

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

AKTIVITAS ANTIBAKTERI PENYEBAB VIBRIOSIS TERHADAP UDANG WINDU DARI EKSTRAK HERBAL MANGROVE *Sonneratia alba* DAN *Bruguiera gymnorrhiza*

Muliani[#], Bunga Rante Tampangallo, dan Muharijadi Atmomarsono

Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak herbal mangrove *Sonneratia alba* dan *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap penyebab penyakit vibriosis pada udang windu. Daun mangrove *S. alba* dan *B. gymnorrhiza* masing-masing diambil dari Kabupaten Maros dan Pangkep. Sampel daun dikering-anginkan selama dua minggu, ditepungkan, diekstraksi dengan metanol 80%, dan dievaporasi. Rendemen yang diperoleh dipartisi menggunakan dua jenis pelarut yaitu butanol dan dietileter. Uji bioassay dilakukan baik secara kualitatif maupun kuantitatif melalui penentuan *minimum inhibition concentration* (MIC) dan *minimum bactericidal concentration* (MBC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak mangrove *S. alba* dan *B. gymnorrhiza* lebih tinggi terhadap *V. parahemolyticus* dibanding *V. harveyi*. Fraksi dietileter dan ekstrak metanol *S. alba*, serta fraksi butanol *B. gymnorrhiza* memiliki antibakteri yang tergolong kuat. Ekstrak metanol *S. alba* bersifat toksik terhadap benur udang windu pada konsentrasi di atas 2.000 mg/L.

KATA KUNCI: antibakteri; herbal mangrove; *S. alba*; *B. gymnorrhiza*; udang windu

ABSTRACT: *Activity of anti-bacteria cause of vibriosis on tiger shrimp from mangrove herbs Sonneratia alba and Bruguiera gymnorrhiza extract. By: Muliani, Bunga Rante Tampangallo, and Muharijadi Atmomarsono*

The experiment was aimed to examine the activity of anti-bacterial of mangrove herbs Sonneratia alba and Bruguiera gymnorrhiza extract on tiger shrimp. Mangroves leaf of S. alba and B. gymnorrhiza were taken from Maros and Pangkep Regency. Mangrove leaves dried aired approximately two weeks, made into flour, extracted using 80% metanol, and evaporated. Yield were then partitioned using two types of solvents are butanol and dietileter. Bioassay test both qualytatively and quantitatively by determination of minimum inhibition concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). The results showed that the anti-bacterial activity mangrove extract of S. alba and B. gymnorrhiza higher in V. parahemolyticus compared against V. harveyi. Dietileter fraction and the metanol extract of S. alba and buthanol fraction of B. gymnorrhiza have strongly as anti-bacterial. The methanol extract of S. alba will be toxic to black tiger shrimp fry at concentrations above of 2,000 mg/L.

KEYWORDS: anti-bacterial; mngrove herbs; *S. alba*; *B. gymnorrhiza*; *Penaeus monodon*

PENDAHULUAN

Penyakit vibriosis atau penyakit udang berpendar merupakan salah satu jenis penyakit udang yang banyak menimbulkan kematian baik di tambak maupun di panti perbenihan. Vibriosis disebabkan oleh beberapa jenis bakteri vibrio seperti *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio fischeri*. Di antara beberapa jenis vibrio yang paling berbahaya adalah *V. harveyi* (Kannapiran *et al.*, 2009) dan sampai

saat ini penyakit ini masih merupakan kendala budidaya udang terutama di panti perbenihan.

Berbagai upaya telah dilakukan untuk menanggulangi serangan penyakit pada budidaya udang, namun hingga saat ini kematian udang di tambak dan di panti perbenihan akibat serangan penyakit masih saja terus terjadi. Penggunaan bahan alam termasuk mangrove dan tanaman asosiasinya untuk penanggulangan penyakit di bidang perikanan mulai dirintis meskipun masih terbatas pada skala laboratorium di antaranya sebagai antibakteri (Velmurugan & Citarasu, 2010; Rajasekar *et al.*, 2011; Rajeswari *et al.*, 2012).

[#] Korespondensi: Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau. Jl. Makmur Dg. Sitakka No. 129, Maros 90512, Sulawesi Selatan, Indonesia. Tel. + (0411) 371544
E-mail: mullanim@yahoo.com

Beberapa jenis mangrove telah dilaporkan berperan sebagai antibakteri pada udang seperti *R. mucronata* dan *Salicornia brachiata* efektif terhadap *Vibrio harveyi*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, dan *V. lohi*. Kedua jenis mangrove tersebut juga efektif terhadap patogen ikan seperti *Bacillus subtilis*, *Serratia* sp. *Aeromonas hydrophila*, *V. harveyi*, dan *V. parahaemolyticus* (Manilal *et al.*, 2010; Babuselvam *et al.*, 2012). Selain itu, jenis mangrove ini dapat dijadikan sebagai alternatif pengobatan penyakit vibriosis pada larva lobster (Baskaran & Mohan, 2012). Sementara, Laith *et al.* (2011); Laith & Najiah (2014) melaporkan bahwa *E. agallocha* efektif terhadap bakteri *Flavobacterium* spp penyebab penyakit bakterial pada ikan. Selanjutnya Saptiani *et al.* (2012) melaporkan bahwa fraksi butanol dari daun *Acanthus ilicifolius* menghambat pertumbuhan *V. harveyi* lebih baik dibanding ekstrak etilasetat, sedangkan Ramesh *et al.* (2014) melaporkan bahwa metode ekstrak dengan acetone dari daun *A. ilicifolius* lebih potensial sebagai anti *V. harveyi* VSH5 dengan diameter hambatan 16,4 mm dibanding dengan ekstrak daun *Avicenia marina*, *A. officinalis*, dan *Rhizophora mucronata*. Laporan lain menyebutkan bahwa daya hambat etil asetat dari *A. ilicifolius* terhadap *Aeromonas hydrophyla*, *V. harveyi*, dan *Escherichia coli* berbeda secara signifikan dengan ekstrak etanol dan metanol (Sreenivasa *et al.*, 2015). Ravikumar *et al.* (2010) melaporkan bahwa metode ekstrak dengan kloroform dari daun *Exocaria agallocha* mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada ikan di antaranya *Aeromonas hydrophyla*, *V. parahaemolyticus*, dan *V. harveyi*.

Selain jenis mangrove yang telah disebutkan, *S. alba* dan *B. gymnorrhiza* merupakan jenis mangrove yang juga telah banyak dikaji sebagai antibakteri. Kedua jenis mangrove ini dilaporkan menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, dan *Sarcina lutea*, dan bakteri Gram negatif penyebab penyakit pada manusia termasuk *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *salmonella typhi*, *V. parahaemolyticus*, dan *V. mimicus* (Haq *et al.*, 2011; Millon *et al.*, 2012). Muliiani *et al.* (2015) melaporkan bahwa nilai MIC ekstrak metanol *S. alba* terhadap *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus* masing-masing adalah 1 mg/L dan 0,1 mg/L. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk melihat aktivitas antibakteri *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus*, dari herbal mangrove *S. alba* dan *B. gymnorrhiza* pada budidaya udang.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan dan Pengeringan Daun Mangrove

Daun *S. alba* dan *B. gymnorrhiza* yang digunakan pada penelitian ini masing-masing dikoleksi dari Kabupaten Maros dan Kabupaten Pangkep Provinsi Sulawesi Selatan (Gambar 1). Pengambilan sampel daun dilakukan secara keseluruhan baik daun tua maupun masih muda, selanjutnya dibersihkan dan dikering-anginkan dalam suhu ruang selama kurang lebih dua minggu.

Pembuatan Tepung (Simplisia)

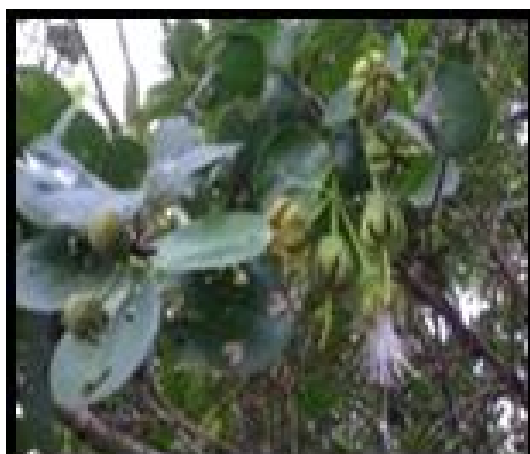
Daun (daun muda dan daun tua) *S. alba* dan *B. gymnorrhiza* kering, ditepung (simplisia), disaring (ukuran 1 mm) dan diekstrak menggunakan pelarut metanol 80%.

Ekstraksi Metanol dan Pengkisan

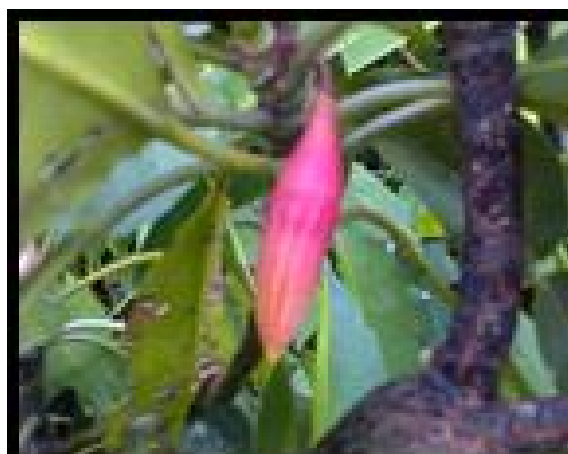
Tepung (simplisia) daun mangrove *S. alba* dan *B. gymnorrhiza* sebanyak 5 g, ditambahkan larutan metanol 80% hingga terendam. Cairan hasil penyaringan ditampung sedangkan ampas direndam kembali dengan metanol selama 24 jam dan disaring kembali. Untuk memaksimalkan ekstrak bahan-bahan aktif maka perendaman selama 24 jam dilakukan tiga kali atau tergantung tingkat kekeruhan rendaman. Apabila rendaman sudah terlihat jernih maka perendaman dihentikan. Larutan simplisia hasil ekstraksi disaring ulang menggunakan kertas filter dan dikisat dengan menggunakan *Rotatory evaporator*.

Fraksinasi Hasil Ekstraksi

Ekstrak *S. alba* dan *B. gymnorrhiza* dilarutkan dengan pelarut dietileter dalam gelas piala dihomogenkan dan dimasukkan ke corong pemisah, diendapkan hingga terbentuk dua lapisan. Masing-masing lapisan dikeluarkan dari corong pemisah. Pelarutan ini diulang 3-4 kali hingga lapisan dietileter terlihat jernih. Sementara, endapan yang tersisa dilarutkan dengan butanol. Proses yang dilakukan sama dengan pemisahan dengan dietileter. Apabila lapisan butanol terlihat jernih, pemisahan dihentikan dan endapan yang tidak larut dalam butanol dikoleksi sebagai fraksi air dan dikisat menggunakan *freezedryer*, sedangkan fraksi dietileter dan butanol dikisat menggunakan *rotatory evaporator*.



(A) *S. alba*



(B) *B. gymnorhiza*

Gambar1. Daun mangrove *S. alba* (A) dan *B. gymnorhiza* (B) yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dan antiWSSV pada udang windu

Figure 1. Mangrove leaf of *S. alba* (A) and *B. gymnorhiza* (B) used for anti-bacterial and anti-WSSV activity on black tiger shrimp

Uji Aktivitas Anti-Bakterial Secara Kualitatif

Uji bioassay untuk melihat aktivitas anti-*V. harveyi* dan anti-*V. parahaemolyticus* dari *S. alba* dan *B. gymnorhiza* dilakukan dengan teknik "High Throughput Screening" (Langfield *et al.*, 2004; Ganju *et al.*, 2008; Karuppusamy & Rajasekaran, 2009). Hasil fraksinasi dan ekstrak metanol dari kedua jenis mangrove tersebut ditimbang masing-masing sebanyak 5 mg dan 10 mg, kemudian dilarutkan dengan 1 mL DMSO (*dimethylsulfoxide*) 10% dalam tabung mikro volume 1,5 mL (Kasanah & Isnansetyo, 2013). Suspensi isolat *V. harveyi* (kode 275) dan *V. parahaemolyticus* (kode isolat-3) masing-masing dikultur dalam media *nutrient broth* (NB) 10 mL selama 24 jam pada suhu ruang sambil digoyang. Sebanyak 1 mL hasil kultur tersebut selanjutnya di subkultur selama empat jam dalam 10 mL media NB (10^8 CFU/mL) dan diencerkan hingga diperoleh kepadatan suspensi bakteri *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus* sebesar 10^5 CFU/mL (Kadriah, 2012).

Suspensi *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus* digunakan sebagai bioindikator pada uji *bioassay* ekstrak mangrove *S. alba* dan *B. gymnorhiza* melalui metode *mikrowell plate assay* dengan 96 sumuran (Kasanah & Isnansetyo, 2013). Metode pengujian dilakukan dengan mengisi 40 μ L media *nutrien broth* (NB) ke dalam setiap sumur plat mikro, kecuali pada sumur plat mikro untuk kontrol (100 mL). Selanjutnya setiap sumuran ditambahkan 40 μ L ekstrak mangrove. Pada sumur plat mikro untuk kontrol media, kontrol pelarut (DMSO), dan kontrol antibiotik tidak dilakukan penambahan ekstrak mangrove. Pada kontrol masing-

masing digunakan 40 mL DMSO 10% (kontrol pelarut) dan antibiotik rifampisin 40 mL (kontrol antibiotik). Selanjutnya, suspensi bakteri ditambahkan 20 μ L ke dalam semua sumur plat mikro kecuali pada kontrol media dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Pengujian diulang sebanyak tiga kali. Indikator pertumbuhan sel bakteri dengan menambahkan 10 μ L larutan 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromid (MTT) 5 g/L (Wang *et al.*, 2010).

Penentuan Nilai Minimum Inhibition Concentration (MIC)

Minimum inhibition concentration (MIC) dari ekstrak metanol dan hasil fraksinasi *S. alba* dan *B. gymnorhiza* diujikan terhadap *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus*. Uji MIC dilakukan dengan merujuk pada prosedur yang diperkenalkan oleh Kasanah & Isnansetyo (2013) dengan menggunakan metode *mikrowell plate dilution assay*.

Ekstrak mangrove hasil faraksinasi yang telah dilarutkan dalam pelarut DMSO 10% (5 g/mL) sebanyak 100 μ L dimasukkan pada sumur plat mikro pertama dan ketujuh, sedangkan pada sumur plat mikro yang lainnya diisi dengan 50 μ L akuades. Selanjutnya sebanyak 50 μ L ekstrak mangrove dari sumur plat mikro pertama dan sumur plat mikro ketujuh dipindahkan ke sumur plat mikro berikutnya (sumur plat mikro kedua dan kedelapan), kemudian dihomogenkan dengan pemipetan berulang. Pengenceran dilakukan hingga ke sumur plat mikro keenam dan dua belas. Media NB sebanyak 30 μ L ke dalam masing-masing sumur plat mikro, baik pada

kontrol maupun pada sumur plat mikro yang berisi ekstrak mangrove. Suspensi bakteri sebanyak 20 µL ditambahkan ke dalam campuran sumur plat mikro kecuali pada kontrol media dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Penambahan MTT dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Perubahan warna media dari kuning menjadi ungu, menunjukkan adanya pertumbuhan sel bakteri (ekstrak mangrove tidak memiliki aktivitas antibakteri), sedangkan jika warna media tetap berwarna kuning (tidak berubah setelah penambahan MTT) tidak ada pertumbuhan sel bakteri. Hal ini mengindikasikan adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak mangrove. Konsentrasi ekstrak mangrove terendah di mana tidak terjadi perubahan warna (tidak ada pertumbuhan sel bakteri) merupakan nilai MIC dari ekstrak tersebut (Kasanah & Isnansetyo, 2013). Data hasil uji *bioassay* ekstrak mangrove dianalisis secara dekriptif untuk mengetahui nilai MIC dari *S. alba* dan *B. gymnorhiza*.

Penentuan Nilai Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

Penentuan nilai MBC dilakukan setelah pengamatan MIC, yaitu dengan cara biakan dalam plat mikro dikultur pada media TCBSA untuk mengetahui ada tidaknya pertumbuhan bakteri. Biakan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C. Konsentrasi ekstrak mangrove terendah diindikasikan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri (nilai MBC). Data hasil uji nilai MBC dianalisis secara dekriptif.

Uji Tantang Secara In Vitro Metanol S. alba dan B. gymnorhiza Terhadap V. harveyi

Ekstrak metanol *S. alba* dan *B. gymnorhiza* diuji tantang dengan *V. harveyi* pada konsentrasi 1 mg/L, 10 mg/L, 100 mg/L, 1.000 mg/L, dan 10.000 mg/L dengan ulangan masing-masing tiga kali. Uji tantang ekstrak mangrove secara *in vitro* dengan *V. harveyi* pada 2.000

mg/L, 4.000 mg/L, 6.000 mg/L, dan 8.000 mg/L dilakukan terhadap *S. alba* dengan tiga kali ulangan. Ke dalam setiap tabung yang berisi ekstrak mangrove sesuai konsentrasi yang telah ditentukan, dimasukkan biakan bakteri *V. harveyi* yang berumur empat jam (10⁸ CFU/mL) sebanyak 100 µL sehingga konsentrasi *V. harveyi* dalam tabung adalah 10⁶ CFU/mL. Tabung kultur diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang dengan digoyang. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak herbal mangrove, terhadap pertumbuhan *V. harveyi* maka dilakukan pengamatan populasi *V. harveyi* menggunakan media TCBS agar.

Uji Toksisitas Ekstrak Metanol S. alba dan B. gymnorhiza Terhadap Larva Udang Windu

Uji toksisitas ekstrak metanol *S. alba* dan *B. gymnorhiza* terhadap larva udang windu digunakan konsentrasi yang sama pada uji tantang secara *in vitro*, 1 mg/L, 10 mg/L, 100 mg/L, 1.000 mg/L, dan 10.000 mg/L dengan ulangan masing-masing tiga kali. Uji toksisitas dengan konsentrasi 2.000 mg/L, 4.000 mg/L, 6.000 mg/L, dan 8.000 mg/L dilakukan terhadap *S. alba*. Larva udang yang digunakan adalah PL-12 yang diambil dari unit perbenihan komersil di Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan. Wadah kaca digunakan sebagai wadah uji, diisi air laut 2 L dengan salinitas 28 ppt dan larva udang windu PL-12 sebanyak 30 ekor. Mortalitas udang windu diamati setelah 96 jam.

HASIL DAN BAHASAN

Hasil Uji Bioassay Secara Kualitatif

Hasil uji aktivitas antibakteri secara kualitatif ekstrak metanol (ekstrak kasar) dan hasil fraksinasi dari *S. alba* dan *B. gymnorhiza* terhadap *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus* menunjukkan bahwa kedua jenis mangrove tersebut positif mengandung anti-*V. harveyi* dan anti-*V. parahaemolyticus* (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil uji *bioassay* secara kualitatif *S. alba* dan *B. gymnorhiza* terhadap *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus*
 Table 1. Result of qualitative *bioassay* test of *S. alba* and *B. gymnorhiza* on *V. harveyi* and *V. parahaemolyticus*

Jenis mangrove Kinds of mangrove	Aktivitas antibakteri (Anti-bacterial activities)							
	Ekstrak etanol Metanol extraction		Fraksi air Water fraction		Fraksi butanol Buthanol fraction		Fraksi dietileter Dietileter fraction	
	V. <i>harveyi</i>	V. <i>parahaemolyticus</i>	V. <i>harveyi</i>	V. <i>parahaemolyticus</i>	V. <i>harveyi</i>	V. <i>parahaemolyticus</i>	V. <i>harveyi</i>	V. <i>parahaemolyticus</i>
<i>S. alba</i>	Positif Positive	Positif Positive	Positif Positive	Positif Positive	Positif Positive	Positif Positive	Positif Positive	Positif Positive
<i>B. gymnorhiza</i>	Positif Positive	Positif Positive	Positif Positive	Positif Positive	Positif Positive	Positif Positive	Positif Positive	Positif Positive

Hasil Uji MIC dan MBC

Hasil uji MIC dan MBC terhadap hasil fraksinasi dari *S. alba* dan *B. gymnorrhiza* disajikan pada Tabel 2. Nilai MIC dan MBC dari semua fraksi terhadap *V. harveyi* dan *V. parahemolyticus* dari kedua jenis mangrove tersebut tidak berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa kedua jenis mangrove tersebut potensial sebagai penghasil anti-*V. harveyi* dan anti-*V. parahemolyticus*. Pada Tabel 2 terlihat pula bahwa nilai MIC dan MBC hasil fraksinasi dari kedua jenis mangrove tersebut terhadap *V. harveyi* lebih tinggi dibanding nilai MIC dan MBC terhadap *V. parahemolyticus*. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua jenis mangrove lebih efektif terhadap *V. parahemolyticus* dibanding terhadap *V. harveyi*. Semakin rendah nilai MIC dan MBC suatu bahan aktif maka efektivitas bahan tersebut semakin tinggi, demikian pula sebaliknya. Hasil uji MIC dan MBC pada Tabel 2 menunjukkan bahwa aktivitas anti-*V. harveyi* dari *S. alba* tertinggi pada fraksi air dengan nilai 50 mg/L, kemudian fraksi butanol dan selanjutnya fraksi dietileter dengan nilai MIC masing-masing 500 mg/L dan 5.000 mg/L. Nilai MIC mangrove ini terhadap *V. parahaemolyticus* sama pada setiap fraksi yaitu 0,05 mg/L. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa nilai MIC ekstrak metanol *S. alba* terhadap *V. harveyi* adalah 1 mg/L sedang terhadap *V. parahaemolyticus* adalah 0,1 mg/L (Muliani *et al.*, 2015).

Aktivitas anti *V. harveyi* dari *B. gymnorrhiza* tertinggi pada fraksi butanol dengan nilai MIC 50 mg/L disusul dengan fraksi dietileter dan fraksi air dengan nilai MIC masing-masing 500 mg/L dan 5.000 mg/L. Sementara aktivitas anti *V. parahaemolyticus* tertinggi pada fraksi butanol dengan nilai MIC 0,05 mg/L; kemudian fraksi dietileter dan selanjutnya fraksi air dengan nilai MIC masing-masing 50 mg/L dan 500 mg/L. Muliani *et al.* (2015) melaporkan bahwa nilai MIC ekstrak metanol *B. gymnorrhiza* terhadap *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus* adalah 0,1 mg/L. Hasil uji MIC dan MBC pada Tabel 2 menunjukkan bahwa fraksi air *S. alba* potensial sebagai penghasil anti-vibriosis pada budidaya udang windu. Shamsuddin *et al.* (2013)

melaporkan bahwa nilai MIC ekstrak air mangrove *S. caseolaris* terhadap enam jenis bakteri *Vibrio* sp. penyebab penyakit pada udang adalah 0,1 µg/L. Sedangkan Dhayanithi *et al.* (2013) melaporkan bahwa ekstrak metanol *Avicenia marina* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *V. angillarum* dan *V. parahemolyticus* masing-masing pada konsentrasi 150 µg/mL dan 175 µg/mL.

Fraksi air dan fraksi butanol *S. alba* memiliki anti-*V. harveyi* yang tergolong kuat (MIC 50 mg/L dan 500 mg/L), sedangkan fraksi dietileter tergolong lemah dengan nilai MIC sebesar 5.000 mg/L). Anti-*V. harveyi* mangrove *B. gymnorrhiza* fraksi butanol dan dietileter tergolong kuat (MIC 50 mg/L dan 500 mg/L), sedangkan fraksi air lemah (MIC 5.000 mg/L). Aktivitas anti *V. parahaemolyticus* dari kedua jenis mangrove ini tergolong kuat pada semua fraksi yang diuji dengan nilai MIC antara 0,05-50 mg/L. Ekstrak metanol dari daun dan batang *S. alba* memiliki aktivitas anti-*V. harveyi* yang tergolong kuat dengan diameter masing-masing $24 \pm 3,78$ untuk daun dan $24 \pm 3,78$ untuk batang (Melki *et al.*, 2011). Avenido & Serrano (2012) melaporkan bahwa ekstrak metanol dari ranting dan daun *S. caseolaris* memiliki daya hambat terhadap *V. harveyi* lebih tinggi dibanding ekstrak air. Lebih lanjut dikatakan bahwa ekstrak metanol ranting *S. alba* memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat dibanding ekstrak daun dengan daya hambat masing $10,33 \pm 1,53$ untuk ranting dan $6,00 \pm 1,73$ ekstrak air pada konsentrasi yang sama yaitu 1.000 µg/mL. Abed *et al.* (2013) menyatakan bahwa bahan antibakteri memiliki daya hambat yang kuat jika nilai MIC-nya adalah 500 µg/mL, daya hambat sedang jika nilai MIC-nya berkisar 600-1.500 µg/mL, dan daya hambat rendah jika nilai MIC lebih besar dari 1.600 µg/mL.

Hasil Uji Tantang Secara *In Vitro* dengan *V. harveyi*

Hasil uji tantang secara *in vitro* untuk melihat konsentrasi ambang bawah dan ambang atas yang mematikan *V. harveyi* disajikan pada Tabel 3. Pada Tabel

Tabel 2. Hasil uji MIC dan MBC hasil fraksinasi *S. alba* dan *B. gymnorrhiza* terhadap *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus*

Tabel 2. Result of MIC and MBC test of *S. alba* and *B. gymnorrhiza* fractinations on *V. harveyi* and *V. parahaemolyticus*

Jenis mangrove Kinds of mangrove	MIC dan MBC (mg/L) terhadap <i>V. harveyi</i> MIC and MBC (mg/L) on <i>V. harveyi</i>			MIC dan MBC (mg/L) terhadap <i>V. parahaemolyticus</i> MIC and MBC (mg/L) on <i>V. parahaemolyticus</i>		
	Fraksi air Water fraction	Fraksi butanol Buthanol fraction	Fraksi dietileter Dietileter fraction	Fraksi air Water fraction	Fraksi butanol Buthanol fraction	Fraksi dietileter Dietileter fraction
<i>S. alba</i>	50	500	5,000	0.05	0.05	0.05
<i>B. gymnorrhiza</i>	5,000	50	500	500	0.05	50

Tabel 3. Populasi *V. harveyi* (log CFU/mL) setelah 24 ujiantang secara *in vitro* dengan ekstrak metanol *S. alba* dan *B. gymnorrhiza*

Table 3. *V. harveyi* population (log CFU/mL) after 24 hours *in vitro* challenge with methanol extract of *S. alba* and *B. gymnorrhiza*

Konsentrasi Concentrations	Konsentrasi <i>Vibrio</i> sp. (<i>Vibrio</i> sp. Concentration) (log CFU/mL)	
	<i>S. alba</i>	<i>B. gymnorrhiza</i>
1 mg/L	7.69	7.98
10 mg/L	7.82	7.67
100 mg/L	7.86	7.81
1,000 mg/L	6.71	6.67
10,000 mg/L	0	7.98
Kontrol (tanpa ekstrak mangrove) Control (without mangrove extract)	8.96	8.26

Sumber (Source): Muliani *et al.* (2015)

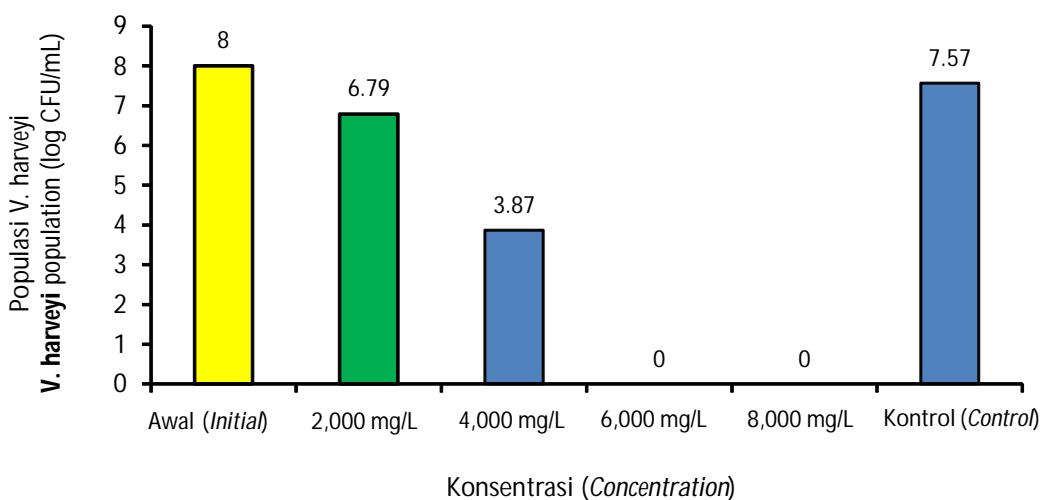
3 terlihat bahwa ekstrak metanol *S. alba* dengan konsentrasi 10.000 mg/L mematikan bakteri *Vibrio* sp. hingga 100%, sedangkan *B. gymnorrhiza* mematikan *Vibrio* sp. sekitar 3,4% dibanding dengan kontrol. Oleh karena itu, uji *in vitro* ke tahap berikutnya dengan konsentrasi 2.000 mg/L, 4.000 mg/L, 6.000 mg/L, dan 8.000 mg/L hanya menggunakan *S. alba* (Gambar 2).

Pada Gambar 2 terlihat bahwa populasi *V. harveyi* tertinggi setelah 24 jam kultur terdapat pada kontrol (tanpa ekstrak mangrove), kemudian konsentrasi 2.000 mg/L dan 4.000 mg/L. Pada Gambar 2 terlihat pula bahwa tidak ada pertumbuhan *V. harveyi* pada konsentrasi 6.000 mg/L dan 8.000 mg/L. Hasil

penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa populasi bakteri *V. harveyi* pada konsentrasi 1, 10, 100, dan 1.000 mg/L, masing-masing adalah 6,69; 7,82; 7,86; dan 6,71 log CFU/mL; sedangkan pada konsentrasi 10.000 mg/L tidak ada lagi pertumbuhan *V. harveyi* (Muliani *et al.*, 2015).

Hasil Uji Toksisitas

Hasil uji toksistas untuk melihat konsentrasi ambang bawah dan ambang atas yang mematikan udang windu disajikan pada Tabel 4. Pada Tabel 4 terlihat bahwa baik ekstrak metanol *S. alba* maupun ekstrak metanol *B. gymnorrhiza* dengan konsentrasi 10.000



Gambar 2. Populasi *V. harveyi* (log CFU/mL) setelah 24 jam ujiantang dengan ekstrak metanol *S. alba*

Figure2. *V. harveyi* population (log CFU/mL) after 24 hours challenged with methanol extract of *S. alba*

Tabel 4. Hasil uji toksisitas ekstrak metanol *S. alba* dan *B. gymnorrhiza* terhadap larva udang windu pada konsentrasi yang berbeda

Table 4. Toxicity test result of methanol extracted of *S. alba* and *B. gymnorrhiza* on tiger shrimp post larvae at different concentrations

Konsentrasi Concentrations	Mortalitas (%) larva udang windu setelah 96 jam Tiger shrimp post larvae mortality (%) after 96 hours	
	<i>S. alba</i>	<i>B. gymnorrhiza</i>
1 mg/L	12.22	13.33
10 mg/L	12.22	5.55
100 mg/L	17.78	18.89
1,000 mg/L	31.11	95.56
10,000 mg/L	100	100
Kontrol (tanpa ekstrak mangrove) Control (without mangrove extract)	17.78	17.78

Sumber (Source): Muliani *et al.* (2015)

Tabel 5. Hasil uji Toksisitas ekstrak metanol daun *S. alba* terhadap benur udang windu (*P. monodon*) setelah 96 jam

Table 5. Toxicity test of methanol extract of *S. alba* leaf on tiger shrimp post larvae (*P. monodon*) after 96 hours

Perlakuan Treatments	Tingkat kematian larva udang windu Mortality of tiger shrimp post larvae (%)
0 mg/L (kontrol/control)	36.67
2,000 mg/L	76.67
4,000 mg/L	100
6,000 mg/L	100
8,000 mg/L	100

mg/L mematikan udang 100%. Pada konsentrasi 1.000 mg/L ekstrak metanol *S. alba* mematikan udang windu hingga 31,11% sedangkan *B. gymnorrhiza* 95,56%. Oleh karena itu, uji toksisitas ke tahap berikutnya dengan konsentrasi 2.000 mg/L, 4.000 mg/L, 6.000 mg/L, dan 8.000 mg/L hanya menggunakan *S. alba* (Tabel 5).

Pada Tabel 5 terlihat bahwa pada konsentrasi 4.000 mg/L, 6.000 mg/L, dan 8.000 mg/L ekstrak *S. alba* sudah bersifat toksik terhadap benur udang windu. Hasil penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa mortalitas udang windu pada penggunaan ekstrak metanol *S. alba* pada konsentrasi 1.000 mg/L dan 10.000 mg/L masing-masing sebesar 26,67% dan 100% (Muliani *et al.*, 2015). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari daun mangrove ini sudah bersifat toksik di atas konsentrasi 1.000 mg/mL. Ujiantang secara *in vivo* dalam wadah pemeliharaan udang windu menunjukkan bahwa populasi bakteri *Vibrio* sp. pada pemberian ekstrak metanol *S. alba* pada konsentrasi 1.000 mg/L adalah $5,68 \times 10^5$ CFU/mL (Muliani *et al.*,

2016). Laporan lain menyebutkan bahwa populasi bakteri *Vibrio* sp. dalam air pemeliharaan udang windu setelah 96 jam perendaman dengan ekstrak metanol *S. alba* 1.000 mg/L adalah $1,78 \times 10^3$ CFU/mL (Nurbaya *et al.*, 2016).

KESIMPULAN

Aktivitas antibakteri ekstrak herbal mangrove *S. alba* tertinggi pada fraksi air sedangkan *B. gymnorrhiza* pada fraksi butanol. Antibakteri dari kedua jenis mangrove tersebut tergolong kuat dan memiliki aktivitas anti-*V. parahemolyticus* lebih tinggi dibanding anti-*V. harveyi*. Ekstrak metanol *S. alba* bersifat toksik terhadap benur udang windu pada konsentrasi di atas 2.000 mg/L.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada rekan-rekan peneliti dan teknisi Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan yang penuh dedikasi dan tanggung jawab membantu

terlaksananya penelitian ini. Penelitian ini didanai oleh APBN DIPA BPPBAP Maros Tahun 2014.

DAFTAR ACUAN

- Abed, S.A., Sirat, H.M., & Taher, M. (2013). Total phenolic, antioxidant, antimicrobial activities and toxicity study of *Gynotroches axillaris* blume (Rhizophoraceae). *EXCLI Journal*, 12, 404-412.
- Avenido, P., & Serrano, A.E. (2012). Effect of the apple mangrove (*Sonneratia caseolaris*) on antimicrobial, immunostimulatory, and histological responses in black tiger shrimp postlarvae fed at varying feeding frequency. *ACCL BIOFLUX*, 5(3), 112-123.
- Babuselvam, M., Farook, K.A.M., Abideen, S., Mohamed, M.P., & Uthiraselvam, M. (2012). Screening of antibacterial activity of mangrove plant extract against fish and shrimp pathogens. *International Journal of Applied Microbiology Science*, 1(3), 20-25.
- Baskaran, R., & Mohan, P.M. (2012). *In vitro* antibacterial activity of leaf extracts of *Rhizophora mucronata* L. against multi drug resistant *Vibrio* spp. isolated from marine water lobster's larvae hatcheries. *Indian Journal of Geo-Marine Science*, 41(3), 218-222.
- Dhayanithi, N.B., Kumar, T.T.A., Balasubramanian, T., & Tissera, K. (2013). A study on the effect of using mangrove leaf extracts as a feed additive in the progress of bacterial infections in marine ornamental fish. *Journal of Coastal Life Medicine*, 1(3), 217-224.
- Ganju, K.P.M.L., Sairam, M., Banerjee, P.K., & Sawhney, R.C. (2008). A review of high throughput technology for the screening of natural products. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 62(2), 94-98.
- Haq, M., Sani, W., Hossain, A.B.M.S., Taha, R.M., & Monneruzzaman, K.M. (2011). Total phenolic contents, antioxidant and antimicrobial activities of *Bruguiera gymnorrhiza*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(17), 4112-4118.
- Kadriah, I.A.K. (2012). Pengembangan metode deteksi cepat vibrio berpendar pada udang penaeid. Disertasi. Institut Pertanian Bogor. Bogor, 126 hlm.
- Kannapiran, E., Ravindran, J., Chandrasekar, R., & Kalalarasi, A. (2009). Studies on luminous, *Vibrio harveyi* associated with shrimp culture system rearing *Penaeus monodon*. *J. Environ. Biol.*, 30(5), 791-795.
- Karuppusamy, S., & Rajsekaran, K.M. (2009). High throughput antibacterial screening of plant extracts by resazurin redox with special reference to medical plant of western ghats. *Global Journal of Pharmacology*, 3(2), 63-68.
- Kasanah, N., & Isnansetyo, A. (2013). *High throughput screening* dan *bioassay* dalam penemuan senyawa bioaktif dari alam. *Materi workshop dan Pelatihan Bioprospekting Bahan Alam Kelautan II*. Laboratorium Hidrobiologi. Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada. Jogjakarta, 22 hlm.
- Laith, A.A., Najiah, M., Zain, S.M., Effendy, S.H.M.A.W., Sifzizul, T.M., Nadirah, M., & Habsah, M. (2011). *In vitro* antimicrobial activity of *Excoecaria agallocha* against *Flavobacterium* spp. *UMTAS*, p. 43-47.
- Laith, A.A., & Najiah, M. (2014). Antimicrobial activities of blinding tree, *Excoecaria agallocha* against selected bacterial pathogens. *Journal of Microbiology and Antimicrobial*, 6(2), 29-36.
- Langfield, R.D., Scarano, F.J., Heitzman, M.E., Konodo, M., Hammond, G.B., & Neto, C.C. (2004). Use of modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in the Peruvian medicinal plant *Peperomia galioides*. *Journal of Ethnopharmacology*, 94, 279-281.
- Manilal, A., Merdekios, B., tdayadhulla, A., Muthukumar, C., & Melkie, M. (2010). An *in vitro* antagonistic efficacy validation of *Rhizophora mucronata*. *Asian Pac. J. Trop. Dis.*, 5(1):28-32.
- Melki, Soedharma, D., Effendi, H., & Mustopa, A.Z. (2011). Biopotensi tumbuhan mangrove untuk pencegahan penyakit vibriosis pada udang windu. *Maspari Journal*, 02, 39-47.
- Millon, M.A., Muhit, M.A., Goshwami, D., Masud, M.M., & Begum, B. (2012). Antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activity of *Sonneratia alba* bark. *IJPSR*, 3(7), 2233-2237.
- Muliani, Nurhidayah, & Kurniayawan, K. (2015). Herbal mangrove sebagai sumber anti bakteri *Vibrio harveyi* penyebab penyakit pada udang windu *Penaeus monodon*. *J. Ris. Akuakultur*, 10(3), 405-414.
- Muliani, Nurhidayah, & Nurbaya. (2016). Total *Vibrio*, respons imun, dan sintasan pascalarva udang windu pada penggunaan ekstrak mangrove dengan teknik pemberian berbeda. *Makalah telah diseminarkan pada Seminar Nasional Tahunan XIII UGM pada tanggal 13 Agustus 2016*. Jogjakarta, 15 hlm.
- Nurbaya, Susianingsih, E., & Muliani. (2016). Pengaruh teknik ekstraksi daun mangrove terhadap parameter imun, total vibrio, dan sintasan udang windu pada skala laboratorium. *Forum Inovasi Teknologi Akuakultur (FITA) Surabaya*, 25-26 April 2016, 9 hlm.
- Rajasekar, T., Usharani, J., Sakthivel, M., & Deivasigamani, B. (2011). Immunostimulatory effects of *Cardiospermum halicacubum* against *Vibrio*

- parahaemolyticus* on tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Chem. Pharm. Res.*, 3(5), 501-513.
- Rajeswari, P.R., Velmurugan, S., Babu, M.M., Dhas, S., & Kesavan, K. (2012). A study on the influence of selected Indian herbal active principles on enhancing the immune system in *Fenneropenaeus indicus* against *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture International*, 20, 1009-1020.
- Ramesh, K., Natarajan, M., & Sridhar, H. (2014). Anti-vibrio activity of mangrove and mangrove associates on shrimp pathogen, *Vibrio harveyi* VSH5. *Global Veterinaria*, 12(2), 270-276.
- Ravikumar, S., Muthuraja, M., Sivaperumal, P., & Gnanadesigan, M. (2010). Antibacterial activity of the mangrove leaves *Exocaria agalloca* against selected fish pathogens. *Asian Journal of Medical sciences*, 2(5), 211-213.
- Saptiani, G., Prayitno, S.B., & Anggoro, S. (2012). The effectiveness of *Acanthus ilicifolius* in protecting tiger prawn (*Penaeus monodon* F.) from *Vibrio harveyi* infection. *Journal of Coastal Development*, 15(2), 217-224.
- Shamsuddin, A.A., Najiah, M., Suvik, A., Azariyah, M.N., Kamaruzzaman, B.Y., Effendy, A.W., & John, B.A. (2013). Antibacterial properties of selected mangrove plants against *Vibrio* species and its cytotoxicity against *Artemia salina*. *World Applied Sciences Journal*, 25(2), 333-340.
- Sreenivasa, R.M., Teja, G., Sirisha, I.R., & Yedukondala, R.P. (2015). Screening of antimicrobial activity of mangrove plant *Acanthus ilicifolius* on shrimp and fish pathogens. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 5(5), 1-3.
- Velmurugan, S., & Citarasu, T. (2010). Effect of herbal antibacterial extracts on the gut floral changes in Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Romanian Biotechnological Letters*, 15(6), 5709-5717.
- Wang, H., Cheng, H., Wang, F., Wei, D., & Wang, X. (2010). An improved 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) reduction assay for evaluating the viability of *Escherichia coli* cells. *Journal of Microbiological Methods*, 82, 330-333