

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Rhizophora apiculata* terhadap Bakteri *Edwardsiella tarda*

Antibacterial activity of *Rhizophora apiculata* leaf extract against *Edwardsiella tarda* bacteria

Ronal Kurniawan¹

¹Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau
Kampus Bina Widya KM. 12,5, Simpang Baru, Kec. Tampan, Kota Pekanbaru, Riau 28293

*Correspondent Author: kurniawanronal09@gmail.com

ABSTRACT

Aquaculture production is vulnerable to adverse impacts to disease and environmental conditions. One of the pathogenic bacteria that infection cultured is *Edwardsiella tarda*. The aim of this study was to find out the sensitivity of *R.apiculata* leaf extract in inhibiting the growth of *E.tarda*. The research method used is the experimental method, with the Kirby-Bauer disc method. The doses used were 100% (10000 ppm), 90% (9000 ppm), 80% (8000 ppm), 70% (7000 ppm), 60% (6000 ppm), 50% (5000 ppm), 40% (4000 ppm), 30% (3000 ppm), 20% (2000 ppm), 10% (1000 ppm) and control (*Oxytetracycline*), blank discs used were 6 mm in size. The results showed that the ethanolic extract of the leaves of *R. apiculata* at a dose of 1000-10000 ppm gave various inhibitory diameters ranging from 6.27-9.87 mm and presenting inhibition zone diameters in the medium category.

Keywords : *Rhizophora apiculata*, *Edwardsiellosis*, Kirby-Bauer, Ethanol

ABSTRAK

Produksi budidaya rentan terhadap kerugian yang disebabkan dari penyakit dan kondisi lingkungan. Salah satu bakteri patogen yang menyerang ikan budidaya adalah *Edwardsiella tarda*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat dari ekstrak daun *R. apiculata* dalam menghambat pertumbuhan *E.tarda*. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen, dengan metode cakram Kirby-Bauer. Dosis yang digunakan adalah 100% (10000 ppm), 90% (9000 ppm), 80% (8000 ppm), 70% (7000 ppm), 60% (6000 ppm), 50% (5000 ppm), 40% (4000 ppm), 30% (3000 ppm), 20% (2000 ppm), 10% (1000 ppm) dan kontrol (*Oxytetracycline*), kertas cakram berukuran 6 mm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *R. apiculata* dengan dosis 1000-10000 ppm memberikan diameter daya hambat yang bervariasi berkisar antara 6,27-9,87 mm dan daya hambat yang terbentuk tergolong kategori sedang.

Kata Kunci : *Rhizophora apiculata*, *Edwardsiellosis*, Kirby-Bauer, Etanol

PENDAHULUAN

Produksi budidaya rentan terhadap kerugian yang disebabkan dari penyakit dan kondisi lingkungan. Wabah penyakit dalam beberapa tahun terakhir telah mempengaruhi salmon Atlantik yang dibudidayakan di Chili, tiram di Eropa, dan laut budidaya udang di beberapa negara di Asia, Amerika Selatan dan Afrika, mengakibatkan hilangnya sebagian atau kadang-kadang total produksi (Xu dan Zhang, 2014). Salah satu bakteri patogen yang menyerang ikan budidaya adalah *Edwardsiella tarda*, diantara banyaknya bakteri patogen lainnya seperti *Vibrio spp.*, *Aeromonas spp.*, *Streptococcus spp.* *E. tarda* telah dilaporkan menyebabkan penyakit pada ikan yang memiliki ekonomis tinggi di seluruh dunia sejak tahun 1962 (Mohanty dan Sahoo, 2007). Infeksi *E. tarda* sering menyebabkan perkembangan penyakit sistematis yang disebut *Edwardsiellosis*, ditandai dengan gejala *asites*, *hernia*, *exophthalmia*, lesi pada organ dalam. *E.tarda* menyerang spesies ikan komersil penting, seperti belut jepang (*anguilla japonica*), belanak (*Mugil cephalus*), nila (*Oreochromis niloticus*), mas (*Cyprinus carpio*), lele (*Clarias batrachus*), betok (*Anabas testudineus*), oscar (*Astronotus ocellatus*) (Park *et al.*, 2012).

Antibiotik dan bahan kimia secara tradisional digunakan untuk mengendalikan penyakit ikan, tetapi dapat mengembangkan dampak negatif seperti bakteri yang resistan terhadap obat strain, toksisitas, residu, kesehatan masyarakat dan konsekuensi lingkungan (Harikrishnan *et al.*, 2020). Perlu dicari bahan-bahan alami yang berfungsi sebagai antibakteri dan dapat menggantikan penggunaan antibiotik sintesis, sehingga kegiatan budidaya ikan dapat dilakukan secara berkelanjutan. Salah satu bahan alami yang telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negative adalah tanaman mangrove *Rhizophora apiculata*. Tanaman mangrove *Rhizophora* sp. berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan antibakteri karena mengandung senyawa antibakteri, seperti tanin, saponin, terpenoid, alkaloid, dan flavonoid (Rohaiti *et al.*, 2012). Menurut Syawal *et al.* (2020) daun *R. apiculata* mengandung senyawa metabolit sekunder, yaitu tanin, saponin, flavonoid, steroid, dan terpenoid.

Syawal *et al.* (2017), menyatakan bahwa ekstrak etanol daun *Rhizophora* sp. mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* dengan diameter zona hambat berkisar antara 8,6-16,33 mm, *Edwardsiella tarda* 6,97-12,27 mm. Ekstrak etanol daun *Rhizophora* juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* sebesar 6,15-9,08 mm (Syawal *et al.*, 2019). Selain itu juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *A. hydrophila*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Syawal *et al.*, 2020).

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik melakukan penelitian tentang perbedaan sensitivitas pelarut etanol dari ekstrak daun *R. apiculata* terhadap bakteri *E.tarda*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat dari ekstrak daun *R. apiculata* dalam menghambat pertumbuhan *E. tarda*.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Pengambilan sampel daun mangrove *R. apiculata* dilakukan di Ekowisata Konservatif Bandar Bakau Kota Dumai Provinsi Riau. Pengamatan zona hambat dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan, Univeritas Riau.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen yang meliputi preparasi sampel, ekstraksi (*macerasi*), uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode cakram *Kirby-Bauer* dan menerapkan Rancangan Acak Lengkap (RAL), untuk mengurangi tingkat kekeliruan maka dilakukan ulangan sebanyak tiga kali. Penentuan dosis yang digunakan mengacu pada Syawal *et al.* (2017). Dosis yang digunakan adalah 100% (10000 ppm), 90% (9000 ppm), 80% (8000 ppm), 70% (7000 ppm), 60% (6000 ppm), 50% (5000 ppm), 40% (4000 ppm), 30% (3000 ppm), 20% (2000 ppm), 10% (1000 ppm) dan kontrol (*Oxytetracycline*).

Pembuatan Ekstrak Daun *R. apiculata*

Proses yang dilakukan dalam pembuatan ekstrak daun *R. apiculata* adalah, sebagai berikut: langkah awalnya adalah mengambil daun, daun yang diambil daun ketiga dan keempat dari pucuk daun serta bagian bakal daun. Daun *R. apiculata* dipotong kecil-kecil dikeringanginkan di dalam ruangan selama 7-10 hari. Daun yang sudah kering, di

blender sampai halus dan didapatkan butiran halus. Pada proses selanjutnya, dilakukan proses *maserasi* (perendaman) dengan pelarut etanol, dengan cara direndam selama 24 jam, dengan perbandingan 1:5, dimana satu kilogram daun *R. apiculata* dilarutkan dengan lima liter pelarut (Jayaraman *et al.*, 2008). Selanjutnya larutan disaring menggunakan kertas saring, sisa dari penyaringan pertama kembali di *remaserasi*, sampai hasil penyaringan yang didapatkan berwarna bening. Filtrat yang dihasilkan, ditampung menjadi satu dan diuapkan menggunakan alat *Rotary Evaporator* (RE) untuk memisahkan pelarut dengan suhu 60°C sampai pelarut selesai menguap, sehingga didapat ekstrak etanol daun *R. apiculata* dalam bentuk pasta. Sebelum ekstrak digunakan, ekstrak tersebut diencerkan terlebih dahulu menggunakan larutan DMSO agar ekstrak mudah terlarut dalam aquades dan dapat digunakan untuk pengujian.

Peremajaan Isolat Bakteri *E.tarda*

Bakteri *E.tarda* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. Isolat ini kemudian dikultur pada media TSA, lalu diinkubasi dalam *inkubator* selama 18-24 jam pada suhu 28-31°C. Pembuatan suspensi bakteri dengan cara mengambil biakan menggunakan jarum ose, dimasukkan ke dalam media TSB dan diinkubasi di dalam *inkubator* selama 24 jam pada suhu 28-31°C. Suspensi bakteri yang akan digunakan terlebih dahulu disetarakan dengan larutan standar *Mc Farland* 1 yang kepadatan bakterinya setara dengan 10⁸ CFU/mL.

Pengamatan Daya Hambat

Pengamatan daya hambat ekstrak daun *R. apiculata* terhadap bakteri *E. tarda* dilakukan berdasarkan metode cakram *Kirby-Bauer* dengan *disk blank* yang berdiameter 6 mm. Tahap awal *disk blank* diberikan larutan ekstrak daun *R. apiculata* sebanyak 50 µL dengan kepadatan bakteri 10⁸ CFU/mL dengan menggunakan mikropipet sesuai dosis yang telah ditentukan (100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%), *oxytetracyclin* sebagai kontrol, dan didiamkan selama ±3 menit. Selanjutnya *disk blank* diletakkan di atas media TSA yang telah berisi inokulan bakteri *E.tarda* dan diinkubasi di dalam *inkubator* selama 24 jam pada suhu 28-31°C. Setelah 24 jam, dilakukan pengukuran zona hambat dengan mengukur diameter daerah bening (*clear zone*) yang terbentuk menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daya hambat ekstrak daun *R.apiculata*

Hasil uji daya hambat menunjukkan bahwa ekstrak daun *R. apiculata*, dosis 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, dan *oxytetracycline* memiliki zona hambat berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *E.tarda* (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Pengamatan Daya Hambat Ekstrak Daun *R. apiculata* terhadap bakteri *E.tarda*

Konsentrasi ekstrak daun <i>R.apiculata</i> (ppm)	Zona Hambat (mm) pada setiap ulangan			Rata-rata (mm)
	I	II	III	
<i>Oxytetracycline</i> *	16,47	16,37	16,40	16,41
10000	9,91	9,82	9,86	9,87
9000	8,87	8,76	8,52	8,72
8000	8,32	8,07	8,11	8,17
7000	7,96	7,93	7,89	7,93
6000	7,63	7,36	7,43	7,27
5000	7,23	7,20	6,97	7,13
4000	6,97	6,80	6,81	6,86
3000	6,75	6,76	6,70	6,74
2000	6,58	6,30	6,55	6,48
1000	6,29	6,28	6,23	6,27

Keterangan : Diameter *disk blank* 6 mm, * = Antibiotik (kontrol), tanpa diberi dosis ekstrak

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *R. apiculata* dengan dosis berbeda memberikan diameter daya hambat yang bervariasi berkisar antara 6,27-9,87 mm, hal ini menunjukkan bahwa daya hambat yang terbentuk

berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi ekstrak yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, diameter daya hambat yang terbentuk semakin tinggi. Ajizah (2004) menyatakan bahwa semakin pekat dosis suatu ekstrak, maka senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya akan semakin banyak, sehingga memberikan pengaruh terhadap diameter zona hambat yang terbentuk.

Luas daya hambat yang dihasilkan oleh antibiotik *Oxytetrasilin* sebesar 16.41 mm, menunjukkan bahwa antibiotik yang digunakan masih jauh lebih ampuh membunuh bakteri, namun penggunaan antibiotik secara terus menerus dan tidak terkontrol maka dapat menimbulkan resisten pada bakteri patogen. Menurut Lee dan Wendy (2017), *Oxytetracylin* termasuk jenis antibiotik yang dapat membunuh *E. tarda* dengan diameter daya hambat mencapai 16,7 mm.

Penghambatan suatu zat antibakteri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah jumlah larutan bahan alami. Semakin tinggi dosis bahan yang diuji maka semakin banyak zat aktif yang terdapat di dalamnya sehingga makin kuat. Menurut Sari dan Mursiti (2016) yang menyatakan bahwa pembentukan daya hambat dipengaruhi oleh kepadatan dari media biakan, konsentrasi antimikroba pada cakram filter, sensitivitas organisme terhadap antimikroba dan interaksi antimikroba dengan media.

Kemampuan ekstrak daun *R. apiculata* dalam menghambat pertumbuhan bakteri diduga disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak seperti flavonoid, tanin, terpenoid, dan saponin. Kemampuan tanin sebagai antibakteri, yaitu dengan cara mengerutkan dinding sel atau membran sel, sehingga mengganggu permeabilitas sel sehingga dapat mengakibatkan terganggunya aktivitas hidup, akibatnya pertumbuhan bakteri terhambat dan menimbulkan kematian (Ajizah, 2004). Selanjutnya mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri yang mengakibatkan keluarnya komponen penting dari dalam sel bakteri, yaitu protein dan asam nukleat (Darsana *et al.*, 2012).

Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan dinding sel bakteri, mikrosom, maupun lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dan DNA bakteri (Kholifah, 2014). Flavonoid tersebut dapat bersifat koagulator protein, hal ini dapat terjadi protein yang menggumpal tidak akan berfungsi lagi, sehingga akan mengganggu atau menghambat pembentukan dinding sel mikroba (Darlian *et al.*, 2011). Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat sistem respirasi, karena dibutuhkan energi yang cukup untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan biosintesa makromolekul (Cushnie *dalam* Nuraina, 2015).

Santoso *et al.* (2015) menyatakan bahwa senyawa flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat sistem respirasi, karena dibutuhkan energi yang cukup untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan biosintesa makromolekul. Efek flavonoid juga dapat mencegah pembelahan bakteri sehingga bakteri tidak dapat berkembang biak dan membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang akan mengganggu integritas membran sel (Sudarno *et al.*, 2011). Kandungan flavonoid pada ekstrak daun *Rhizophora* sp. sebesar 0,03% dan tannin 0,04% (Syawal *et al.*, 2018). Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan yang dapat menyebabkan kebocoran sel, dan mengakibatkan senyawa-senyawa intraseluler akan keluar, dimana akan berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, hal ini juga yang menyebabkan sitoplasma bocor dan mengakibatkan kematian sel tersebut (Nuraina, 2015). Menurut Pratiwi (2008), senyawa saponin merupakan zat yang apabila berinteraksi dengan dinding sel bakteri dapat menyebabkan sel bakteri lisis atau pecah.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol *R.apiculata* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.tarda* mulai dari konsentrasi 1000 ppm, dan daya hambat yang terbentuk tergolong kategori sedang.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A., 2004. Sensitivitas *Salmonella typhymurium* terhadap daun jambu biji (*Psidium guajava* L). *Bioscientiae* 1: 8-31.
- Darsana, I.G.O., Besung, I.N.K., Mahatmi, H., 2012. Potensi daun binahong (*Anredera cordifolia*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli in vitro*. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus* 1(3): 337-351.

- Harikrishnan, R., Devi, G., Paray, B.A., Al-Sadoon, M.K., Al-Mfarij, A.B., Doan, H.V.,** 2022. Effect of cassic acid on immunity and immune-reproductive genes transcription in *Clarias gariepinus* against *Edwardsiella tarda*. *Fish and Shellfish Immunology*, 99: 331-341
- Lee, S.W., Wendy, W.,** 2017. Antibiotic and heavy metal resistance of *Aeromonas hydrophila* and *Edwardsiella tarda* isolated from red hybrid tilapia (*Oreochromis* spp.) coinfecting with *motile aeromonas septicemia* and *edwardsiellosis*. *Veterinary World*, 10(7): 803-807
- Mohanty, B., Sahoo, P.,** 2007. *Edwardsiellosis* in fish: a brief review. *J. Biosci.* 23: 1331-1344
- Nuraina.** 2015. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun *Garcinia benthami* Pierre dengan Metode Dilusi. *Skripsi.* Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta. 36 hlm
- Park, S.B., Aoki, T., Jung, T.S.,** 2012. Pathogenesis of and strategies for preventing *Edwardsiella tarda* infection in fish. *Veterinary Research* 43: 67
- Pratiwi, S.T.,** 2008. Mikrobiologi Farmasi. Penerbit Erlangga : Jakarta. 112 hlm.
- Rohaeti, E., Batubara, I., Lieke, A., Darusman, L.K.,** 2010. Potensi ekstrak *Rhizophora* sp. sebagai inhibitor tirosinase. *Prosiding Semnas Sains III.* IPB, Bogor, 13 November 2010.196-201
- Santoso, V.P., Posangi, J., Awaloei, H., Bara, R.,** 2015. Uji efek antibakteri daun mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal e-Biomedik* 3(1) : 399-405
- Sari, S.N., Mursiti, S.,** 2016. Isolasi Flavonoid dari Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla*) dan Uji aktivitasnya Sebagai Antibakteri. *Indo J. Chem. Sci* 5(3) : 178-183
- Sudarno., Setiorini, F.A., Suprpto, H.,** 2011. Efektivitas Ekstrak Tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri*) Sebagai Antibakteri *Edwardsiella tarda* secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 3(1) : 103-108.
- Syawal, H., Hakim, L., Effendi, I.,** 2020. Phytochemical analysis of *Rhizophora apiculata* leaf extract and its inhibitory action against *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas aeruginosa*. *AAFL Bioflux*, 13(4): 2242-2249
- Syawal, H., Karnila, R., Dirta, A., Kurniawan, R.,** 2017. Ekstrak Daun *Rhizophora* sp. Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus agalactiae* dan *Edwardsiella tarda*. *Jurnal Veteriner*, 18(4): 604-609
- Syawal, H., Yuharmen., Kurniawan, R.,** 2019. Sensitivitas Ekstrak Daun *Rhizophora apiculata* dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Ruaya*, 7(2): 34-38
- Xu, T., Zhang, H.,** 2014. *Edwardsiella tarda*: an intriguing problem in aquaculture. *Aquaculture* 431: 129-135