

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra>

POTENSI ANTI OKSIDAN DAN ANTI BAKTERI *Chromolaena odorata* TERHADAP *Vibrio harveyi* PENYEBAB PENYAKIT **BLACK BODY SYNDROME** PADA KAKAP PUTIH (*Lates calcarifer*)

Nurbariah^{1*)}, Sukenda^{2)#}, Muhammad Zairin Junior³⁾, Sri Nuryati⁴⁾, dan Dinamella Wahjuningrum⁵⁾

¹⁾ Program Studi Ilmu Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Jl. Lingkar Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680

²⁾ Balai Perikanan Budidaya Air Payau Ujung Batee
Jl. Laksamana Malahayati Km.16, Ujung Batee, Aceh Besar, Nanggroe Aceh Darussalam

(Naskah diterima: 22 Februari 2021; Revisi final: 27 Mei 2021; Disetujui publikasi: 27 Mei 2021)

ABSTRAK

Kandungan bahan bioaktif pada tanaman memiliki beragam potensi aktivitas biologis dan dimanfaatkan dalam budidaya ikan sebagai alternatif untuk pencegahan dan pengobatan penyakit ikan. Serapoh (*Chromolaena odorata*) diketahui memiliki bahan bioaktif namun penerapan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit pada kakap putih belum pernah diteliti. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi antioksidan dan antibakteri daun serapoh secara *in vitro* terhadap *Vibrio harveyi* penyebab penyakit *black body syndrome* pada benih kakap putih. Penelitian secara *in vitro* melingkupi analisis fitokimia, uji antioksidan dan antibakteri. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak daun serapoh mengandung flavonoid, tannin, saponin, dan steroid. Rendemen dari hasil maserasi dengan pelarut akuades, etanol, etil asetat, dan n-heksan berturut-turut adalah 11,34%; 9,13%; 4,21%; dan 1,48%. Ekstrak etil asetat memiliki kandungan total fenol yang tertinggi (212,8 mg/g) dibanding ekstrak yang lain. Kandungan total flavonoid yang tertinggi terdapat pada ekstrak etanol (195,5 mg/g) diikuti dengan ekstrak etil asetat (20,2 mg/g), n-heksan (10,6 mg/g), dan akuades (8,1 mg/g). Nilai potensi antioksidan ekstrak etanol lebih tinggi (86,59%) dibanding ekstrak yang lain namun potensi antioksidan ekstrak etanol, etil asetat, dan akuades tidak berbeda nyata dengan asam askorbat sebagai pembanding. Ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan dapat menghambat pertumbuhan *V. harveyi*. Ekstrak etanol bersifat bakteristatik (1,25 mg/mL) dan bakterisidal (5 mg/mL), serta menyebabkan kerusakan sel sehingga metabolit seluler seperti asam nukleat dan protein dapat keluar dari sel. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun serapoh memiliki potensi antioksidan dan antibakteri terhadap *V. harveyi* sehingga dapat digunakan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit *black body syndrome* pada benih kakap putih.

KATA KUNCI: antioksidan; antibakteri; *Chromolaena odorata*; *black body syndrome*; *Vibrio harveyi*

ABSTRACT: *Antioxidant and antibacterial potential of Chromolaena odorata against Vibrio harveyi causing black body syndrome disease in asian seabass. By: Nurbariah, Sukenda, Muhammad Zairin Junior, Sri Nuryati, and Dinamella Wahjuningrum*

Bioactive compounds in plants have various potential biological activities and are commonly used in fish farming as alternatives to prevent and treat fish diseases. Serapoh (Chromolaena odorata) is known to have bioactive compounds, yet its application to prevent disease in Asian seabass has not been studied. This study aimed to evaluate the antioxidant and antibacterial potential of serapoh leaves in vitro against Vibrio harveyi, causing black body syndrome disease in Asian seabass. The performed tests in this study consisted of phytochemical analysis, antioxidant, and antibacterial tests. The results showed that serapoh leaf extract contains flavonoids, tannins, saponins, and steroids. The yields obtained from maceration with aquadest, ethanol, ethyl acetate, and n-hexane solvents were 11.34%; 9.13%; 4.21%; and 1.48%, respectively. Ethyl acetate extract had the highest total phenol content (212.8 mg/g) compared to the other extracts. Ethanol extract has the highest total flavonoid content (195.5 mg/g) followed by ethyl acetate (20.2 mg/g),

Korespondensi: Program Studi Ilmu Akuakultur FPIK IPB.
Jl. Lingkar Kampus IPB Dramaga, Bogor, 16680, Indonesia,
E-mail: sukenda@apps.ipb.ac.id

n-hexane (10.6 mg/g), and aquadest (8.1 mg/g). The highest antioxidant potential value was shown by ethanol extract (85.59%), but the antioxidant potentials of ethanol, ethyl acetate, and aquadest extracts were not significantly different from ascorbic acid. Ethanol, ethyl acetate, and *n*-hexane extracts can inhibit the growth of *V. harveyi*. Ethanol extract has bacteriostatic (1.25 mg/mL) and bactericidal (5 mg/mL) properties. The exposure of *V. harveyi* to ethanol extract resulted in cellular damage that can release cellular metabolites such as nucleic acids and proteins. In conclusion, serapoh leaf extract had antioxidant and antibacterial potential against *V. harveyi* and could be used to prevent or treat black body syndrome in Asian seabass.

KEYWORDS: *antioxidant; antibacterial; Chromolaena odorata; black body syndrome; Vibrio harveyi*

PENDAHULUAN

Pemanfaatan khasiat tanaman telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional manusia karena tanaman mengandung beragam senyawa aktif dan aktivitas biologis (Wink, 2015). Penggunaan tanaman obat dalam budidaya ikan juga dilakukan oleh pembudidaya berdasarkan khasiat yang telah terbukti pada pengobatan manusia (Caruso *et al.*, 2013). Tanaman dapat berperan sebagai antioksidan, antibakteri, antiparasit, antihelminik, imunostimulan, meningkatkan pertumbuhan, dan sintasan ikan (Citarasu, 2010; Vaseeharan & Thaya, 2013; Reverter *et al.*, 2014). Pemanfaatan tanaman obat pada budidaya ikan antara lain sebagai sumber bahan yang murah, mudah dalam pembuatan, tidak berbahaya, serta mudah terurai sehingga tidak mencemari lingkungan (Harikrishnan *et al.*, 2011; Hai, 2015).

Penyakit infeksius merupakan faktor penghambat dalam budidaya ikan yang dapat menyebabkan kegagalan produksi dan kerugian ekonomi. Bakteri sebagai agen infeksius dapat menyebabkan penyakit pada ikan. Salah satu penyakit bakterial yang menyerang benih kakap putih (1-3 cm) adalah penyakit *black body syndrome* ditemukan di wilayah Lampung. Kematian benih yang disebabkan oleh penyakit ini dapat mencapai 80% dengan gejala klinis perubahan warna tubuh menjadi hitam, tidak aktif berenang, kehilangan nafsu makan, hemoragi, dan luka pada tubuh. Beberapa jenis bakteri (*Pseudomonas stutzeri*; *Vibrio harveyi*; *Bacillus cereus*; *Salinococcus roseus*) ditemukan dari hasil identifikasi benih kakap putih yang terserang penyakit *black body syndrome* dan hasil infeksi buatan memperlihatkan bahwa bakteri *V. harveyi* lebih virulen, serta menunjukkan gejala klinis penyakit *black body syndrome* pada ikan uji (Izwar *et al.*, 2020).

Pemanfaatan tanaman obat yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri dapat menjadi alternatif untuk mengatasi serangan penyakit ikan sebagai langkah pencegahan dan pengobatan dalam manajemen kesehatan ikan. Pencarian potensi tanaman obat yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri dapat dilakukan secara *in vitro* sebelum melakukan pengujian

in vivo atau aplikasi pada komoditas budidaya. Tanaman serapoh *Chromolaena odorata* (L.) adalah salah satu tanaman yang memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan dan antibakteri yang telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional manusia. Beberapa penelitian (Rao *et al.*, 2010; Boudjeko *et al.*, 2015; Pitakpawasutthi *et al.*, 2016) membuktikan bahwa tanaman serapoh memiliki potensi sebagai antioksidan. Potensi tanaman serapoh sebagai antibakteri terbukti mampu menghambat beberapa jenis bakteri seperti *Vibrio harveyi* (Harlina *et al.*, 2015), *Enterococcus faecalis*, dan *Staphylococcus aureus* (Omokhua *et al.*, 2017). Jenis tanaman, pelarut, dan metode ekstraksi merupakan hal yang penting dipertimbangkan dalam penelitian tanaman obat untuk budidaya ikan. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi potensi tanaman serapoh terhadap bakteri penyebab penyakit *black body syndrome* pada benih kakap putih dengan pengamatan aktivitas antioksidan dan antibakteri secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Daun serapoh *C. odorata* (L.) yang digunakan berasal dari Desa Meunasah Mon (5°35'29.0"N: 95°31'25.0"E), Kecamatan Masjid Raya, Kabupaten Aceh Besar, Nanggroe Aceh Darussalam. Determinasi tanaman dilakukan di Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Alam Indonesia, Cibinong, Bogor. Isolat *Vibrio harveyi* penyebab penyakit *black body syndrome* (BBS) adalah koleksi Laboratorium Kesehatan Ikan, Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.

Pembuatan Ekstrak dan Analisis Fitokimia

Daun serapoh yang digunakan adalah daun segar berwarna hijau, pengambilan di mulai pada daun keempat dari ujung batang. Daun serapoh dibersihkan dengan air, ditiriskan, dan dikeringanginkan. Pengerinan dilanjutkan pada suhu 50°C selama 20 jam kemudian dihaluskan untuk memperoleh serbuk daun. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi (1:5 b/v) selama 24 jam dengan empat jenis pelarut yang berbeda (akuades, etanol, etil asetat, dan

n-heksan). Hasil maserasi disaring (Whatman *filter paper* no. 1) dan sisa penyaringan dimaserasi sebanyak dua kali dengan prosedur yang sama. Hasil maserasi dievaporasi pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental dan dihitung rendemen yang diperoleh. Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dari ekstrak kasar daun serapoh. Analisis kualitatif fitokimia menggunakan metode visualisasi warna sedangkan analisis kuantitatif fitokimia meliputi total fenol dan flavonoid.

Analisis Potensi Ekstrak sebagai Antioksidan

Potensi antioksidan ekstrak ditentukan dengan mengukur aktivitas penangkal radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) mengacu pada Mohamad *et al.* (2009). Sebanyak 50 µL ekstrak (10 mg/mL) dicampur dengan 1,95 mL DPPH (0,1 mM) kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Nilai absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Asam askorbat digunakan sebagai pembanding perlakuan dan DPPH tanpa pencampuran dengan ekstrak sebagai kontrol. Aktivitas penangkal radikal bebas dinyatakan sebagai persentase penghambatan radikal bebas pada sampel dan pengukuran menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{(A_0 - A_t)}{A_0} \times 100$$

di mana:

A_0 : absorbansi kontrol

A_t : absorbansi ekstrak

Aktivitas Antibakteri Ekstrak

Analisis sensitivitas bakteri uji *V. harveyi* terhadap empat jenis ekstrak menggunakan metode *disc diffusion* agar mengacu pada Harlina *et al.* (2015) dengan modifikasi. Kertas cakram steril (diameter 6 mm) ditetesi 20 µL ekstrak serapoh (10 mg/mL) kemudian ditempel pada media *tryptone soya agar* (TSA) yang diberi 2% NaCl dan telah disebar 100 µL bakteri uji (0,5 McFarland), selanjutnya diinkubasi selama 24 jam, 30°C. Kontrol negatif menggunakan akuades steril dan *Chloramphenicol* (1 mg/mL) sebagai kontrol positif. Sensitivitas bakteri uji terhadap empat jenis ekstrak diketahui dengan mengukur zona hambat.

Analisis *minimum inhibitory concentration* (MIC) dan *minimum bactericidal concentration* (MBC) dari ekstrak terpilih mengacu pada Atindehou *et al.* (2013) dengan modifikasi. Ekstrak (20 mg/mL) sebanyak 100 µL dimasukkan pada *96-well plate* dan dibuat pengenceran bertingkat (10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,313; 0,156 mg/mL) dengan *tryptone soya broth* (TSB) + 2% NaCl kemudian ditambahkan 100 µL suspensi

bakteri (10⁶ CFU/mL). Kontrol perlakuan adalah kontrol bakteri tanpa penambahan ekstrak; kontrol media; dan kontrol bakteri dengan penambahan antibiotik *Chloramphenicol* (1 mg/mL). Inkubasi selama 24 jam, 30°C, 150 rpm kemudian ditambahkan 40 µL *iodonitrotetrazolium chloride* (INT) 0,2 mg/mL dan diinkubasi kembali selama 30 menit. Pertumbuhan bakteri diindikasikan dengan perubahan warna larutan menjadi kemerahan dan nilai MIC ditunjukkan oleh konsentrasi terkecil larutan yang tidak menunjukkan perubahan warna. Untuk mengetahui nilai MBC sama seperti prosedur di atas, 50 µL ekstrak yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri ditambahkan ke 150 µL media TSB + 2% NaCl dan diinkubasi kembali selama 24 jam.

Kebocoran dan Kerusakan Sel Bakteri

Analisis kebocoran sel mengacu pada Lin *et al.* (2000) dengan modifikasi. Bakteri uji ditumbuhkan (24 jam) pada media TSB + 2% NaCl. Suspensi bakteri 10 mL disentrifugasi (4.500 rpm, 15 menit), endapan bakteri diberi larutan *phosphate buffer saline* (PBS) perbandingan 1:1 kemudian disentrifugasi kembali (4.500 rpm, 15 menit) dan prosedur pencucian dilakukan dua kali. Endapan bakteri disuspensi dalam PBS sehingga diperoleh kepadatan 10⁸ CFU/mL (0,5 McFarland). Ekstrak sebanyak 90 µL (pada konsentrasi 0,5xMIC; MIC; 2xMIC) dicampur dengan 10 µL suspensi bakteri, kontrol perlakuan adalah suspensi bakteri tanpa penambahan ekstrak dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Campuran bakteri dan ekstrak diinkubasi selama 24 jam (30°C, 150 rpm) kemudian disentrifugasi (4.500 rpm, 15 menit) dan supernatan disaring dengan filter 0,22 µm. Pengamatan kebocoran sel bakteri menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 260 nm (asam nukleat) dan 280 nm (protein).

Perubahan morfologi atau kerusakan sel bakteri uji akibat pemberian ekstrak diamati dengan *scanning electron microscope* (SEM). Suspensi bakteri 10 µL (10⁸ CFU/mL) dicampur dengan 90 µL ekstrak (10 mg/mL) dan diinkubasi selama 24 jam (30°C, 150 rpm). Pengujian terdiri atas tiga perlakuan yaitu ekstrak (10 mg/mL), kontrol bakteri tanpa penambahan ekstrak dan kontrol bakteri dengan *Chloramphenicol* (1 mg/mL). Setelah 24 jam inkubasi, suspensi campuran disentrifugasi selama 20 menit (3.500 rpm). Pelet dicuci dengan *buffer fosfat* sebanyak dua kali, direndam dengan larutan *glutaraldehid* 2% selama 24 jam kemudian direndam dengan *cacodylate buffer* selama 20 menit selanjutnya disentrifugasi dan supernatan dipisahkan. Endapan direndam dalam osmium tetraoksida 1% selama satu jam dilanjutkan dengan dehidrasi pada alkohol bertingkat 70%, 80%, 95%, dan

alkohol absolut masing-masing selama 20 menit. Endapan disuspensi dengan butanol kemudian diletakkan di atas cover slip yang telah kering dan dilapisi emas melalui proses vakum selama 20 menit. Preparat diamati dan didokumentasi dengan *Scanning Electron Microscope* (JSM-5310LV, Japan).

Analisis Data

Data yang diperoleh akan ditabulasi dengan program *Microsoft Office Excel* dan dianalisis dengan *Analysis of Varians* (ANOVA) pada selang kepercayaan 95%, jika terdapat perbedaan akan diuji lanjut dengan uji Duncan.

HASIL DAN BAHASAN

Hasil Ekstraksi dan Analisis Fitokimia

Dari hasil ekstraksi daun serapoh dengan empat jenis pelarut, persentase rendemen yang tertinggi berturut-turut diperoleh dari ekstrak dengan pelarut akuades, etanol, etil asetat, dan n-heksan (11,34%; 9,13%; 4,21%; dan 1,48%). Pelarut n-heksan memberikan hasil persentase rendemen yang terendah dalam penelitian ini, hal ini sejalan dengan Hanphakphoom *et al.* (2016) yang mendapatkan persentase rendemen terendah menggunakan pelarut n-heksan dari bagian daun, akar, dan batang jika dibandingkan dengan pelarut lain yaitu akuades, etanol, dan metanol. Hasil uji fitokimia kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak daun serapoh mengandung flavonoid, tannin, saponin, dan steroid (Tabel 1). Dari keempat ekstrak tersebut terdapat perbedaan kandungan senyawa aktif yang diperoleh, hal ini mungkin disebabkan oleh perbedaan polaritas dari masing-masing pelarut ekstrak seperti yang dinyatakan oleh Salar & Seasotiya (2011) bahwa perbedaan pelarut dan metode ekstraksi akan melepaskan kandungan senyawa aktif yang berbeda.

Pengujian fitokimia ekstrak daun serapoh secara kuantitatif menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat

memiliki kandungan total fenol yang lebih tinggi (212,8 mg/g) dibanding ekstrak dengan pelarut yang lain (Tabel 2). Putri & Fatmawati (2019) juga melaporkan hal yang sama bahwa kandungan total fenol yang lebih tinggi diperoleh dari ekstrak etil asetat dibandingkan pelarut lain yaitu diklorometan, metanol, akuades, dan n-heksan. Total flavonoid yang diperoleh dari keempat ekstrak bervariasi dari 8,1 mg/g sampai 195,5 mg/g. Di antara keempat ekstrak tersebut, ekstrak etanol memiliki kandungan total flavonoid yang lebih tinggi (195,5 mg/g) diikuti dengan ekstrak etil asetat (20,2 mg/g), n-heksan (10,6 mg/g), dan akuades (8,1 mg/g).

Potensi Antioksidan Ekstrak

Hasil pengamatan potensi antioksidan ekstrak daun serapoh dengan metode DPPH ditampilkan pada Tabel 3. Ekstrak etanol memiliki nilai potensi antioksidan lebih tinggi (86,59%) dibanding ekstrak yang lain namun potensi antioksidan ekstrak etanol, etil asetat, dan akuades tidak berbeda nyata dengan asam askorbat sebagai pembanding. Potensi antioksidan ketiga jenis ekstrak ini berbeda nyata dengan ekstrak n-heksan dan perlakuan kontrol.

Ekstrak daun serapoh mengandung sejumlah total fenol dan flavonoid (Tabel 2) dan senyawa aktif ini berhubungan dengan kemampuan aktivitas antioksidan dari ekstrak tanaman (Rao *et al.*, 2010; Perez-Cano & Castell, 2016). Potensi antioksidan ekstrak n-heksan lebih rendah (Tabel 3) jika dibandingkan dengan ekstrak etil asetat, etanol, dan akuades, hal ini berhubungan dengan jumlah kandungan total fenol dan flavonoid ekstrak n-heksan yang lebih rendah dari ketiga jenis ekstrak tersebut. Menurut Salar & Seasotiya (2011), jenis pelarut yang digunakan memengaruhi kandungan total fenol yang dihasilkan dan semakin tinggi kandungan total fenol akan meningkatkan aktivitas antioksidan ekstrak tanaman. Komponen antioksidan dapat mencegah atau menunda kerusakan oksidatif yang berperan dalam patogenesis penyakit (Awad & Awaad, 2017) dan penelitian ini

Tabel 1. Hasil pengujian fitokimia ekstrak daun serapoh
Table 1. Result of phytochemical test for serapoh leaf extract

Ekstrak (Extract)	Pengujian (Test)						
	Flavonoid	Alkaloid	Tannin	Saponin	Quinon	Steroid	Triterpenoid
Etanol (Ethanol)	+	-	+	-	-	+	-
Etil asetat (Ethyl acetate)	+	-	+	-	-	-	-
Akuades (Aquadest)	+	-	+	+	-	+	-
n-heksan (n-hexane)	-	-	-	-	-	+	-

Keterangan (Description): (+) : teridentifikasi (identified); (-) : tidak teridentifikasi (not identified)

Tabel 2. Total fenol dan flavonoid ekstrak daun serapoh
 Table 2. Total phenol and flavonoid of serapoh leaf extract

Jenis ekstrak Type of extract	Total fenol Total phenol (mg/g)	Total flavonoid Total flavonoid (mg/g)
n-heksan (<i>n-hexane</i>)	31.3 ± 0.1 ^a	10.6 ± 0.0 ^a
Akuades (<i>Aquadest</i>)	34.7 ± 0.1 ^b	8.1 ± 0.0 ^a
Etil asetat (<i>Ethyl acetate</i>)	212.8 ± 0.0 ^d	20.2 ± 0.1 ^b
Etanol (<i>Ethanol</i>)	204.8 ± 0.0 ^c	195.5 ± 0.1 ^c

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada taraf uji 5%
 Description: Different superscript letters in the same column show significantly different at 5% level test

Tabel 3. Potensi antioksidan ekstrak daun serapoh
 Table 3. Antioxidant potential of serapoh leaf extract

Ekstrak Extract (10 mg/mL)	Absorbansi Absorbance (517 nm)	Potensi antioksidan Antioxidant potential (%)
Asam askorbat (<i>Ascorbic Acid</i>)	0.01 ± 0.00	96.45 ^a
Etanol (<i>Ethanol</i>)	0.02 ± 0.00	86.59 ^a
Etil asetat (<i>Ethyl acetate</i>)	0.03 ± 0.00	85.40 ^a
Akuades (<i>Aquadest</i>)	0.04 ± 0.01	75.74 ^a
n-heksan (<i>n-hexane</i>)	0.13 ± 0.02	21.30 ^b
Kontrol (<i>Control</i>)	0.17 ± 0.00	0.0 ^c

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada taraf uji 5%
 Description: Different superscript letters in the same column show significantly different at 5% level test

menunjukkan bahwa ekstrak daun serapoh memiliki potensi antioksidan sehingga dapat digunakan untuk mengatasi penyakit bakterial pada benih kakap putih.

Aktivitas Antibakteri Ekstrak

Hasil uji sensitivitas ekstrak terhadap *V. harveyi* penyebab penyakit *black body syndrome* (Tabel 4) menunjukkan bahwa ekstrak etanol, etil asetat, dan

n-heksan dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Zona hambat yang terbentuk menunjukkan kemampuan ekstrak untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Zona hambat pada ekstrak etanol dan etil asetat tidak berbeda nyata satu sama lain namun berbeda nyata dengan perlakuan kontrol positif dan ekstrak dengan pelarut lainnya. Perbedaan jenis pelarut ekstrak menunjukkan kemampuan

Tabel 4. Uji sensitivitas bakteri terhadap ekstrak
 Table 4. Bacterial sensitivity test against extract

Jenis ekstrak (Type of extract) (10 mg/mL)	Zona hambat (Inhibitor zone) (mm)*
Kontrol negatif (<i>Negative control</i>)	6.0 ± 0.0 ^a
Akuades (<i>Aquadest</i>)	6.0 ± 0.0 ^a
n-heksan (<i>n-hexane</i>)	9.5 ± 0.7 ^b
Etanol (<i>Ethanol</i>)	13.0 ± 0.0 ^c
Etil asetat (<i>Ethyl acetate</i>)	13.5 ± 0.7 ^c
Kontrol positif (<i>Positive control</i>)	16.5 ± 0.7 ^d

keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada taraf uji 5%; *) termasuk diameter cakram)

Description: Different superscript letters in the same column show significant differences at 5% level test; *) including disc diameter)

penghambatan yang berbeda terhadap bakteri uji. Kemampuan ekstrak tanaman menghambat pertumbuhan bakteri menunjukkan bahwa kandungan bahan alami tanaman memiliki kemampuan antibakterial (Nafiqoh *et al.*, 2019).

Hasil uji MIC ekstrak etanol daun serapoh terhadap bakteri uji menunjukkan bahwa konsentrasi 1,25 mg/mL masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji dengan indikasi tidak menunjukkan perubahan warna kemerahan setelah pemberian INT sebagai indikator pertumbuhan bakteri (Gambar 1). Semua konsentrasi yang tidak menunjukkan perubahan warna pada uji MIC dilanjutkan dengan uji MBC. Hasil uji MBC menunjukkan bahwa pada konsentrasi 5 mg/mL ekstrak etanol daun serapoh mampu bersifat bakterisidal terhadap bakteri uji. Berdasarkan pengujian aktivitas antibakteri pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun serapoh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* seperti dilaporkan sebelumnya oleh Harlina *et al.* (2015) sehingga ekstrak daun serapoh memiliki potensi untuk digunakan sebagai antibakteri dalam mengontrol mikroorganisme patogen yang menyebabkan penyakit pada kakap putih.

Kebocoran dan Kerusakan Sel Bakteri

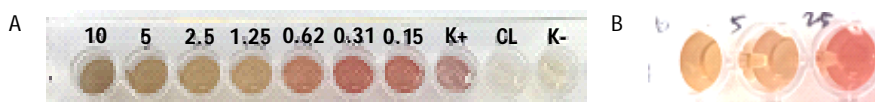
Hasil pengamatan kebocoran metabolit seluler bakteri uji setelah 24 jam inkubasi dengan ekstrak etanol daun serapoh ditampilkan pada Tabel 5. Nilai absorbansi yang diperoleh semakin tinggi seiring dengan semakin tinggi konsentrasi ekstrak, hal ini menunjukkan bahwa tingkat kebocoran sel semakin tinggi. Pelepasan komponen seperti asam nukleat,

serta protein pada penelitian ini menandakan adanya kerusakan pada membran sel bakteri uji.

Morfologi bakteri uji setelah inkubasi 24 jam dengan ekstrak etanol daun serapoh (10 mg/mL) berdasarkan hasil pengamatan dengan *scanning electron microscope* (SEM) dapat dilihat pada Gambar 2. Terdapat kerusakan sel bakteri dengan pemberian ekstrak etanol daun serapoh. Bakteri yang diuji dengan ekstrak etanol daun serapoh mengalami perubahan morfologi dibandingkan dengan bakteri pada perlakuan kontrol tanpa penambahan ekstrak etanol daun serapoh. Kandungan flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol daun serapoh dapat menyebabkan kerusakan dan pelepasan komponen seluler seperti yang dilaporkan oleh He *et al.* (2014) bahwa flavonoid memiliki aktivitas antibakteri melalui mekanisme penghambatan sintesis asam nukleat bakteri dan kerusakan membran sel bakteri.

KESIMPULAN

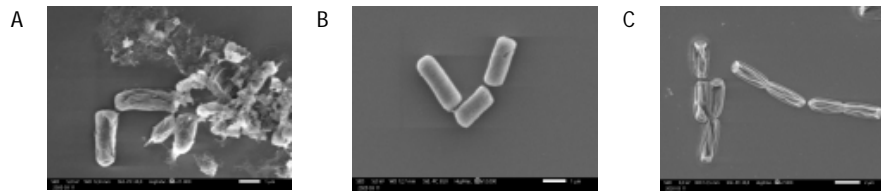
Ekstrak daun serapoh memiliki potensi antioksidan dengan nilai potensi tertinggi pada ekstrak etanol (86,59%) dibanding ekstrak dengan pelarut lain dan tidak berbeda nyata dengan potensi antioksidan asam askorbat. Kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan *V. harveyi* menunjukkan potensi ekstrak daun serapoh sebagai antibakteri. Ekstrak etanol daun serapoh bersifat bakteristatik dan bakterisidal serta mampu merusak sel *V. harveyi* sehingga dengan potensi antioksidan dan antibakterinya, ekstrak etanol daun serapoh dapat digunakan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit *black body syndrome* pada benih kakap putih.



Gambar 1. Uji MIC dan MBC ekstrak etanol daun serapoh; (A) MIC, (B) MBC.
 Figure 1. MIC and MBC tests of ethanol extract of serapoh leaf; (A) MIC, (B) MBC.

Tabel 5. Kebocoran sel bakteri
 Table 5. Bacterial cell leakage

Ekstrak etanol <i>Ethanol extract</i> (mg/mL)	Nilai absorbansi (<i>Absorbance value</i>)	
	Asam nukleat (<i>Nucleic acid</i>) (260 nm)	Protein (<i>Protein</i>) (280 nm)
Kontrol (<i>Control</i>)	2.11 ± 0.01	1.61 ± 0.07
0,625	1.52 ± 0.00	1.49 ± 0.01
1,25	1.56 ± 0.02	1.53 ± 0.01
2,5	1.59 ± 0.01	1.56 ± 0.01



Gambar 2. Hasil *scanning electron microscope*; (A) perlakuan ekstrak, (B) kontrol, (C) perlakuan antibiotik.

Figure 2. *Scanning electron microscope* result of (A) extract treatment, (B) control, (C) antibiotic treatment.

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun serapoh *in vivo* pada benih kakap putih.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia yang telah mendanai pendidikan melalui skema beasiswa.

DAFTAR ACUAN

- Atindehou, M., Lagnika, L., Guerold, B., Strub, J.M., Zhao, M., Van Dorsselaer, A., Marchioni, E., Prevost, G., Haikel, Y., & Taddei, C. (2013). Isolation and identification of two antibacterial agents from *Chromolaena odorata* L. active against four diarrheal strains. *Advanced Microbiology*, 3, 115-121. DOI: 10.4236/aim.2013.31018.
- Awad, E. & Awaad, A. (2017). Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. *Fish and Shellfish Immunology*. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.05.034.
- Boudjeko, T., Megnekou, R., Woguia, A.L., Kegne, F.M., Ngomoyogoli, J.E.K., Tchapoum, C.D.N., & Koum, O. (2015). Antioxidant and immunomodulatory properties of polysaccharides from *Allanblackia floribunda* Oliv stem bark and *Chromolaena odorata* (L.) King and H.E. Robins leaves. *BMC Res Notes*, 8, 759. DOI: 10.1186/s13104-015-1703-x.
- Caruso, D., Lusiastuti, A.M., Taukhid, Slembrouck, J., Komarudin, O., & Legendre, M. (2013). Traditional pharmacopeia in small scale freshwater fish farms in West Java, Indonesia: An ethnoveterinary approach. *Aquaculture*, 416-417, 334-345. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.09.048.
- Citarasu, T. (2010). Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18, 403-414. DOI: 10.1007/s10499-009-9253-7.
- He, M., Wu, T., Pan, S., & Xu, X. (2014). Antimicrobial mechanism of flavonoids against *Escherichia coli* ATCC 25922 by model membrane study. *Applied Surface Science*, 305, 515-521. DOI: 10.1016/j.apsusc.2014.03.125.
- Hai, V.N. (2015). The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: A review. *Aquaculture*. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.03.014.
- Hanphakphoom, S., Thophon, S., Waranusantigul, P., Kangwanransan, N., & Krajangsang, S. (2016). Antimicrobial activity of *Chromolaena odorata* extracts against bacterial human skin infections. *Modern Applied Science*, 10(2), 159-171.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., & Heo, M.S. (2011). Review: Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, 317, 1-15. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2011.03.039.
- Harlina, Prajitno, A., Suprayitno, E., Nursyam, H., & Rosmiati. (2015). Potential study of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) leaves as antibacterial against *Vibrio harveyi*, disease causative agent of tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) post larvae. *Journal Aquaculture Research Development*, 6, 10. DOI: 10.4172/2155-9546.1000372.
- Izwar, A., Nuryati, S., Sukenda, Rahman, & Purnomowati, R. (2020). Isolation, identification, and pathogenicity tests of pathogenic bacterial associated with black body syndrome in white barramundi *Lates calcarifer* B. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 19(1), 39-49.
- Lin, C.M., Preston, J.F., & Wei, C.I. (2000). Antibacterial mechanism of allyl isothiocyanate. *Journal of Food Protection*, 63(6), 727-734.
- Mohamad, H., Rashid, Z.M., Shaari, K., Latip, J., Lajis, M.N.H., & Ali, A.M. (2009). Antibacterial and DPPH free radical-scavenging activities of methanolic extracts of *Aptos* sp. (marine sponges). *Pertanika Journal Tropical Agriculture Science*, 32(1), 43-50.

- Nafiqoh, N., Sukenda, Zairin, Jr.M., Alimuddin, Lusiastuti, A.M., Sarter, S., Caruso, D., & Avarre, J.C. (2019). Antimicrobial properties against *Aeromonas hydrophila* and immunostimulant effect on *Clarias gariepinus* of *Piper betle*, *Psidium guajava*, and *Tithonia diversifolia* plants. *Aquaculture International*. DOI: 10.1007/s10499-019-00439-6.
- Omokhua, A.G., McGaw, L.J., Chukwujekwu, J.C., Finnie, J.F., & Van, S.J. (2017). A comparison of the antimicrobial activity and toxicity of a medicinally useful biotype of invasive *Chromolaena odorata* (Asteraceae) with a biotype not used in traditional medicine. *South African Journal of Botani*, 108, 200-208. DOI: 10.1016/j.sajb.2016.10.017.
- Perez-Cano, F.J. & Castell, M. (2016). Flavonoids, inflammation and immune system. *Nutrients*, 8, 659. DOI: 10.3390/nu8100659.
- Pitakpawasutthi, Y., Thitikornpong, W., Palanuvej, C., & Ruangrunsi, N. (2016). Chlorogenic acid content, essential oil composition and *in vitro* antioxidant activities of *Chromolaena odorata* leaves. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 7, 37-42. DOI: 10.4103/2231-4040.177200.
- Putri, D.A. & Fatmawati, S. (2019). A new flavanone as a potent antioxidant isolated from *Chromolaena odorata* L. leaves. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. DOI: 10.1155/2019/1453612.
- Rao, K.S., Chaudhury, P.K., & Pradhan, A. (2010). Evaluation of antioxidant activities and total phenolic content of *Chromolaena odorata*. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 729-732. DOI: 10.1016/j.fct.2009.12.005.
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., & Sasal, P. (2014). Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433, 50-61. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.05.048.
- Salar, R.K. & Seasotiya, L. (2011). Free radical scavenging activity, phenolic contents and phytochemical evaluation of different extracts of stem bark of *Butea monosperma* (Lam.) Kuntze. *Frontiers in Life Science*, 5(3-4), 107-116. DOI: 10.1080/21553769.2011.635813.
- Vaseeharan, B. & Thaya, R. (2013). Medicinal plant derivatives as immunostimulants: an alternative to chemotherapeutics and antibiotics in aquaculture. *Aquaculture International*. DOI: 10.1007/s10499-013-9729-3.
- Wink, M. (2015). Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Medicines*, 2, 251-286. DOI: 10.3390/medicines2030251.