

**PENGHAMBATAN EKSTRAK METANOL DAUN DAN BATANG
TUMBUHAN MANGROVE *Rhizophora mucronata* TERHADAP
PERTUMBUHAN BEBERAPA STRAIN BAKTERI *Aeromonas
hydrophila***

**INHIBITION OF EXTRACT METHANOL LEAF AND STEM
MANGROVE OF PLANT *Rhizophora mucronata* TO GROWTH SOME
STRAIN *Aeromonas hydrophila* BACTERIA**

Heri Maryanto, Ana MiftahulJanah, and Dini Siswani Mulia

Program Studies of Biology Education, Faculty of Teacher Training and Education, Muhammadiyah Purwokerto
University, Jl. Raya Dukuh Waluh PO BOX 202 Purwokerto 53182, Indonesia
E-mail: herimaryanto60@gmail.com

Abstract: *Aeromonas hydrophila* is one of the pathogenic bacteria that attack freshwater fish. These bacteria are also pathogenic in brackish water fish and sea and other aquatic animals. Treatment of this bacterial attack should be pursued by using natural materials that are more effective and environmentally friendly, one of which is *Rhizophora mucronata*. This study aims to determine the inhibition of methanol extract of leaves and stems of *R. mucronata* mangrove plant on the growth of several strains of *A. hydrophila* bacteria. The experiment was conducted using experimental method with Completely Randomized Design (RAL) 3 factor factorial, ie A factor (type of bacterial strain): A1 (GPI-04), A2 (GL-01), A3 (GL-02), A4 (GJ- 01), A5 (GK-01), and A6 (GB-01); B (plant part): B1 (stem) and B2 (leaf); C (concentration of methanol extract *R. mucronata*): C1 (0% / control), C2 (10%), C3 (20%), and C4 (30%), with 3 replications. The parameters observed were the results of phytochemical screening test by Thin Layer Chromatography (TLC) and bacterial growth inhibition (clear zone). Data of clear zone were analyzed using Analysis of Variance (Anova) and Duncan Multiple Range Test (DMRT) with 5% test level, while the result of phytochemical screening test with TLC was analyzed descriptively qualitative. The results showed that *R. mucronata* mangrove plants potentially inhibited the growth of *A. hydrophila* because it contains flavonoids, alkaloids, terpenoids, and tannins. The type of bacterial strain and concentration of *R. mucronata* methanol extract had significant effect ($P_0 < 0,05$) on the inhibitory zone diameter but the plant part and interaction of the three factors, ie strains of bacteria, plant part, and concentration of *R. mucronata* methanol extract were not significantly different ($P > 0,05$). Plant parts of both stems and leaves have the same potential as a natural bactericidal material. Bacteria *A. hydrophila* GL-01 strain was most sensitive, whereas GK-01 strain was most resistant to *R. mucronata* methanol extract. 10% concentration is an effective and efficient concentration in inhibiting the growth of *A. hydrophila* bacteria.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*, extract of methanol, mangrove, natural bactericide, *Rhizophora mucronata*, strain of bacteria

1. PENDAHULUAN

Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri patogen yang dapat menyerang biota air tawar, tidak terkecuali ikan. Meningkatnya budidaya ikan air tawar dengan potensi yang begitu besar sering terkendala oleh serangan bakteri ini. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* dinamakan penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS). Bakteri *A. hydrophila* sampai saat ini dikenal sebagai bakteri yang paling ganas yang dapat menyerang semua jenis ikan air tawar di daerah tropis, yaitu lele dumbo, gurami, mas, patin, nila, ikan mas (dan koi), dan udang galah (Kamiso, 2004). Serangan bakteri *A. hydrophila* ini bersifat patogenik, menyebar secara cepat pada padat penebaran tinggi dan dapat mengakibatkan kematian

benih sampai 90 % (Erawati & Marsoedi, 2004). Bakteri ini merupakan agen etiologi penyakit tidak hanya pada ikan, tetapi juga pada amfibi, burung, dan mamalia (Janda & Abbott, 2010). Gejala penyakit yang ditimbulkan antara lain inflamasi dan lesi pada mulut dan insang, hemorhagik pada sirip tubuh, mata menonjol (*exophthalmia* atau *popeye*), perut kembung, ginjal membengkak, usus berisi mucus berwarna kekuning-kuningan (Harikrishnan & Balasundaram, 2005).

Upaya pengendalian serangan bakteri ini terus dilakukan dan menjadi bahan kajian menarik untuk terus diteliti. Penggunaan bahan alam sebagai bakterisida alami merupakan salah satu alternatif yang baik untuk mengendalikan bakteri patogen ini karena tepat sasaran tanpa menimbulkan dampak negatif bagi inang maupun lingkungan. Salah satu



bahan alam yang berpotensi besar adalah tumbuhan mangrove *Rhizophora mucronata*. Hampir semua bagian tanaman *Rhizophora* sp. dapat digunakan sebagai senyawa antibakteri khususnya untuk bagian batang dan daun karena mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid dan tannin yang merupakan senyawa antibakteri (Rohaeti, 2010). Ekstrak daun mangrove *R. mucronata* terbukti efektif pada *V. harveyi* tetapi tidak mampu menghambat *Aeromonas salmonicida* (Suciati, 2012).

Dalam penelitian ini, ekstraksi daun dan batang *R. mucronata* menggunakan pelarut metanol untuk mengekstrak semua jenis senyawa yang terdapat pada batang dan daun *R. mucronata*. Bakteri *A. hydrophila* yang akan diujikan terdiri atas 6 strain, yaitu GPI-04, GL-01, GL-02, GJ-01, GK-01, dan GB-01. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penghambatan ekstrak metanol daun dan batang tumbuhan mangrove *R. mucronata* terhadap pertumbuhan beberapa strain bakteri *A. hydrophila*.

2. METODE

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan adalah batang dan daun tumbuhan mangrove *R. mucronata* yang diperoleh dari Desa Karang Talun, Cilacap, Jawa Tengah. Isolat bakteri *A. hydrophila* adalah strain GPI-04, GL-01, GL-02, GJ-01, GK-01, dan GB-01. Media kultur bakteri yang digunakan adalah *Tryptone Soya Agar* (TSA), *Tryptone Soya Broth* (TSB), dan *Glutamat Starch Phenile* (GSP). Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak adalah pelarut polar metanol. Bahan-bahan yang digunakan untuk uji fitokimia ekstrak *R. mucronata* adalah kloroform, pereaksi sitroborat, pereaksi Dragendorff, pereaksi FeCl_3 , dan pereaksi anisaldehyd asam sulfat.

Alat yang digunakan yaitu oven, blender, rotary evaporator, inkubator, autoklaf, vortex, laminar air flow (LAF), dan peralatan kromatografi lapis tipis (KLT).

Rancangan Penelitian

Penelitian menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 3 faktor, yaitu bagian organ tumbuhan (daun dan batang), strain bakteri *A. hydrophila* (GPI-04, GL-01, GL-02, GJ-01, GK-01, dan GB-01) dan konsentrasi ekstrak (0%, 10%, 20%, dan 30%), dengan 3 kali ulangan.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi daun dan batang tumbuhan mangrove *R. mucronata*

Daun dan batang *R. mucronata* dikumpulkan, dicuci bersih, dan dipotong-potong dengan ukuran 4 cm. Setelah itu masing-masing dikeringkan menggunakan oven 60°C ,

selanjutnya diblender sampai menjadi serbuk halus. Ekstraksi daun dan batang *R. stylosa* dilakukan dengan metode maserasi sesuai dengan pelarutnya masing-masing. Sebanyak 100 g simplisia daun dan batang *R. mucronata* masing-masing direndam dengan 500 ml metanol (polar) selama 2 x 24 jam. Ekstrak metanol yang diperoleh dipisahkan dari ampasnya. Ekstrak metanol kemudian diuapkan metanolnya dengan vacuum evaporator sehingga menjadi ekstrak kental yang akan digunakan untuk uji antibakteri.

Uji fitokimia ekstrak *R. mucronata* menggunakan uji warna pada plat KLT

Ekstrak sebanyak 0,1 g dilarutkan dengan pelarut metanol 5 ml. Selanjutnya membuat fase gerak dengan mencampurkan larutan kloroform 9 ml dan metanol 1 ml (9:1) selama 15 menit. Totolkan ekstrak pada plat KLT, sebelumnya plat KLT dipotong dengan ukuran 1x5 cm (atas 0,5 cm dan bawah 1 cm), selanjutnya plat KLT yang sudah ditotolkan ekstrak dimasukkan ke dalam botol yang berisi larutan kloroform 9 ml dan metanol 1 ml sampai meresap ke atas. Plat KLT diambil dan dikeringkan menggunakan hot plate, kemudian dilihat menggunakan $\text{UV}_{366 \text{ nm}}$, kemudian disemprotkan dengan pereaksi sesuai uji senyawa yang akan diuji.

a. Uji Flavonoid

Sampel uji ditotolkan pada plat KLT dengan eluen terbaik yaitu pelarut kloroform 9 ml dan metanol 1 ml yang digunakan sebagai fase gerak. Bercak yang telah terelusi kemudian dideteksi dengan pereaksi sitroborat. Adanya flavonoid ditandai dengan bercak yang terlihat berwarna kuning atau ungu.

b. Uji Alkaloid

Sampel uji ditotolkan pada plat KLT dengan pelarut kloroform 9 ml dan metanol 1 ml yang digunakan sebagai fase gerak. Bercak yang telah terelusi dideteksi penyemprotan pereaksi Dragendorff. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya bercak berwarna kuning jingga.

c. Uji Terpenoid

Sampel uji ditotolkan pada plat KLT dengan pelarut kloroform 9 ml dan metanol 1 ml yang digunakan sebagai fase gerak. Bercak yang terelusi dideteksi penyemprotan pereaksi anisaldehyd asam sulfat. Adanya terpenoid ditunjukkan oleh terbentuknya bercak berwarna coklat.

d. Uji Tanin

Sampel uji ditotolkan pada plat KLT dengan pelarut kloroform 9 ml dan metanol 1 ml yang digunakan sebagai fase gerak. Bercak yang terelusi dideteksi penyemprotan pereaksi FeCl_3 . Adanya

terpenoid ditunjukkan oleh terbentuknya bercak berwarna coklat orange.

Ujidaya hambat ekstrak daun dan batang *R.mucronata* terhadap bakteri *A. hydrophila* strain GPI-04, GL-01, GL-02, GJ-01, GK-01, dan GB-01

Bakteri *A. hydrophila* strain GPI-04, GL-01, GL-02, GJ-01, GK-01, dan GB-01 ditumbuhkan pada medium TSB, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kepadatan bakteri setiap strain ditentukan sebanyak 10⁷ cfu/ml. Membuat konsentrasi ekstrak kental metanol daun dan batang *R.mucronata* yaitu dengan melarutkan 1,5 g ekstrak metanol daun dan batang *R.mucronata* menggunakan akuades sampai 5 ml untuk kemudian dijadikan beberapa konsentrasi yaitu 0%, 10%, 20%, dan 30%. Menuangkan medium TSA pada cawan petri yang sudah berisi 0,1 ml biakan strain bakteri, kemudian campuran dihomogenkan dengan cara digoyang membentuk angka delapan dan didiamkan sampai memadat. Meneteskan ekstrak metanol maupun n-heksana daun dan batang *R.mucronata* pada 3 buah kertas cakram (Whatman No.2) diameter 6 mm steril untuk masing-masing konsentrasi 0%, 10%, 20% dan 30% dan meneteskan aquadest steril pada 1 buah kertas cakram steril sebagai kontrol untuk ekstrak metanol. Kertas cakram diletakkan di permukaan medium biakan bakteri. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Semua biakan diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya, mengamati dan mengukur zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong.

Pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Zona bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (Vandepitte, 2005). Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm). Pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi.

Parameter Penelitian dan Analisis Data

Parameter penelitian adalah hasil uji fitokimia ekstrak *R.mucronata* dengan Kromatografi lapis Tipis (KLT) dan aktivitas antibakteri ekstrak *R.mucronata* yang dihitung berdasarkan satuan diameter zona hambat (zona bening) di sekitar kertas cakram yang berdiameter 6 mm dengan metode Kirby Bauer pada media yang telah diinokulasi dengan bakteri. *Analysis of Variance* (Anova) dan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf uji 5%, sedangkan hasil uji pemaparan fitokimia dengan KLT dianalisis secara deskriptif kualitatif.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji fitokimia ekstrak Metanol *Rhizophora mucronata* menggunakan uji warna pada plat KLT

Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun dan batang *R. mucronata* menunjukkan bahwa ekstrak daun dan batang mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan tanin (Tabel 1). Hampir semua bagian tanaman *Rhizophora* sp. mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin (Rohaeti, 2010).

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak Metanol *Rhizophora mucronata*

Senyawa	Warna Bercak	Detail Daun
Flavonoid	Coklat kehitaman	+
Alkaloid	Kuningjingga	+
Terpenoid	Coklat	+
Tanin	Coklat	+

Keterangan : (+) = menunjukkan adanya senyawa yang diuji

(-) = tidak menunjukkan adanya senyawa yang diuji

Ujidaya hambat ekstrak *Rhizophoramucronata* terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*

Penghambatan ekstrak metanol daun dan batang tumbuhan mangrove *R.mucronata* dilakukan terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* strain GPI-04, GL-01, GL-02, GJ-01, GK-01, dan GB-01. Diameter zona hambat yang diperoleh tersaji pada Tabel 2. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa jenis strain bakteri dan konsentrasi ekstrak metanol *R.mucronata* berpengaruh nyata (P<0,05) terhadap diameter zona hambat tetapi bagian tumbuhan dan interaksi ketiga faktor, yaitu jenis strain bakteri, bagian tumbuhan, dan konsentrasi ekstrak metanol *R.mucronata* tidak berbeda nyata (P>0,05).

Tabel 2. Hasil uji daya hambat ekstrak metanol daun dan batang *R. mucronata*

Organ	Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)					
		Pi-04	L-01	L-02	J-01	K-01	B-01
Batang	0	0	0	0	0	0	0
	10	,53	,3	,65	,62		,75
	20	,72	,45	,17	,48		,47
	30	,67	,04	,93	,82		,57
Daun	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	,62	0	,8		,57



R erat a J eni s bak teri	20		30		1		0		0		,1 5		,13	
	,37 abc	,75 c	,31 ab	,34 ab	,0 6 ^a	,63 bc	,38	,23	,7	,3	,56	,13	,13	,13

Tabel 2 menunjukkan bahwa jenis bakteri berbeda nyata terhadap daya hambat ekstrak metanol daundanbatang *R. mucronata*. Bakteri *A. hydrophila* strain GL-01 paling sensitif, sedangkan strain GK-01 paling resisten terhadap ekstrak metanol *R. mucronata*.

Tabel 3. Rerata diameter zona hambat berdasarkan konsentrasi ekstrak metanoldaundanbatang *R. mucronata*

No	Konsentrasi (%)	Organ	Diameter Zona Hambat (mm)	Rerata (mm)
1	0	Batang	0,00	0,00 ^a
		Daun	0,00	
2	10	Batang	0,64	0,48 ^b
		Daun	0,33	
3	20	Batang	0,55	0,49 ^b
		Daun	0,44	
4	30	Batang	0,67	0,66 ^b
		Daun	0,65	

Tabel 3 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata konsentrasi ekstrak metanol daundanbatang *R. mucronata* terhadap diameter zona hambat bakteri. Konsentrasi 10 sampai 30% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan fitokimia dalam ekstrak batang maupun daun mampu bereaksi dengan baik dan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 10% efektif menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Hal yang berbeda diperoleh Nababan *et al.* (2012) dalam penelitiannya yang menggunakan ekstrak metanol kulit batang *R. mucronata*, dandihasilkan zona bening terbesar pada konsentrasi 40% dan 60%.

4. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa bagian tumbuhan mangrove *r. mucronata* baik batang maupun daun memiliki potensi yang sama sebagai bahan bakterisida alami. Bakteri *a. Hydrophila* strain gl-01 paling sensitif, sedangkan strain gk-01 paling resisten terhadap ekstrak metanol *r. mucronata*. Konsentrasi 10 % merupakan konsentrasi yang efektif dan efisien dalam menghambat pertumbuhan bakteri *eria. Hydrophila*.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian produk terapan (strategi nasional institusi) yang dibiayai oleh kemenristek dikti. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada kemenristek dikti yang telah membiayai penelitian ini, dengan no. Kontrak a.11-iii/336-s.pj./lppm/v/2016.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Erawati, C.I & Marsoedi. 2004. Pengaruh pemberian Perasan Kasar Daun pepaya (*Carica papaya*) dengan Dosis Yang Berbeda terhadap Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Penelitian Perikanan* 7 (2).
- Harikrishnan, R. & C. Balasundaram. 2005. Modern Trends in *Aeromonas hydrophila* Disease Management with Fish. *Review in Fisheries Science*. 13: 281-320.
- Janda, J.M. & Abbott, S.L. 2010. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 23: 35-73
- Kamiso, H.N. 2004. Status Penyakit Ikan dan Pengendaliannya di Indonesia. *Prosiding Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV*, Purwokerto, 18-19 Mei 2004.
- Nababan, E., Dwi, S., & Febrina, A. 2012. Potensi Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora mucronata* Sebagai Antibakteri Untuk Menanggulangi Serangan Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Pada Benih Ikan Gurami



(*Osphronemus Gouramy*). Sumatra :
Program Studi Manajemen
Sumberdaya Perairan, Fakultas
Pertanian, Universitas Sumatera
Utara,

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. p. 196-201.

Suciati, A., Wardiyanto & Sumino. 2012.
Efektifitas Esktrak Daun *Rhizophora
mucronata* dalam Menghambat
Pertumbuhan *Aeromonas salmonicida*
dan *Vivrio harvey*. *E-jurnal Rekayasa
dan Teknologi Budidaya Perairan*. 1
(1): 2-8.

Vandepitte, S. 2005. *Prosedur
Laboratorium Dasar untuk
Bakteriologis Klinis*. Edisi 2. Buku
Kedokteran EGC, Jakarta.

Diskusi:

Penanya:

Ida Ningrumsari

Faktor apa saja yang menyebabkan
adanya strain bakteri *A. Hydrophila* system
terhadap ekstrak daun atau batang bakau ?

Jawab: bakteri individu uniseluler sanga
tmudah terpengaruh oleh kondisi alam
tempat hidupnya, walaupun bakteri tersebut
dalam satu spesies, mudahnya terpengaruh
tersebut karena mudahnya gen-gen dalam
bakteri (plasmid) mengalami perubahan
sehingga bakteri – bakteri tersebut dapat
berbeda ketahanan terhadap suatu senyawa
antimikroba.

Muhson Isoni

Kosentrasi yang benar mana tentang
yang paling baik untuk menghambat *A.
Hydrophila* 10% atau 20% ?

Jawab: Maaf ada kekeliruan penulisan
yang benar adalah 10% karena pada
konsentrasi 20% mempunyai kekuatan
penghambatan yang sama dengan yang
10%.