki aktifitas anti bakteri dan membunuh bakteri. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol. Pada konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocor metabolit penting yang menginaktifkan sistem enzim bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi mampu merusak membran sitoplasma dan mengendapkan protein sel.

Flavonoid dapat mendenaturasi sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Pelczar dan Chan, 1998). Flavonoid menyebabkan perubahan pada membran sel bakteri yang diikuti dengan masuknya air yang tidak terkontrol ke dalam sel bakteri, hal ini menyebabkan pembengkakan sel bakteri dan pada akhirnya membran sel bakteri pecah. Saponin adalah jenis glikosida yang banyak

ditemukan dalam tumbuhan. Saponin memiliki karakteristik berupa buih. Dalam larutan yang sangat encer saponin sangat beracun. Beberapa saponin juga bekerja sebagai antimikroba. Menurut Assani (1994), senyawa saponin akan merusak membran sitoplasma dan membunuh sel.

Tanin tergolong senyawa polifenol dengan karakteristik yang dapat membentuk senyawa kompleks dengan makromolekul lain. Tanin dapat berikatan dengan dinding sel mikroorganisme dan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme atau aktivitas enzim (Smith *et al.*, 2005). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri berhubungan dengan kemampuan tanin menginaktivasi molekul yang menempel pada inang yang terdapat pada permukaan sel, enzim yang terikat pada membran sel, dan polipeptida dinding sel. Tanin yang mempunyai target polipeptida dinding sel menyebabkan kerusakan dinding sel, karena tanin merupakan senyawa fenol.

Tabel 1. Hasil pengamatan uji *minimum inhibitory concentration* (MIC)

Konsentrasi ekstrak <i>Avicennia alba</i> %	Ulangan		
	I	II	III
90	Jernih (coklat)	Jernih (coklat)	Jernih (coklat)
80	Jernih (coklat)	Jernih (coklat)	Jernih (coklat)
70	Jernih (coklat)	Jernih (coklat)	Jernih (coklat)
60	Jernih (coklat)	Jernih (coklat)	Jernih (coklat)
50	Keruh (coklat)	Keruh (coklat)	Keruh (coklat)
40	Keruh (coklat)	Keruh (coklat)	Keruh (coklat)
30	Keruh (coklat)	Keruh (coklat)	Keruh (coklat)
20	Keruh (coklat)	Keruh (coklat)	Keruh (coklat)
10	Keruh (coklat)	Keruh (coklat)	Keruh (coklat)
Kontrol negatif	Keruh (coklat)	Keruh (coklat)	Keruh (coklat)
Kontrol positif	Jernih (coklat)	Jernih (coklat)	Jernih (coklat)

Keterangan :

Jernih : Pertumbuhan bakteri terhambat

Keruh : Pertumbuhan bakteri tidak terhambat

Tabel 2. Pengamatan hasil uji *minimum bactericidal concentration* (MBC)

Konsentrasi ekstrak <i>Avicennia alba</i> %	Ulangan		
	I	II	III
90	-	-	-
80	+	+	+
70	+	+	+
60	+	+	+
50	+	+	+
40	+	+	+
30	+	+	+
20	+	+	+
10	+	+	+
Kontrol negatif	+	+	+
Kontrol positif	-	-	-

Keterangan :

- + : Ada pertumbuhan bakteri
- : Tidak ada pertumbuhan bakteri

Terjadi kerusakan dinding sel bakteri menyebabkan sel bakteri tanpa dinding yang disebut protoplasma (Jawetz *et al.*, 2001). Kerusakan pada dinding sel bakteri akan menyebabkan kerusakan membran sel, yaitu hilang sifat permeabilitas membran sel, sehingga keluar masuk zat-zat antara lain air, nutrisi, enzim-enzim tidak terseleksi.

4. Kesimpulan

Ekstrak daun api-api (*Avicennia alba*) mempunyai kemampuan menghambat bakteri *Vibrio harveyi* secara *in vitro* pada konsentrasi minimum 60%. Konsentrasi minimum ekstrak daun api-api (*Avicennia alba*) yang dapat membunuh bakteri *Vibrio harveyi* adalah 90%

Daftar Pustaka

- Assani, S. (1994). Mikrobiologi Kedokteran. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Burhanuddin, Violet., & Yuliana. (2007). Produksi dan Analisis Kualitatif Senyawa Aktif Getah Pohon Api-API (*Avicennia marina* Vierh). *Jurnal Hutan Tropis Borneo*, 8:71-83.
- Dergibson, S., & Sugiarto. (2002). Metode Statistika Untuk Bisnis dan Ekonomi. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 4-6.
- Israngkura, A., & Sae-Hae, S. (2002). A Review of The Economic Impacts of Aquatic Animal Disease. 253-286.
- Jawetz, E., Melnick, G. E., & Adelberg, C. A. (2001). Mikrobiologi kedokteran. Edisi I. Diterjemahkan oleh Penerjemah Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Salemba Medika, Surabaya
- Kusumastanto, T. (2002). Reposisi "Ocean Policy" dalam Pembangunan Ekonomi Indonesia di era Otonomi Daerah. Orasi Ilmiah Guru Besar Tetap Bidang Ilmu Kebijakan Ekonomi Perikanan dan Kelautan. Bogor. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. 1- 134
- Lightner, D. V. (1996). A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Disease of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Lousiana, USA.
- Muliani, A., Suwanto, & Lala, H. (2003). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asal Laut Sulawesi untuk Biokontrol Penyakit Vibriosis pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab)
- Mulyadi. (1996). Isolasi Tanin dari Daun Teh Hijau *Camellia sinensis* var. *sinensis* yang Berpotensi Antibakteri. (Skripsi). Bogor : IPB Press
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (1986). Dasar-dasar Mikrobiologi. Edisi 1. Universitas Indonesia Press. Jakarta. Hal. 45-49.
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (1998). Dasar-dasar Mikrobiologi II. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 192 hal

- Smith, A. H., Zoetendal, E., & Mackie, R. I. (2005). Bacterial mechanism to overcome inhibitory effects of dietary tannins. *Microbiology Ecology*, 50:197-205
- Withanawasam, D. M. (2002). Preliminary Invitro Screening of Antibacterial and Anti-Fungal Compounds of Mangrove Plant Extracts for Pathogens From Different Sources