

# Hidroekstraksi Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebagai Pengendali Penyakit *Ice-ice* pada Budidaya *Kappaphycus alvarezii*

Ni Wayan Sutraeni Rahayu, Endry Nugroho Prasetyo, dan Isdiantoni

Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

e-mail: endry@bio.its.ac.id, antonie\_isd@yahoo.co.id

**abstrak**— *Ice-ice* merupakan penyakit yang menyerang rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang menyebabkan perubahan warna *thallus* menjadi putih, menurunkan kualitas karaginan serta biomassa rumput laut. Daun ketapang diketahui memiliki sifat antimikroba. Ekstraksi daun ketapang dilakukan dengan metode rebus dan kukus. Aktivitas mikroba *ice-ice* diuji dengan metode difusi cakram dilanjutkan dengan pencarian konsentrasi minimum ekstrak dalam menghambat dan membunuh mikroba, ekstrak dengan konsentrasi terbaik akan dilanjutkan dengan uji klinis di Desa Palasa Pulau Poteran, Kabupaten Sumenep. Hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun ketapang yang paling efektif terhadap *Vibrio alginolyticus* adalah ekstrak daun ketapang yang direbus, dengan suhu 40°C dibuktikan dengan dihasilkan diameter zona hambat terbesar yaitu 17.27 mm dan tergolong dalam kategori kuat. Ekstrak daun ketapang metode rebus pada suhu 40°C memiliki nilai konsentrasi hambat minimum sebesar 60% bersifat bakteriostatik yaitu menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Hasil uji klinis menunjukkan ekstrak daun ketapang metode rebus suhu 40°C dapat menyembuhkan penyakit *ice-ice*, ditandai luas bercak putih yang berkurang bahkan hilang pada hari ketiga setelah perendaman dengan ekstrak daun ketapang.

**Kata Kunci**— Ekstrak daun ketapang, *Kappaphycus alvarezii*, penyakit *ice-ice*

## I. PENDAHULUAN

**K***appaphycus alvarezii* merupakan anggota dari alga merah (Rhodophyceae) yang dapat dimanfaatkan untuk bahan makanan yang berguna sebagai antiradikal bebas [1]-[2]-[3]. Selain itu, *K. alvarezii* menjadi komoditas ekspor karena mengandung kappa karaginan yang penting untuk stabilisator, bahan pengental, pembentuk gel dan pengemulsi dengan teknik budidayanya yang relatif mudah dan murah [4]-[5]. Pada tahun 2002 produksi karaginan Indonesia mencapai 3.896 ton dengan kapasitas ekspor sampai 3.156 ton [6]. Salah satu penghasil rumput laut *K. alvarezii* di Indonesia adalah Desa Palasa, Sumenep, Jawa Timur. Petani rumput laut di Desa Palasa telah

mengandalkan *K. alvarezii* sebagai salah satu komoditas untuk meningkatkan pendapatan mereka selain memancing.

Budidaya *K. alvarezii* akhir-akhir ini mengalami penurunan kualitas dan kuantitas lebih dari 50% karena salah satunya akibat penyakit *ice-ice* yang dipicu oleh buruknya kondisi lingkungan [7]-[8]-[9]. Penyakit *ice-ice* ditandai dengan gejala pemutihan dan kelembekan *thallus* yang menyebabkan nekrosis (kematian jaringan), fragmentasi *thallus*, dan menurunnya biomassa rumput laut [10]-[11]-[12]. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri patogen dari kelompok *Vibrio* dan *Cytophaga-Flavobacterium* [7] serta dari kelompok fungi (*Aspergillus* sp. dan *Phoma* sp.) [13].

Ketapang (*Terminalia catappa* L.) merupakan salah satu tanaman yang dapat tumbuh di tanah yang kurang nutrisi dan tersebar sangat melimpah di Desa Palasa. Selama ini masyarakat di Desa Palasa hanya mengenal tanaman ketapang sebagai tanaman peneduh dan belum banyak dimanfaatkan sehingga nilai ekonomisnya masih rendah [14]. Ekstrak daun ketapang (*T. catappa* L.) diketahui memiliki sifat antimikroba karena mengandung senyawa flavonoid, saponin, triterpen, diterpen, fenolik dan tanin [15]-[16]-[17]-[18]. Ekstrak daun ketapang menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol dapat menghambat 70% bakteri Gram positif dan 63 % bakteri Gram negatif [16]. Penggunaan daun ketapang (*T. catappa* L.) sebagai ekstrak dalam skala besar tidak akan menimbulkan persaingan dengan pemenuhan kebutuhan pangan masyarakat [14]. Teknik ekstraksi terhadap daun ketapang secara maserasi, soxhlet, dan hidrodistilasi menghasilkan antimikroba yang sangat efektif, tetapi teknik ini memerlukan pelarut yang sangat mahal. Teknik ekstraksi yang lebih ekonomis sangat diperlukan untuk mengurangi biaya produksi sehingga dapat dengan mudah diaplikasikan khususnya bagi petani pembudidaya rumput laut skala kecil [19].

Salah satu alternatif ekstraksi yang mudah dilakukan adalah hidroekstraksi menggunakan air panas dengan cara perebusan dan kukusan. Metode hidroekstraksi merupakan cara yang sangat sederhana dan ekonomis sehingga dapat diaplikasikan oleh pembudidaya rumput laut [20]. Aktivitas antibakteri daun *T. catappa* L. pada teknik ekstraksi air panas dengan temperatur 40-50°C menghasilkan hambatan pertumbuhan bakteri gram positif [18].

Oleh karena itu, pada penelitian ini dibandingkan tingkat antimikroba yang dihasilkan dari ekstrak daun ketapang dengan teknik hidroekstraksi melalui perebusan dan kukusan. Ekstrak yang dihasilkan diharapkan mampu mengontrol penyakit *ice-ice* pada budidaya rumput laut.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan tingkat antimikroba yang dihasilkan dari ekstrak daun ketapang dengan teknik perebusan dan kukusan sehingga diperoleh hasil ekstrak yang efektif dan ekonomis untuk menanggulangi penyakit *ice-ice*.

## II. METODE PENELITIAN

### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan dari Desember 2015 hingga Maret 2016. Perlakuan secara *in vitro* dan analisis data dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya, untuk pengujian secara *in vivo* dilakukan di Desa Palasa, Sumenep, Jawa Timur.

### B. Metode yang Digunakan

#### Ekstraksi Daun *T. catappa L.*

Daun *T. catappa L.* kering diperoleh dari Desa Palasa, Sumenep, Jawa Timur. Proses ekstraksi daun *T. catappa L.* dilakukan dengan metode rebus dan metode kukus. Pembuatan ekstrak dimulai dengan memilih beberapa daun ketapang yang sudah gugur dari pohonnya, daun dicuci dengan air bersih, kemudian ditiriskan pada suhu ruang sampai daun mudah dipatahkan. Setelah kering, daun dipotong-potong kecil kurang lebih 0,5 cm, daun yang telah dipotong kemudian ditimbang hingga berat 100 gram. Perlakuan pada metode rebus disiapkan air sebanyak 100 ml kemudian dipanaskan pada waterbath dengan pengaturan suhu 40°C, 50°C, dan 60°C serta ditambahkan 100 gram daun ketapang yang telah dipotong, tunggu selama 30 menit lalu disaring menggunakan plastik kasa untuk penyaringan pertama kemudian disaring kembali menggunakan kertas saring. Perlakuan dengan metode kukus, disiapkan air secukupnya pada dandang yang telah dilubangi pada bagian penutup dan dimasukkan termometer pada bagian yang dilubangi tersebut untuk pengaturan suhu, dimasukkan daun kering sebanyak 200 gram, panaskan pada kompor dengan suhu 90°C, tunggu kurang lebih 30 menit hingga didapatkan ekstrak lalu disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh kemudian dilakukan *freeze drying*.

#### Isolat Mikroba Penyebab Ice-ice

Isolat bakteri yang digunakan adalah bakteri *Vibrio alginolyticus* diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara serta Isolat kapang diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikologi Jurusan Biologi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya yaitu kapang *Aspergillus sp.*

#### Isolat Mikroba Penyebab Ice-ice

Isolat bakteri *Vibrio alginolyticus* diambil menggunakan jarum ose steril kemudian diinokulasikan ke dalam medium *Sea Water Complete* [21] lalu diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 30°C selama 24 jam [22]. Isolat kapang *Aspergillus sp.* diambil dengan jarum tanam tajam dan diinokulasikan pada *slant agar SDA (Sabouraud Dextrose Agar)* kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari [23].

#### Pembuatan Standar Mc-Farland 0,5

Larutan 0,5 Mc Farland digunakan sebagai pembanding kekeruhan biakan bakteri. Pada kekeruhan larutan 0,5 Mc Farland diperkirakan setara dengan jumlah bakteri yang digunakan sebesar  $5 \times 10^8$  CFU/ml [24]. Larutan 0,5 Mc Farland dibuat dengan mencampurkan 1% BaCl<sub>2</sub> dan 1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan perbandingan 0,5 : 9,5 [25]. Biakan bakteri dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam tabung berisi larutan NaCl 0,9% hingga mencapai kekeruhan yang sama dengan larutan 0,5 Mc Farland. Suspensi bakteri yang telah distandarkan dengan larutan 0,5 Mc Farland kemudian diencerkan 1:1000 untuk mendapatkan jumlah bakteri  $5 \times 10^5$  CFU/ml [26].

#### Uji aktivitas ekstrak *T. catappa L.* terhadap mikroba penyebab ice-ice dengan Tes Difusi Cakram (Disk Diffusion Test)

Pada metode difusi cakram dilakukan pengamatan dan pengukuran terhadap zona hambat yang terbentuk. Kertas cakram dengan diameter 5 mm direndam dalam ekstrak Ketapang dengan konsentrasi 100% selama 15 menit, sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan aquades dan kontrol positif menggunakan kloramfenikol. Uji difusi cakram menggunakan metode Kirby-Bauer yaitu *cotton bud (cotton swab)* dicelupkan dalam biakan bakteri (MC Farland) kemudian tekan kapas ke sisi tabung agar air tiris. *Cotton swab* diusapkan pada seluruh permukaan cawan Mueller-Hinton Agar secara merata. Cawan dibiarkan selama 5 menit. Kertas cakram dicelupkan dalam sampel uji lalu diangkat, biarkan sejenak agar tiris, selanjutnya diletakkan kertas cakram pada permukaan agar. Kertas cakram ditekan menggunakan pinset supaya menempel sempurna di permukaan agar. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 18, 24 dan 48 jam pada suhu kamar  $\pm 30^\circ\text{C}$ , setelah diinkubasi diukur diameter zona hambat yang terbentuk.

Aktivitas antifungi diuji dengan tes difusi cakram terhadap *Aspergillus sp.*, kertas cakram dengan diameter 5 mm direndam dalam ekstrak daun ketapang dengan konsentrasi 100% selama 15 menit, sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan aquades dan kontrol positif menggunakan

ketoconazole 10 mg/ml. Kertas cakram yang telah direndam dengan ekstrak diletakkan di atas permukaan cawan petri berisi media agar SDA kemudian disuspensikan fungi *Aspergillus* sp. secara swab. Diameter zona hambat diukur dengan penggaris (dalam mm) dan diinkubasi selama 48 jam [27].

#### *Uji aktivitas ekstrak T. catappa L. terhadap mikroba penyebab ice-ice dengan KHM (Konsentrasi Hambat Minimal)*

Tabung reaksi yang sudah steril disiapkan dan dimasukkan 4,5 ml medium TSB (*Trypticase (Tryptic) Soy Broth*) pada masing-masing tabung reaksi. Ekstrak daun dengan berbagai konsentrasi (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%) ditambahkan sebanyak 0,5 ml kedalam masing-masing tabung reaksi. Kemudian ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 0,25 ml (dari cara kerja Pembuatan Larutan 0,5 Mc Farland) dan divortex hingga homogen [26]. Inkubasi pada suhu kamar  $\pm 30^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam. Hasil ditunjukkan dengan adanya kekeruhan. Tabung yang mulai jernih menunjukkan nilai KHM [28].

Pada pengujian aktivitas antifungi dengan dilusi digunakan medium *Sabouraud Dextrose* cair kemudian dimasukkan ekstrak berbagai konsentrasi. Kemudian pada masing-masing tabung reaksi dimasukkan 0,1 ml (umur 3-5 hari) suspensi *Aspergillus* sp. dengan konsentrasi fungi  $10^6$  CFU/ml dalam media *Sabouraud Dextrose* cair [29]. Pembacaan KHM diambil pada jam ke-48 [30].

#### *Uji aktivitas ekstrak T. catappa L. terhadap mikroba penyebab ice-ice dengan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal)*

Uji KBM dilakukan dengan mengambil 0,1 ml suspensi bakteri dari kultur tabung yang mulai jernih (pada Metode penentuan KHM (Konsentrasi Hambat Minimal). Kemudian ditumbuhkan pada medium TSA dengan cara *spread plate*. Kultur diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Setelah diinkubasi, dihitung jumlah koloni yang tumbuh dengan *total plate count*.

Uji KBM pada jamur dilakukan dengan mengambil satu ose suspensi jamur dari kultur tabung yang mulai jernih pada Metode penentuan KHM (Konsentrasi Hambat Minimal). Selanjutnya, goreskan pada media padat SDA dan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. KBM ditentukan dengan mengamati ada tidaknya koloni fungsi yang tumbuh pada media padat SDA setelah diinkubasi [31].

#### *Uji Secara In Vivo*

Uji *in vivo* dilakukan di Desa Palasa, Pulau Poteran, Kabupaten Sumenep, Madura, dengan metode budidaya yang digunakan adalah Metode Rakit Apung. Kedalaman perairan pada lokasi penelitian ini adalah 150 cm. Penanaman bibit *K. alvarezii* dengan metode rakit ini menggunakan rakit apung yang terbuat dari bambu berukuran antara  $2,5 \times 2,5 \text{ m}^2$  hingga  $7 \times 7 \text{ m}^2$ , untuk penahanan supaya rakit tidak hanyut terbawa arus, digunakan jangkar sebagai penahan atau diikat

pata patok kayu yang ditancapkan di dasar laut. Konsentrasi ekstrak daun Ketapang paling efektif hasil uji *in vitro* dicampur dengan air laut dengan takaran konsentrasi paling efektif hasil uji *in vitro*. Rumput laut yang sudah terjangkit penyakit *ice-ice* kira-kira seberat 5 gram kemudian didokumentasikan bintik putih pada rumput sebagai gejala penyakit *ice-ice* kemudian diikat dengan tali raffia sebagai penanda. Rumput laut direndam dengan campuran ekstrak daun ketapang dengan air laut selama 5 menit. Setiap 5 gram rumput laut diikat pada sarana (tali) budidaya dengan jarak satu ikatan dengan lainnya adalah

25 cm, perlakuan dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Pengamatan klinis dengan mendokumentasikan *thallus* pada setiap rumput untuk dilihat perkembangan *thallus* setelah dilakukan perendaman. Pengamatan *thallus* secara klinis dilakukan setiap dua hari sekali selama tujuh hari.

#### *Isolat Mikroba Penyebab Ice-ice*

Pengamatan suhu menggunakan thermometer, diawali dengan kalibrasi thermometer, kemudian ujung thermometer dicelupkan sekitar 15 cm kedalam permukaan air laut selama 3 menit [32]. Pengukuran salinitas dilakukan dengan menggunakan hand refraktometer, dengan cara meneteskan air laut pada kaca refraktometer, kemudian dilihat skala salinitasnya dan dicatat. Pengukuran derajat keasaman (pH) dilakukan dengan menggunakan pH digital yang dicelupkan ke dalam air, ditunggu sampai nilai konstan. Kecepatan arus air laut ditentukan secara manual menggunakan gabus (styrofoam) yang dikaitkan dengan benang berukuran 1 meter, selanjutnya gabus dilepas di perairan air laut. Waktu yang ditempuh gabus untuk mencapai jarak 1 meter ditentukan menggunakan timer. Kecepatan arus kemudian dicatat dalam satuan cm/detik. Kecerahan air laut diukur menggunakan *secchi disc*. Secara perlahan-lahan, *secchi disc* dimasukkan dalam air laut hingga tidak terlihat perbedaan warna hitam dan putih pada piringan *secchi disc*. *Secchi disc* ditarik perlahan ke permukaan dan diukur serta dicatat panjang tali yang terendam dalam satuan meter sebagai nilai kecerahan.

#### *Rancangan Penelitian dan Analisa Data*

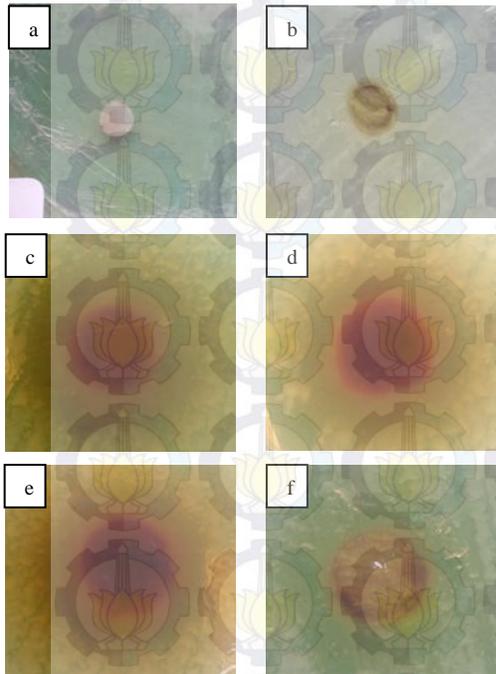
Pada penelitian ini menggunakan analisis deskriptif untuk uji aktivitas metode difusi cakram mikroba *ice-ice* serta perubahan morfologi *thallus* setelah dilakukan perendaman pada ekstrak daun ketapang.

### III. HASIL DAN DISKUSI

#### *Aktivitas Antimikroba pada Ekstrak Daun Ketapang*

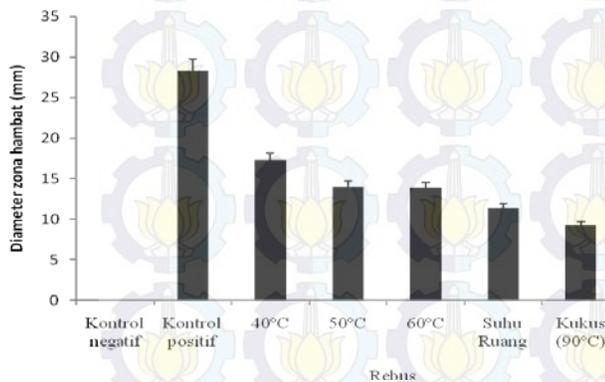
Aktivitas antimikroba *T. catappa* L. ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening yang merupakan hambatan

pertumbuhan mikroba oleh senyawa antimikroba pada beberapa macam ekstrak. (Gambar 1). Pada Gambar 1 (b) tampak bahwa kelompok kontrol negatif tidak memiliki zona hambat dibandingkan dengan kelompok uji, hal ini membuktikan bahwa keberadaan senyawa ekstrak menghambat pertumbuhan mikroba. Hasil ini sesuai dengan penelitian yaitu ekstrak daun ketapang kering dengan metode perebusan mampu memperlihatkan aktivitas antibakteri terhadap *V. alginolyticus* [33].



Gambar 1. Uji difusi cakram ekstrak daun ketapang terhadap pertumbuhan *V. alginolyticus*. (a.Kontrol positif, b.Kontrol negatif, c. Metode rebus suhu 40°C; d. Metode rebus suhu 60°C; e. Metode rebus suhu 50°C f. Metode Kukus)

Diameter zona hambat *V.alginolyticus* terhadap ekstrak daun ketapang pada teknik ekstraksi yang berbeda ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Diameter zona hambat pada variasi metode ekstrak daun ketapang terhadap *V. alginolyticus*

Pada Gambar 2. dapat dilihat bahwa semakin tinggi suhu yang digunakan untuk proses ekstraksi akan mengakibatkan semakin kecilnya diameter zona hambat. Hal ini

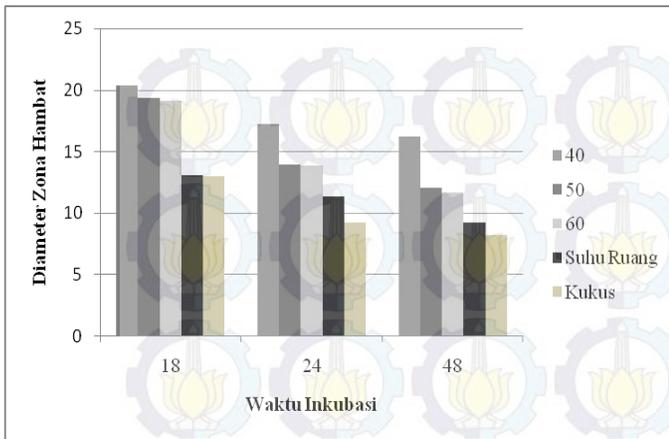
kemungkinan besar disebabkan kandungan antimikroba berupa senyawa flavonoid, saponin, tannin, dan fenolik tidak tahan terhadap perlakuan suhu tinggi [18]. Namun ketika suhu terlalu rendah senyawa yang terdapat pada daun ketapang tidak dapat keluar hal ini dapat dilihat pada Gambar 2. kecilnya zona hambat yang dihasilkan pada ekstrak daun ketapang yang direndam pada suhu ruang.

Diameter zona hambat terbesar dihasilkan oleh ekstrak daun ketapang metode rebus dengan suhu 40°C sebesar 17.27 mm dan diameter zona hambat terkecil dimiliki oleh ekstrak daun ketapang metode kukus sebesar 9.27 mm. Zona hambat tergolong kuat jika berukuran 10-20 mm dan memiliki respon hambat sedang jika berukuran 5-10 mm [34].

Kloramfenikol sebagai kontrol positif sangat berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan *V. alginolyticus* dengan diameter zona hambat sebesar 28.34 mm. Diameter zona hambat tergolong sangat kuat jika berukuran >20 mm [34]. Kontrol negatif menggunakan aquades menunjukkan tidak adanya penghambatan pertumbuhan *V. alginolyticus* yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona bening pada uji cakram.

Hidroekstraksi dengan suhu yang diatur dapat menarik senyawa-senyawa flavonoid, tannin dan saponin pada daun ketapang sehingga ekstrak memiliki potensi antimikroba terhadap bakteri Gram negatif [35]. Perbedaan respon hambat antara metode rebus dengan suhu tertentu serta metode kukus yang digunakan dapat disebabkan oleh perbedaan konsentrasi kandungan senyawa pada masing-masing daun. Semakin besar suhu yang digunakan mengakibatkan terjadinya penguraian senyawa menjadi bentuk senyawa lain yang memiliki sifat berbeda dari sebelumnya, hal ini didukung oleh penelitian telah dilakukan mengenai ekstraksi daun *T. catappa* L. salah satunya menggunakan teknik *Aquoeus extraction* [18]. Penelitian aktivitas antibakteri *T. catappa* L. pada ekstraksi menggunakan air sebagai pelarut dengan temperatur 40°-50°C yang menghasilkan aktivitas antibakteri positif yang diuji dengan difusi cakram terhadap mikroorganisme gram positif dan negatif yang efektif dalam menghambat aktivitas bakteri [18]. Senyawa yang terdapat pada *T. cattapa* L. masih dalam keadaan baik ketika berada dibawah suhu 60°C, 50°C, dan 40°C dan ketika suhu dinaikkan senyawa tidak terdeteksi [35]. Pemanasan menggunakan suhu 60°C pada daun jambu biji menyebabkan terjadinya degradasi senyawa fenol, sehingga mampu menurunkan senyawa fenol [36]. Aktivitas antibakteri dari daun ketapang diduga karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti, polifenol, flavonoid dan tanin. [37].

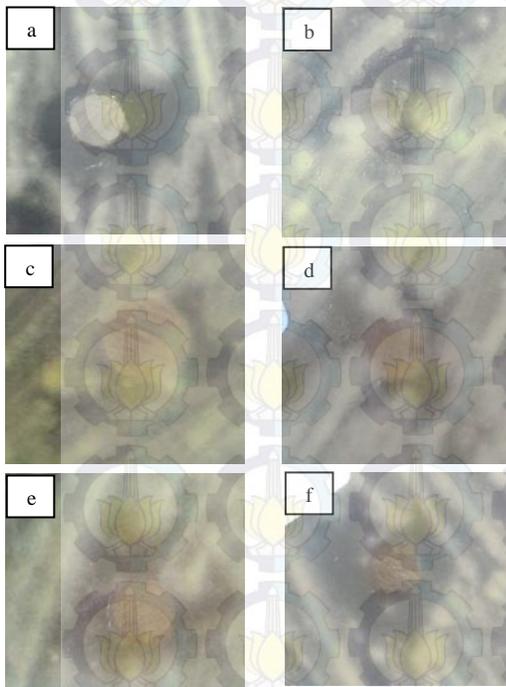
Diameter zona hambat jam ke-18, 24, dan 48 ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik hubungan antara diameter zona hambat pada jam ke-18, ke-24, dan ke-48 dengan tipe metode ekstrak.

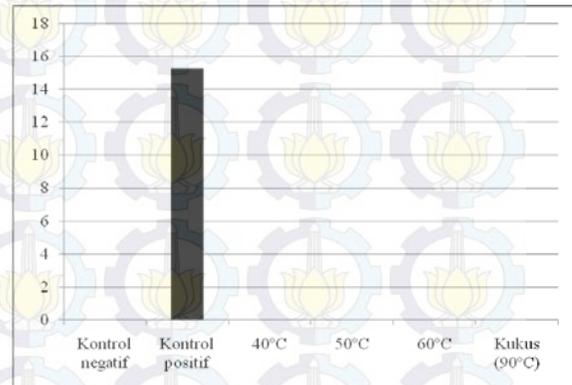
Zona hambat yang dihasilkan pada masa inkubasi 18 dan 24 jam lebih besar dibandingkan dengan masa inkubasi 48 jam. Waktu inkubasi merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi ukuran zona hambat [38]. Selama waktu inkubasi *V. alginolyticus* mengalami penghambatan pertumbuhan sel, namun tidak sampai mematikan bakteri tersebut (*bactericidal*). Hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun ketapang bersifat bakteriostatik yaitu menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* [39].

Uji difusi cakram ekstrak daun ketapang terhadap pertumbuhan *Aspergillus sp.* ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Uji difusi cakram ekstrak daun ketapang terhadap pertumbuhan *Aspergillus sp.*(a. Kontrol positif, b. Kontrol Negatif, c. Metode rebus suhu 40°C; d. Metode rebus suhu 60°C; e. Metode rebus suhu 50°C f. Metode Kukus

Aktivitas ekstrak daun ketapang terhadap mikroba penyebab penyakit *ice-ice* yaitu *Aspergillus sp.* ditunjukkan pada Gambar 5.

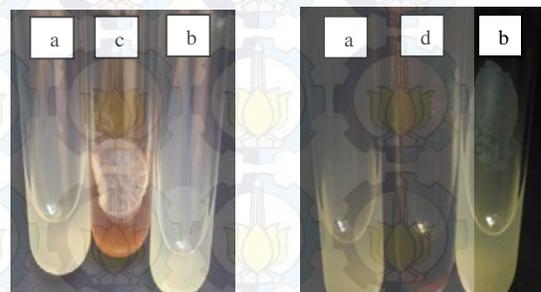


Gambar 5 Diameter zona hambat pada variasi metode ekstrak daun ketapang terhadap *Aspergillus sp.*

Pada Gambar 4.(a) ekstrak daun ketapang gugur tidak menghasilkan zona hambat sama sekali. Hal ini dimungkinkan karena daun ketapang gugur tidak mampu menghambat *Aspergillus sp.* karena rendahnya kandungan saponin. Semakin tua umur daun dan pertahanan struktural tanaman berkembang maka tanaman akan mengalami penurunan kandungan saponin[40]. Saponin berfungsi sebagai pertahanan terhadap serangan fungi [41]. Saponin sebagai antifungal membentuk kompleks dengan sterol pada sel membran fungi mengakibatkan terbentuknya pori sehingga mengurangi integritas membran sel [42] Skala pengukuran untuk kapang (termasuk diameter cakram) adalah lebih dari  $\geq 20$  mm tergolong kuat ; <20-12 mm tergolong lemah dan <12 mm tidak ada respon hambat [43]. Pada Gambar 4.4. ekstrak daun gugur dengan metode rebus dan kukus tidak memiliki zona hambat sama sekali (0 mm).

#### Aktivitas Antimikroba pada Ekstrak Daun Ketapang

Uji difusi cakram menunjukkan bahwa metode ekstrak rebus dengan suhu 40°C memiliki respon antimikroba terbesar. Oleh karena itu, penentuan konsentrasi aplikasi yang tepat perlu dilakukan pada hasil terbaik tersebut dengan metode konsentrasi hambat minimum (KHM) [44]. Hasil konsentrasi hambat minimum pada ekstrak metode rebus suhu 40°C menunjukkan kekeruhan medium pada konsentrasi 10% sampai dengan 50%, dengan demikian konsentrasi hambat minimum terjadi pada konsentrasi 60% (Gambar 6 )



Gambar 6 Kekeuhan terjadi pada medium sebagai penentu konsentrasi hambat minimum (a. Kontrol Positif, b. Kontrol Positif, c. Ekstrak Konsentrasi 10%, d. Ekstrak konsentrasi 60%)

Konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi menyebabkan tingginya kandungan zat antimikroba yang terdapat dalam larutan juga tinggi, sehingga memberikan daya kerja yang lebih efektif pada pertumbuhan mikroba, sehingga nilai KHM semakin rendah [43].

Penentuan sifat bakterostatik dan bakteriosida dalam ekstrak metode rebus 40°C konsentrasi 60% dilakukan dengan cara pengujian lanjutan berupa uji konsentrasi bunuh minimum (KBM) [28]. Hasil uji KBM menunjukkan bahwa ekstrak daun ketapang metode rebus 40°C tidak bersifat bakteriosida karena masih ditemukannya koloni pada kultur semisolid *V. agliniticus*. Aktivitas antibakteri dari daun ketapang diduga karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti, polifenol, flavonoid dan tanin. Senyawa folifenol dan flavonoid merupakan senyawa golongan dari fenol. Menurut [27] senyawa fenol memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein (enzim) pada membran sel, tanin memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan cara merusak membran sel, tannin dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel bakteri, akibatnya terjadi permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan dapat mengakibatkan kematian sel.

*Uji Klinis Hasil Ekstrak Daun Ketapang Aktivitas*

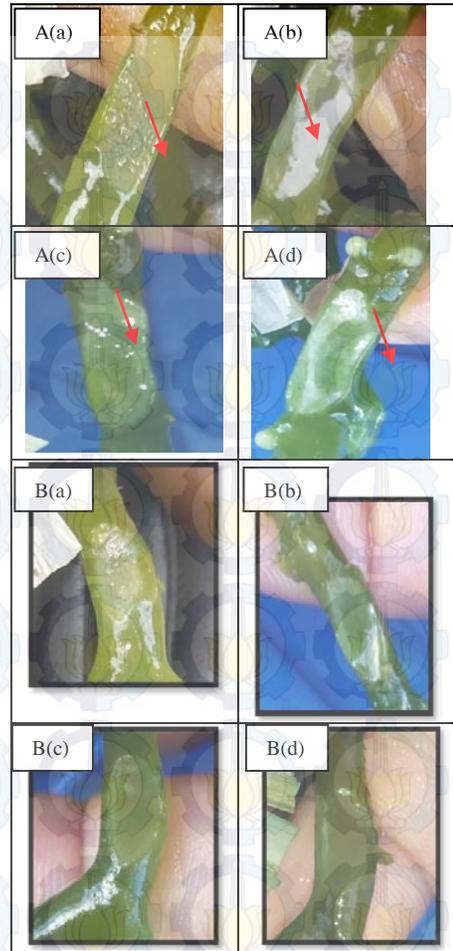
Uji klinis hasil ekstrak daun ketapang terhadap penyakit *ice-ice* dilakukan pada budidaya *K. alvarezii* yang berusia 10 hari setelah tanam (HST), karena pada usia tersebut rumput laut sangat rentan terhadap penyakit *ice-ice*. Perendaman dilakukan selama lima menit karena *thallus* rumput laut memiliki daya serap yang tinggi [45]. Pada saat uji klinis, pengamatan terhadap faktor fisika dan kimia perairan seperti suhu, salinitas, pH, kecerahan, kedalaman, dan laju arus juga dilakukan (Tabel 1).

Tabel 1. Data fisika perairan pantai desa Palasa-Pulau Poteran Tanggal 28 Februari – 7 Maret 2016

| Parameter  | Nilai          | Nilai optimum                |
|------------|----------------|------------------------------|
| Suhu       | 28-30°C        | 27°C-30°C [32]               |
| pH         | 8,5 - 9        | 8-8.9 [46]                   |
| Salinitas  | 30-31 ppt      | 28-34 ppt [47]               |
| Arus       | 0,2 - 0, 4 m/s | 0,2-0,4m/s [48]              |
| Kedalaman  | 40 cm-150 cm   | 20 cm surut, 150 pasang [49] |
| Keccerahan | 68 cm - 136 cm | 1,5 m [50]                   |

Berdasarkan Tabel 1. kondisi suhu, pH, salinitas, arus dan kedalaman perairan tergolong baik dan optimum bagi pertumbuhan rumput laut [32]-[46]-[47]-[48]-[49]-[50].

Penampakan morfologi hasil uji klinis ekstrak daun ketapang melalui perendaman *K. alvarezii* dapat diamati pada Gambar 7.



Gambar 7. (A) Uji klinis tanpa perendaman *K. alvarezii* oleh ekstrak daun ketapang pada pemulihan penyakit *ice-ice*, (B) Uji klinis dengan perendaman *K. alvarezii* oleh ekstrak daun ketapang pada pemulihan penyakit *ice-ice* (a. Tanggal 1 Maret 2016; b. Tanggal 3 Maret 2016; c. Tanggal 5 Maret 2016 ; d. Tanggal 7 Maret 2016)

Gambar 7. adalah visualisasi dari gejala klinis serangan penyakit *ice-ice*. Gambar A adalah gejala klinis tanpa penambahan ekstrak daun ketapang (kontrol) sedangkan Gambar 7. B adalah visualisasi klinis setelah ditambahkan ekstrak daun ketapang. Gambar 7. A (a-d) menunjukkan perubahan morfologi *thallus* yang menandakan berkembangnya penyakit *ice-ice* dengan ciri bercak putih yang melebar, sebaliknya pada Gambar 7. B (a-d) terjadi perubahan morfologi serangan penyakit *ice-ice* yang menurun dengan ciri luas bercak putih berkurang bahkan hilang.

Penurunan infeksi penyakit *ice-ice* setelah dilakukan perendaman terjadi pada hari ketiga (Gambar 7 B-b), hal ini dimungkinkan karena masa pemulihan *thallus* telah tercapai [51]. Selain itu, fungsi dari ekstrak daun ketapang adalah memperbaiki struktur klorofil dan sel dari *thallus* sehingga bercak putih pada rumput laut yang terjangkit penyakit *ice-ice* berangsur mengalami perubahan menjadi hijau (Gambar 7 B-c). Unsur hara yang dimiliki oleh daun ketapang seperti nitrogen dan mineral berfungsi bagi pertumbuhan dan perbaikan sel yang telah rusak [52] [53].

## IV. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak daun ketapang metode rebus lebih efektif daripada metode kukus. Aktivitas antibakteri ekstrak daun ketapang yang paling efektif terhadap *Vibrio alginolyticus* adalah ekstrak daun ketapang yang direbus dengan suhu 40°C dibuktikan dengan dihasilkannya diameter zona hambat terbesar yaitu 17.27 mm dan tergolong dalam kategori kuat. Ekstrak daun ketapang metode rebus pada suhu 40°C memiliki nilai konsentrasi hambat minimum sebesar 60% namun ekstrak daun ketapang kering tidak memiliki sifat antifungal terhadap *Aspergillus* sp. Dibuktikan dengan tidak adanya zona hambat pada uji. Ekstrak daun ketapang metode rebus suhu 40°C bersifat bakteriostatik yaitu menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*. Pada ekstrak daun ketapang metode kukus tidak menghasilkan aktivitas antibakteri dan antifungi hal ini dibuktikan dengan tidak adanya zona hambat pada masing-masing uji. Hasil uji klinis menunjukkan ekstrak daun ketapang metode rebus suhu 40°C dapat menyembuhkan penyakit *ice-ice*, ditandai luas bercak putih yang berkurang bahkan hilang pada hari ketiga setelah perendaman dengan ekstrak daun ketapang.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian dan penyusunan Tugas Akhir ini telah melibatkan bimbingan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terimakasih kepada Bapak Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo M.T. dan Bapak Isdiantoni, SP., MP. selaku pembimbing, Bapak Dr. Nurul Jadid, M.Sc. dan Ibu N. Dwianita Kuswyasari, S.Si., M.Si. selaku tim penguji. Penulis juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada ayahanda I Wayan Yasa, ibunda Ni Wayan Runing, dan adik-adik atas segala doa restu dan kasih sayangnya. Penulis juga mengucapkan terimakasih atas dukungan teman-teman angkatan 2012, kelompok petani rumput laut Desa Palasa, Pulau Poteran Kabupaten Sumenep serta kelompok peneliti *Biomaterial and Enzyme Technology*, dukungan, dan doa dalam penyelesaian penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] S.Hotchkiss, "Seaweed Rediscovered. Healthy Hydrocolloids and beyond. Nutritional Seaweed". Cybercolloid LTD. Carrigaline (2007).
- [2] G. Gerung, "Seaweeds Resources of Indonesia", Artikel ilmiah, Manado: Sam Ratulangi University, Faculty of Fisheries and Marine Science (2002).
- [3] Hernani dan M.Raharjo, "Tanaman Berkhasiat Antioksidan" Jakarta : Penebar Swadaya (2006).
- [4] M. Jimenez - Escrig, M. Rincon, R. Pulido, "Saura-Calixto F. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11): 5489-5493(2001).
- [5] Sulistijo, dan W.S. Atmadja, "Perkembangan Budidaya Rumput Laut di 89 Omni-Akuatika" Vol. XI No.15: 78-90 I. Jakarta: Puslitbang Oseanografi LIPI (1996).
- [6] [DKP] Dinas Kelautan dan Perikanan, "Statistik Perikanan Budidaya Indonesia", Jakarta: Direktorat Jendral Perikanan Budidaya (2007).
- [7] D. B. Largo<sup>b</sup>, K. Fukami, and T. Nishijima, "Occasional pathogenic bacteria promoting *ice-ice* disease in the carrageenan-producing red algae *Kappaphycus alvarezii* and *Euचेuma denticulatum* (Soliereaceae, Gigartinales, Rhodophyta)", *Journal of Applied Phycology*, Vol. 7 (1995) 545-554.
- [8] I.G.A.A. Widiastuti, "Petani Rumput Laut Bertahan di Tengah Perubahan Iklim", Salam Bali (2009).
- [9] FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. "Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants" *Sixty-Eight Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. Switzerland: World Health Organization (2007).
- [10] F. R. Uyenco, L. S. Saniel, E. D. Gomez, "Microbiology of diseased *Euचेuma striatum* Schmitz". *J. Phycol.* 13:70 (Abstract only)(1977).
- [11] G.C.Jr. Trono, "Euचेuma Farming in The Philippines", University of The Philippines and Natural Science Research Center. Quezon City. Philippines (1974).
- [12] Fresco, M. C. O. "Ice-ice" algae pose threat on Zamboanga's seaweeds", *Bureau of Agricultural Research* (2012).
- [13] M. J. L. Solis, S. Draegerdan, and T. Edison, "Marine-Derived Fungi From *Kappaphycus alvarezii* and *K. Striatum* Potential Causative Agents of *Ice-Ice* Disease in Farmed Seaweeds", *Botanica Marina* Vol. 53 No. 6 (2011).
- [14] T.Handoko dan G. Imam, "Pengolahan Buah Tancang sebagai Sumber Bioetanol dan Karbon Aktif" *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan, Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia* ISSN 1693(2011).
- [15] Pauly, G., 2001, "Cosmetic, Dermatological and Pharmaceutical Use of an Extract of *Terminalia catappa*", United States Patent Application no. 20010002265: 12 (2001).
- [16] L. Siti dan E. N. Prasetyo, "Potensi Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebagai Antimikroba Penyakit *Ice-ice* pada *Euचेuma cottonii*", skripsi, Surabaya: S1 Jurusan Biologi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (2015).
- [17] R.S.Hardhiko, A.G. Suganda, dan E.Y. Sukandar, "Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol, Ekstrak Air Daun yang Dipetik dan Daun Gugur Pohon Ketapang (*Terminalia cattapa* L.)", *Acta Pharmaceutica Indonesia*. XXIX :129-133 (2004).
- [18] P. Neelavathi, P. Venkatalakshmi and P. Brindha, "Antibacterial activities of aqueous and ethanolic extracts of *Terminalia catappa* leaves and bark against some pathogenic Bacteria", *International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, Vol. 5, No. 1 (2013).
- [19] A.M. Dandu, dan N.M. Inamdar, "Evaluation of Beneficial Effects of Antioxidant Properties of Aqueous Leaf Extract of *Andrographis paniculata* in STZ induced diabetes". *J.Pharm Sci.* 22(1):49-52 (2009).
- [20] S.M. Ahmed, V. Swamy, P.G.R. Dhanapal, dan V.M. Chandrashekhara, "Anti Diabetic Activity of *Terminalia catappa* Linn Leaf Extracts in Alloxan Induced Diabetic Rats", *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics* 4 (1): 36 (2005).
- [21] Ilmiah Kefarmasian, *Applications, Macmillan Publ. Co.*, New York. p. 267 Vol. 1, No. 2, (2011) : 51 -62
- [22] N.D. Rinawati, "Uji Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete* L.) terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*", Skripsi, Surabaya: S1 Jurusan Biologi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (2011).
- [23] R.C. Dewi, "Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Buah Pare Belut (*Trichosanthes anguina* L.)", Skripsi, Program Pendidikan S1 Jurusan Kimia, Surakarta: Universitas Sebelas Maret (2009).
- [24] R. Schwalbe, S.M. Lynn, dan C.G., Avery, *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*. New York: CRC Press (2007).
- [25] J. G. Cappucino, and N. Sherman, *Microbiology A Laboratory Manual*. Benjamin Cummings Publishing: USA (2001).
- [26] R.P.Murray, *Manual of Clinical Microbiology 9th Edition*. ASM Press: USA (2007).
- [27] S.S.Handa, S.P Singh, L. Gennaro, D.D Rakesh. "The Determination of Antibacterial and Antifungal Activities of Polygonum Hydropiper L. Root Extract", *Biological Research* 3 (1-2): 53-56 (2008).
- [28] R. F. Boyd, *Basic Medical Microbiology Fifth Edition*. Boston: Little, Brown and Company Inc. (1995).
- [29] O.O Olajuyigbe and A. J. Afolayan, "Antimicrobial potency of the ethanolic crude bark extract of *Ziziphus mucronata* Willd. subsp. *mucronata* Willd", *African Journal Of Pharmacology*, Vol. 6, No. 10 (2012) 724-730.
- [30] K. L. Therese dan R. Bagyalakshmi, H. N. Madhavan, and P. Deepa, "In-vitro susceptibility testing by agar dilution method to determine the minimum inhibitory concentration of amphotericin b, flucanazole and ketoconazole against ocular fungal isolates", *Indian Journal of Medical Microbiology*, Vol. 24. No. 4 (2006) 273-9..

- [31] M.A. Atlas, A.E. Brown, K.W. Dobra, L. Miller, 1984, "Experimental Microbiology", *Fundamentals and 60 Jurnal Ilmiah Kefarmasian, Applications*, New York Macmillan Publ. Vol. 1, No. 2, (2011) : 51 - 62, Co. p. 267
- [32] D. Setiyanto, I. Efendi, dan K.J. Antara, "Pertumbuhan *Kappaphycus alvarezii* var Maumare, var Sacoldan *Eucheuma cottonii* di Perairan Musi Buleleng", *Jurnal Ilmu Kelautan*, 13 (3):171-176(2008)
- [33] M. Nadirah, T. L. Wee dan Najiah, "Differential responses of *Vibrio* sp. to young and mature leaves extracts of *Terminalia catappa* L.", *International Food Research Journal* Vol. 20, No.2 (2013) 961-966.
- [34] Davis & Stout, "Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay", *Journal Of Microbiology*, Vol 22 No 4 (1971).
- [35] Ting-Fu KO, Yih-Ming Weng, Shwu-Bin Lin, A Rnd Obin Y.-Y. Chiou, "Antimutagenicity of Supercritical CO<sub>2</sub> Extracts of *Terminalia catappa* L. Leaves and Cytotoxicity of the Extracts to Human Hepatoma Cells" *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. J. Agric, Taipei, Taiwan: National Taiwan University Food Chem. 51, 3564-3567 (2003).
- [36] P. Ketut, M. Rivai, Sampurno, "Paramaeter Standar Mutu Ekstrak Tumbuhan Obat", Jakarta : Departemen Kesehatan (2000).
- [37] P. Tiwari, "Phytochemical Screening and Extraction", *A Review, Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1 (1), 98-106(2011).
- [38] P. M. Davidson, J. N. Sofos and A. L. Branen, *Antimicrobilas in Food, Third Edition*. US: CRC Press (2005).
- [39] L. Garba, S. Isa and G. L. Hafsat, "Bacteriostatic effect of *Terminalia catappa* leaves extract on clinical isolates of Gram negative bacteria", *Asian Journal of Applied Sciences*, Vol 1, No. 4 (2013).
- [40] CIBA Foundation, *Bioactive Compounds from Plants*. Inggris: John Wiley and Sons Ltd. (1990).
- [41] D. Hoffman, *Medical Herbalism: The Science and Practice of Herbal Medicine*. Vermont: Healing Arts Press (2003).
- [42] F. M. Turk, "Saponin versus plant fungal pathogen", *Journal of Cell and Molecular Biology*, Vol. 5 (2006) 13-17.
- [43] A. M. Vilas, *Science and Technology Against Microbial Pathogens: Research, Development*. Singapore: World Scientific Publishing Co.Pte.Ltd. (2011).
- [44] M. T. Madigan, J. M. Martinko and P. V. Dunlap, *Brock Biology of Microorganisms 13<sup>th</sup> Edition*. San Fransisco: Pearson Education Inc. (2012).
- [45] B. Yulianto, R. Ario, A. Triono, "Daya Serap Rumput Laut (*Gracilaria sp*) Terhadap Logam Berat Tembaga (Cu) Sebagai Biofilter" *Ilmu Kelautan FPIK*. ISSN 0853 - 7291 Semarang: Universitas Diponegoro (2006).
- [46] L. M. Aslan, "Budidaya Rumput Laut". Yogyakarta: Kanisius (2005).
- [47] A. Parenrengi, E. Suryati, & R. Syah, "Penyediaan Benih dalam Menunjang Kebun Bibit dan Budidaya Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*". *Makalah Simposium Nasional Riset Kelautan dan Perikanan*. Jakarta : Departemen Kelautan dan Perikanan. 12 hal (2007).
- [48] H. Indriani, dan E. Sumiarsih, *Budidaya, Pengolahan dan Pemasaran Rumput Laut*. Jakarta: Penebar Swadaya (1991).
- [49] Ditjenkan Budidaya, "Profil Rumput Laut Indonesia". Jakarta: Direktorat Perikanan Budidaya, Departemen Kelautan dan Perikanan (2005).
- [50] N. Soenardjo, "Membudidayakan Rumput Laut", Semarang : Balai Pustaka (2003).
- [51] H. Mubarak, S. Ilyas, W. Ismail, I. Wahyuni, S. Hartati, E. Pratiwi, Z. Jangkaru dan R. Arifudin, "Petunjuk Teknis Budidaya Rumput Laut", PHP/KAN/PT/13/1990, Jakarta (2009).
- [52] M. M. Sutedjo, "Pupuk dan Cara Pemupukan", Jakarta: Rineta Cipta (2008).
- [53] W. L. Nelson, "Interactions of Potassium With Moisture and Temperature", *Potash Review*. Switzerland: Berne (1982).