

Tanaman Bakau Api-api Putih (*Avicennia marina*) Berpotensi Menghambat Mikrob Patogen dan Melindungi *Post Larva* Udang Windu

(THE POTENTIAL OF AVICENNIA MARINA TO INHIBITS
PATHOGEN MICROBES AND PROTECTS THE POST LARVA OF TIGER PRAWN)

Gina Saptiani¹, Andi Noor Asikin¹,
Fikri Ardhani², Esti Handayani Hardi¹

¹Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Universitas Mulawarman. Jl. Gunung Tabur Kampus Gunung Kelua,
Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia
Tel./Fax. +62-541-749482,

²Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Mulawarman.
Jl. Paser Balengkong Kampus Gunung Kelua, Samarinda 75124, Indonesia.
Tel./Fax. +62-541-749159, +62-541-738341
Korespondensi: +628125503692; email: gina_saptiani@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengkaji ekstrak daun api-api putih (*Avicennia marina*) untuk menghambat patogen secara *in vitro* dan *in vivo* pada *post larva* udang windu. Daun bakau api-api putih dicincang, dikeringkan dan diekstrak dengan tiga pelarut berbeda, yaitu air, air laut dan etanol. Uji daya hambat secara *in vitro* dilakukan dengan metode *agar disc diffusion* (ADD) dan *minimal inhibitory concentration* (MIC). Uji *in vivo* pada udang windu PL-8 diberikan secara perendaman, yang selanjutnya diuji tantang dengan *Vibrio harveyi* dan *Saprolegnia* sp. Hasil uji *in vitro* menunjukkan ekstrak *A. marina* dapat menghambat *V. harveyi* dan *Saprolegnia* sp. Uji *in vivo* terhadap infeksi *V. harveyi* dan *Saprolegnia* sp., menunjukkan kelangsungan hidup 60-88% dan 57,33-86,67%, dengan kemampuan melindungi dari infeksi patogen tertinggi 80,80% dan 77,80%. Ekstrak *A. marina* terbaik yang dapat menghambat mikrob dan melindungi *post larva* udang dari infeksi patogen adalah ekstrak etanol konsentrasi 1250-1500 ppm, diikuti ekstrak air laut 1500 ppm dan ekstrak air 1500 ppm.

Kata-kata kunci: *Avicennia marina*; patogen; *post larva*; udang windu

ABSTRACT

The research aims to study potency of *Avicennia marina* leaf extract to inhibit pathogens *in vitro* and *in vivo* on post larvae of tiger prawn. The leaves were chopped, dried and extracted with water solvents, sea water and ethanol. *In vitro* inhibitory tests were performed using agar disc diffusion (ADD) and minimal inhibitory concentration (MIC) methods. The *in vivo* test on tiger prawn PL-8 was given by submersion, which then tested with *Vibrio harveyi* and *Saprolegnia* sp. The *in vitro* test showed *A. marina* extract can inhibit *V. harveyi* and *Saprolegnia* sp. *In vivo* tests of *V. harveyi* and *Saprolegnia* sp. infections, showed 60-88% survival and 57.33-86.67%, with protective ability of the highest pathogen infection of 80.80% and 77.80%. The best *A. marina* extract that can inhibit microbial and protect the tiger prawn from pathogen infection is ethanol extract with concentration 1,250-1,500 ppm, followed by sea water extract 1,500 ppm and water extract 1,500 ppm respectively

Keywords: *Avicennia marina*; pathogen; post larva; tiger prawn

PENDAHULUAN

Serangan penyakit pada udang windu dapat terjadi mulai pembenihan hingga saat pemeliharaan di tambak. Penyakit merupakan masalah yang belum teratasi hingga sekarang. Penyakit yang sering menyerang larva dan post larva udang windu di sentra pembenihan udang di Balikpapan dan Muara Badak, Kalimantan Timur adalah *vibriosis* dan jamur. Umumnya penyebab *vibriosis* ini adalah *Vibrio harveyi* yang dapat menyebabkan kematian sekitar 40-65%, sedangkan jamur penyebab gagalnya perkembangan larva di *hatchery* adalah *Saprolegnia* sp. Selain itu kematian sering terjadi pada saat post larva ditebar di tambak, yang sampai saat ini sulit ditanggulangi.

Beberapa tempat pembenihan udang di Kalimantan Timur, masih menggunakan bahan kimia dan antibiotik untuk mencegah infeksi patogen. Penggunaan bahan tersebut tidak terkontrol dan justru menimbulkan resistensi dan toksisitas (Saptiani *et al.*, 2016b). Pemberian ekstrak tumbuhan dapat dilakukan untuk mencegah serangan mikrob pada akuakultur. Pemberian bahan-bahan tertentu, seperti ekstrak tumbuhan dapat memberantas jamur dan bakteri, sehingga dapat menghasilkan larva yang sehat (Saptiani *et al.*, 2012a; Saptiani *et al.*, 2015; Saptiani *et al.*, 2016a).

Pencarian senyawa bioaktif dari bahan alami dapat dilakukan sebagai alternatif untuk menanggulangi penyakit pada ikan, udang, dan biota akuatik (Saptiani *et al.*, 2012b; Saptiani *et al.*, 2013). Penemuan tanaman bakau/ mangrove sebagai obat telah meningkat beberapa tahun terakhir, juga skrening mangrove sebagai antibakteri untuk menanggulangi penyakit pada budidaya udang (Ramesh *et al.*, 2014). Tanaman mangrove telah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional dan beberapa studi yang berbeda telah mengungkapkan aktivitas mangrove terhadap patogen pada manusia, hewan, dan tumbuhan (Sahoo *et al.*, 2012). Beberapa penelitian awal, menunjukkan bahwa ekstrak *Avicennia marina* mempunyai aktivitas antibakterial terhadap bakteri patogen, seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas* (Dhayanithi *et al.*, 2012). Produk tanaman yang digunakan sebagai obat herbal untuk terapi, harganya relatif murah dan mempunyai potensi sebagai sumber bahan obat-obatan (Saptiani *et al.*, 2016c).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji ekstrak daun bakau api-api putih (*A. marina*) sebagai bahan yang bersifat antibakteri dan antijamur secara *in vitro*, dan secara *in vivo* dapat meningkatkan kelangsungan hidup post larva udang windu. Hasilnya diharapkan dapat diaplikasikan oleh pembenih dan pembudidaya udang, dengan memanfaatkan tanaman di sekitar tambak.

METODE PENELITIAN

Ekstrak *Avicennia marina*

Daun *A. marina* berasal dari daerah pertambakan di wilayah Kecamatan Muara Badak, Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur. Daun dibersihkan, dicuci, dan ditiriskan, setelah kering dicincang dan dikeringanginkan di ruangan yang tidak terpapar matahari secara langsung, sekitar 18 hari sampai kering. Daun dimaserasi dengan tiga macam pelarut yang berbeda, yaitu etanol 80%, air/akuades, dan air laut dengan salinitas 20‰ selama 24 jam. Perbandingan antara daun dan pelarut adalah 1:5. Hasil maserasi diekstraksi dengan metode evaporasi, yaitu dengan menarik kembali pelarut yang mengikat bahan aktif dengan alat *rotary evaporator* (Buchi Rotavapor R 200). Saat ekstrak pekat menjadi sekitar 25%, kandungan garam yang memang ada pada tumbuhan tersebut dikeluarkan dengan menggunakan metode cair cair, sampai garamnya habis. Hasil ekstraksi diuapkan di atas penangas sampai pelarut etanolnya menguap, sehingga didapatkan pelet ekstrak, sedangkan pada ekstrak air dan air laut proses dihentikan apabila cairan tinggal 10% dari semula.

Bakteri *V. harveyi* dan jamur *Saprolegnia* sp.

Bakteri dan jamur yang digunakan sebagai uji tantang adalah *V. harveyi* dan *Saprolegnia* sp. yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Mulawarman, Samarinda. Sebelum digunakan bakteri diuji patogenitasnya dengan menginjeksikan kepada lima ekor udang windu ukuran 2,5 g secara intramuskuler sebanyak 0,05 mL dengan dosis 10^5 CFU/mL, setelah lima hari dan udang menunjukkan gejala klinis kemerahan, maka *V. harveyi* diisolasi dari hepatopankreas dan diinfeksi

kembali ke udang sampai tiga kali. Selanjutnya *V. harveyi* diisolasi dan dikultur pada media *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar* (TCBSA) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30° dan diamati koloninya. Jika koloni bakteri berpendar, maka *V. harveyi* tersebut bersifat ganas kembali dan siap dipakai untuk uji daya hambat dan ujiantang. Sebelum digunakan bakteri tersebut disuburkan kembali pada media *Tryptic Soy Broth* (TSB) ditambah 2% NaCl. Jamur *Saprolegnia* sp. diremajakan kembali, dengan mengkultur pada media *Potato Dekstro Agar* (PDA) yang diinkubasi pada suhu 33° selama 24 jam.

Air dan Akuarium

Air untuk media penelitian berasal dari air laut yang dipastikan bebas dari bakteri patogen. Bak penampungan disucihamakan dengan desinfektan, dibilas, direndam air bersih dan dikeringkan. Air diendapkan pada bak selama tiga hari, selanjutnya dialirkan ke bak penampungan yang lain dan diaerasi. Kualitas air yang digunakan harus memenuhi standar untuk kehidupan udang dan salinitasnya 23‰, selanjutnya dilakukan isolasi dan test terhadap *V. harveyi*, *Aeromonas* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Saprolegnia* sp., hasil test ini harus negatif. Akuarium percobaan dicuci bersih dengan sabun dan direndam kalium permanganat (KMNO₄), dibilas dan direndam dengan air bersih selama 24 jam, serta dikeringkan. Demikian juga peralatan lainnya, semua dibersihkan dan dikeringkan. Akuarium diatur sedemikian rupa, sehingga diharapkan tidak ada pengaruh perbedaan tempat, suhu, cahaya dan sebagainya serta mudah penangannya. Akuarium diisi air sebanyak tiga liter dan diaerasi.

Udang Windu

Udang yang digunakan sebagai bahan percobaan adalah post larva udang windu PL 7, yang berasal dari pembenihan rakyat di Muara Badak Kalimantan Timur. Post larva udang berasal dari induk dan pembenihan yang terkontrol, yang tidak menggunakan bahan kimia ataupun obat-obatan. Udang dipastikan bebas bakteri *Vibrio* dengan cara melakukan *sampling* untuk isolasi dan kultur bakteri ke media TCBSA. Setelah itu udang diaklimatisasi selama satu hari dalam akuarium, dan setiap akuarium diisi udang 25 ekor.

Uji *In Vitro*

Uji *in vitro* dilakukan dengan metode daya hambat *agar disc diffusion* (ADD) dan uji *minimum inhibitory concentration* (MIC). Uji ADD ekstrak etanol daun *A. marina*, ekstrak air *A. marina* dan ekstrak air laut *A. marina* dilakukan terhadap *V. harveyi* dan *Saprolegnia* sp. Bakteri dikultur pada media TSB yang ditambah NaCl 2%, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 30°. Setelah inkubasi, bakteri diencerkan menjadi 10⁵ CFU/mL dan dikultur pada media TSA yang ditambah NaCl 2% dalam cawan petri. Jamur *Saprolegnia* sp. dikultur pada media *Potato Dekstro Broth* (PDB), selanjutnya diinkubasi pada suhu 33°, selama 24 jam. Setelah inkubasi, selanjutnya diencerkan menjadi 10⁵ CFU/mL dan dikultur pada media PDA dalam cawan petri. Perlakuan konsentrasi masing-masing ekstrak adalah 200, 400, 600, 800, dan 1000 ppm serta kontrol negatif menggunakan larutan *phosphat buffer saline* (PBS) 0,85% dan kontrol positif menggunakan larutan antibiotik oksitetrasiklin 50 mg dalam 10 mL akuades. Setiap perlakuan dilakukan tiga ulangan. Perlakuan diberikan dengan cara meneteskan larutan ekstrak pada kertas saring whatman (*Whatman filter paper disc*) yang berdiameter 6 mm, selanjutnya ditanam dan ditata sedemikian rupa pada kultur bakteri dan kultur jamur. Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan dan pemeriksaan mulai jam ke-12, 18, 24, 36, 48, dan 60 setelah inkubasi. Diameter zona bening yang terbentuk di sekeliling kertas saring diukur.

Uji MIC dilakukan pada *mikroplate* steril yang mempunyai lubang sebanyak 96. Semua lubang diisi dengan 0,5 mL TSB yang sudah ditambah 2% NaCl. Pada lubang deretan pertama, masing-masing diisi perlakuan ekstrak etanol, air dan air laut daun *A. marina* dan kontrol negatif PBS 0,85% masing-masing 0,5 mL, serta kontrol positif antibiotik oksitetrasiklin 2,5 mg dalam 0,5 mL akuades, yang semuanya dilakukan tiga kali ulangan. Selanjutnya dilakukan pengenceran berseri, sampai lubang ke-8. Kemudian semua lubang diisi dengan *V. harveyi* 0,1 mL dengan konsentrasi 10⁵ CFU/mL dan *mikroplate* diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 30°. Demikian juga pada uji MIC terhadap jamur *Saprolegnia* sp., namun media yang digunakan

adalah PDB, dan inkubasinya pada suhu 33°. Media yang keruh menunjukkan terjadinya pertumbuhan bakteri atau jamur, sedangkan yang bening menunjukkan ekstrak mampu menghambat bakteri atau jamur. Untuk menguatkan hasil uji MIC, pada lubang pengenceran yang hasilnya bening tapi meragukan, dilakukan isolasi dan kultur pada media TSA atau PDB dengan metode sebar. Hasil uji MIC dianalisis dengan mengamati pertumbuhan bakteri pada setiap perlakuan. Penentuan MIC berdasarkan pada hasil pengenceran tertinggi (atau konsentrasi ekstrak terendah) yang masih mampu menghambat bakteri.

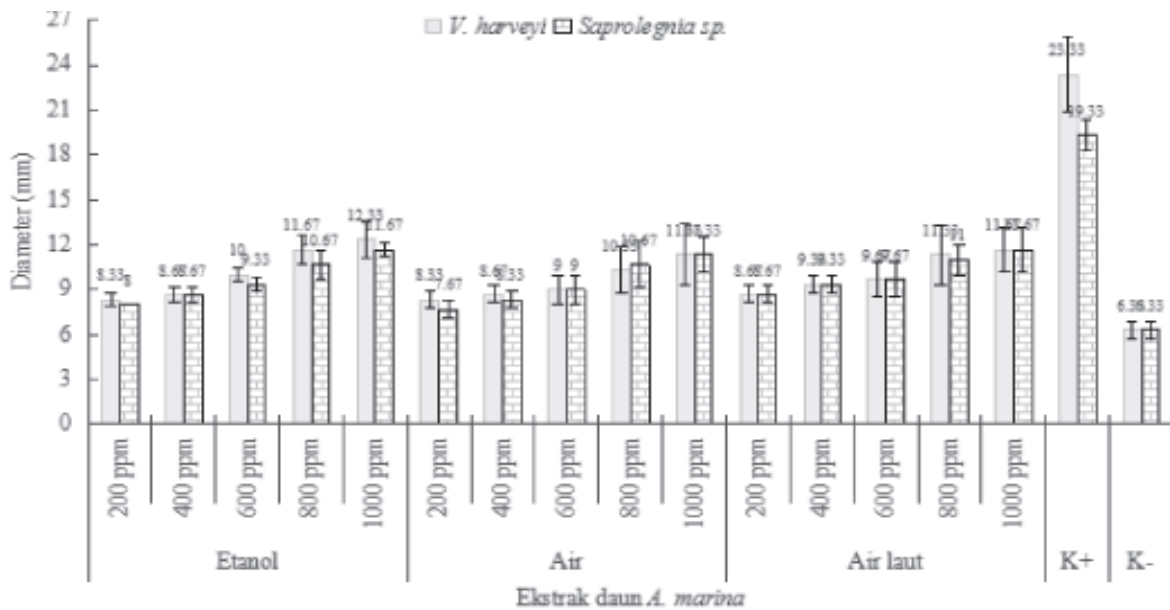
Uji *In vivo*

Perlakuan terdiri dari ekstrak etanol daun *A. marina*, air *A. marina*, dan air laut *A. marina*, masing-masing konsentrasi ekstrak adalah 750, 1000, 1250 dan 1500 ppm, kontrol positif antibiotik oksitetrasiklin 500 mg/1000 mL dan kontrol negatif PBS 0,85%. Perlakuan diberikan secara perendaman dan setiap perlakuan terdiri dari 25 ekor udang windu PL 8, dan diulang tiga kali. Uji tantang *V. harveyi* dan *Saprolegnia* sp. dilakukan setelah 24 jam perlakuan, yang diberikan secara perendaman sebanyak 1 mL/1000 mL air media, dengan konsentrasi 10⁵ CFU/mL. Udang dipelihara selama tujuh hari. Pengamatan gejala klinis dilakukan dua kali sehari selama penelitian. Gejala klinis yang diamati adalah adanya perubahan tingkah laku, pola renang, gerak refleks, nafsu makan, serta kelengkapan tubuh udang. Pengamatan patologi anatomi (PA) dilakukan pada udang yang mati dan pada akhir penelitian. Pengamatan PA berdasarkan terjadinya perubahan warna dan bentuk organ tubuh udang. Kelangsungan hidup udang diamati setiap hari dan dihitung *Survival Rate* (SR), yang diperoleh dari persentase larva yang hidup sampai akhir penelitian. Selain itu pada akhir penelitian dihitung juga total kandungan bakteri *V. harveyi* pada udang dengan menggunakan hitungan *total plate count* atau *total vibrio count* (TPC/TVC) dan juga efektivitas ekstrak melindungi udang dari infeksi *V. harveyi*, dengan metode *Relative Percentage of Survival* (RPS), dengan rumus, $RPS = 1 - \frac{[\text{mortalitas udang perlakuan}]}{[\text{mortalitas udang kontrol}]} \times 100\%$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji *in vitro* metode ADD secara umum menunjukkan ekstrak *A. marina* dapat menghambat bakteri *V. harveyi* dan jamur *Saprolegnia* sp. Daya hambat terhadap *V. harveyi* berkisar 8,33-12,33 mm, sedangkan terhadap *Saprolegnia* sp. berkisar 7,67-11,67 mm. Daya hambat tertinggi adalah 12,33 mm pada ekstrak etanol daun *A. marina* 1000 ppm terhadap bakteri *V. harveyi*, sedangkan terhadap *Saprolegnia* sp adalah 11,67 mm, seperti disajikan pada Gambar 1. Ekstrak *A. marina* juga mampu menghambat jamur, meskipun tidak sebaik pada bakteri. Ini menunjukkan *A. marina* bersifat antibakterial dan antijamur. Penelitian tentang penggunaan ekstrak tanaman telah dilakukan oleh banyak peneliti yang membuktikan bahwa ekstrak tanaman dapat bersifat antibakteri, antijamur, dan dapat juga digunakan sebagai imunostimulan yang tidak menimbulkan resistensi (Saptiani *et al.*, 2012a; Ramesh *et al.*, 2014; Saptiani *et al.*, 2015; Saptiani *et al.*, 2016a). Beberapa penelitian menunjukkan ekstrak metanol kulit batang *Sonneratia alba* dan buah *A. marina* menunjukkan zona hambat terbesar 15 mm terhadap *Salmonella typhii*. Ekstrak aseton daun *S. alba* menunjukkan zona hambat terbesar 14 mm terhadap *Listeria monocytogenes* (Mustopa *et al.*, 2015). Zona hambat terbesar ekstrak etanol *A. marina* terhadap *Penicillium* sp. adalah 12-13 mm, *Aspergillus alternata* 14 mm, dan *Aspergillus niger* 13 mm (Rastegar dan Gozari, 2017). Ekstrak buah *A. officinalis* mempunyai aktivitas antibakteri 12,66-18,66 mm terhadap spesies bakteri Gram positif maupun negatif (Sharief *et al.*, 2014).

Hasil uji *in vitro* metode MIC secara umum menunjukkan ekstrak *A. marina* mampu menghambat *V. harveyi* dan *Saprolegnia* sp., dengan MIC berkisar 3,91-10,42 µg/mL terhadap *V. harveyi* dan 6,51-15,63 µg/mL terhadap *Saprolegnia* sp. MIC terendah pada ekstrak etanol daun *A. marina* diikuti ekstrak air laut dan ekstrak air, seperti disajikan pada Gambar 2. MIC ekstrak metanol *A. marina* terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 75-150 µg/mL (Dhayanithi *et al.*, 2012). Ekstrak metanol *Ceriops decandra*, *Avicennia marina*, *Rhizophora mucronata*, *R. mangle*, *R. apiculata*

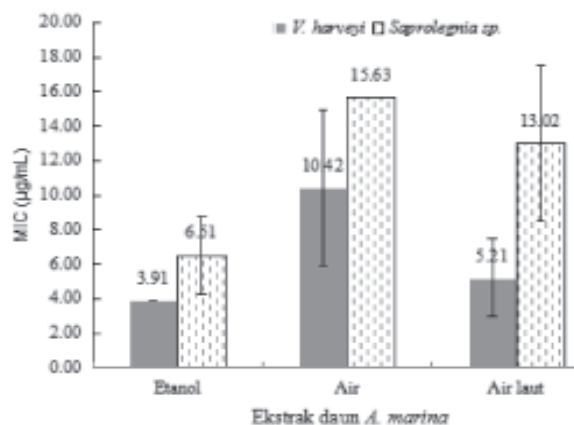


Gambar 1. Zona hambat ekstrak daun *Avicennia marina* terhadap bakteri *Vibrio harveyi* dan jamur *Saprolegnia sp.*

dan *Avicennia corniculatum* menunjukkan MIC terbaik pada 20 mg/mL terhadap *S. aureus* (Selvam *et al.*, 2014). MIC ekstrak etanol daun *A. marina* terhadap *Alternaria citri* dan *Penicillium digitatum* adalah 16 dan 8 mg/mL, sedangkan ekstrak air daun *A. marina* 64 dan 16 mg/mL (Alizadeh-Behbahani *et al.*, 2015), sedangkan MIC ekstrak aseton daun *A. ilicifolius* terhadap *V. harveyi* adalah 125 µg/mL (Ramesh *et al.*, 2014).

Dua hari setelah diuji tantang dengan *V. harveyi*, udang pada perlakuan kontrol mengalami gejala klinis. Secara rata-rata gejala klinis yang teramati adalah gerakan lemah, respons refleksnya lemah, nafsu makan menurun, timbul warna hitam kemerahan pada tubuh, kaki jalan (*pereopod*) dan ekor kemerahan, serta ada udang yang ekor, rostrum dan *pereopod* tidak lengkap. Gejala klinis yang teramati pada perlakuan ekstrak air daun *A. marina* adalah gerakan agak lemah, nafsu makan menurun, kemerahan pada *pereopod*, rostrum dan ekor. Pada udang yang diberi ekstrak air laut daun *A. marina* menunjukkan gejala gerakan lemah, kemerahan pada *pereopod* dan ekor, sedangkan udang yang diberi ekstrak etanol konsentrasi 1250 dan 1500 ppm, gejalanya teramati lebih baik dari pada perlakuan lain, tetapi hampir sama dengan perlakuan kontrol positif. Gejala klinis udang pada perlakuan yang diuji tantang dengan *Saprolegnia sp.* teramati lebih baik, namun pada

perlakuan kontrol ekornya banyak yang *gripis*. Vibriosis, terutama penyakit bercahaya (*luminescent*), telah menyebabkan kerugian serius pada pembenihan udang (Mirbakhsh *et al.*, 2014). Spesies *Vibrio* sangat berlimpah di lingkungan air laut dan beberapa strain patogen oportunistik yang berkaitan dengan kekebalan udang budidaya di dalam kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan (Cadiz *et al.*, 2016). Gambaran patologi anatomi udang yang diberi ekstrak *A. marina* menunjukkan hasil yang lebih baik dibanding pada kontrol negatif. Beberapa udang pada perlakuan kontrol negatif

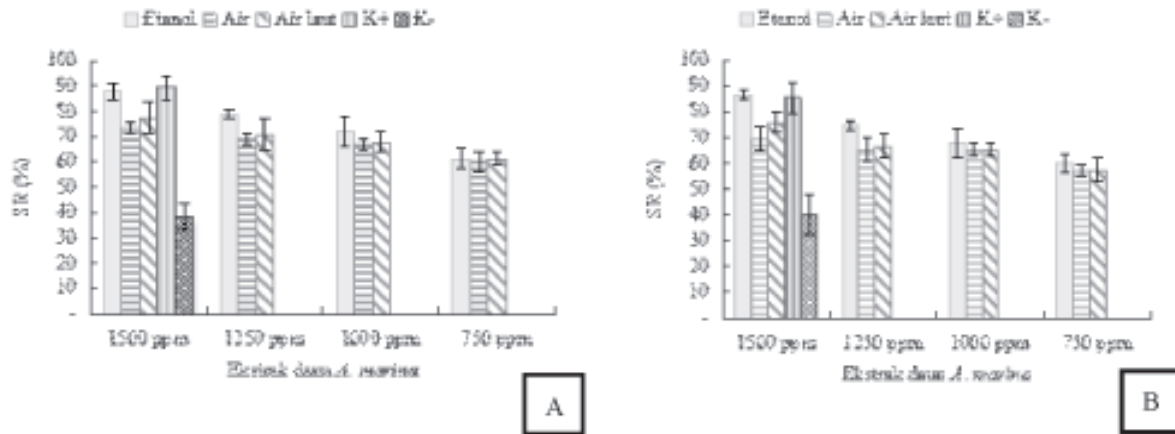


Gambar 2. Daya hambat ekstrak daun *Avicennia marina* terhadap bakteri *Vibrio harveyi* dan jamur *Saprolegnia sp.* dengan metode MIC.

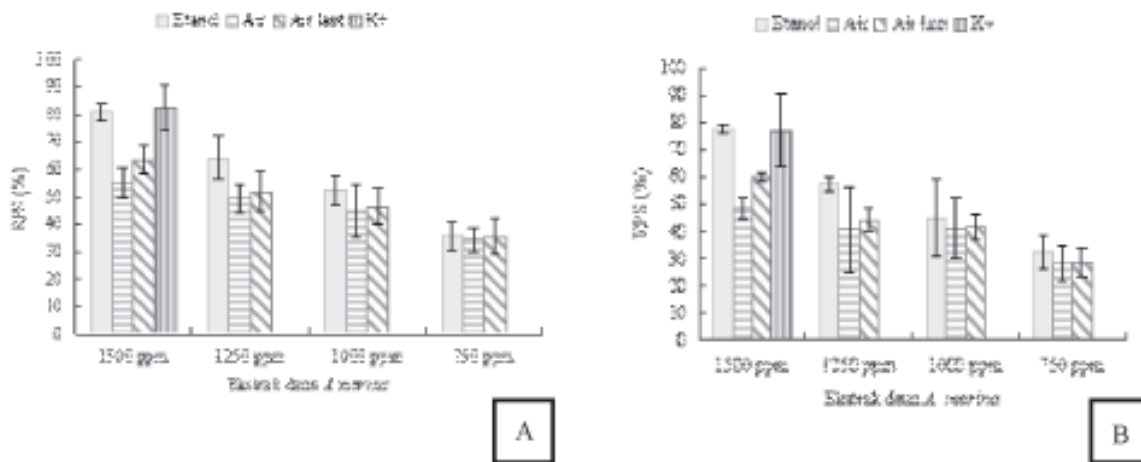
yang diuji tantang dengan *V. harveyi* mengalami gangguan patologi anatomi berupa ekor bengkak dan *gripis*, mata rusak dan rostrumnya putus. Udang pada perlakuan kontrol negatif yang diuji tantang dengan *Saprolegnia* sp., menunjukkan gejala yang sama dan ada beberapa udang yang ekornya ada benang-benang seperti kapas, apabila diamati dengan kaca pembesar. Beberapa kondisi *vibriosis* umumnya menunjukkan gejala kehitaman pada kulit, ekor membusuk, nekrosis pada hepatopankreas, insang kecoklatan, usus bengkak dan penyakit bakteri *luminescent* (bercahaya) (Peddie dan Wardle, 2005). Umumnya udang yang terserang *V. harveyi* menunjukkan gejala klinis hitam kemerahan dan beberapa organ luarnya terlihat kemerahan (Saptiani et al., 2012a). *Vibrio* sp. dapat menyebabkan insang pucat, kuning kemerahan, karapas menjadi gelap kemerahan,

kaki renang (*pleopod*) di bagian abdominal dan ekor patah, hepatopankreas berwarna gelap sedikit kemerahan (Shimaa et al., 2015).

Berdasarkan pemeriksaan gejala klinis dan patologi anatomi udang, pada perlakuan ekstrak daun *A. marina*, menunjukkan kondisi fisiologis dan ketahanan udang yang lebih baik terhadap infeksi *V. harveyi* maupun *Saprolegnia* sp., dibanding dengan perlakuan kontrol negatif. Pada kontrol positif yang diberi antibiotik menunjukkan hasil hampir sama dengan ekstrak etanol daun *A. marina*. Hasil ini menunjukkan ekstrak daun *A. marina* efektif dan dapat melindungi udang windu dari infeksi *V. harveyi*, dan juga *Saprolegnia* sp., sehingga udang windu dapat tumbuh dan berkembang. Penambahan serbuk buah *A. marina* pada pakan ikan kakap putih sebanyak 20g/100g dapat meningkatkan laju pertumbuhan ikan



Gambar 3. Kelangsungan hidup (SR) udang windu yang diberi ekstrak daun *Avicennia marina* dan diuji tantang dengan *Vibrio harveyi* (A) dan *Saprolegnia* sp. (B).



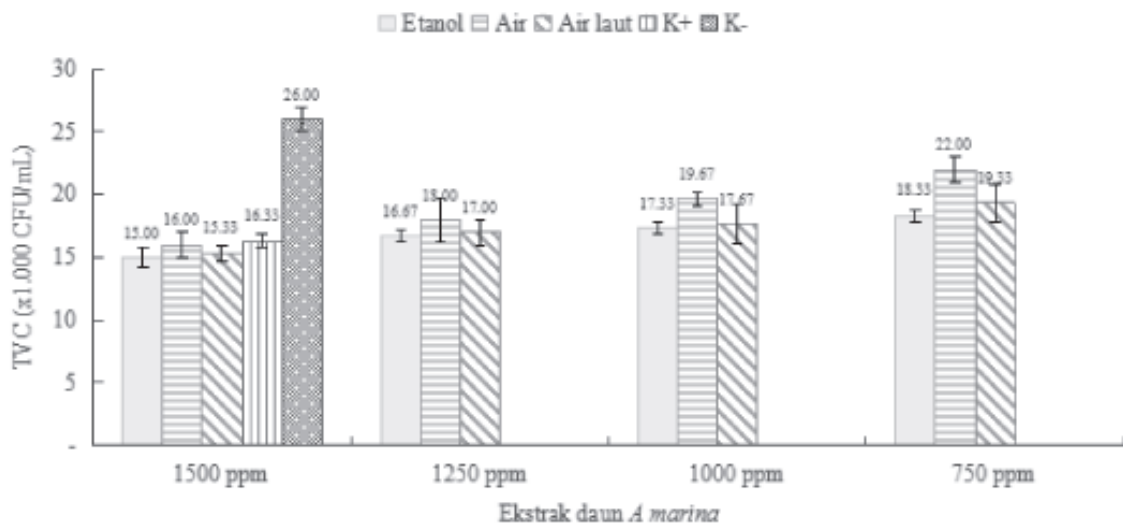
Gambar 4. Kemampuan ekstrak daun *Avicennia marina* yang diberikan ke udang windu untuk melindungi dari infeksi (RPS) *Vibrio harveyi* (A) dan *Saprolegnia* sp. (B).

kakap putih (*Lates calcarifer*) (Girsang *et al.*, 2013). Ekstrak etanol *A. marina* dapat menghambat pertumbuhan *Penicillium pupurogenome*, *P. chrysogenum*, *P. notatum*, *P. niger*, *P. alternata* and *P. italicum* (Rastegar dan Gozari, 2017).

Kelangsungan hidup post larva udang windu yang diberi perlakuan ekstrak daun *A. marina* hasilnya sangat baik bila dibanding dengan kontrol negatif, yaitu berkisar 60-88% terhadap infeksi *V. harveyi*, dan 57,33-86,67% terhadap infeksi *Saprolegnia* sp., sedangkan pada perlakuan kontrol positif yang diberi antibiotik adalah 89,33% dan pada kontrol negatif 38,67%, seperti disajikan pada Gambar 3. Kemampuan ekstrak daun *A. marina* yang diberikan pada post larva udang windu untuk melindungi dari infeksi *V. harveyi* dan *Saprolegnia* sp. (RPS) dibanding dengan kontrol negatif, berkisar 34,33-80,80% dan 28,35-77,80%, sedangkan pada perlakuan kontrol positif 77,09-82,28 %. RPS yang tertinggi terhadap *V. harveyi* adalah 80,80% pada perlakuan ekstrak etanol 1500 ppm, diikuti 1250 ppm yaitu 64,25%, ekstrak air laut 1500 ppm, yaitu 63,45%, dan ekstrak air 1500 ppm, yaitu 55,38%, sedangkan lainnya kurang dari 55%. RPS yang tertinggi terhadap *Saprolegnia* sp. adalah 77,09% pada perlakuan ekstrak etanol 1500 ppm, diikuti ekstrak air laut 1500 ppm, yaitu 60,12% dan ekstrak etanol 1250 ppm yaitu 57,56%, sedangkan yang lain kurang dari 50%, seperti disajikan pada Gambar 4. Setelah 14 hari

pasca uji tantang dengan *V. harveyi*, kelangsungan hidup udang windu umur 1,5 bulan adalah berkisar 53,62%, yang selanjutnya semakin menurun (Saptiani *et al.*, 2012a). Hasil tersebut menunjukkan ekstrak daun *A. marina* dapat melindungi udang windu dari infeksi *V. harveyi*, dan juga *Saprolegnia* sp., sehingga dapat meningkatkan kelangsungan hidup. Ekstrak daun *A. marina* dapat digunakan sebagai sumber bioaktif baru dari produk alami yang potensial digunakan untuk mengontrol gangguan mikrob (Sharief dan Rao, 2014).

Total kandungan bakteri *V. harveyi* (TVC) pada udang yang diberi ekstrak daun *A. marina* pada akhir penelitian adalah $15-22 \times 10^3$ CFU/mL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun *A. marina* konsentrasi 750-1500 ppm dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan *V. harveyi* dibanding kontrol negatif, yang menunjukkan TVC 26×10^3 CFU/mL, sedangkan pada kontrol positif yang menggunakan antibiotik nilai TVC cukup baik, yaitu $16,33 \times 10^3$ CFU/mL. Ekstrak yang paling baik menghambat *V. harveyi* adalah ekstrak etanol konsentrasi 1500 ppm, diikuti ekstrak air laut, air dan antibiotik, seperti disajikan pada Gambar 5. Kepadatan populasi bakteri *V. harveyi* bervariasi antara $0,6-8,8 \times 10^4$ CFU/mL di air dan pada sedimen sekitar $1,2-10,4 \times 10^6$ CFU/g, sedangkan kepadatan populasi *V. harveyi* pada sampel udang sekitar $0,5-7,3 \times 10^4$ CFU/mL (Kannapiran *et al.*, 2009). Kandungan bakteri *V. harveyi* pada hepatopankreas udang



Gambar 5. Total kandungan *Vibrio harveyi* (TVC) pada udang yang diberi ekstrak daun *Avicennia marina*.

windu umur 1,5 bulan, 14 hari setelah diuji tantang adalah sekitar 14,67 CFU/mL (Saptiani *et al.*, 2012a).

Hasil ini menunjukkan ekstrak daun *A. marina* bersifat antibakterial, pada konsentrasi 1500 ekstrak daun *A. marina* mampu menghambat *V. harveyi* relatif lebih baik dibanding antibiotik. Semua isolat *Vibrio* ditemukan resisten terhadap ampicillin, gentamycin, oxytetracyclin, chloramphenicol, trimethoprim dan kanamicin, antibiotik yang umumnya digunakan dalam akuakultur (Heenatigala dan Fernando, 2016). Tanaman *A. marina* adalah golongan tumbuhan mangrove yang telah dimanfaatkan masyarakat untuk bahan makanan, pakan ternak, pengawet makanan, obat-obatan, kayu bakar dan bahan arang. Tanaman *A. marina* juga dapat dimanfaatkan sebagai tanaman penyerap racun dan tanaman perintis untuk penghijauan kawasan mangrove (Halidah, 2014). Mangrove adalah kelompok tumbuhan yang kaya dengan kandungan metabolit sekunder, seperti alkaloid, flavonoid, phenolik, steroid dan terpenoid. Fenol alami, alkaloid dan flavonoid telah terbukti memiliki sifat antioksidan, antibakteri, antitumor dan antivirus (Soonthornchareonnon *et al.*, 2012; Sharief *et al.*, 2014). Uji *in vitro* ekstrak etanol kulit batang tumbuhan *Avicennia* spp. secara terfraksinasi menunjukkan aktivitas antibakterial yang tinggi, selain itu senyawa metabolit sekunder utama tumbuhan ini adalah golongan alkaloid (Darminto *et al.*, 2012). Flavonoid diketahui disintesis oleh tanaman dalam menanggapi infeksi mikrob, sehingga tidak mengherankan bila zat tersebut secara *in vitro* merupakan antimikrob yang efektif terhadap mikroorganisme secara luas (Kumar dan Pandey, 2013). Senyawa yang ada pada ekstrak *A. marina* dapat digunakan sebagai obat herbal untuk mengobati berbagai disfungsi biologis, dengan risiko efek samping yang minimal tetapi dengan potensi pengobatan yang maksimal (Prabhu dan Guruvayoorappan, 2012).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisis penelitian tersebut ekstrak etanol, air laut dan air daun *A. marina* dapat menghambat *V. harveyi* dan *Saprolegnia* sp. secara *in vitro* maupun secara *in vivo* pada post larva udang windu. Ekstrak daun *A. marina* mampu

menghambat dan mengurangi serangan *V. harveyi* dan *Saprolegnia* sp. pada post larva udang windu.

SARAN

Perlu dilanjutkan penelitian penggunaan ekstrak daun *A. marina* pada post larva udang windu sebelum ditebar di tambak dan pengaruhnya terhadap komponen imunitas udang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi yang dibiayai oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi, Nomor SP DIPA 042.06.1.401516/2017. Terimakasih kami sampaikan kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi, Rektor dan Kepala Lembaga Penelitian Universitas Mulawarman.

DAFTAR PUSTAKA

- Alizadeh-Behbahani B, Tabatabaei-Yazdi F, Shahidi F, Riazi F. 2015. Antifungal effect of the aqueous and ethanolic *Avicennia marina* extracts on *Alternaria citri* and *Penicillium digitatum*. *Zahedan. J Res Med Sci* 10(10): 29-33.
- Cadiz RE, Traifalgar RFM, Sanares RC, Andriano-Felarca KGS, Corre Jr. VL. 2016. Comparative efficacies of tilapia green water and biofloc technology (BFT) in suppressing population growth of green *Vibrios* and *Vibrio parahaemolyticus* in the intensive tank culture of *Penaeus vannamei*. *AAFL Bioflux* 9(2): 195-203.
- Darminto, Ali A, Dini I. 2012. Isolasi senyawa metabolit sekunder utama ekstrak etanol kulit batang tumbuhan mangrove (*Avicennia* spp.). *J Sainsmat* 1(1): 61-67.
- Dhayanithi NB, Kumar TTA, Murthy RG, Kathiresan K. 2012. Isolation of antibacterials from the mangrove, *Avicennia*

- marina* and their activity against multi drug resistant *Staphylococcus aureus*. *Asian Pacific J Trop Biomed* S1892-S1895.
- Girsang EP, Melki, Isnaini. 2013. Penambahan serbuk buah *Avicennia marina* terhadap laju pertumbuhan ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) pada skala laboratorium. *Maspari J* 5(1): 44-49.
- Halidah. 2014. *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh jenis mangrove yang kaya manfaat. *Info Teknis Eboni* 11(1): 37-44.
- Heenatigala PPM, Fernando MUL. 2016. Occurrence of bacteria species responsible for vibriosis in shrimp pond culture systems in Sri Lanka and assessment of the suitable control measures. *Sri Lanka J Aquat Sci* 21(1): 1-17.
- Kannapiran E, Ravindran J, Chandrasekar R, Kalaiarasi A. 2009. Studies on luminous, *Vibrio harveyi* associated with shrimp culture system rearing *Penaeus monodon*. *J Environ Biol* 30(5): 791-795.
- Kumar S, Pandey AK. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids: An Overview. *The Scientific World J*. Article ID 162750: 1-16.
- Mirbakhsh M, Akhavan sepahy A, Afsharnasab M, Khanafari A, Razavi MR. 2014. Molecular identification of *Vibrio harveyi* from larval stage of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Boone (Crustacea: Decapoda) By polymerase chain reaction and 16S rDNA sequencing. *Iranian J Fisheries Sci* 13(2): 384-393.
- Mustopa AZ, Umami RN, Melki. 2015. Antibacterial activity assay of Mangrove extracts against *Salmonella typhi* and *Listeria monocytogenes* (Aktivitas antibakteri ekstrak mangrove terhadap *Salmonella typhi* and *Listeria monocytogenes*). *J Ilmu dan Teknol Kelautan Tropis* 7(2): 603-612.
- Peddie S, Wardle R. 2005. The impact and control of vibriosis in shrimp culture worldwide. *Aquaculture Health Inter* 2: 4-5.
- Prabhu VV, Guruvayoorappan C. 2012. Phytochemical screening of methanolic extract of mangrove *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. *Der Pharmacia Sinica* 3(1): 64-70.
- Ramesh K, Natarajan M, Sridhar H, Vanitha MU, Umamaheswari S. 2014. Anti-vibrio activity of Mangrove and Mangrove Associates on Shrimp pathogen, *Vibrio harveyi* VSH5. *Global Veterinaria* 12(2): 270-276.
- Rastegar S, Gozari M. 2017. Effect of mangrove plant extract on growth of four fungal pathogens. *J Paramed Sci (JPS)* 8(1): 1-6.
- Sahoo G, Mulla NSS, Ansari ZA, Mohandass C. 2012. Antibacterial activity of Mangrove leaf extracts against Human Pathogens. *Indian J Pharm Sci* 74(4): 348-351.
- Saptiani G, Prayitno SB, Anggoro S. 2012a. The effectiveness of *Acanthus ilicifolius* in protecting tiger prawn (*Penaeus monodon* F.) from *Vibrio harveyi* infection. *J of Coast Dev* 15(2): 217-224.
- Saptiani G, Prayitno SB, Anggoro S. 2012b. Antibacterial activity of Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) extracts on the In Vitro growth of the *Vibrio harveyi*. *J Veteriner* 13(3): 257-262.
- Saptiani G, Prayitno SB, Anggoro S. 2013. Antibacteria potential of Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) leaf extracts on the in Vitro growth of the *Vibrio harveyi*. *J Kedokteran Hewan* 7(1): 17-20.
- Saptiani G, Pebrianto CA, Hardi EH. 2015. Antimicrobial of *Alpinia galanga* extracts against the pathogen of *Clarias batrachus*. Dalam: Proc Inter Symp Marine & Fish. Research. Yogyakarta 17 Agustus 2017. Hlm. 99-104.
- Saptiani G, Hardi EH, Pebrianto CA, Agustina. 2016a. Ekstrak daun Pepaya dan Kangkung untuk meningkatkan daya tetas telur dan kelangsungan hidup larva Lele. *J Veteriner* 17(2): 285-291.
- Saptiani G, Hardi EH, Pebrianto CA, Ardhani F. 2016b. *Alpinia galanga* extracts for improving egg hatchability and larval viability of Catfish. Dalam: AIP Conf Proc 1755, 140002-1-140002-5.
- Saptiani G, Hardi EH, Pebrianto CA, Agustina, Ardhani F. 2016c. Antimicrobial potential of *Carica papaya*, *Ipomoea aquatica*, *Alpinia galanga* and *Piper betle* against the aquatic microbials. *Nusantara Biosci* 8(2): 252-257.

- Selvam KA, Kolanjinathan K. 2014. Antibacterial activity of Mangrove medicinal plants against Gram positive bacterial pathogens. *Int J Adv Res Biol Sci* 1(8): 234-241.
- Sharief NMD, Rao UMV. 2014. Antibacterial and antioxidant activity of *Avicennia marina* leaf. *J Chem and Pharma Res* 10: 252-256
- Sharief NMD, Srinivasulu A, Satya Veni P, Rao UMV. 2014. Quantification of Phytochemicals and antibacterial activity of fruit extract *Avicennia officinalis*. *Asian J Pharm Clin Res* 7(2): 127-130
- Shimaa El Farah AH, Riad Khalil H, Talaat Saad T, Mahmoud El-Tanekhy, Hany Abdel-Latif MR. 2015. Occurrence, characterization and antibiotic resistance patterns of bacterial communities encountered in mass kills of pond cultured Indian prawn (*Fenneropenaeus indicus*) at Damietta governorate, Egypt. *Inter J Fisheries and Aquatic Studies* 2(4): 271-276.
- Soonthornchareonnon N, Wiwat C, Chuakul W. 2012. Biological activities of medicinal plants from Mangrove and beach forests. *Mahidol Univ J Pharma Sci* 39: 9-18.