

POTENSI ZONA HAMBAT EKSTRAK *Avicennia alba* DENGAN PELARUT BERTINGKAT TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Vibrio alginolyticus* PATHOGEN CRUSTACEA

Burhanuddin¹, Abdul Malik¹, Syawaluddin Sodiq¹, Andi Khaeriyah¹, Harnita Agusanty¹

¹ Dosen Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Muhammadiyah Makassar
E-mail: h.burhanuddin@unismuh.ac.id

Abstract

Mangroves have potential as natural antibiotics and one of them is *Avicennia alba* mangrove, because it contains antibacterial compounds such as alkaloids, saponins, flavonoids and tannins that can inhibit the growth of pathogenic bacteria in various types of crustaceans. This study aims to determine the potential antibacterial activity of fruit extracts. *Avicennia alba* in mangroves inhibits the growth of *Vibrio alginolyticus* bacteria and determines the diameter of the inhibition zone of each *Avicennia alba* mangrove fruit extract using graded solvents (n-hexane, chloroform, methanol, water). The research was carried out in the pest and disease laboratory at Hasanuddin University, Makassar. The method used in this study is the agar diffusion method using a paper disk. The results showed that mangrove fruit extract (*Avicennia alba*) had the ability to inhibit the growth of *Vibrio alginolyticus* bacteria based on the inhibition zone test and MIC test, where the highest inhibition zone was obtained in the chloroform extract of *V. alginolyticus* bacteria with an average inhibition zone of 21.09 mm at bacteria *V. alginolyticus*, and different from other extracts (N-hexan, Metanil and Water). And the MIC test value of the chloroform extract was obtained at a concentration of 250 ug/mL.

Keywords: *Avicennia alba*, zone of inhibition, *Vibrio alginolyticus*

Abstrak

Tumbuhan Mangrove memiliki potensi sebagai antibiotik alami dan salah satunya adalah mangrove jenis *Avicennia alba*, karena mengandung senyawa antibakteri seperti alkaloid, saponin, flavonoid dan juga tanin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada berbagai jenis Crustacea. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi aktivitas antibakteri dari ekstrak buah mangrove *Avicennia alba* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio alginolyticus* dan menentukan seberapa besar diameter zona hambat masing-masing ekstrak buah mangrove *Avicennia alba* dengan penggunaan pelarut bertingkat (n-heksana, kloroform, Metanol, Air). Penelitian dilaksanakan di laboratorium hama dan penyakit universitas hasanuddin makassar. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi agar dengan menggunakan paper disk. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak buah mangrove (*Avicennia alba*) memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio alginolyticus* berdasarkan uji zona hambat dan uji MIC, dimana zona hambat tertinggi diperoleh pada ekstrak kloroform pada bakteri *V. alginolyticus* dengan rata-rata zona hambat sebesar 21,09 mm pada bakteri *V. alginolyticus*, dan berbeda dengan ekstrak lainnya (N-hexan, Metanil dan Air). Dan nilai uji MIC ekstrak kloroform diperoleh pada konsentrasi 250 ug/mL.

Kata Kunci : *Avicennia alba* , zona hambat , *Vibrio alginolyticus*

PENDAHULUAN

Tumbuhan buah mangrove (*Avicennia alba*) merupakan ekosistem hutan tropis yang letaknya berbatasan antara darat dan laut (Zhou *et.al*, 2006). Buah mangrove (*A. Alba*) mengandung senyawa seperti

alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Golongan senyawa ini merupakan bahan obat-obatan modern untuk mengatasi serangan penyakit yang sering menimbulkan kendala dalam budidaya

perikanan, salah satunya ialah bakteri *Vibrio alginolyticus* (Eryanti, 1999).

Ekstrak *A. alba* merupakan salah satu antibiotik yang dapat digunakan dalam menanggulangi penyakit vibriosis pada ikan, udang, dan kepiting yang bernilai ekonomis pada usaha-usaha budidaya. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam tumbuhan buah mangrove diperoleh dengan cara ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan dengan pelarut yang melibatkan perpindahan zat terlarut ke dalam pelarut. Untuk memperoleh ekstrak yang baik maka dapat dilakukan ekstraksi secara bertingkat dimulai dari pelarut non polar (n-heksana), lalu dengan pelarut semipolar (kloroform) dan polar (metanol dan air) sehingga diperoleh ekstrak yang mengandung berturut-turut senyawa nonpolar, semipolar, dan polar (Houghton dan Raman, 1998).

Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan kajian potensi ekstrak buah mangrove *A.alba* dalam menghambat pertumbuhan bakteri terutama bakteri *V. alginolyticus* sehingga dapat digunakan sebagai alternatif penanggulangan penyakit yang efektif dan ramah lingkungan. Penelitian ini bertujuan menguji kemampuan zona hambat ekstrak buah mangrove (*A. alba*) yang diekstrak dengan pelarut bertingkat (n-heksana, kloroform, metanol, air) terhadap pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada April - Mei 2021. Sampel buah *A.alba* diperoleh dari sungai Tallo Makassar, Ekstraksi buah *A.alba* dilakukan di Laboratorium Kimia Politeknik Unhas, sementara untuk uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Hama dan Penyakit Ikan, Jurusan Perikanan, FIKP UNHAS.

Uji Zona Hambat

a) Membuat Media TSA (*Tryptic Soya Agar*)

Media TSA sebanyak 10 g dan garam sebanyak 2,5 g ditambahkan 20 ml aquades. Setelah itu masukkan semua kedalam enlenmeyer 500 ml lalu media disterilkan dengan autoclave dengan suhu 121°C selama 2 jam, kemudian media dituang kedalam tabung reaksi sebanyak 20 ml. Setelah mengeras, media diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 35°C.

b) Penumbuhan Bakteri Uji Dalam Media TCBSA

Bakteri uji yang digunakan adalah *V. Alginolyticus* dengan konsentrasi bakteri yang digunakan dalam uji zona hambat sebanyak 10⁸. Siapkan media TCBSA dan bakteri *V. alginolyticus* sebanyak 0,1 ml. Kemudian bakteri dituang kedalam cawan petri kosong yang sudah steril, lalu dituang media TCBSA yg bersuhu ± 50°C kurang lebih 20 ml. Cawang petri diputar ke arah kanan dan kiri sebanyak 5-7 kali (Sumiati 2008).

c) Mengamati zona hambat yang terbentuk

Paper disk yang telah disterilkan dengan ukuran 6 mm diletakkan kedalam setiap cawang lalu ditambahkan dengan larutan ekstrak *A. alba* dengan konsentrasi 2000 mg/L sebanyak 50 mikroliter menggunakan mikropipet, lalu diinkubasi dalam incubator selama 24 jam. Hasil yang diperoleh dinyatakan positif jika terbentuk zona hambatan (zona bening disekeliling *paper disk*) dan hasilnya dinyatakan negative jika tidak terbentuk zona hambatan. Bagian *Paper disk* yang bening diukur menggunakan jangka sorong untuk mengetahui diameter zona hambat yang

terbentuk pada setiap konsentrasi *A. alba* yang digunakan.

Uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*)

Uji MIC merupakan konsentrasi minimum yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Uji MIC dilakukan untuk menentukan konsentrasi terkecil dari ekstrak buah *A. alba* dalam menghambat pertumbuhan *V. alginolyticus*. Konsentrasi *A. alba* dicobakan mulai dari konsentrasi 2000, 1000, 500, dan 250 ug/mL.

Rancangan Percobaan

Percobaan dilakukan dengan cara experimental dengan menggunakan RAK (Rancangan Acak Kelompok). Perlakuan yg digunakan terdiri atas ekstrak *A. alba* yang diekstrak secara bertingkat dan yg diekstrak menggunakan air, Sementara untuk kelompok perlakuan terdiri atas 1 jenis bakteri uji yaitu *V. alginolyticus*.

Pengukuran Peubah

- Pengukuran zona hambat
Zona hambat diukur menggunakan jangka sorong pada setiap bakteri uji.
- Pengukuran rendemen
Untuk perhitungan rendemen ekstrak, menggunakan formulasi rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Biomassa Serbuk}} \times 100$$

Analisis Data

Data zona hambat dan % rendemen dari setiap perlakuan dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA). Jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji Tukey dengan selang kepercayaan (0,05).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Rendemen Ekstraksi *Avicennia alba*

Ekstraksi serbuk halus *A. alba* diperoleh dari sampel buah mangrove (*A.alba*) yang berat awalnya masing-masing 4 kg dengan metode maserasi atau perendaman memakai pelarut bertingkat (n-heksana, kloroform, metanol, air). Persentase rendemen simplisia ekstrak *A. alba* dengan pelarut bertingkat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase rendemen simplisia ekstrak *A. alba* dengan pelarut bertingkat

Sampel	Berat serbuk (g)	Jenis Pelarut	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
<i>A. alba</i>	300	N-heksana	1,916	0,64
		Kloroform	3,125	1,04
		Methanol	25,824	8,61
		Air	1,545	0,52

Rendemen ekstrak buah mangrove *A. alba* tertinggi diperoleh pada pelarut polar metanol sebesar 8,61%, dususul pelarut semi polar kloroform sebesar 1,04%, dan pelarut non polar n-heksan sebesar 0,64%, serta pelarut air sebesar 0,52%.

Rendemen merupakan perbandingan jumlah ekstrak yang diperoleh dari suatu bahan terhadap berat awal bahan simplisia. Hal ini dimaksudkan bahwa hasil rendemen merupakan hasil senyawa bioaktif yang terkandung dalam bahan simplisia tersebut sesuai dengan berat awal simplisia yang diperoleh. Semakin tinggi hasil persentase rendemen menunjukkan semakin banyak senyawa bioaktif yang terkandung dalam suatu bahan (Rohmansyah 2011).

Rendemen ekstrak buah mangrove *A. alba* dengan pelarut etil asetat dan metanol menghasilkan ekstrak paling banyak dibandingkan dengan pelarut lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa komponen-komponen buah mangrove cenderung larut pada pelarut yang bersifat semipolar seperti etil asetat dan pelarut polar metanol (Herawati 2011; Husniar 2017).

Tingginya presentase rendemen yang didapatkan pada pelarut polar metanol

karena metanol sebagai pelarut polar memiliki gugus fungsional alkohol berupa gugus hidroksil yang memiliki titik didih yang tinggi dan berbobot molekul rendah yang kelarutannya dalam air tinggi, sehingga menyebabkan kelarutan ekstrak menjadi tinggi (Srivastava, 2007 dan Khopkar, 2003). Semakin tinggi hasil persentase rendemen menunjukkan semakin banyak senyawa bioaktif yang terkandung dalam suatu bahan (Rohmansyah 2011).

2. Diameter Zona Hambat

Hasil uji diameter zona hambat ekstrak *A. alba* dengan pelarut bertingkat disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata diameter zona hambat berbagai pelarut ekstrak *A. alba* terhadap bakteri *V.algynoliticus*.

Pelarut Ekstrak	Zona hambat terhadap <i>V. harveyii</i> (mm)
n-heksana	6.00±0.15 ^a
Kloroform	21.09±3.40 ^b
Metanol	6.81±0.26 ^a
Air	6.00±0.10 ^a
Kontrol (+)	16,39
<i>Ciprofloxacin</i>	

Angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0.05$).

Diameter zona hambat ekstrak *A. alba* dengan pelarut bertingkat terhadap bakteri *V. algynoliticus* bervariasi pada setiap jenis pelarut (Tabel 2). Zona hambat terbesar ($P < 0.05$) diperoleh pada ekstrak *A. alba* dengan pelarut kloroform sebesar 21.09±3.40 mm. Sementara zona hambat dengan pelarut n-hexan, metanol, dan air tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) yaitu berkisar 6,0– 6,81 mm.

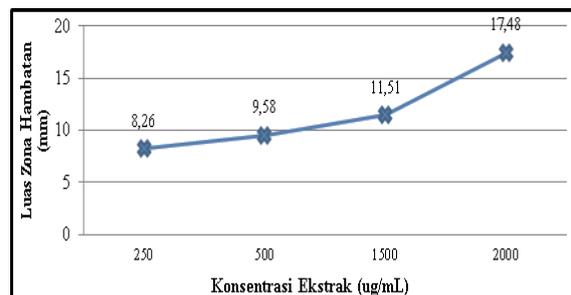
Tingginya zona hambat pada ekstrak kloroform karena sebagai pelarut semi polar kloroform memiliki kemampuan lebih tinggi untuk menembus membran sel bakteri dibanding pelarut polar (metanol dan air)

dan non polar (n-hexan) (Stellman JM 1998).

Meskipun zona hambatan rata-rata pelarut di atas lebih rendah dari pelarut kontrol positif (*Ciprofloxacin*) dengan nilai zona hambat sebesar 16,39 mm, dikarenakan *Ciprofloxacin* adalah senyawa murni sementara ekstrak masih menjadi senyawa yang belum murni karena masih banyak senyawa lain yang terdapat di dalamnya. Namun *Ciprofloxacin* tidak dianjurkan penggunaannya karena dapat membuat bakteri menjadi resisten (kebal) sebagaimana dikemukakan oleh Roza dan Zafran (1998).

3. Uji MIC (Minimum Inhibition Concentration)

Hasil uji MIC ekstrak *A.alba* dengan pelarut kloroform terhadap *V. algynoliticus* disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji MIC pada Bakteri *V. algynoliticus* ekstrak *A. alba* pada pelarut kloroform.

Hasil Uji MIC ekstrak buah *A. alba* terhadap bakteri *V. algynoliticus* yang dicobakan pada konsentrasi ekstrak 2000 µg/mL mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *V. algynoliticus* hanya sampai pada konsentrasi 250 ug/mL, Nilai MIC ekstrak *A. alba* dengan pelarut kloroform diperoleh pada konsentrasi 250 ug/mL (zona hambat rata-rata = 8,26 ug/mL).

Uji MIC bertujuan untuk mengetahui kualitas ekstrak buah mangrove dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. algynoliticus*, Penilaian kualitas berdasarkan luas zona hambatan yang

terbentuk dengan daya hambat minimum, Kegiatan diawali dengan melakukan uji screening/uji zona hambat untuk mengetahui potensi daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*.

Berdasarkan hasil uji MIC, terlihat konsentrasi dibawah 250 ug/mL yaitu 125 ug/mL ekstrak sudah tidak berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Irianto (2005), mengemukakan bahwa sifat antimikroba atau antibakteri suatu senyawa memiliki aktivitas yang tinggi terhadap bakteri patogen apabila nilai konsentrasi penghambatan bakteri terendah (MIC), tetapi diameter penghambatannya besar.

KESIMPULAN

Buah *A. alba* yang diekstrak dengan pelarut bertingkat (n-hexan, kloroform, metanol, dan air) berpotensi sebagai antibakteri terhadap *V. alginolyticus* dengan zona hambat terbesar ($21 \pm 3,40$) mm diperoleh pada pelarut kloroform.

Disarankan untuk pemanfaatan ekstrak dalam pengendalian *V. alginolyticus* pada budidaya menggunakan ekstrak metanol karena ekstrak kloroform meskipun tinggi zona hambatnya tapi sulit larut dalam air.

REFERENSI

Eryanti.1999. *Identifikasi dan Isolasi Senyawa Kimia Dari Mangrove (Hutan Bakau)*. Laporan Hasil Penelitian Pusat Penelitian Kawasan Pantai Dan Perairan. Universitas Riau.

Houghton PJ, Raman. 1998. Laboratory handbook for the fractionation of natural extract. London : Chapman & Hall.

Irianto, A. (2005). Patologi ikan teleostei. Penerbit Gajah Mada University press. Yogyakarta.

Sumiati. 2008. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan. Universitas Padjajaran. Jatinangor.

Roza, D. dan Zafran, 1998. Pengendalian *Vibrio harveyi* secara Biologis pada Larva Udang Windu (*Peneaus Monodon*) : Aplikasi Bakteri Penghambat. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia* 4 (2): 24 – 30.

Romansyah, R. 2011. Kandungan Senyawa Bioaktif Antioksidan Karang Lunak *Sarcophyton* sp. Alami dan Transplantasi di Perairan Pulau Pramuka Kepulauan Seribu. Skripsi. Bogor. Institut Pertanian Bogor. Hal : 21.

Stellman JM. (1998). Encyclopaedia of Occupational Health and Safety. Guides, Indexes, Directory: Geneva: International Labour Office.

Khopkar, S.M., (2003), Konsep Dasar Kimia Analitik, Terjemahan A. Saptorahardjo, Edisi pertama, UI Press, Jakarta.