

UJI *MINIMUM INHIBITION CONCENTRATION* DAN *MINIMUM BACTERICIDAL CONCENTRATION* EKSTRAK BUAH MANGROVE *Rhizophora stylosa* TERHADAP *Vibriosis* PADA LARVA KEPITING BAKAU (*Scylla serrata forsskal 1775*)

SKRIPSI

**SALMAWATI
10594078713**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAHMAKASSAR
2018**

UJI *MINIMUM INHIBITION CONCENTRATION* DAN *MINIMUM BACTERICIDAL CONCENTRATION* EKSTRAK BUAH MANGROVE
Rhizophora stylosa TERHADAP *Vibriosis* PADA LARVA KEPITING BAKAU
(*Scylla serrata forsskal 1775*)

SKRIPSI

OLEH :

SALMAWATI
10594078713

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Perairan Pada Program Studi Budidaya Perairan

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

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Uji *Minimum Inhibition Concentration* Dan *Minimum Bactericidal Concentration* Ekstrak Buah Mangrove *Rhizophora stylosa* Terhadap *Vibriosis* Pada Larva Kepiting Bakau (*Scylla Serrata Forsskal 1775*).

Nama Mahasiswa : Salmawati

Stambuk : 10594078713


Program Studi : Budidaya Perairan

Fakultas : Pertanian

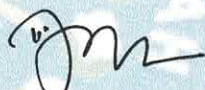
Makassar, Februari 2018

Telah Diperiksa dan Disetujui Oleh:

Pembimbing I,




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

Pembimbing II,



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

Mengetahui:

Dekan Fakultas Pertanian,



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

Ketua Program Studi,


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

Tanggal Pengesahan :

PENGESAHAN KOMISI PENGUJI

Judul : Uji *Minimum Inhibition Concentration* Dan
Minimum Bactericidal Concentration Ekstrak
Buah Mangrove *Rhizophora stylosa* Terhadap
Vibriosis Pada Larva Kepiting Bakau (*Scylla*
Serrata Forsskal 1775).

Nama : Salmawati

Nim : 10594078713

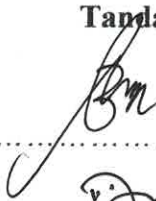
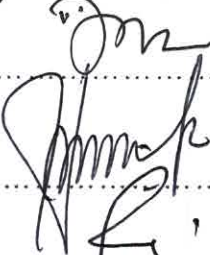
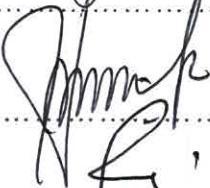
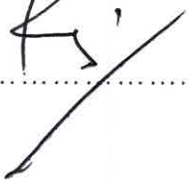
Jurusan : Perikanan

Program Studi : BudidayaPerairan

Fakultas : Pertanian

Universitas : Muhammadiyah Makassar

SUSUNAN PENGUJI

No.	Nama	TandaTangan
1.	<u>H. Burhanuddin, S.Pi., MP</u> Pembimbing I	()
2.	<u>Murni, S.Pi., M.Si</u> Pembimbing II	()
3.	<u>Asni Anwar, S.Pi., M.Si</u> Penguji I	()
4.	<u>Dr. Abdul Haris Sambu, S.Pi, M.Si</u> Penguji II	()

HALAMAN HAK CIPTA

@ Hak cipta milik Universitas Muhammadiyah Makassar, Tahun 2018. Hak cipta dilindungi undang-undang.

1. *Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumber.
 - a. *Pengutip hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah*
 - b. *Pengutip tidak merugikan kepentingan yang wajar Universitas Muhammadiyah Makassar**
2. *Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis dalam bentuk laporan apapun tanpa izin Universitas Muhammadiyah Makassar*

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Salmawati
NIM : 0594078713
Jurusan : Perikanan
Program Studi : Budidaya Perairan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari skripsi ini adalah hasil karya tulisan atau pemikiran orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 06 Februari 2018

Salmawati
NIM : 10594078713

ABSTRAK

Salmawati, 10594078713. Uji Minimum Inhibition Concentration Dan Minimum Bactericidal Concentration Ekstrak Buah Mangrove *Rhizophora stylosa* Terhadap *Vibriosis* Pada Larva Kepiting Bakau (*Scylla Serrata Forsskal 1775*). Skripsi Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Makassar. Pembimbing I H. Burhanuddin, S.Pi., M.P dan Pembimbing II Murni, S.Pi.,M.Si.

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Agustus-Januari 2018. di Laboratorium Kimia, Politeknik Unhas (Ekstrak buah mangrove *Rhizophora stylosa*) dan Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau Dan Penyuluhan Perikanan (BRPBAP3) di Maros.

Usaha produksi budidaya kepiting bakau (*Scylla serrata forsskall*) masih ditemukan berbagai permasalahan,. Salah satu diantaranya adalah adanya serangan penyakit *vibriosis* yang disebabkan oleh infeksi bakteri *vibrio harveyi*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau dan Penyuluhan Perikanan (BRPBAP3), Maros.

Pengujian daya hambat ekstrak buah mangrove terhadap bakteri dilakukan dengan dua tahapan yakni uji Minimum Inhibition Concentration (MIC) dengan konsentrasi 10.000 ppm , 1.000 ppm, 100 ppm, 10 ppm, 5 ppm, 1 ppm, 0,5 ppm, 0,1 ppm, 0,05 ppm, 0,01 ppm, kontrol (tanpa pemberian ekstrak) dan antibiotik rifampisin 50 ppm. Dan didapatkan hasil MIC 0,01 ppm dengan luas zona hambatan 7,93 mm, dengan hasil penelitian menunjukkan ekstrak buah mangrove dapat menghambat pertumbuhan bakteri *vibrio harveyi*. Sedangkan secara MBC terdapat pada 1000 ppm dengan total 0 CFU/mL bakteri setelah 24 jam.

Kata Kunci: *Rhizophora stylosa*, MIC, MBC, Dan Bakteri *Vibrio harveyi*

KATA PENGANTAR



Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah dengan penuh rasa suka cita disertai dengan ucapan tulus syukur alhamdulillah kepada Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya. Sehingga penulis bisa menuntaskan Skripsi penelitian yang berjudul “**Uji *Minimum Inhibition Concentration* Dan *Minimum Bactericidal Concentration* Ekstrak Buah Mangrove *Rhizophora stylosa* Terhadap *Vibriosis* Pada Larva Kepiting Bakau (*Scylla Serrata Forsskal 1775*)**”. Dapat diselesaikan juga dengan waktu yang diharapkan. Banyak hambatan dan tantangan yang dihadapi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini karena menyadari bahwa penulis memiliki keterbatasan kemampuan sebagai makhluk biasa.

Terimakasih yang sedalam-dalamnya Ananda haturkan kepada Ayahanda terhormat **Muis** dan Ibunda tercinta **Wati**. Yang telah membesarkan dan mendidik penulis dengan penuh kasih sayang. Harapan dan cita-cita luhur kedua nya senantiasa memotivasi penulis untuk berbuat dan menambah ilmu, juga memberikan dorongan moral maupun material serta atas doanya yang tulus buat Ananda.

Pada kesempatan yang berharga ini penulis sampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada semua pihak yang telah mendukung proses penulisan skripsi ini, khususnya kepada yang terhormat:

1. Bapak **Dr. H. Abd. Rahman Rahim, SE, MM.** Rektor Universitas Muhammadiyah Makassar.
2. Bapak **H. Burhanuddin, S.Pi., MP,** Dekan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Makassar yang telah menyediakan sarana dan prasarana perkuliahan.
3. Ibu **Murni, S.Pi., M.Si,** Ketua Program Studi Budidaya Perairan Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Makassar.
4. Ibu **H. Burhanuddin, S.Pi., MP** dan Bapak **Murni, S.Pi., M.Si** selaku Pembimbing yang telah ikhlas meluangkan waktunya dan banyak memberikan nasehat, sarang, petunjuk yang berharga kepada penulis serta bimbingan sejak persiapan penelitian sampai tersusunnya skripsi ini..
5. Ibu **Asni Anwar, S.Pi., M.Si** dan Bapak **Dr. Abdul Haris Sambu, S.Pi, M.Si** selaku penguji yang tela hikhlas meluangkan waktunya dan banyak memberikan nasehat, saran dan petunjuk yang berhaga kepada penulis.
6. Bapak dan Ibu Dosen Serta Staf Tata Usaha Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Makassar
7. **Para Sahabat Seperjuangan** Nurati, Fahrul Fahtati, Muh.Irfan, Sumardi, Syarifuddin, Asriyanto, Syarif dan semua angkatan 2013 Budidaya Perairan telah memberikan motivasi dan semangat buat penulis.

Penulis menyadari, bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Dengan kelebihan dan kekurangannya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi yang memerlukannya. Amin YaRabbal' Alamin. Akhirnya ,semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Makassar, 06 Februari 2018

Salmawati

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGESAHAN	i
PENGESAHAN KOMISI PENGUJI	ii
HALAMAN HAK CIPTA	iii
HALAMAN PERYATAAN KEASLIAN	iv
ABSTRAK	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1,2 Tujuan dan Kegunaan Penelitian	2
II. TINJAUN PUSTAKA	5
2.1. Klasifikasi Dan Morfologi <i>Rhizopora Spp</i>	5
2.2. Kandungan Bioaktif Buah Mangrove <i>Rhizopora Stylosa</i>	6
2.3. Klasifikasi Dan Morfologi Kepiting Bakau	7
III. METODE PENELITIAN	11
3.1 Waktu dan Tempat	11
3.2 Persiapan Ekstrak Buah Mangrove <i>Rhizopora Stylosa</i>	11
3.3 Isolasi Bakteri <i>Vibrio Spp</i> Dari Pemeliharaan Larva Kepiting Bakau	12
3.4 Pengujian Antibakteri <i>Vibrio Harveyi</i>	12
3.5 pelaksanaan uji zona hambatan	14

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 <i>Uji Minimum Inhibition Concentration (MIC)</i>	23
4.2 <i>Uji Minimum Bactericida Concentration (MBC)</i>	25
4.3 Uji Toksisitas Ekstrak Buah Mangrove <i>Rhizophora Stylosa</i> Terhadap Larva Kepiting Bakau	28
V. KESIMPULAN DAN SARAN	30
5.1. Kesimpulan	30
5.2. Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Lampiran	Halaman
1. <i>Rhizopora stylosa</i>	6
2. Larva Kepiting Bakau (<i>Scylla serrata forsskal 1775</i>)	8
3. Daur Hidup Kepiting Bakau	10
4. Cawan Yang Sudah Diinokulasi Bakteri	13
5. Grafik Analisa Probit Presentase Kematian Larva Kepiting Bakau	28

DAFTAR TABEL

Lampiran	Halaman
1. Jumlah Masing-Masing Larutan Ekstraksi Pada Setiap Perlakuan	17
2. Pengenceran Setiap Perlakuan	19
3. Hasil Uji MIC	23
4. Hasil Uji MBC	25

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Rhizophora stylosa telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir untuk pengobatan alami seperti pada bagian kulit kayu, bunga, dan daunnya (Purnobasuki, 2004). Bagian lain dari *Rhizophora stylosa* yang dapat dimanfaatkan adalah buahnya yang merupakan tempat penyimpanan cadangan makanan. Buah mangrove mengandung senyawa-senyawa anti bakteri yang berguna untuk pengobatan infeksi oleh bakteri (Priyono, 2010). Salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi serangan penyakit bacterial adalah 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* karena mengandung senyawa antibakteri seperti alkaloid, saponin, flavonoid, dan juga tannin (Rohaeti dkk., 2010).

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 mengkerutkan 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). Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode maserasi (wardani dkk., 2012). Buah yang matang (berwarna hijau kecoklatan) dicuci sampai bersih kemudian dikeringkan menggunakan oven, selanjutnya buah dihaluskan menggunakan blender sampai didapatkan bubuk halus.

Larva Kepiting bakau (*Scylla serrata* forskall) merupakan Salah Satu komoditas perikanan pada habitat perairan pantai, khususnya didaerah hutan bakau (*mangrove*). Kepiting bakau telah dikenal baik dipasaran dalam maupun luar negeri, karena rasa dagingnya yang lezat dan bernilai gizi tinggi yakni mengandung berbagai nutrient penting (catacutan, 2002). Melihat potensi yang ada didalam tubuh kepiting bakau, maka perlu dilakukan upaya budidaya kepiting bakau (*S.serrata*) masalah utama yang dihadapi adalah adanya bakteri pathogen pada proses pembenihan.

Penurunan produksi kepiting bakau terutama disebabkan adanya penyebaran penyakit pada budidaya kepiting. Penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Vibrio* atau disebut *vibriosis* merupakan salah satu penyakit yang sering terjadi pada budidaya kepiting bakau (Amanda *et.al.*, 2015). Jenis-jenis bakteri pada kepiting bakau pernah dilaporkan oleh Lavilla-Pitogo and De la Pena (2004). yaitu

ditemukannya *Vibrio vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. splendidus*, dan *V. orientalis* di Iloilo, Filipina.

Bakteri vibrio adalah salah satu penyebab penyakit yang cukup banyak menyerang hewan budidaya seperti kepiting bakau (Karunasagar et al., 1994), beberapa spesies ikan dan kekerangan (Austin ,2006) bahkan juga kerang (Ben-haim et al.,2003). Beberapa spesies vibrio berpendar seperti vibrio cholerae (Biotipy albensis).Sudah dikenal dan sangat populer sebagai penyebab penyakit vibriosis pada udang penaid. Infeksi vibrio harvey berpendar telah dilaporkan sebagai penyebab kematian dalam pembenihan larva kepiting bakau diberbagai belahan dunia. Vibriosis biasanya menyerang saat bulan pertama dalam pertambakan dan menyebabkan kematian 50%. Menurut Saulnier et al.(2000) bakteri vibrio dapat berperan sebagai bakteri oportunistik dan sebagai patogen murni namun dapat juga diisolasi dari larva kepiting yang sehat.

Berbagai penelitian terkait dengan pemanfaatan bioaktif mangrove sebagai antibakteri pada cultivan telah banyak dilakukan, namun pada umumnya masih bersifat parsial, tidak lengkap (*In vitro*) dan cenderung hanya menggunakan salah satu metode penanggulangan (pencegahan atau pengobtan saja), serta pemanfaatan ekstrak buah mangrove yang belum dicobakan pada larva kepiting bakau (*Scylla serrata*).

Berdasarkan informasi tersebut di atas potensi bioaktif tanaman mangrove, khususnya buah bakau (*Rhizophora stylosa*).Untuk penanggulangan penyakit bakteri dan infeksi pada budidaya kepiting, khususnya pada stadiazoea, perlu diteliti

1.2 Tujuan Dan Kegunaan penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan tingkat konsentrasi efektif yang mampu menghambat bakteri vibriosis.

II . TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi dan Morfologi *Rhizophora* spp.

Klasifikasimangrovejenis *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* (Burhanuddin).

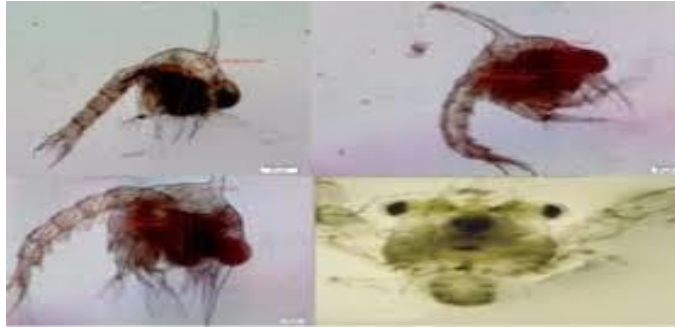
2.2 Kandungan Bioaktif Buah Mangrove *Rhizophora stylosa*

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 mengkerutkan 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).

2.2. Klasifikasi dan Morfologi Kepiting Bakau (*scylla serrata forsskal*)

Secara taksonomi, Motoh (1977) dan Keenan (1999) mengklasifikasikan kepiting sebagai berikut:

- Filum : Arthropoda
- Subfilum : Mandibulata
- Kelas : Crustacea
- Subkelas : Malacostraca
- Seri : Eumalacostraca
- Superordo : Eucarida
- Ordo : Decapoda
- Subordo : Raptantia
- Seksi : Brachyura
- Subseksi : Branchyrhyncha
- Famili : Portunidae
- Genus : *Scylla*
- Spesies : *Scylla serrata* (Forsskal)
- S. tranquebarica* (Fabricius)
- S. paramamosain* (Herbst) dan *S. olivacea* (Herbst)



Gambar 2 larva kepiting bakau (*Scylla serrata*).

Menurut Karim (2013), secara morfologi kepiting bakau memiliki ciri-ciri sebagai berikut :

1. Karapas lebih lebar daripada pada panjang, panjang karapas kurang lebih dua pertiga dari lebarnya.
2. Permukaan karapas hampir licin kecuali adanya beberapa lekuk yang bergranula halus di daerah *branchial*.
3. Pada dahi terdapat 4 buah gigi tumpul tidak termasuk duri ruang mata sebelah dalam yang berukuran kurang lebih sama.
4. Tepi anterior dari karapas bergigi 9 buah, runcing dan berukuran kurang lebih sama, sudut *posterolateral* melengkung dan pada bagian sambungan ruasnya sedikit menebal.
5. Kaki yang bercapit atau *cheliped* pada jantan dewasa dapat mencapai panjang hampir dua kali panjang karapas, sedangkan pada betina capitnya lebih pendek.

Kepiting bakau jantan dan betina dapat dibedakan dengan mengamati ruas-ruas abdomennya. Kepiting jantan ruas abdomennya sempit, sedang pada betina lebih

besar. Perut kepiting jantan berbentuk segitiga meruncing, sedang yang betina berbentuk segitiga melebar (Gambar 2). Perbedaan lain adalah kaki renang atau *pleopod* yang terletak di bawah abdomen pada kepiting jantan berfungsi sebagai alat kopulasi, sedangkan pada betina sebagai tempat perlekatan atau penempelan telur.

c. Daur Hidup

Siklus hidup kepiting bakau sebagian besar berlangsung di laut, perairan bakau atau payau dan estuaria (muara sungai). Kepiting bakau melangsungkan perkawinannya di perairan mangrove, dan secara berangsur-angsur sesuai dengan perkembangan telurnya, kepiting bakau betina akan bermigrasi ke laut dalam atau menjauhi pantai untuk mencari lingkungan yang cocok terutama suhu dan salinitas air laut untuk melepaskan telur-telurnya (ovulasi). Fenomena tersebut menunjukkan bahwa kepiting memerlukan kondisi lingkungan yang ideal untuk ovulasi.

Setelah telur menetas, kepiting memasuki stadia larva. Stadia ini dimulai dengan zoea-I yang terus menerus berganti kulit sebanyak 5 (lima) kali, sambil terbawa arus ke perairan pantai sampai menjadi zoea-V (lima).



Gambar 3. Daur hidup Kepiting Bakau (*Scylla serrata* Forsskal) (Sumber :
 . Motoh (1977) dan Keenan (1999).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai September 2017 di Laboratorium Kimia, Politeknik Unhas (ekstraksi buah mangrove *Rhizophora stylosa*) dan Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau dan Penyuluhan Perikanan (BRPBAP3) di Maros (isolasi bakteri vibrio, uji MIC, dan uji MBC).

3.2 Persiapan Ekstrak Buah Mangrove *Rhizophora stylosa*

Buah mangrove *Rhizophora stylosa* dikumpulkan dari daerah sekitar pesisir pantai, Kuri Caddi, Maros Sulawesi Selatan. Identifikasi mangrove mengacu Kitamura *et.al.*, (1997). 4 kg buah mangrove *Rhizophora stylosa* berat basah 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 diblender hingga halus.

Tepung buah mangrove ditimbang sebanyak 300 gr, kemudian direndam (maserasi) di dalam larutan methanol 80% dan aquades 20% sebanyak 3 kali selama 24 jam, setelah perendaman ekstrak di saring menggunakan kertas saring (whatman) dan dievaporasi menggunakan vacuum 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 (Thiosulphate 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 (Tryptic 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 daya hambat atau uji MIC (Minimum Inhibitory Concentration) menggunakan paper disk yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terendah ekstrak mangrove terendah bahan antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri b) Ujiantang secara *in vitro* atau uji MBC (Minimum Bactericidal Concentration) yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terendah ekstrak mangrove yang dapat membunuh bakteri. Sebelum melakukan uji MIC terlebih dahulu melakukan uji screening tujuannya untuk menentukan berapa konsentrasi ekstrak buahmangrove yang mampu menghambat bakteri patogen atau vibriosis.

a). Uji Minimum Inhibition Concentration (MIC)

Uji daya hambat yang dilakukan dengan metode uji zona hambatan menggunakan *paper disk*. Hal ini yang bertujuan untuk menentukan 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 yang digunakan yakni 10000 ppm, 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm, 5 ppm, 1 ppm, 0,5 ppm, 0,1 ppm, 0,05 ppm, 0,01ppm dan kontrol negative (akuades) 50 mikrolit serta kontrol antibiotic(Rifamfisn) 50 mikrolit untuk setiap *disk*. Adapun tahapan kerja masing-masing pengujian disajikan pada Lampiran 1.

3.5 Pelaksanaan Uji Zona Hambatan

Media MH yang telah dibuat dan diinokulasi bakteri diberi label dengan spidol untuk membagi zona penempatan *paper disk* dan menandai setiap konsentrasi ekstraksi. Adapun pembagian zona pada media MH dapat dilihat pada Gambar Berikut Ini.



Gambar 4. Cawan yang sudah diinokulasi bakteri dan diberi label.

Setelah seluruh cawan sudah diinokulasi bakteri dan diberi label, kemudian dimasukkan *paper disk* berdiameter 6 mm ke dalam setiap cawan menggunakan pinset steril yang diberikan alkohol dan telah di panaskan dengan lampu Bunsen sesuai

dengan zona masing-masing cawan. Selanjutnya pemberian larutan ekstraksi mangrove dengan volume masing-masing setiap cawan sebanyak 50 mL menggunakan mikropipet. Pemberian larutan ekstraksi tersebut dimulai dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi (0,01 ppm sampai 10.000 ppm), dan larutan (aquades) dan antibiotik (rifampisin) sebagai kontrol. Setelah seluruh *paper disk* dalam cawan telah selesai diberikan ekstrak *Rhizophora* sebanyak 50 mL, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam untuk menumbuhkan bakteri.

3.6 Pengamatan Zona Hambatan

Pengamatan zona hambatan 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. Zona hambatan yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong untuk mengetahui diameter zona hambat setiap konsentrasi. Ekstrak mangrove hasil pengukuran dimasukkan dalam analisis data untuk mengetahui konsentrasi ekstrak mangrove yang terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V.harveyi*. data untuk mengetahui nilai MIC ekstrak mangrove *Rhizophora*.

➤ Uji Tantang Secara *in vitro*

Uji tantang secara *in vitro* bertujuan untuk mengetahui jumlah sel bakteri *V. harveyi* yang dihambat/mematikan oleh ekstrak buah mangrove *Rhizophora*. Konsentrasi ekstraksi buah mangrove *rhizophora* yang digunakan adalah 10.000, 1000, 100, 10, 1, 0,1 ppm dan kontrol antibiotik (Refampisin) dan kontrol negative (Aquades). Adapun tahapan kerja masing-masing pengujian adalah sebagai berikut:

1. Sterilisasi 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 kedalam 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 kemudian disterilkan dengan autoclave suhu 121⁰C dengan tekanan 1 atm selama 90 menit.

➤ Media TCBSA

Media TCBSA yang dibutuhkan dalam pengujian ini sebanyak 20 media dalam 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 121⁰C 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 100⁰C 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 keperluan selanjutnya.

3. Persiapan Ekstrak Buah Mangrove

Persiapan ekstrak buah mangrove dalam uji in vitro untuk mengetahui nilai 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 mendapatkan konsentrasi larutan ekstraksi 1000 dalam eppendorf. Larutan stok diaduk hingga homogen kemudian di masukkan ke dalam 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 1. Jumlah masing-masing larutan ekstraksi setiap perlakuan

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

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 10^6 CFU/mL. Untuk memperoleh konsentrasi bakteri *V.harveyi* 10^6 CFU/mL dari konsentrasi 10^4 CFU/mL, digunakan rumus pengenceran yaitu $N_1V_1=N_2V_2$. 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 2. Pengenceran setiap perlakuan

Perlakuan		Pengenceran
R.1.1	10^0	10^0
R1.2	10^0	10^0
R.1.3	10^0	10^0
R2.1	10^0	10^0
R2.2	10^0	10^0
R2.3	10^0	10^0
R3.1	10^0	10^0
R3.2	10^0	10^0
R3.3	10^0	10^0
R.4.1	10^0	10^2
R4.2	10^0	10^2
R4.3	10^0	10^2
R5.1	10^0	10^2
R.5.2	10^0	10^2
R.5.3	10^0	10^2
R6.1	10^0	10^2
R6.2	10^0	10^2
R6.3	10^0	10^2

7. Inokulasi pada media TCBSA

Setelah pengenceran bakteri dan bahan ekstrak mangrove dilakukan, maka selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri dalam media TCBSA yang telah disiapkan sebelumnya. Konsentrasi yang diambil sesuai pada tabel 6 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.Pemberian ekstrak buah mangrove *Rhizophora* untuk menghambat pertumbuhan bakteri *vibrio harveyi* dengan menggunakan 10 perlakuan dan 3 ulagan.

1. R Konsentrasi 10000 ppm
2. R Konsentrasi 1000 ppm
3. R Konsentrasi 100 ppm
4. R Konsentrasi 10 ppm
5. R Konsentrasi 5 ppm
6. R Konsentrasi 1 ppm
7. R Konsentrasi 0,5 ppm
8. R Konsentrasi 0,1 ppm
9. R Konsentrasi 0,05 ppm
10. RKonsentrasi 0,01 ppm
11. Kontrol negatif(Aquades): 50 mL
12. Kontrol positif (Antibiotik Rifampisin)

Sedangkan pada pemberian ekstrak buah mangrove untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V.harveyi* secara *in vitro* pada uji MBC diset menggunakan 6 perlakuan dengan 3 ulangan masing-masing sebagai berikut:

1. R Konsentrasi 10.000 ppm
 2. R Konsentrasi 1000 ppm
 3. R Konsentrasi 100 ppm
 4. R Konsentrasi 10 ppm
 5. R Konsentrasi 1 ppm
 6. R Konsentrasi 0,1 ppm
 7. Kontrol positif (Antibiotik Rifampisin)
 8. Kontrol negatif (Akuades)
- ✓ 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

Kepadatan bakteri yang terbentuk 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

4.1. uji *Minimum Inhibition Concentration* (MIC)

Pengujian ekstrak buah mangrove *Rhizophora Spp* bertujuan untuk mengetahui kualitas ekstrak buah mangrove dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V.harveyi*, dengan penilaian kualitas berdasarkan luas zona hambatan yang terbentuk. Rata-rata hasil Uji *Minimum Inhibition Concentration* (MIC) ekstrak buah mangrove *Rhizophora stylosa* terhadap bakteri *Vibrio harveyi* disajikan pada Tabel 6.

Tabel 3. Hasil Uji *Minimum Inhibition Concentration* (MIC) rata-rata ekstrak buah mangrove *Rhizophora stylosa* terhadap bakteri *Vibrio harveyi*.

Konsentrasi ekstrak (ppm)	Luas zona hambatan (mm)
10000	7,23
1000	7,16
100	7,43
10	7,13
5	7,53
1	7,20
0,5	7,36
0,1	7,63
0,05	7,93
0,01	7,46
KN	0
KA	18,16

Hasil uji *Minimum Inhibition Concentration* (MIC) atau konsentrasi minimal yang menghambat dari ekstrak tanaman mangrove *Rhizophora* menunjukkan bahwa MIC terendah (daya hambat) diperlihatkan oleh konsentrasi 0,05 ppm dengan luas zona hambat 7,9 mm meskipun kontrol antibiotic *Ripamfisin* jauh berbeda dengan daya hambat ekstrak buah mangrove *Rhizophora*.

Hasil penelitian menunjukkan adanya daya hambat yang terbentuk hal ini dapat dilihat pada tabel 6. Perbedaan ini menunjukkan bahwa *R.stylosa* berbeda dengan antibiotik *Rifampisin* dan kontrol negatif. Selain antibiotik yang digunakan juga berbeda dengan *R.stylosa*. konsentrasi ekstrak buah mangrove memberi zona hambatan yang rendah dibandingkan antibiotik (*Rifampisin*), Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan antara pemberian *R.stylosa* dengan kontrol negative (aquades) kontrol positif (tanpa pemberian ekstrak buah mangrove). Namun lebih tinggi dibandingkan antibiotik. Hal ini diduga karena antibiotik (*Rifampisin*) memiliki kemampuan yang lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan *R.stylosa*.

Mekanisme kerja *Rifampisin* pada sel bakteri dengan menghambat sintesa RNA, sehingga sel bakteri tidak dapat mensintesis protein. seluruh ekstrak *R.stylosa* pada berbagai konsentrasi tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri. Hal ini diduga karena ekstrak buah mangrove memiliki jenis kandungan senyawa bioaktif antibakteri yang sama pada setiap konsentrasi dan jumlah yang dikandungnya tidak berbeda, sehingga daya hambat yang dihasilkan tidak jauh berbeda antara konsentrasi. Menurut Herawati Dkk. (2011) bahwa secara umum buah mangrove mengandung senyawa fleanoid, steroid, tannin, saponin yang bersifat anti bakteri. Berdasarkan hasil pengukuran, seluruh konsentrasi ekstrak buah

mangrove memiliki daya hambat pada pertumbuhan bakteri. Meskipun zona hambatan yang terbentuk tidak jauh berbeda pada setiap konsentrasi ekstrak.

Berdasarkan proses penghambatan tersebut, maka dalam hal ini bahan ekstrak buah mangrove dapat dikategorikan sebagai antibiotik yang bersifat bakteristatik, yaitu mampu menghambat pertumbuhan bakteri hal ini sesuai dengan pernyataan Purno Basuki (2004) bahwa kandungan senyawa antibakteri pada buah mangrove seperti flavonoid mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada media kultur. Dengan demikian, ekstrak buah mangrove *Rhizophora* spp yang digunakan dalam pengujian antibakteri dapat dikategorikan sebagai bahan yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Sehingga zona hambatan yang terbentuk masih lebih rendah dibanding dengan menggunakan antibiotik (*Rifampisin*). Hal ini diduga karena konsentrasi ekstrak yang diuji masih rendah dan proses ekstraksi buah yang masih menghasilkan ekstrak kasar.

4.2 Uji Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

Pengujian antibakteri bertujuan untuk mengetahui perkembangan populasi bakteri *V. harveyi* yang telah diberi ekstrak *R. stylosa*. Pengamatan dilakukan selama 24 jam untuk mengetahui pola pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Hasil Uji Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ekstrak buah mangrove *Rhizophora stylosa* terhadap bakteri *Vibrio harveyi* disajikan pada Tabel 7.

Tabel 4. Hasil Uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) ekstrak buah mangrove *Rhizophora stylosa* terhadap bakteri *Vibrio harveyi*.

Konsentrasi ekstrak (ppm)	Pertumbuhan Bakteri	Populasi Bakteri $\times 10^3$ cfu/ml
10000	-	0
1000	-	0
100	+	8,303
10	+	7,950
1	+	4,013
0,1	+	3,390
KN	+	39,8
KP	-	0

Secara umum pemberian ekstrak buah *R.stylosa*. mampu mematikan/menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak buah *R.stylosa* maka populasi bakteri *Vibrio harveyi* semakin rendah. Hal ini dapat dilihat pada (tabel 7) dengan konsentrasi 10.000 ppm dan 1.000 ppm yang pertumbuhannya tidak ada lagi. Sedangkan pada konsentrasi 100 ppm, 10 ppm, 1 ppm, dan 0,1 ppm masih ada populasi bakteri yang tumbuh.

Konsentrasi ekstrak *R.stylosa* 10.000 ppm dan 1.000 ppm menunjukkan tidak ada lagi pertumbuhan populasi bakteri. Sedangkan Konsentrasi ekstrak *R.stylosa* 100 ppm, 10 pp, 1 ppm, 0,1 ppm, masih terlihat pertumbuhan populasi bakteri. Hal ini diduga semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin kurang pula pertumbuhan populasi bakteri.

Hasil yang diperoleh pada kontrol (tanpa pemberian ekstrak) menunjukkan pengaruh yang berbeda dengan perlakuan lain. pada waktu 24 jam yang menyebabkan

populasi bakteri bertambah. Hal ini dikarenakan tidak adanya bahan aktif yang terkandung dalam kontrol sehingga tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan saptiani, *dkk.*(2012) bahwa pertumbuhan bakteri akan terhambat (bakteriostatik) bahkan mati (bakterisidal) jika suatu bahan yang diberikan dalam pengujian mengandung senyawa antibakteri.

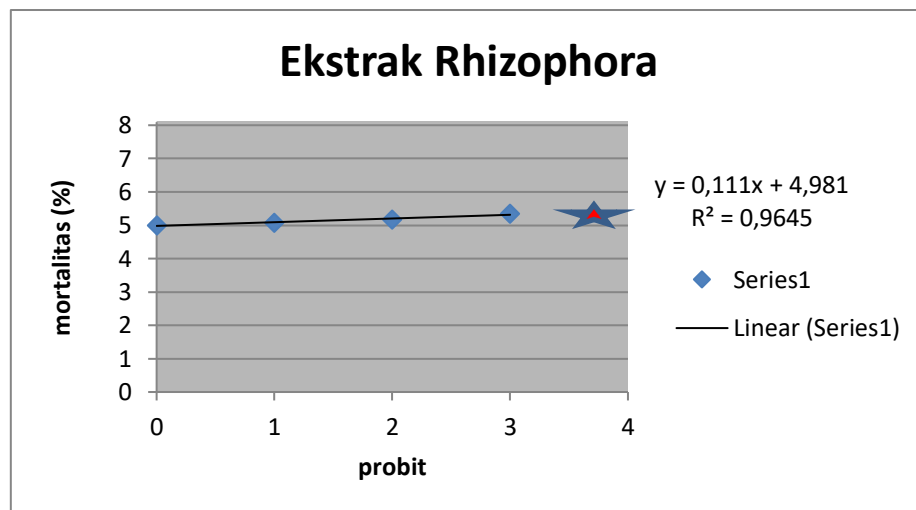
Kandungan senyawa antibakteri pada ekstraksi buah mangrove ini diduga terdiri dari flavonoid yang berperan sebagai antibakteri. Menurut Ponobasuki (2004) bahwa secara umum buah mangrove mengandung senyawa steroid, saponin, flavonoid, dan tannin. Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang berpotensi sebagai senyawa antibiotik dan antibakteri karena memiliki aktivitas antioksidan (Saikiah dan Upadhyaya, 2011). Sedangkan menurut Andrawulan *et al* 2010 bahwa flavonoid merupakan senyawa antioksidan yang terdapat di setiap tanaman. Senyawa ini disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan dalam responnya terhadap infeksi oleh mikroorganisme, sehingga senyawa ini efektif sebagai senyawa antimikroba.


Senyawa flavonoid sebagai antibakteri yang terdapat di tumbuhan mangrove, utamanya di bagian buah mangrove dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol. Metanol yang digunakan dalam penelitian ini untuk mengekstraksi buah mangrove tergolong sebagai pelarut bersifat polar yang dapat melarutkan senyawa polar seperti alkaloid kuartener, komponen polifenol, karotenoid, dan tannin (Sucianti 2012). Menurut Wardana dan *dkk* (2005) bahwa metanol adalah pelarut yang bersifat polar dan sering digunakan untuk proses ekstraksi suatu simplisia, pelarut ini dapat

melarutkan senyawa-senyawa yang sifatnya polar. Flapanoid bersifat polar sehingga dapat larut dengan methanol. Menurut pavia (1995) bahwa pelarut methanol yang digunakan dapat melarutkan berbagai senaywa polar. Selain itu methanol tidak bersifat sebagai antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

4.3 Uji toksisitas ekstrak buah mangrove *Rhizophora stylosa* terhadap larva kepiting bakau

Hasil uji toksisitas ekstrak buah mangrove *Rhizophora stylosa* pada larva kepiting bakau disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik analisa probit presentase kematian larva kepiting bakau setelah diekspos selama 24 jam pada konsentrasi ekstrak mangrove rhizophora stylosa (tanda  adalah letak LC₅₀).

Analisa probit presentase kematian larva kepiting bakau setelah diekspos selama 24 jam pada konsentrasi ekstrak mangrove rhizophora stylosa dengan nilai LC_{50} 1,483. Menurut zainuddin (2009), bahwa nilai toksisitas analisis probit yang < 1000 ppm bersifat toksik, sehingga tidak dapat diaplikasikan secara in-vivo pada pencegahan atau pengobatan larva kepiting bakau *Scylla serrata* forsskal.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 SIMPULAN

Ekstrak buah *Rhizophora stylosa* mampu menghambat bakteri *Vibrio harveyi* meskipun respon hambatnya sangat lemah (hasil uji MIC = 7,13 – 7,93 mm zona hambat; nilai MBC = 1000 ppm), uji toksisitas menunjukkan ekstrak buah *Rhizophora stylosa* bersifat toksik jika persentase mortalitas rata-rata diatas 50% (Lc50) sehingga tidak dapat digunakan pada uji *In vivo*, tetapi dapat dikembangkan menjadi obat antibakteri.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, perlu disarankan adanya penelitian lanjutan untuk menguji ekstrak buah mangrove dengan konsentrasi yang lebih tinggi guna mengetahui efektifitas daya hambatnya dibandingkan dengan penggunaan antibiotic komersial. Disamping itu diperlukan juga adanya penelitian lanjutan mengenai pengujian ekstrak *in vivo*.

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.
- 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 Horwood Limited. Chichester: England. 552 p.
- Benhaim Y. Thompson Fl., Thomson CC, Cnockaert Mc, hosto B, surings J. rosen berg (2003) *Vibrio* sp.
- 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.
- Ikbal, 2014. Kajian Potensi Rumput Laut *Caulerpa racemosa* dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi* pada Larva Udang Windu (*Penaeus mondon*). Tesis Pascasarjana, Universitas Hasanuddin.
- Kadriah, I. A. K. 2012. Pengembangan Metode Deteksi Cepat *Vibrio* Berpendar Patogenetik Pada Udang Panaeid. Disertasi. Institute Pertanian Bogor. 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.
- 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.
- 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.
- Purnobasuki, H. 2004 Potensi Mangrove Sebagai Tanaman Obat. Hasil Penelitian Biota. FMIPA Universitas Airlangga, 9 (2): 125-126.
- Saifuddin, A., 2006. Alkaloid: Golongan Paling Prospek Menghasilkan Obat Baru. Departemen Farmakologis. Gorleus Laboratory, University of Leiden, Jerman, halaman 21.
- Saulnier, D., Haffner. P., Goarant, C., Lovy, P., Ansquer, P. 2000. experimental Infection Models For Shrimp *Vibriosis* studies: a review. Aquaculture 191:133-144
- Sucianti, Anisa, Wardiyanto Dan Sumino. 2012. Efektifitas Ekstrak *Rhizophora* Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *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. Pemanfaatan dan Pemasarakan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, Menegristek. Jakarta.
- 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.

LAMPIRAN

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

Ekstrak	Perlakuan	Larutan akuades	Ekstraksi mangrove	Pengulangan
<i>Rhizophora spp</i>	10.000	600 mL	6 mg	3 kali
<i>Rhizophora spp</i>	1000	495 mL	5 mL	3 kali
<i>Rhizophora spp</i>	100	495 mL	5 mL	3 kali
<i>Rhizophora spp</i>	10	495 mL	5 mL	3 kali
<i>Rhizophora spp</i>	5	200 mL	100 mL	3 kali
<i>Rhizophora spp</i>	1	495 mL	5 mL	3 kali
<i>Rhizophora spp</i>	0,5	200 mL	100 mL	3 kali
<i>Rhizophora spp</i>	0,1	495 mL	5 mL	3 kali
<i>Rhizophora spp</i>	0,05	200 mL	100 mL	3 kali
<i>Rhizophora spp</i>	0,01	495 mL	5 mL	3 kali
KN(AQ)	0	200	Tampa ekstrak	3 kali
KA	Rifampisin	200	Tampa ekstrak	3 kali

Lampiran 1. Hasil Pengamatan Pada Uji MIC

NO	KODE	Konsentrasi ekstrak <i>R.stylosa</i>	Luas Zona Hambatan (mm)
1.	R	10000	2,4
		10000	2,6
		10000	2,2
	Rata- rata		7,2
2		1000	2,3
		1000	2,6
		1000	2,0
	Rata- rata		7,1
3		100	2,2
		100	2,4
		100	2,6
	Rata- rata		7,4
4		10	2,0
		10	2,6
		10	2,3
	Rata- rata		7,1
5		5	2,10
		5	2,0
		5	2,5
	Rata- rata		7,5
6		1	2,4
		1	2,3
		1	2,5
	Rata- rata		7,2
7		0,5	2,4
		0,5	2,2
		0,5	2,6
	Rata- rata		7,3
8		0,1	2,12
		0,1	2,5
		0,1	2,3
	Rata- rata		7,6
9		0,05	2,6
		0,05	2,7
		0,05	2,5
	Rata- rata		7,9
10		0,01	2,6

	0,01	2,4
	0,01	2,2
Rata- rata		7,4
KN		0
KA		18,1

Lampiran 2. Hasil Pengamatan Pada Uji MBC

NO	KODE	Konsentrasi ekstrak <i>R.stylosa</i>	Populasi Bakteri Yang Tumbuh (diameter)
1	R	10000	0
		10000	0
		10000	0
		JUMLAH	0
2		1000	0
		1000	0
		1000	0
		JUMLAH	0
3		100	9,34
		100	1,188
		100	6,23
		JUMLAH	5,586
4		10	8,56
		10	9,12
		10	6,18
		JUMLAH	7,755
5		1	2,44
		1	3,76
		1	5,84
		JIMLAH	4,013
6		0,1	5,52
		0,1	2
		0,1	2,8
		JUMLAH	8,413
	KA		0
	KN		1000

Lampiran 3. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Buah *Rhizophora stylosa* terhadap Larvakepiting Bakau (*Scylla serrata*).

Ekstrak Rhizophora stylosa 24 jam

No	Konsentrasi (ppm)	Log Kons	Ulangan						% Mati	% Terkoreksi	Probit
			1 Mati	1 Hidup	2 Mati	2 Hidup	3 Mati	3 Hidup			
1	1000	3	6	4	6	4	7	3	63,3	63,3	5,34
2	100	2	5	5	7	3	5	5	56,6	56,6	5,17
3	10	1	5	5	6	4	5	5	53,3	53,3	5,08
4	1	0	6	4	4	6	5	5	50	50	5,00

Lampiran 4. Dokumentasi Kegiatan Penelitian

1. pengambilan buah mangrove *Rhizophora spp*

1A



1B



1C





1D

Gambar 1. 1A.buah mangrove *Rhizophora spp*; 1B buah mangrove *Rhizophora spp* yang telah dicaca; 1C buah mangrove *Rhizophora spp* yang telah dikeringkan dengan oven; 1D buah mangrove yang diblender (tepung).

2. proses ekstrak buah mangrove *Rhizophora spp*



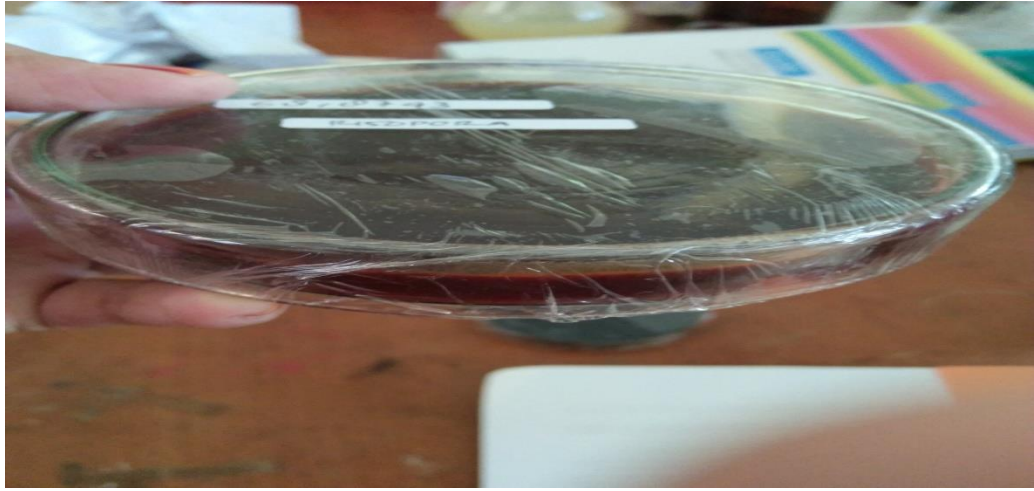
2A



2B



2C



2D

Gambar 2. 2a pencampuran methanol 80% + Aquades 20 % pada tepung mangrove *Rhizophora spp*; 2b.penyaringan ekstrak mangrove; 2c.proses evaporasi pemekatan larutan ekstrak; 2d. ekstrak mangrove yang telah pekat.

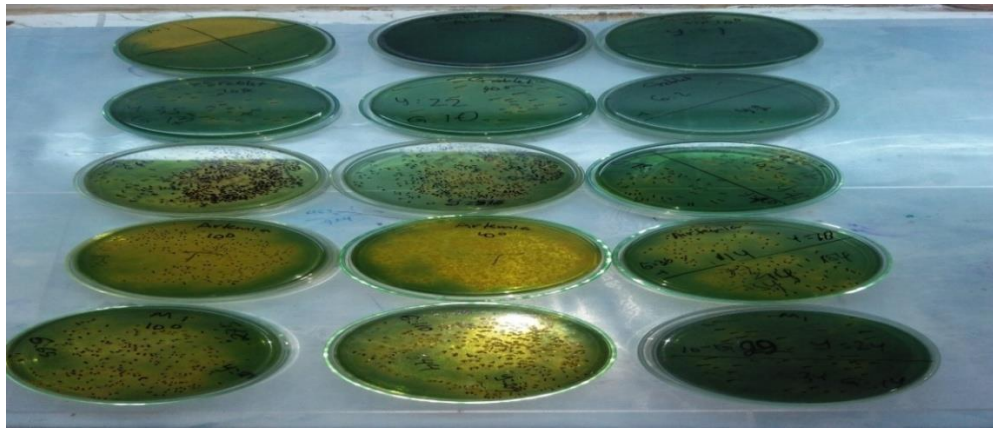
3. proses pembuatan media TCBSA



3A



3B



3C

3D



Gambar 3. 3a. proses penimbangan bubuk *TCBSA*; 3b.penuangan media *TCBSA* yang telah di hotplate kedalam cawan petri; 3c. penanaman sampel larva kepiting pada media *TCBSA*; 4c.penanaman bakteri *V.harveyi* pada skim milk.

BIOGRAFI PENULIS



Salmawati. Lahir di Makassar pada tanggal 06 April 1994. Anak ke empat dari lima bersaudara dan merupakan buah kasih sayang dari **Ayahanda Muis dan Ibunda Wati**. Adapun Pendidikan yang dilalui yaitu pada tahun 2007 Tamat di SD Negeri 1 Iwoimapuro, kemudian pada tahun 2010 Tamat di SMP Negeri 1 Uluwolo Kabupaten Kolaka.

Kemudian pada tahun 2013 Tamat di SMA Negeri 1 Parigi Kabupaten Gowa. Pada tahun 2013 penulis diterima sebagai Mahasiswa Di Universitas Muhammadiyah Makassar Program Strata (S1) pada Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Pertanian dan melakukan penelitian yang berjudul Uji *Minimum Inhibition Concentration* Dan *Minimum Bactericidal Concentration* Ekstrak Buah Mangrove *Rhizophora Stylosa* Terhadap *Vibriosis* Pada Larva Kepiting Bakau (*Scylla Serrata Forsskal 1775*).