

**UJI MIC dan MBC EKSTRAK BUAH MANGROVE *Rhizophora stylosa*
dan *Avicennia marina* sebagai Antibiotik TERHADAP *Vibriosis* pada LARVA
KEPITING BAKAU (*scylla serrata* Forsskal)**

SKRIPSI

Oleh

**NUR ATI
10594078413**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR
2018**

UJI MIC dan MBC EKSTRAK BUAH MANGROVE *Rhizophora stylosa*
dan *Avicennia marina* sebagai Antibiotik TERHADAP *Vibriosis* pada LARVA
KEPITING BAKAU (*scylla serrata* Forsskal)

Oleh

NUR ATI
10594078413

SKRIPSI SEBAGAI SALAH SATU SYARAT UNTUK MEMPEROLEH
GELAR SARJANAH PADA FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR

PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR
2018

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Uji MIC dan MBC Ekstrak Buah Mangrove *Rhizophora stylosa* dan *Avicennia marina* sebagai Antibiotik Terhadap *Vibriosis* pada Larva Kepiting Bakau (*scylla serrata* Forsscal)

Nama Mahasiswa : Nur Ati

Stambuk : 10594078413

Program Studi : Budidaya Perairan

Fakultas : Pertanian

Makassar, 20 Januari 2018

Telah Diperiksa dan Disetujui
Komisi Pembimbing:

Pembimbing I,


H. Burhanuddin, S.Pi, MP
NIDN: 09066901

Pembimbing II,


Ir. Andi Khaeriyah, M.Pd
NIND: 0926036803

Diketahui oleh:

Dekan Fakultas Pertanian,


H. Burhanuddin, S.Pi., MP
NIDN: 0912066901

Ketua Program studi
Budidaya Perairan,


Murni, S.Pi., M.Si
NIDN : 0903037306

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Uji MIC dan MBC Ekstrak Buah Mangrove *Rhizophora stylosa* dan *Avicennia marina* sebagai Antibiotik Terhadap *Vibriosis* pada Larva Kepiting Bakau (*scylla serrata* Forsscal)

Nama Mahasiswa : Nur Ati

Stambuk : 10594078413

Program Studi : Budidaya Perairan

Fakultas : Pertanian

SUSUNAN KOMISI PENGUJI

Nama	Tanda Tangan
1. <u>H. Burhanuddin, S.Pi, M.P</u> Pembimbing I	 (.....)
2. <u>Ir. Andi Khaeriyah, M.Pd</u> Pembimbing II	 (.....)
3. <u>Murni, S.Pi., M.Si</u> Penguji I	 (.....)
4. <u>Asni Anwar, S.Pi., M.Si</u> Penguji II	 (.....)

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT , karena dengan rahmatnya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian serta penulisan skripsi ini dalam bentuk yang sangat sederhana.

Skripsi ini disusun berdasarkan hasil peneltian pada bulan Agustus sampai September 2017 bertempat di Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau dan Penyuluhan Perikanan di Maros.

Penulis menyadari atas kekeliruan dan kekurangan yang terdapat pada penulisan skripsi ini , yang disebabkan beberapa hal, utamanya kemampuan penulis yang serba terbatas, akan tetapi dengan penuh kesabaran dan kekuatan serta semangat dan kemauan yang keras, maka skripsi ini dapat diselesaikan sebagaimana yang diharapkan. Penulis tetap menerima kritik dan saran dari berbagai pihak demi kesempurnaan skripsi ini.

Dengan selesainya penulisan skripsi ini, penulis tak lupa mengucapkan terimah kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Bapak Dr. H. Abd. Rahman Rahim, SE., MM., Rektor Universitas Muhammadiyah Makassar.
2. Bapak Ir. Burhanuddin. S.Pi, MP, selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Makassar sekaligus pembimbing satu yang telah meluangkan waktunya membimbing dan mengarahkan penulis , sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.

3. Ibu Murni, S.Pi., M.Si, selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Makassar sekaligus penguji satu yang senangtiasa meluangkan waktunya dan banyak memberi nasehat, sarang, petunjuk yang berharga kepada penulis. .
4. Ibu Ir. Andi Khaeriyah,M,Pd selaku pembimbing kedua yang elah meluangkan waktunya dan fikirannya kepada penulis hingga selesainya penulisan skripsi ini.
5. Ibu Asni Anwar, S.Pi, M.Si. selaku penguji kedua yang telah iklas meluangkan waktunya dan banyak memberikan nasehat, saran, dan petunjuk yang berharga kepada penulis.
6. Bapak dan Ibu Dosen Serta Staf Tata Usaha Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Makassar.
7. Saudara-saudaraku yang tersayang banyak memberikan dorongan dan harapan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi dengan tabah dan sungguh-sungguh.

Akhirnya semoga bantuannya mendapat balasan di sisi Allah SWT.
Dan harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang memerlukannya.

Makassar, Februari 2018

Nur Ati

Uji MIC dan MBC Ekstrak Buah Mangrove (*Rhizophora Stylosa* dan *Avicenna Marina*) sebagai Antibiotik Terhadap *Vibriosis* pada LARVA KEPITING BAKAU (*Scylla Serrata* Forsskal)

Nurati¹⁾

Universitas Muhammadiyah Makassar Fakultas Pertanian Program Studi
Budidaya Perairan¹⁾

ABSTRAK

Pada pemeliharaan kepiting bakau (*Scylla serrata* Forsskal) sering terjadi penurunan produksi yang disebabkan adanya penyakit *vibriosis spp* berupa serangan infeksi bakteri *vibrio(vibriosis)*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui uji *In vitro* kombinasi ekstrak buah mangrove *Rhizophora stylosa* dan *Avicennia marina* terhadap *Vibrio spp* penyebab penyakit pada larva kepiting bakau (*Scylla serrata* Forsskal) sehingga produksi kepiting semakin meningkat, ramah lingkungan dan berkelanjutan. Target khusus yang ingin dicapai adalah Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*), dan uji MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) untuk mengatasi masalah penyakit *vibriosis* pada budidaya kepiting bakau, khususnya stadia larva sampai megalopa.

Metodologi yang digunakan dalam penelitian ini mencakup penelitian laboratorium. Penelitian ini dibagi dalam dua tahapan; tahap pertama adalah pengumpulan sampel buah dan ekstraksi bahan aktif buah mangrove yang akan dilakukan di Laboratorium Kimia, Politeknik Ujung pandang yang bertujuan untuk mendapatkan produk ekstrak antibakteri *Vibrio*. Tahap Kedua adalah isolasi bakteri, uji daya hambat, uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*), dan uji MBC yang dilakukan di Laboratorium Patologi Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau dan Penyuluhan Perikanan di Maros yang bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri *Vibrio* sebagai bahan ujiantang penyakit *vibriosis* pada larva kepiting bakau.

Hasil penelitian yang diperoleh adalah bahwa ekstrak buah mangrove (*Rhizophora stylosa* dan *avicennia marina*) memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Vibrio spp*. Hasil Uji MIC di konsentrasi 0,05 ppm zona hambatnya 7,53 dan Uji MBC di konsentrasi 10.000 ppm pertumbuhan bakterinya 0 CFU/mL

Kata kunci: Ekstrak Buah *Rhizophora stylosa* dan *Avicennia marina*, *Vibrio Harvey* Larva *Scylla serrata*.

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Pengesahan Komisi Penguji	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	v
Daftar Isi	vi
Daftar Gambar	vii
Dafrat Tabel	viii
I. PENDAHULUAN	
1.1.Latar Belakang	1
1.2. Tujuan penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Klasifikasi dan Morfologi <i>Rhizophora stylosa</i>	4
2.2. Kandungan bioaktif buah <i>Rhizophora stylosa</i>	5
2.3. Klasifikasi dan Morfologi <i>Avicennia marina</i>	6
2.4. Kandungan bioaktif buah <i>Avicennia marina</i>	7
2.5.Mekanisme kerja antibakteri mangrove	8
2.6. <i>Vibrio harveyi</i>	9
III. METODE PENELITIAN	
3.1. Waktu dan tempat	10

3.2. Persiapan ekstrak buah mangrove <i>R.stylosa</i> dan <i>A. marina</i>	10
3.3. Isolasi bakteri <i>Vibrio spp</i> dari pemeliharaan larva kepiting bakau	11
3.4. Pengujian antibakteri <i>V. harveyi</i>	11
a). Uji minimum inhybitori concentration (MIC)	12
3.5. Pelaksanaan uji zona hambat	12
3.6. pengamatan zona hambatan	12
b). Uji minimum bactericidal concentration (MBC)	13
1. Sterilkan alat dan bahan	13
2. Persiapan media NB dan TCBSA	14
3. Persiapan ekstrak buah mangrove	15
4. Inokulasi bakteri <i>V. harveyi</i> ke media NB	16
5. Inokulasi selama 24 jam	16
6. Sampling populasi bakteri	16
7. Inokulasi pada media TCBSA	17
8. Penghitungan koloni bakteri	18
3.4.1. Variabel yang diamati	18
1. Zona daya hambatan	18
2. Kepadatan bakteri	18
IV. HASIL DAN PEMBAHASAAN	
A. Hasil dan Pembahasan	20
1. Uji minimum inhibitory concentration (MIC)	20
2. Uji minimum bactericidal concentration (MBC)	22

V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	24
B. Saran	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	29

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pengenceran setiap perlakuan	17
2. Hasil uji MIC	20
3. Hasil uji MBC	22

DAFTAR GAMBAR

No	Halaman
1. Morfologi <i>Rhizophora stylosa</i>	4
2. Morfologi <i>Avicennia marina</i>	6
3. Pengamatan Zona Hambatan	13

DAFTAR GRAFIK

No	Halaman
1. Grafik pengamatan dan perhitungan uji toksisitas	23

DAFTAR LAMPIRAN

No	Halaman
1. Lampiran 1	29
2. Lampiran 2	32
3. Lampiran 3	33
4. Lampiran 4	34
5. Lampiran 5	34
6. Lampiran 6	35
7. Lampiran 7	36

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tanaman mangrove merupakan bahan alam yang dapat digunakan untuk mengatasi serangan penyakit bakterial yakni dengan menggunakan antibiotik alami dari tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai antibakteri, karena antibiotik alami memiliki keunggulan mudah didapat, ramah lingkungan dan murah (Wardani dkk., 2012). Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antibiotik alami adalah mangrove *Rhizophora stylosa* dan *Avicennia marina*, karena mengandung senyawa antibakteri seperti alkaloid, saponin, flavonoid dan juga tanin (Rohaeti dkk., 2010)

Rhizophora sp. telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir untuk pengobatan alami seperti pada bagian kulit kayu, bunga, dan daunnya (Purnobasuki, 2004). Bagian lain dari *Rhizophora* sp. yang dapat dimanfaatkan adalah buahnya yang merupakan tempat penyimpanan cadangan makanan. Bagian ini juga diduga mengandung senyawa-senyawa antibakteri yang berguna bagi pengobatan infeksi oleh bakteri (Priyono, 2010).

Tumbuhan mangrove *Avicennia marina* mengandung senyawa seperti alkaloid, flavonoid, fenol, terpenoid, steroid dan saponin. Golongan senyawa ini merupakan bahan obat-obatan modern (Eryanti 1999). Selanjutnya akan dilakukan kajian tentang peranan mangrove sebagai bahan bioaktif antibakteri patogen terhadap larva kepiting bakau. Golongan senyawa ini dapat dimanfaatkan untuk pengujian produksi antibiotik dari ekstrak ini terhadap bakteri *Vibrio* sp dan

diharapkan antibiotik yang dihasilkan dapat digunakan dalam menanggulangi penyakit kunang-kunang dan vibriosis pada ikan, kepiting dan udang yang bernilai ekonomis pada usaha-usaha budidaya, dan hal ini menarik untuk dikaji karena secara ekologi terdapat interaksi yang kuat antara kepiting bakau dan habitat mangrove, secara edukasi penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam rangka membantu meningkatkan produktifitas pada sektor industri perikanan, khususnya pada budidaya kepiting.

Kendala utama dalam kegiatan budidaya adalah penyakit pada biota (Hatmanti, 2003). Lavilla dan Pena (2004) menyatakan bahwa infeksi bakteri menyerang di semua stadia kepiting baik *juvenile* hingga kepiting dewasa. Jithendrran *et al.* (2010) menyatakan bahwa *Vibrio harveyi* 102 – 103 CFU/ml patogenik pada stadia zoea kepiting bakau. *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp., *Spirillum* sp., dan *Vibrio* sp. mengakibatkan kitin pada *exoskeleton* pecah yang berawal dari erosi dan melanisasi. Irianto (2005) menjelaskan bahwa *Vibrio* sp. merupakan patogen primer dalam budidaya laut dan payau. Menurut Tarwiyah (2001), *Vibrio* sp. juga merupakan patogen sekunder, artinya *Vibrio* sp. menginfeksi setelah adanya serangan penyakit yang lain misalnya protozoa atau penyakit lainnya. Selanjutnya ditambahkan bahwa pada pemeliharaan larva kepiting bakau (*Scylla serrata* Forsskal) masih sering terjadi penurunan produksi yang disebabkan adanya penyakit *vibriosis spp* berupa serangan infeksi bakteri *vibrio(vibriosis)*.

1.2 Tujuan penelitian

Tujuan dan kegunaan penelitian ini adalah untuk menentukan potensi ekstrak buah *Rhizophora stylosa* dan *Avicennia marina* terhadap bakteri *Vibrio sp* sebagai penyebab penyakit pada larva kepiting bakau (*scylla serrata Forskall*) berdasarkan hasil uji MIC dan uji MBC.

II . TINJAUAN PUSTAKA

2.1. klasifikasi dan morfologi *Rhizophora Stylosa*

Klasifikasi mangrove jenis *Rhizophora stylosa* Griff. Menurut (Pratama,2014; Saru, 2013) adalah sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
- Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
- Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
- Sub Kelas : Rosidae
- Ordo : Myrtales
- Famili : Rhizophoraceae
- Genus : *Rhizophora*
- Spesies : *Rhizophora stylosa* Griff.(Pratama,2014; Saru, 2013).

Pratama, (2014) menyatakan *Rhizophora stylosa* termasuk famili *Rhizophoraceae*. Spesies ini dalam bahasa Indonesia disebut bakau merah, dalam bahasa jawa disebut juga dengan “tanjang lanang”. Tumbuhan ini memiliki daun berbentuk lonjong dan runcing pada ujungnya dan terdapat bintik-bintik hitam pada bagian belakang daunnya, kulit batang berwarna keabuabuan, dan memiliki bunga sebanyak 4 pasang.



Gambar 1. Morfologi *Rhizophora stylosa* (Koleksi pribadi)

2.2. Kandungan Bioaktif Buah *Rhizophora stylosa*

Pratama, (2014) melaporkan bahwa buah bakau memiliki beberapa senyawa komponen bioaktif, yaitu flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Saifudin (2006) menjelaskan bahwa salah satu bahan aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri adalah senyawa alkaloid. Senyawa tersebut dapat menghambat sintesis protein sehingga bakteri tidak dapat bereplikasi yang berujung pada kematian. Sedangkan senyawa tanin yang terdapat pada daun bakau dapat mengerutkan sel bakteri karena mengandung asam tanik yang dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri. Selain senyawa alkaloid dan tanin, juga terdapat senyawa saponin dan fenol yang bersifat antiseptik. Senyawa tersebut dapat mengobati luka akibat infeksi bakteri dengan cara merusak dan menembus dinding sel bakteri (Amanda *et.al.*, 2015).

2.3. Klasifikasi dan Morfologi *Avicennia marina*

Klasifikasi mangrove jenis *Avicennia marina* Blume. Menurut (Bengen, 2002; Dahuri et.al., 1996; Saru, 2013) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Scrophulariales
Famili	: Acanthaceae Genus: <i>Avicennia</i>
Spesies	: <i>Avicennia marina</i> Blume (Bengen, 2002; Dahuri <i>et.al.</i> , 1996; Saru, 2013)

Menurut Bengen (2002), Beberapa ciri morfologi tanaman mangrove jenis *avicennia*, dapat digambarkan sebagai berikut :

Deskripsi: 1. Belukar atau pohon yang tumbuh menyebar dengan ketinggian mencapai 25 m. Kumpulan pohon membentuk sistem perakaran horizontal dan akar nafas yang rumit. Akar nafas biasanya tipis, berbentuk jari (atau seperti asparagus) yang ditutupi oleh lentisel. Kulit kayu luar berwarna keabu-abuan atau gelap kecoklatan, beberapa ditumbuhi tonjolan kecil, sementara yang lain kadang-kadang memiliki permukaan yang halus. Pada bagian batang yang tua kadang-kadang ditemukan serbuk yang tipis.

- Daun:** 2. Permukaan halus, bagian atas hijau mengkilat, bawahnya pucat. Unit dan letak, sederhana dan berlawanan. Bentuk: lanset (seperti daun akasia) kadang elips. Ujung meruncing, ukuran: 15 x 5 cm.
- Bunga:** 3. Seperti trisula dengan gerombolan bunga (kuning) hampir disepanjang ruas tandang. Letak: di ujung/pada tangkai bunga. Formasi: bulir (ada 10-30 bunga per tandan). Daun Mahkota: 4, kuning cerah, 3-4 mm. Kelopak Bunga; 5, benang sari: 4.
- Buah:** 4. Seperti kerucut/cabe/mente. Hijau muda kekuningan. Ukuran 4 x 2 cm.



Gambar 2. Morfologi *Avicennia marina* (koleksi pribadi)

2.4. Kandungan Bioaktif Buah *Avicennia marina*

Mangrove jenis *Avicennia marina* diketahui memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder atau bioaktif berupa saponin, alkaloid, tannin, flavonoid, triterpenoid, fenolik dan glikosida yang dapat dimanfaatkan sebagai antibiotik, antiradang, antimikroba, dan sitotoksik (Darminto *et.al.*, 2009). Selanjutnya ditambahkan bahwa pada studi yang telah dilakukan oleh Sharief *et.al.*, (2014)

tentang *Quantification of Phytochemical and Antibacterial Activity of Fruit Extract of Avicennia officinalis* telah mengevaluasi fenolik dan kandungan flavonoid sebagai antibakteri dari buah *Avicennia officinalis*.

2.5. Mekanisme Kerja Antibakteri Mangrove

Senyawa kimia dalam tanaman dapat bersifat antibakteri yaitu mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Hal itu diuraikan oleh Puspita (2011); Nugraha, 2013) bahwa beberapa senyawa metabolit sekunder yang meliputi fenol dan senyawa fenolik, alkaloid, memiliki sifat antibakteri.

Antibakteri digambarkan sebagai produk alami organik dengan berat molekul rendah dibentuk oleh mikroorganisme dan tumbuhan yang aktif melawan mikroorganisme lain pada konsentrasi rendah. Pengembangan aktivitas ini melalui jumlah terbatas dari mekanisme antibakteri yang dapat mempengaruhi sintesis dinding sel, integritas membran sel, sintesis protein, replikasi DNA dan repair, transkripsi, dan metabolit intermediate (Nugraha, 2013).

Berdasarkan cara kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi bakterisidal dan bakteriostatik. Bakteriostatik adalah zat yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri sedangkan bakterisidal adalah zat yang bekerja mematikan bakteri. Beberapa zat antibakteri bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan bersifat bakterisidal pada konsentrasi tinggi (Nugraha, 2013; Cowang, 1985). Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antibakteri dapat disebabkan oleh beberapa cara, antara lain: (1) Mengganggu pembentukan dinding sel, (2) Bereaksi dengan membran sel, (3) Menginaktivasi enzim dan, (4) Menginaktivasi fungsi material genetic.

Puspita (2011) menyatakan bahwa kemampuan suatu zat antibakteri tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: (1) konsentrasi zat antibakteri; (2) waktu penyimpanan; (3) suhu lingkungan; (4) sifat-sifat fisik dan kimia makanan termasuk kadar air, pH, jenis, dan jumlah senyawa di dalamnya.

2.6. *Vibrio harveyi*

Lavilla dan Pena (2004) menyatakan bahwa infeksi bakteri menyerang di semua stadia kepiting baik *juvenile* hingga kepiting dewasa Irianto (2005) menjelaskan bahwa *Vibrio* sp. merupakan patogen primer dalam budidaya laut dan payau. Menurut Tarwiyah (2001), *Vibrio* sp. juga merupakan patogen sekunder, artinya *Vibrio* sp. menginfeksi setelah adanya serangan penyakit yang lain misalnya protozoa atau penyakit lainnya. Selanjutnya Austindan Austin (2007) menambahkan bahwa *Vibrio harveyi* merupakan agen utama penyebab penyakit *Vibriosis* atau bercahaya, menyerang organisme vertebrata dan invertebrata laut pada area geografis yang luas. Bakteri tersebut merupakan patogen pada udang penaeid yang dibudidayakan (Sunaryanto dan Maryam 1986; Ashofa, 2014). *V. harveyi* sebagai patogen udang yang signifikan di beberapa negara tropik dapat menyebabkan mortalitas hingga 100% di hatchery udang, termasuk di Indonesia pada udang windu, *Penaeus monodon* (Ashofa, 2014).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni - November 2017, bertempat di Laboratorium Kimia, Politeknik Unhas (ekstraksi buah mangrove *Rhizophora stylosa*+*Avicennia marina*) dan Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau dan Penyuluhan Perikanan di Maros (Isolasi bakteri *Vibrio*, uji daya hambat terhadap bakteri *Vibrio*, uji MIC dan uji MBC).

3.2. Persiapan Ekstrak Buah Mangrove *R. stylosa* dan *A. marina*

Buah mangrove *Rhizophora stylosa* dan *Avicennia marina* dikumpulkan dari daerah sekitar pesisir pantai, Kuri Caddi, Maros Sulawesi Selatan. Identifikasi tanaman mangrove dilakukan berdasarkan (Kitamura *et.al.*, 1997). Kurang lebih 4 kg buah mangrove *Rhizophora stylosa* dan 4 kg *Avicennia marina* kemudian berat basah yang telah dicaca, dikoleksi dalam keadaan segar kemudian dikeringkan pada temperatur kurang dari 40°C dengan menggunakan oven hingga kering. Setelah kering buah mangrove ditimbang kembali dan didapatkan berat kering 800 gr *Rhizophora spp* dan 600 gr *Avicennia spp* diblender hingga halus. Lalu dapatkan berat tepung 800 gr *Rhizophora spp* dan *Avicennia spp* 600 gr.

Tepung buah mangrove ditimbang beratnya, kemudian direndam (maserasi) di dalam larutan methanol 80% dan aquades 20% selama 3 kali 24 jam, setelah perendaman ekstrak di saring menggunakan kertas saring (whatman) dan dievaporasi menggunakan vacuum evaporator sehingga menguap putar (rotasi evaporator) pada temperature 50°C dan dilanjutkan dengan mengeringkan dalam *freeze dryer* untuk mendapatkan bahan aktif. (Amanda *et.al.*, 2015; Darminto *et*

al., 2011). Hasil ekstrak yang kental selanjutnya ditimbang beratnya dan disimpan pada suhu dingin sampai akan digunakan untuk pengujian dan untuk menghitung rendemen ekstrak.

3.3. Isolasi bakteri *Vibrio spp* dari pemeliharaan larva kepiting bakau

Isolasi bakteri dari media pemeliharaan larva kepiting dilakukan dengan mengambil 1 mL air media kemudian diencerkan dengan 9 mL larutan garam fisiologis (NaCl 0,85%) kemudian 0,1 mL diinokuasikan pada media TCBSA (Thiosul phate Cetoate Bile Sucrose Agar) plate, diinkubasi selama 48 jam. Bakteri yang tumbuh pada cawan petri diisolasi dan dimurnikan berdasarkan bentuk dan warna koloni pada media TSA (Tryoptic Soy Agar) slant, diinkubasikan selama 4 jam. diperbanyak ke NB (Nutrient Broth) dan akan digunakan untuk uji MIC.

3.4. Pengujian antibakteri *V.harveyi*

Uji antibakteri *V.harveyi* dilakukan dengan dua tahapan yaitu a). Uji MIC (Minimum Inhibitory Concentration) menggunakan *paper disk* yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terendah bahan antibakteri dari *Rhizophora* + *Avicennia* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. b). Ujiantang secara *in vitro* atau uji MBC (Minimum Bactericidal Concentration) yang bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri yang dihambat atau tidak adanya pertumbuhan koloni pada cawan petri. Sebelum melakukan uji MIC terlebih dahulu kita melakukan yang namanya uji *Screening*, tujuannya untuk menggali seberapa besar ekstrak untuk menghambat bakteri patogen/ *Vibriosis* .

a) Uji Minimum Inhibitori Concentration (MIC)

Uji daya hambat yang dilakukan dengan metode uji zona hambatan menggunakan *paper disk*. Hal ini yang bertujuan untuk mengetahui sejauh mana efektifitas ekstrak buah mangrove untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V.harveyi* dan untuk menentukan nilai MIC. Pengujian ini nantinya menunjukkan ukuran daya hambat (mm) pada setiap konsentrasi ekstraksi yakni 10000, 1000, 100, 10, 5, 1, 0,5, 0,1, 0,05, 0,01 ppm dan kontrol negatif(akuades) serta kontrol antibiotik (*Rifampisin*) dengan 50 mL untuk setiap *disk*. Adapun tahapan kerja masing-masing pengujian disajikan pada lampiran 1,2 dan 3:

3.5. Pelaksanaan Uji Zona Hambatan

Media MH yang telah diinokulasi dengan bakteri *Vibrio sp* diberi label pada masing-masing cawan petri sesuai dengan konsentrasi ekstrak *Rhizophora* + *Avicennia* yang digunakan. Uji daya hambat (zona hambatan) dilakukan dengan menggunakan *paper disk*. Masing-masing *paper disk* di beri ekstrak mangrove sesuai konsentrasi yang ditetapkan masing-masing sebanyak 50 mL. Kemudian *paper disks* yang telah berisi ekstrak *Rhizophora* + *Avicennia* dimasukkan ke media MH dengan menggunakan pinset steril yang diberikan alkohol dan telah di panaskan dengan lampu bunsen sesuai konsentrasi masing-masing cawan petri. , kemudian diinokulasi selama 24 jam untuk menumbuhkan bakteri.

3.6. Pengamatan Zona Hambatan

Pengamatan zona hambatan pertumbuhan bakteri *V. harveyi*, dilakukan setelah inkubasi selama 24 jam. Hasil yang diperoleh dinyatakan positif jika terbentuk zona hambatan (zona bening disekeliling *paper disk*) dan hasilnya

dinyatakan negatif jika tidak terbentuk zona hambatan. Bagian *paper disk* yang bening diukur menggunakan jangka sorong untuk mengetahui diameter zona hambat yang terbentuk setiap konsentrasi. Hasil pengukuran dianalisis untuk mengetahui konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V.harveyi*. Adapun pengamatan zona hambatan seperti gambar dibawah ini:



Gambar 5. Pengamatan zona hambatan

b). Uji Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

Uji MBC untuk mengetahui jumlah sel bakteri *V. harveyi* yang dihambat oleh hasil ekstraksi buah mangrove. Pengujian ini nantinya menunjukkan bakteri yang dihambat pada setiap konsentrasi ekstraksi yakni 10.000, 1000, 100, 10, 1, 0,1 ppm dan kontrol antibiotik (*Refampisin*) dan kontrol negatif(Aquades). Adapun tahapan kerja masing-masing pengujian adalah sebagai berikut:

1. Sterilkan Alat dan bahan

Persiapan awal dilakukan dengan mensterilkan seluruh alat dan bahan yang akan digunakan dalam pengujian. Sterilisasi alat yang terbuat dari plastik dan bahan basah dalam autoclave bersuhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 90

menit. Sedangkan untuk alat dan bahan kering dan terbuat dari bahan kaca disterilkan dalam oven selama 3 jam dengan suhu 180°C.

2. Persiapan Media *Nutrien Broth*(NB) dan *Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar*(TCBSA)

Media yang digunakan dalam pengujian antibakteri ini adalah media NB dan TCBSA. Adapun tahapan pembuatannya sebagai berikut:

❖ Media NB

Pada pengujian ini, media NB yang diperlukan 10 mL pembuatan media ini diawali dengan sterilisasi akuades 200 mL dalam erlenmeyer 500 mL, selanjutnya ditutup dengan aluminium foil dan diikat menggunakan karet, lalu diautoclave selama 90 menit pada suhu 120°C. Setelah itu NaCl ditimbang sebanyak 3 gr dan dimasukkan dalam akuades yang telah disterilkan. Akuades yang digunakan adalah 200 mL. Kemudian bubuk media NB ditimbang sebanyak 1,6 gr, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang telah berisi NaCl 3 gr. Campuran dihomogenkan dengan cara dipanaskan di atas hotplate stirrer hingga mendidih pada suhu 100-175°C. Setelah homogen, media NB langsung dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 10 mL untuk pengenceran bakteri sebelum inokulasi setelah itu didinginkan dan di simpan dalam lemari steril.

❖ Media Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBSA)

Media TCBSA yang dibutuhkan dalam pengujian ini sebanyak 20 cawan petri. Pembuatan media ini diawali dengan sterilisasi akuades 400 mL dalam Erlenmeyer 500 mL. Kemudian ditutup dengan aluminium foil dan diikat menggunakan karet, lalu di autoclave selama 90 menit pada suhu 121°C tekanan 1

atm. Bubuk media TCBSA ditimbang sebanyak 35,6 gr kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer yang berisi akuades 400 mL. Campuran ini di panaskan di atas hotplate stirrer hingga mendidih pada suhu 100°C dan digoyangkan sampai homogen. Selanjutnya didiamkan selama 20 menit dan di tuang kedalam cawan petri secara aseptik. Setelah beku, cawan petri dibalik dan dibungkus menggunakan plastik dan disimpan di lemari es untuk digunakan saat *sampling* pertumbuhan bakteri *V.harveyi* untuk mendapatkan hasil uji MBC.

3. Persiapan Ekstrak Buah Mangrove

Persiapan ekstrak buah mangrove dalam uji *In vitro* yang berdasarkan uji MBC ini dimaksudkan untuk menyiapkan ekstraksi dengan konsentrasi yakni 10.000, 1000, 100, 10, 1, 5, 0,1 ppm serta kontrol negatif (Akuades) dan kontrol antibiotik (*Rifampisin*). Persiapan diawali dengan menyiapkan alat dan bahan yang telah disterilkan meliputi botol sampel, larutan garam, sendok, pengaduk timbangan, larutan stok. Langkah pertama pencampuran stok ekstraksi yang di timbang sebanyak 20 gr dengan larutan akuades 1 mL untuk mendapatkan konsentrasi larutan ekstraksi 10.000 ppm ke dalam eppendorf dan 10 gr dengan larutan akuades 2 mL untuk mendapatka konsentrasi larutan ekstraksi 1000 dalam eppendorf. Larutan stok diaduk hingga homogen kemudian di masukkan kedalam mikrowell masing-masing berbeda jumlahnya sesuai dengan konsentrasi yang diperlukan yakni dengan menggunakan rumus pengenceran ($N_1V_1=N_2V_2$) akan didapatkan konsentrasi 10.00, 1000, 100, 10, 1, 0,1 ppm dalam mikrowell. Adapun jumlah masing-masing ekstraksi pada setiap perlakuan dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4. Jumlah masing-masing larutan ekstraksi pada setiap perlakuan

Tabung	Perlakuan	Mikrowell (Akuades)	Ekstraksi mangrove	Biakan bakteri <i>V.harveyi</i>
R+A	10.000 ppm	1000 mL	20 mL	100 mL
R+A	1000 ppm	1990 mL	10 mL	100 mL
R+A	100 ppm	1990 mL	10 mL	100 mL
R+A	10 ppm	1990 mL	10 mL	100 mL
R+A	1 ppm	1980 mL	20 mL	100 mL
R+A	0,1 ppm	1980 mL	20 mL	100 mL
R+A	Kontrol(Aq)	1990 mL	Tampa ekstrak	100 mL
R+A	Kontrol (Rifampisin)		Tampa ekstrak	100 mL

4. Inokulasi Bakteri *V.harveyi* ke dalam Media NB

Inokulasi bakteri di lakukan setelah pemberian ekstraksi buah mangrove selesai. Biakan bakteri *V.harveyi* yang berumur 4 jam (10^6 CFU/mL) yang telah dipersiapkan sebelumnya dimasukkan kedalam media NB dengan konsentrasi 10^4 CFU/mL, untuk memperoleh konsentrasi bakteri *V.harveyi* 10^4 CFU/mL dari konsentrasi 10^6 CFU/mL, digunakan rumus pengenceran yaitu $N1V1=N2V2$. Hasilnya diperoleh bahwa setiap konsentrasi ekstrak buah mangrove dalam mikrowell (10.000, 1000, 100, 10, 1, 0,1 ppm diberikan 100 mL untuk mendapatkan biakan bakteri 10^4 CFU/mL pada setiap mikrowell.

5. Inkubasi Selama 24 jam

Mikrowell yang telah diberi ekstrak mangrove sesuai dengan perlakuan dan diinokulasi bakteri *V.harveyi*, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruangan sambil digoyang menggunakan shaker.

6. Sampling Populasi Bakteri

Sampling populasi bakteri dilakukan setiap 4 jam sebanyak 6 kali selama masa inkubasi 24 jam. Sebanyak 1 mL inokulan bakteri diambil dan dimasukkan dalam larutan fisiologis (NaCl 0,85%) sebanyak 9 mL dalam botol pengenceran.

Kemudian dilakukan pengenceran secara berseri pada setiap perlakuan dengan mengambil 100 mL pada setiap pangkat pengenceran sesuai tabel 5 sebagai berikut:

Tabel 5. Pengenceran setiap perlakuan

Perlakuan	Pengenceran	
R+A.1.1	10^0	10^0
R+A.1.2	10^0	10^0
R+A.1.3	10^0	10^0
R+A.2.1	10^0	10^0
R+A.2.2	10^0	10^0
R+A.2.3	10^0	10^0
R+A.3.1	10^0	10^0
R+A.3.2	10^0	10^0
R+A.3.3	10^0	10^0
R+A.4.1	10^0	10^2
R+A.4.2	10^0	10^2
R+A.4.3	10^0	10^2
R+A.5.1	10^0	10^2
R+A.5.2	10^0	10^2
R+A.5.3	10^0	10^2
R+A.6.1	10^0	10^2
R+A.6.2	10^0	10^2
R+A.6.3	10^0	10^2

7. Inokulasi pada media TCBSA

Setelah pengenceran dilakukan, maka selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri dalam media TCBSA yang telah disiapkan sebelumnya. Konsentrasi yang diambil sesuai pada tabel 5 di atas berikut duplo setiap pangkat pengenceran, sebanyak 100 mL hasil pengenceran dimasukkan kedalam media. Kemudian biakan bakteri dalam media TCBSA diratakan menggunakan batang penggerus.

Selanjutnya biakan bakteri tersebut diinkubasi menggunakan inkubator selama 24 jam.

8. Penghitungan koloni baktri

Penghitungan koloni bakteri dilakukan secara manual yaitu dengan menghitung seluruh koloni yang tumbuh dalam media TCBSA menggunakan spidol sebagai penanda koloni bakteri yang telah di hitung.

3.3.5. Variabel yang diamati

Variabel-variabel yang diamati pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Zona daya hambatan

Pengukuran zona daya hambatan dilakukan dengan mengukur kertas cakram berdiameter 6 mm pada media yang telah ditebari bakteri dan di berikan ekstraksi (Sucianti *dkk.*, 2012). Selanjutnya dilakukan pengamatan zona hambatan pada kertas cakram dengan cara melihat ada tidaknya zona hambatan atau daerah jernih yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar kertas. Jika terbentuk ,maka zona tersebut diukur diameternya.

2. Kepadatan bakteri

Uji *in vitro* dengan metode uji MBC dilakukan perhitungan kepadatan bakteri setelah pemberian ekstrak. Kepadatan bakteri yang di hitung secara manual. Hasil perhitungan akan menunjukkan seberapa banyak kepadatan bakteri yang dihambat oleh pemberian ekstraksi buah mangrove. Adapun rumus menghitung kepadatan bakteri menurut Lay (1994) adalah sebagai berikut:

$$N_{\text{tot}}\text{CFU/mL} = T/Q \times 1/S \times 1/V \dots\dots$$

Dimana:

N_{tot} = jumlah total koloni bakteri dalam milliliter

T = total bakteri pada cawan petri

Q = jumlah cawan petri yang digunakan

S = pengenceran yang digunakan

V = volume yang diinokulasi

IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil dan Pembahasan

Adapun hasil dari penelitian ini adalah dilakukan melalui dua tahap yaitu uji MIC dan uji MBC). Disajikan pada tabel 6 dan 7.

Tabel 6. Hasil Uji MIC (Minimum Inhibitory Concentration) Ekstrak Buah *Rhizophora + Avicennia* terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*

Konsentrasi ekstrak(ppm)	Diameter zona hambat (mm)
10.000 ppm	7,60
1000 ppm	8,60
100 ppm	7,26
10 ppm	7,43
5 ppm	7,33
1 ppm	7,47
0,5 ppm	6,97
0,1 ppm	7,53
0,05 ppm	7,53
0,01 ppm	7,27
KN	0
KA	23,3

Hasil Uji MIC Bakteri *Vibrio harveyi* dengan konsentrasi ekstrak 10.000-0,01 ppm mempunyai zona hambatan, meskipun zona hambatan yang terbentuk pada ke-10 konsentrasi ekstrak lemah tetapi masih lebih besar dibanding Kontrol negatif, tetapi masih lebih kecil dibanding kontrol antibiotik *Rifampicin*. Zona hambat terbesar terdapat pada konsentrasi 1000 ppm dengan luas zona hambat 8,60 mm dan zona hambat terkecil terdapat pada konsentrasi 0,5 ppm dengan luas zona hambatan 6,97 mm namun masih sangat jauh bila di bandingkan dengan diameter zona hambat pada kontrol positif yang menggunakan antibiotik *Rifampisin* dengan luas zona hambat 23,3 mm, jadi kesimpulan tabel di atas uji MIC terdapat pada konsentrasi terendah dengan luas zona hambat terbesar di

konsentrasi 0,05 ppm dimana nilai zona hambatan 7,53 mm. hal ini sesuai pernyataan (Irianto, 2007) sifat antimikroba suatu senyawa dikatakan memiliki aktifitas yang tinggi terhadap bakteri apabila nilai konsentrasi penghambatan bakteri yang terendah (MIC) kecil, tetapi mempunyai diameter penghambatannya besar.

Berdasarkan proses penghambatan tersebut ,maka dalam hal ini bahan ekstrak buah mangrove *Rhizophora* + *Avicennia* dapat dikategorikan sebagai antibiotik yang bersifat bakteristatik, yaitu mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan Purnobasuki (2004) bahwa kandungan senyawa antibakteri pada mangrove seperti flavonoid mampu menghambat pertumbuhan bakteri (bakteristatik) pada media kultur. Dengan demikian, *Rhizophora* + *Avicennia* yang digunakan dalam pengujian antibakteri dapat dikategorikan sebagai bahan yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. sehingga zona hambatan yang terbentuk masih lebih rendah dibandingkan dengan penggunaan antibiotik (*Rifampisin*). Hal ini diduga karena konsentrasi ekstrak yang di uji masih rendah dan proses ekstraksi buah mangrove yang masih menghasilkan ekstrak kasar, sehingga perlu dilakukan uji lanjutan dengan konsentrasi yang lebih tinggi dan metode ekstrak yang lebih baik, pengikat potensi yang terdapat pada ekstrak buah *Rhizophora* + *Avicennia* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*. Adapun diameter zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dalam satuan mm dan dijadikan ukuran kuantitatif untuk ukuran zona hambat (Zainuddin. 2006) dapat dilihat pada lampiran 3.

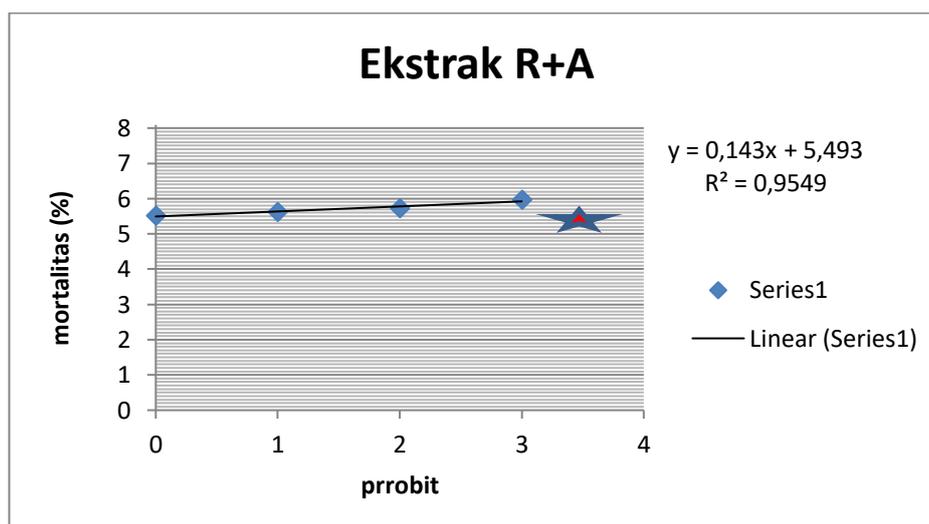
Tabel 7. Hasil Uji MBC (Minimum Bactericidal Concentration) Ekstrak Buah *Rhizophora* + *Avicennia* terhadap Bakteri *vibrio Harveyi* dengan konsentrasi ekstrak 10.000 ppm -0,1 ppm. Tanda (+) menunjukkan MHB yang keruh, sedangkan tanda (-) menunjukkan MHB yang jernih.

Konsentrasi ekstrak (ppm)	Pertumbuhan bakteri	Populasi bakteri (10x ³ CFU/mL)
10.000 ppm	-	0
1000 ppm	+	3,33
100 ppm	+	176
10 ppm	+	404

Hasil uji MBC Bakteri *Vibrio harveyi* dengan konsentrasi ekstrak 10.000 - 10 ppm. Pengujian antibakteri ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak *Rhizophora* dan *Avicennia* terhadap perkembangan populasi bakteri *V.harveyi*. Pengamatan dilakukan 24 jam untuk mengetahui efektifitas daya hambat pada berbagai konsentrasi ekstrak terhadap lama pemberian ekstrak. Secara umum pemberian ekstrak buah mangrove mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentration ekstrak buah mangrove maka populasi *V. harveyi* semakin rendah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Septiani, *dkk.* (2012) bahwa pertumbuhan bakteri akan terhambat bahkan mati jika suatu bahan yang diberikan dalam pengujian mengandung senyawa antibakteri. Konsentration 10 ppm populasi bakteri 404x10³ CFU/mL, kemudian populasinya semakin menurun menjadi 176x10³CFU/mL pada konsentration 100 ppm begitu pula dengan konsentration 1000 ppm jumlah populasi bakteri 3,33x10³CFU/mL sedangkan pada konsentration 10.000 ppm mampu membunuh seluruh populasi bakteri menjadi 0 CFU/mL setelah 24 jam. hal ini diduga konentration 10 ppm memiliki kandungan senyawa antibakteri yang lebih rendah dibandingkan 100 ppm, 1000 ppm dan 10.000 ppm. Hal ini dapat

disimpulkan ekstrak dengan konsentrasi 10.000 ppm merupakan nilai MBC karena mampu membunuh bakteri secara total. Hal ini sesuai pernyataan (Herman Apriyan, 2014).

Adapun hasil pengamatan dan perhitungan uji toksisitas sebagai data penunjang dapat dilihat sebagai berikut:



Gambar 6. Pengamatan dan perhitungan uji toksisitas (Sumber : Syarifuddin (2017))

Hasil penelitian ini terlihat bahwa kombinasi ekstrak *Rhizophora sp* dan *Avicennia sp* meskipun memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri *Vibrio* (berdasarkan uji MIC dan MBC) tetapi berdasarkan grafik diatas (hasil uji toksisitas) terlihat bersifat toksik dengan nilai analisis probit Lc 50 sebesar 0,003 mg/mL yang berarti bersifat toksik (< 1000 ppm) sehingga ekstrak ini tidak dapat diaplikasikan secara *In vivo*, kategori toksisitas berdasarkan nilai LC₅₀ dapat dilihat pada lampiran 6.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

- ❖ Uji MIC terdapat pada konsentrasi terendah dengan luas zona hambat terbesar di konsentrasi 0,05 ppm dengan luas zona hambatan 7,53 mm.
- ❖ Pada pengujian MBC menunjukkan ekstrak dengan konsentrasi 10.000 ppm mampu mematikan semua bakteri dengan total bakteri 0 CFU/mL setelah 24 jam.
- ❖ Meskipun ekstrak *R.stylosa* dan *A.marina* mampu menghambat bakteri pathogen / *Vibriosis* tetapi tidak biasa diaplikasikan secara *In vivo* karena nilai rata-ratanya di bawah 50% (LC_{50}) yang berarti bersifat toksik tetapi biasa disimpan untuk peruntukan lain.

B. Saran

Berdasarkan hasil uji MIC perlu disarankan adanya penelitian lanjutan untuk menguji ekstrak buah mangrove dengan konsentrasi yang lebih tinggi guna mengetahui efektifitas daya hambatnya dibandingkan dengan menggunakan antibiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Amanda, M.P., S.B. Prayitno, dan Sarjito, 2015., The Dipping of Kinds Dose Mangrove (*Rhizophora apiculata*) Leaf Extract for Mud Crab (*Scylla serrata*) Treatment Infected by *Vibrio harveyi*. Journal of Aquaculture Management and Technology Volume 4, Nomor 4, Tahun 2015, Halaman 141 – 149.
- Apriyanto H, Harpeni E, Srtyawan A dan Tarsim. 2014. Pemanfaatan Ekstrak Buah *Rhizophora sp* . sebagai Antibakteri terhadap Bakteri Patogen Ikan Air Tawar E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan 3(1):289-296.
- Ashofa, E., Sarjito, and S.B.Prayitno, 2014. The Identification of Bacterial Vibrios Associated in Mud Crab (*Scylla serrata*) Disease Isolated from Rembang. Journal of Aquaculture Management and Technology Volume 3, Nomor 2, Tahun 2014, pp 118-125.
- Austin, B and Austin D. A. 2007. Bacterial Fish Pathogens. Disease in Farmed and Wild Fish. Fourth edition. Ellis Horword Limited. Chichester: England. 552 p.
- Boyd, C.E. 1990, *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Birmingham Publishing Co., Alabama.
- Carpenter, K.E., and V.H., Niem, 1998. The living Marine Resources of The Western Central Pasific. Volume 2, Food and Agriculture Organization of The United Nations, Rome.
- Catacutan, M.R., 2002. Growth and Body Composition of Juvenile Mud Crab, *Scylla serrata*, Fed Different Dietry Protein and Lipid Levels and Protein to Energy Ratio. Aquaculture, 208: 113-123.
- Chen, J.C. and P.G. Chia, 1997. *Osmotic and Ionic Concentrations of Scylla serrata* (Forsskal) *Subjected to Different Salinity Levels*. Comp. Biochem. Physiol., 17A (2): 239-244.
- Chen, J.M. and J.C. Chen, 2003. *Effect of pH on Survival, Growth, Molting and Feeding of Giant Freshwater Prawn Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture, 218: 613-623.
- Dahuri R, Rais J, Ginting SP, Sitepu MJ. 1996. *Pengelolaan Sumberdaya Pesisir dan Lautan Secara Terpadu*. PT. Pradnya Pramita. Jakarta.
- Effendie, M, 2003. *Biologi Perikanan*. Yayasan Pusat Nusatama, Yogyakarta.
- Ikkal, 2014. Kajian Potensi Rumput Laut *Caulerpa racemosa* dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi* pada Larva Udang Windu (*Penaeus mondon*). Tesis Pascasarjana, Universitas Hasanuddin.

- Irianto, K. 2007. Mikrobiologi: Menguak Dunia Mikroorganisme. CV. Yrama Widya. Bandung.
- Kadriah, I. A. K. 2012. Pengembangan Metode Deteksi Cepat *Vibrio* Berpender Pada Udang Panaeid. Desertasi. Institut Pertanian Bogor.
- Karim, M.Y., H.Y. Azis, dan Afriani, 2003. *Vitalitas Larva Kepiting Bakau (Scylla serrata Forsskal) yang Dipelihara pada Berbagai Kondisi Pencahayaan*. Jurnal Ilmiah Bumi Kita, Lingkungan Hidup dan Pengelolaan Sumberdaya Alam, Vol. 2 (3): 116-120.
- Kimball, J. W. 1994. *Biologi*. Jilid 2 (Alih Bahasa Siti Soetarmi Tjitrosomo Nawang sari Sugiri). Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Kitamura S, C. Anwar; A. Chaniago, and S Baba, 1997. *Handbook of Mangroves in Indonrsia Bali & Lombok*. The Development of Sustainable Mangrove Management Project Ministry of Forestry Indonesia and Japan International Cooperation Agency.
- Lapilla-Pitago, C.R., and L.D. de Lapena, 2004., Diseases in Farmed Mud Crabs *Scylla* spp.: Diagnosis, Prevention, and Control. Funded by the Government of Japan Trust Fund. Aquaculture Department Southeast Asian Fisheries Development Center Tigbauan, Iloilo Philippines.
- Lay, B. W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta 168 hal.
- Maryani, D. Dana, and Sukenda, 2002, The Role of Calyx and Fruit Extract of Mangrove *Sonneraticaseolaris* (L) on Infection by Bacteria *Vibrio harveyi* in Shrimp (*Penaeus monodon* Fab.) Indonesian Journal Aquacultur (1) 3: 129 -138.
- Moosa, M.K., I. Aswandy, dan A. Kasry, 1985. Kepiting Bakau (*Scylla serrata* Forsskal) dari Perairan Indonesia. LON-LIPI, Jakarta.
- Motoh, H., 1977. Biological Synopsis of Alimango, Genus *Scylla*. Quart. Res. Rep. SEAFDEC, 3: 136-157
- Noorlis, A., Ghazali, F. M., Cheech, Y.K., Zainazor, T., Wong, T. C., Tunung, R., Pui, C.F., Nishibuchi, Y. dan Son. R. Antibiotik Resitance and Biosafety of *Vibriocholera* dan *Vibrio parahaemolyticus* from freshwater fist at retail level. Jurnal Of Internasional Food Research. Malaysia, 18(4):1523-1530.
- Poornima, M., R. Singaravel, J.J.S. Rajan, S. Sivakumar, S. Ramakrishnan, S.V. Alavandi, and N. Kalaimani. 2012. *Vibrio harveyi* Infection in Mud Crabs (*Scylla tranquebarica*) infected With White Spot Syndrome Virus. International J. of Research in Biological Sciences., 2 (1) : 1-5.

- Pratama, 2014, *Pengaruh Fermentasi Terhadap Kandungan Senyawa Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan Buah Bakau Merah (Rhizophora stylosa Griff)*. Skripsi, Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Purnomobasuki, H. 2004. Potensi Mangrove Sebagai Tanaman Obat . Hasil Penelitian Biota , FMIPA Universitas Airlangga, 9 (2): 125-126.
- Ronald, L., Thune, Lisa, A., Stanley dan Cooper, R., K. 1993. Pathogenesis of Gram Negatif Bacterial Infections in Warmwater Fish. Annual Rev. of Fish Disease, (3):37-68
- Rohaeti, E., Batubara, I., Lieke, A dan Darusman, LK. 2010. Potensi Ekstrak *Rhizophora* sebagai Inhibitor Trosiding Semmas Sains III. IPB, Bogor, 13 November 2010. P. 196-201
- Saifuddin, A., 2006. Alkaloid: Golongan Paling Prospek Menghasilkan Obat Baru. Departemen Farmakologis. Gorleus Laboratory, University of Leiden, Jerman, halaman 21.
- Saptiani ,G., Budi Prayitno S. dan Anggoro S. 2013. Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Terhadap *Vibrio harveyi* secara *In Vitro* Jurnal Kedokteran Hewan. Samarinda, 13 (3): 257-262.
- Sarjito, 2010. Aplikasi Biomolekuler untuk Deteksi Agensia Penyebab *Vibriosis* pada Ikan Kerapu dan Potensi Bakteri Sponge sebagai Anti *Vibriosis*. [Disertasi]. Program Pasca Sarjana, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Sucianti , Anisa, Wardiyanto dan Sumino. 2012. Efektifitas Ekstrak Mangrove *Rhizophora mucronata* dalam Menghambat Pertumbuhan *Aeromonas salmonicida* dan *Vibrio harveyi*. Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya, 1(1):1-8
- Taplur, A.D., A.J. Memon, M.I. Khan, M. Ikhwanuddin, M.M.D. Daniel, and A.B. Abol-Munafi. 2011. *Pathogenicity and Antibiotic Sensitivity of Pathogenic Flora Associated with the Gut of Blue Swimming Crab, Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1857). J. of Animal and Veterinary Advances., 10 (16) : 2109.
- Tarwiyah. 2001. Pedoman Teknis Penanggulangan Penyakit Ikan Budidaya Laut. Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, Menegristek. Jakarta.
- Warner, G.F., 1977. The Biology of Crabs. Elek Science, London.

- Zainuddin, E.N. 2006. Chemical and Biological Investigations of Selected Cyanobacteria (Blue-green Algae). PhD Thesis, University Greifswald.
- Zainuddin, E.N. 2010. Antibacterial potential of marine algae collected from South Sulawesi coast against human pathogens. Proceedings of International Conference and Talkshow on Medicinal Plants. BPPT, Jakarta, Indonesia. ISBN 978-602-95911-1-8.
- Zainuddin, E.N. Syamsuddin, R. Sunusi, H. Abustang, Malina, A. C. dan Hidayani, A. 2012. Pemanfaatan Bioaktif Ekstrak Rumput Laut Hijau dari *C.racemosa* Terhadap Bakteri Patogen yang Menginfeksi Organisme Budidaya. Penelitian Program Studi. Jurusan Perikanan. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Zonnoveld, N.E.A., Husiman dan J.H. Boon, 1996. *Prinsip-Prinsip Budidaya Ikan*. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

Lampiran 1. Tahapan kerja masing-masing pengujian

1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan bertujuan untuk menghindarkan alat dan bahan dari segala jenis kontaminasi. Sterilisasi dilakukan dalam Autoclave dengan suhu 121°C bertekanan 1 atm selama 15 menit.

2. Persiapan Media *Nutrient Broth* (NB) dan *Mueller Hinton* (MH)

Media yang digunakan adalah media NB dan MH dengan tahapan pembuatannya sebagai berikut:

❖ Media NB

Pembuatan media ini diawali dengan sterilisasi Akuades 200 mL dalam Erlenmeyer 500 mL, selanjutnya ditutup dengan aluminium foil dan diikat menggunakan karet, lalu di autoclave selama 90 menit pada suhu 121°C. Setelah itu NaCl ditimbang sebanyak 3 gr dan dimasukkan dalam akuades yang telah di sterilkan. Kemudian bubuk media NB ditimbang sebanyak 1,6 gr, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang telah berisi NaCl 3 gr. Campuran dihomogenkan dengan cara di panaskan di atas hotplate stirer hingga mendidih pada suhu 120-175 °C. Setelah homogen, media NB dimasukkan dalam autoclave untuk disterilkan terlebih dahulu selama 90 menit 121°C bertekanan 1 atm. Setelah itu, larutan NB didiamkan selama 20 menit dan dimasukkan sebanyak 10 mL dalam tabung reaksi untuk digunakan pada tahapan inkubasi bakteri.

❖ Media MH

Pembuatan media ini diawali dengan sterilisasi akuades 60 mL dalam Erlenmeyer 150 mL. Selanjutnya ditutup aluminium foil dan diikat menggunakan

karet, lalu di autoclave selama 90 menit pada suhu 121°C tekanan 1 atm. Bubuk media MH ditimbang sebanyak 2,28 gr. Kemudian dimasukkan kedalam Erlenmeyer yang telah berisi akuades 60 mL. Campuran di panaskan di atas hotplate menggunakan stirer hingga mendidih pada suhu 120-155°C sampai homogen. Larutan yang telah dipanaskan kemudian dituang kedalam botol coklat sebanyak 20 mL kemudian ditutup dan di autoclave selama 90 menit. Setelah di autoclave larutan media didiamkan dalam ruangan steril selama 5 menit sambil mengencerkan bakteri yang akan di tanam ke dalam media MH tersebut, Pembuatan media dilakukan dengan metode sebar, sehingga larutan media langsung di tuang ke dalam cawan petri secara aseptik sebanyak 20 mL setiap cawan sehingga di peroleh 3 media dalam cawan petri kemudian didiamkan hingga 15 menit kemudian ditempelkan *paper disk* yang sudah di rendam ekstrak mangrove dan diinkubasi selama 24 jam.

3. Persiapan Inokulasi Bakteri *V.harveyi*

Persiapan inokulasi dilakukan dengan mempersiapkan seluruh peralatan dan bahan yang akan digunakan. Biakan bakteri *V.harveyi* dalam media skim milk dalam tabung eppendorf yang di simpan di suhu -80°C (*bio freseer*) diambil 100 mL untuk dimasukkan dalam tabung berisi media NB sebanyak 10 mL dan di homogenkan menggunakan shaker selama 24 jam. Pada pengujian uji daya hambat ini, inokulasi bakteri pada media MH dilakukan dengan metode sebar. Inokulum bakteri *V.harveyi* yang telah di inkubasi selama 24 jam pada media NB di pipet sebanyak 100 mL dan di masukkan ke dalam media NB yang berisi 10 mL kemudian di kultur kembali selama 4-7 jam menggunakan shaker sehingga

nantinya populasi bakteri *V.harveyi* mencapai 10^6 CFU/mL. Menurut Kadriah (2012) bahwa bakteri *V.harveyi* yang diinkubasi 4-7 jam akan mencapai populasi 10^6 CFU/mL. Kemudian di pipet 10 mL untuk diencerkan pada larutan fisiologi 1000 mL dengan tujuan untuk memperoleh populasi 10^4 CFU/mL setelah itu bakteri diinokulasi 100 mL pada media MH.

4. Persiapan Ekstrak Buah Mangrove dan Kontrol Perlakuan

Persiapan ekstrak buah mangrove dalam pengujian daya hambat, uji MIC, menggunakan *paper disk* ini dimaksudkan untuk menyiapkan ekstraksi dengan konsentrasi yang berbeda untuk digunakan yakni 10.000 ppm, 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm, 5 ppm, 1 ppm, 0,5 ppm, 0,1 ppm, 0,05 ppm, 0,01 ppm. Persiapan diawali dengan menyiapkan alat dan bahan yang telah disterilkan meliputi tabung eppendorf, akuades sebagai pelarut ekstrak (Kasanah dan Isnansetyo, 2003), tip pipet dan larutan stok. Larutan stok yang digunakan sama seperti sebelumnya yakni stok dari 10.000 ppm yang telah dibuat. Dalam pengenceran ini digunakan larutan akuades yang berbeda untuk membuat konsentrasi ekstrak yang berbeda pula. Adapun jumlah masing-masing larutan akuades dan ekstraksi pada setiap perlakuan dalam tabung eppendorf dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 3. Jumlah masing-masing larutan ekstraksi pada setiap perlakuan

Tabung	Perlakuan	Larutan akuades	Ekstraksi mangrove	Pengulangan
R+A	10.000	600 mL	6 mg	3 kali
R+A	1000	495 mL	5 mL	3 kali
R+A	100	495 mL	5 mL	3 kali
R+A	10	495 mL	5 mL	3 kali
R+A	5	200 mL	100 mL	3 kali
R+A	1	495 mL	5 mL	3 kali
R+A	0,5	200 mL	100 mL	3 kali
R+A	0,1	495 mL	5 mL	3 kali
R+A	0,05	200 mL	100 mL	3 kali
R+A	0,01	495 mL	5 mL	3 kali
KN(AQ)	0	200	Tampa ekstrak	3 kali
KA	Rifampisin	200	Tampa ekstrak	3 kali

Lampiran 2. Hasil Uji MIC Ekstrak Buah *Rhizophora stylosa* dan *Avicennia marina* Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*.

NO	KODE	konsentrasi ekstrak (ppm)	Diameter zona hambatan (mm)
1	R+A	10000	9,0
		10000	6,9
		10000	6,9
		Rata-rata	7,60
2		1000	8,9
		1000	9,0
		1000	7,9
		Rata-rata	8,60
3		100	7,4
		100	7,1
		100	7,3
		Rata-rata	7,26
4		10	7,7
		10	7,0
		10	7,6
		Rata-rata	7,43
5		5	7,3
		5	6,7
		5	8,0
		Rata-rata	7,33
6		1	7,5
		1	8,2

	1	6,7
	Rata-rata	7,47
7	0,5	7,0
	0,5	7,5
	0,5	6,4
	Rata-rata	6,97
8	0,1	7,1
	0,1	7,5
	0,1	8,0
	Rata-rata	7,53
9	0,05	7,0
	0,05	7,9
	0,05	7,7
	Rata-rata	7,53
10	0,01	7,3
	0,01	7,1
	0,01	7,4
	Rata-rata	7,27
	KN	0
	KA	23,3

Lampiran 3. Tingkat aktivitas antibakteri berdasarkan diameter zona hambat

Diameter zona hambatan (mm)	Aktifitas antibakteri
>20	Sangat tinggi
15<20	Tinggi
10<15	Sedang
6<10	Rendah

Sumber ; (Zainuddin. 2006)

Lampiran 4. Hasil Uji MBC Ekstrak Buah *Rhizophora stylosa* dan *Avicennia marina* Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* (Kepadatan Populasi bakteri x10³ cfu/ml)

NO	KODE	Konsentrasi ekstrak (ppm)	Populasi bakteri X10 ³ CFU/mL
1	R+A	10000	0
		10000	0
		10000	0
		JUMLAH	0
2		1000	6
		1000	4
		1000	0
		JUMLAH	3,33
3		100	235
		100	56
		100	238
		JUMLAH	176,33
4		10	471
		10	166
		10	576
		JUMLAH	404,3
5		1	210
		1	639
		1	600
		JIMLAH	483
6		0,1	1,000
		0,1	1,000
		0,1	1,000
		JUMLAH	1,000
	KA		0
	KN		1140

Lampiran 5. Uji Toksisitas

<i>Ekstrak Kombinasi Rhizophora stylosa + Avicennia marina 24 jam</i>										
Konsentrasi (ppm)	Log Kons	Ulangan 1		Ulangan 2		Ulangan 3		% Mati	% Terkoreksi	Probit
		Mati	Hidup	Mati	Hidup	Mati	Hidup			
1000	3	8	2	8	2	9	1	83,3	83,3	5,96
100	2	8	2	7	3	8	2	76,6	76,6	5,73
10	1	7	3	7	3	8	2	73,3	73,3	5,62
1	0	7	3	7	3	7	3	70,0	70,0	5,52

Lampiran 6. Kategori toksisitas berdasarkan nilai LC₅₀

Kategori	Nilai LC ₅₀ (mg/mL)
Sangat toksik	< 30
Toksik	30-1000
Tidak toksik	>1000

Sumber ; Wagner dkk (1993) dalam Rossiana (2006)

Lampiran 7. Dokumentasi kegiatan penelitian

a) Proses ekstraksi Rhizophora dan Avicennia

Keterangan gambar:A1. Buah sampel ; A2.Buah mencacah; A3.buah di blender dan di timbang; A4.perendaman dan penyaringan; A5.dielevator; A6.freesdeyr





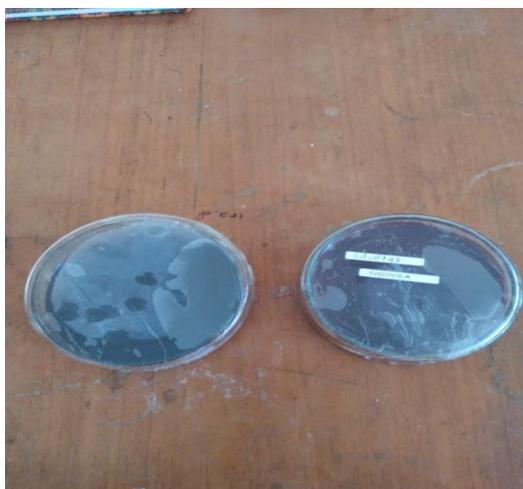
A4



A5



A6



b) Proses uji MIC

Keterangan gambar: B1.pensterilkan dalam autoclave dan akuades; B2.menimbang bubuk media MH dan pemanasan diatas hotplate; B3.penuangan media dalam botol dan mikropipet; B4.tip biru dan tip kuning; B5.pengenceran bahan aktif dan penanaman *paper disk*.; B6. Inkubasi bakteri.

**B1****B2****B3**



B4



B5



B6



c) Proses uji MBC

Keterangan gambar: C1. Pemanasan diatas hotplate media TCBSA dan penuangan; C2.penyimpangan media dan bahan aktif; C3.mikrowell dan larutan garam(pengenceran); C4.penanaman bakteri ke TCBSA; C5.inkubasi dan menghitung bakteri.



C1



C2



C3





C4



C5



DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Nama lengkap Nur ati Akrab disapa Ati, Lahir di Kayuadi, Selayar 16 Februari 1995. Anak pertama dari Ayah Alm. Dg. Maklimbang dan Ibu Saripati. Sampai Saat ini, saya telah menempuh pendidikan sekolah dasar di SD. Inpres Bangko, SMP Negeri 1 Taka Bonerate, SMA Negeri 1 Taka Bonerate dan Terakhir menjadi salah satu alumni di Universitas Muhammadiyah Makassar (Unismuh) Fakultas Pertanian dan Jurusan Budidaya Perairan.