

Uji efektivitas senyawa antibakteri penyebab *ice-ice* dari daun ketapang *Terminalia catappa* L dengan metode ekstraksi berbeda

(Effectiveness testing of antibacterial compounds causing *ice-ice* from ketapang leaves *Terminalia catappa* L. with different extraction methods)

Chintya R. Sinaga¹, Reni L. Kreckhoff², Indra R. N. Salindeho², Edwin L. A. Ngangi², Joppy D. Mudeng², Rizald M. Rompas³

¹ Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan FPIK Unsrat Manado

² Staf Pengajar Program Studi Budidaya Perairan FPIK Unsrat Manado

³ Staf Pengajar Program Studi Ilmu Kelautan, FPIK Unsrat Manado

Penulis Korespondensi : Chintya R. Sinaga, chintyasina8@gmail.com

Abstract

This study aimed to find out the right extraction method to produce ketapang leaf extract with best phytochemical content and best inhibition ability against *ice-ice* causing bacteria. The experiment was conducted at the Laboratory of Fish Health, Environmental and Toxicology, from April to June, 2021. The experiment was designed according to a Completely Randomized Design (CRD) with 5 treatments and 3 replications. The three main treatments were, treatment A: extraction of ketapang leaves *Terminalia catappa* L. with 95% ethanol (extract A), treatment B: extraction of ketapang leaves *T. catappa* L. with 40°C water (extract B), and treatment C, extraction of ketapang leaves *T. catappa* L. with distilled water (extract C). In the inhibition ability test, each extract obtained from the three main treatments was compared with two controls namely treatment D: positive control (Kanamicyn) and treatment E: negative control (aquadest). The phytochemical content data was analyzed descriptively, while the bacterial inhibition zone diameter data was statistically analyzed with Anova and LSD. The phytochemical analysis result showed that, the extract A contains alkaloids, flavonoids, triterpenoids and tannins, while extract B and extract C contain alkaloid, saponin and tannin. The inhibition ability test showed that extract A gave the strongest inhibition (14.87 mm) against the *ice-ice* causing bacteria, and was significantly different from that of extract B (5.23 mm) and C (2.47 mm). The inhibition ability of extract B was significantly different from that of extract C. The inhibition ability of the three ketapang leaf extracts (A, B and C) against the *ice-ice* causing bacteria was much weaker and significantly different from that of Kanamicyn (positive control).

Keywords : antibacterial, *ice-ice*, *Terminalia catappa* L., extraction

PENDAHULUAN

Rumput laut merupakan salah satu komoditas penting hasil perikanan yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Usaha budidaya rumput laut mempunyai prospek yang sangat besar untuk dikembangkan, tetapi sampai saat ini fokus pengembangannya hanya terbatas pada jenis *Kappaphycus alvarezii* (Patang dan Yunarti, 2013). Pemanfaatan rumput laut jenis ini sangat bervariasi pada berbagai industri, diantaranya yang sangat populer adalah sebagai bahan makanan, agen antiradikal bebas, kosmetik, farmasi dan pupuk organik (Hotchkiss, 2007; Parenrengi *dkk.*, 2010; Aslan, 2011). Akan tetapi produksi rumput laut *K. alvarezii* dari sub-sektor akuakultur masih terhalang oleh kendala adanya serangan penyakit *ice-ice* selama periode kultur. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri pathogen dari kelompok *Vibrio* dan *Cytophaga-Flavobacterium* serta dari kelompok fungi (*Aspergillus* sp. dan *Phoma* sp.) (Largo *et al.*, 1995; Solis *et al.*, 2010). Penelitian tentang penyakit *ice-ice* beserta pencegahannya pada rumput laut cukup banyak dilakukan (Arisandi *dkk.*, 2013; Datangmanis *dkk.*, 2020; Trono, 1974), diantaranya adalah penelitian dari Rahayu (2016) dan Kurniawan *dkk.* (2019) yang mencoba penggunaan ekstrak daun ketapang untuk mencegah dan mengobati penyakit *ice-ice* pada *K. alvarezii*.

Ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) diketahui memiliki sifat antimikroba karena mengandung senyawa flavonoid, saponin, triterpenoid, diterpen, fenolik dan tanin (Pauly, 2001; Triana dan Nurhidayat, 2016). Pemanfaatan ekstrak daun ketapang sebagai material antibakteri telah dilaporkan oleh beberapa peneliti (Sukmawan *dkk.*, 2004; Rahayu, 2016;

Herli dan Wardaniati, 2019; Kurniawan *dkk.*, 2019). Ekstrak ini dapat diperoleh dengan beberapa metode ekstraksi yakni, maserasi etanol, maserasi air, perebusan dan pengkukusan. Akan tetapi, ekstrak daun ketapang yang dimaserasi dengan metode berbeda, dapat memiliki efektifitas yang berbeda sebagai agen antibakteri. Mukhriani (2014) menyatakan bahwa, dalam proses maserasi ada kemungkinan beberapa senyawa akan hilang pada ekstrak yang dihasilkan. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar.

Uraian di atas mengindikasikan bahwa, keefektifan ekstrak daun ketapang untuk mengontrol bakteri sangat ditentukan oleh kandungan fitokimia pada ekstrak tersebut. Sementara kandungan fitokimia dari ekstrak, dapat dipengaruhi oleh metode maserasi dalam proses ekstraksi. Sejauh ini, belum ada informasi yang membandingkan kandungan fitokimia serta efektifitas antibakteri dari ekstrak daun ketapang yang diekstraksi dengan metode maserasi yang berbeda. Oleh karena itu pada penelitian ini dikaji pengaruh metode ekstraksi yang berbeda terhadap kandungan fitokimia dan kemampuan hambat ekstrak daun ketapang *Terminalia catappa* L., pada bakteri yang menyebabkan penyebab penyakit *ice-ice* pada rumput laut *K. alvarezii*.

METODE PENELITIAN

Percobaan dirancang menurut Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan, sehingga total keseluruhan terdapat 15 satuan percobaan. Faktor yang diuji adalah metode ekstraksi berbeda untuk mendapatkan ekstrak daun ketapang, dimana dicoba 3 level metode ekstraksi, yakni perlakuan A : ekstraksi daun ketapang dengan etanol 95% (ekstrak

A), perlakuan B : ekstraksi daun ketapang dengan air suhu 40 °C (ekstrak B), dan perlakuan C : ekstraksi daun ketapang dengan air (ekstrak C). Ketiga ekstrak daun ketapang tersebut kemudian dibandingkan dengan perlakuan D : kontrol (+) (Kanamycin) dan perlakuan E : kontrol (-) (aquades).

Bahan uji yang digunakan yaitu sampel rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice* sebanyak 100 gram dan daun ketapang sebanyak 500 gram. Daun yang digunakan adalah daun yang masih segar dan berwarna coklat kemerahan dan dibuat menjadi tepung. Sampel untuk isolasi bakteri yang berasal dari *thallus* rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang terserang penyakit *ice-ice* diambil dan diinkubasi pada media agar TSA (*Tryptone Soy Agar*).

Ekstraksi daun ketapang dengan etanol.

Tepung daun ketapang ditimbang dan diekstrak dengan perbandingan 1:10. Serbuk daun ketapang ditimbang sebanyak 10 gram kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 95% sebanyak 100 mL di dalam gelas piala selama 3×24 jam dalam suhu ruang sambil sesekali diaduk. Ekstrak disaring dengan kertas saring Whatman no 42. Kemudian dilakukan proses pemekatan (evaporasi).

Ekstraksi daun ketapang dengan perebusan (air temperatur 40 °C)

Tepung daun ketapang ditimbang dan diekstrak dengan perbandingan 1:10. Air dalam gelas piala dipanaskan di atas lampu buncen sampai suhu air 40 °C, lalu dimasukkan serbuk daun ketapang, kemudian ditutup selama 30 menit sesekali diaduk. Ekstrak disaring menggunakan kertas saring Whatman no 42. Kemudian dilakukan proses pemekatan (evaporasi).

Ekstraksi daun ketapang dengan perendaman air (akuades)

Tepung daun ketapang diekstrak dengan perbandingan 1:10. Direndam selama 3×24 jam sesekali diaduk. Ekstrak disaring menggunakan kertas saring whatman no 42. Kemudian dilakukan proses pemekatan (evaporasi).

Uji alkaloid

Ekstrak daun ketapang sebanyak 1 ml, kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi dragendrof. Tunggu selama 30 menit, hasil positif alkaloid apabila terbentuk warna merah jingga.

Uji flavonoid

Ekstrak daun ketapang diambil 1 ml, kemudian ditambahkan 2 mg bubuk magnesium dan 2 tetes HCL pekat. Hasil positif jika terbentuk larutan berwarna merah atau jingga.

Uji steroid dan triterpenoid

Ekstrak daun ketapang diambil 1 ml, kemudian ditambahkan 2 tetes CHCL₃ dan 3 tetes pereaksi Lieberman Burchard. Hasil positif steroid bila larutan menjadi merah berubah menjadi biru atau hijau dan triterpenoid bila larutan menjadi merah atau ungu.

Saponin

Ekstrak daun ketapang diambil, kemudian ditambahkan air panas, didinginkan dan dikocok selama 10 detik timbul busa stabil selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 1 tetes asalam klorida 2N, bila buih tidak hilang menunjukkan adanya saponin (Ditjen POM, 1979).

Uji tanin

Ekstrak diambil 1 ml, kemudian ditambahkan FeCl₃ 1% sebanyak 1-3 tetes. Hasil positif tanin jika terjadi warna biru atau hijau kehitaman.

Pengamatan zona hambat dengan menggunakan metode *disk diffusion agar Kirby-Bauer* dengan kertas cakram yang berdiameter 6 mm. Kertas cakram direndam dalam ekstrak daun ketapang selama beberapa saat, dan kemudian diletakkan pada permukaan media agar yang sudah diinokulasi dengan bakteri. Kertas cakram ditekan menggunakan pinset supaya menempel sempurna di permukaan agar. Media yang sudah berisi cakram uji kemudian ditutup rapat menggunakan selotip dan diletakkan dalam incubator dengan suhu 28 °C selama 24 dan 48 jam. Zona bening yang berada disekitaran kertas cakram diukur menggunakan penggaris. Data kandungan fitokimia dianalisis deskriptif. Data diameter zona hambat dianalisis dengan ANOVA untuk RAL dan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) menggunakan program statistik JMP (SAS-institute).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Ketapang

Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak daun ketapang yang diekstraksi dengan 3 metode berbeda, dapat dilihat pada Tabel 1. Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa ekstrak A, hasil ekstraksi daun ketapang dengan etanol 95%, mengandung senyawa metabolit alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan tanin. Ekstrak B, hasil ekstraksi daun ketapang dengan air 40 °C dan ekstrak C, hasil ekstraksi daun ketapang dengan akuades, memiliki kandungan senyawa metabolit yang sama yakni alkaloid, saponin dan

tanin. Data pada Tabel 1 hanya memberikan hasil identifikasi “ada atau tidak ada” suatu senyawa dan tidak mengukur jumlah atau konsentrasi dari tiap senyawa tersebut dalam tiap ekstrak.

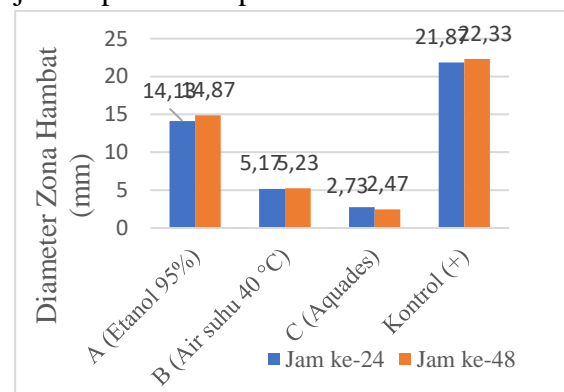
Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak daun Ketapang

Uji fitokimia	Ekstrak A (ekstraksi dengan etanol 95%)	Ekstrak B (ekstraksi dengan air 40 °C)	Ekstrak C (ekstraksi dengan akuades)
Alkaloid	+	+	+
Flavonoid	+	-	-
Steroid	-	-	-
Triterpenoid	+	-	-
Saponin	-	+	+
tanin	+	+	+

Keterangan: (+) menandakan ditemukannya senyawa; (-) menandakan tidak ditemukannya senyawa

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak daun ketapang terhadap bakteri penyebab *ice-ice* setelah 24 dan 48 jam dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diameter zona hambat ekstrak daun ketapang terhadap bakteri penyebab *ice-ice* pada jam ke-24 dan 48

Histogram pada Gambar 1 menunjukkan bahwa, secara rata-rata Kanamicin memiliki zona hambat paling tinggi (22,33 mm), diikuti oleh ekstrak A (14,87 mm), kemudian ekstrak B (5,23 mm)

dan yang paling kecil zona hambatnya adalah ekstrak C (2,47 mm). Histogram gambar 1 juga menunjukkan bahwa nilai zona hambat pada masa inkubasi 24 jam hampir sama dengan masa inkubasi 48 jam.

Tabel 2. Klasifikasi Respon Hambatan menurut Pradana *dkk.* (2014)

Diameter Zona Hambat (mm)	Klasifikasi	Zona hambat ekstrak
≤ 5	Lemah	Ekstrak C (2,47 mm)
5 – 10	Sedang	Ekstrak B (5,23 mm)
10-20	Kuat	Ekstrak A (14,87 mm)
≥ 20	Sangat kuat	Kanamycin (22,33 mm)

Nilai zona hambat jika dikonversikan menjadi kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri seperti yang ada pada tabel 2, maka ekstrak A (14,87 mm) masuk dalam kategori ‘kuat’ untuk menghambat bakteri, sementara ekstrak B (5,23 mm) dikategorikan ‘sedang’ dan ekstrak C (2,47 mm) dikategorikan ‘lemah’. Kanamicin sebagai kontrol(+) dengan zona hambat 22,33 mm, termasuk dalam klasifikasi ‘sangat kuat’. Sihe dan Fallo (2016) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun ketapang dengan konsentrasi 70% memiliki daya hambat terhadap bakteri penyebab *ice-ice* sebesar 16,33 mm, dan termasuk dalam klasifikasi kuat. Hal ini tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian ini yang mendapatkan ekstrak etanol 95% daun ketapang memiliki daya hambat sebesar 14,87 mm, dan termasuk klasifikasi kuat.

Hasil analisis ragam untuk data zona hambat menunjukkan bahwa nilai ‘Prob>F’ < 0001, yang artinya adalah perbedaan daya hambat terhadap bakteri penyebab *ice-ice* sangat nyata dipengaruhi oleh perbedaan senyawa anti bakteri. Hasil uji lanjut BNT menunjukkan bahwa daya

hambat ekstrak A (14,87 mm) lebih besar dan berbeda nyata dibanding daya hambat ekstrak B (5,23 mm) dan ekstrak C (2,47 mm), sementara daya hambat ekstrak B lebih besar dan berbeda nyata dibanding daya hambat ekstrak C. Meskipun demikian daya hambat ketiga ekstrak daun ketapang masih lebih rendah dan berbeda nyata dibanding daya hambat Kanamicin (22,33 mm). Kanamicin jauh lebih kuat dalam menghambat bakteri penyebab *ice-ice*, diasumsikan karena kanamicin merupakan zat aktif antibakteri yang relatif murni, sedangkan ekstrak etanol daun ketapang masih berupa ekstrak alami dan bukan senyawa murni. Namun demikian Kanamicin merupakan antibiotik yang tidak disarankan penggunaannya untuk budidaya.

Besarnya daya hambat dari suatu ekstrak dapat disebabkan oleh ragam jenis kandungan senyawa metabolit dalam ekstrak tersebut. Ekstrak A dikategorikan lebih kuat menghambat bakteri penyebab *ice-ice* dibanding ekstrak B dan C, diduga karena kandungan flavonoid dan triterpenoid yang dimiliki oleh ekstrak A dan tidak dimiliki oleh ekstrak B dan C. Menurut Yudani (2012), senyawa flavonoid akan merusak dinding sel yang terdiri dari lipid sehingga menyebabkan zona hambatnya lebih besar. Ekstrak etanol 95% memiliki total flavonoid tertinggi dibandingkan ekstrak air, dikarenakan senyawa flavonoid akan larut lebih banyak dalam etanol 95% (Syahfitri *dkk.*, 2014). Mekanisme kerja triterpenoid dengan cara bereaksi dengan porin pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri (Wulansari *dkk.*, 2020).

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa, saponin tidak terlalu

berpengaruh sebagai senyawa penghambat bakteri penyebab *ice-ice*. Meskipun ekstrak A tidak memiliki saponin seperti yang ada pada ekstrak B dan C, namun ekstrak A berfungsi jauh lebih baik sebagai antibakteri. Sementara ekstrak B dan ekstrak C yang memiliki komponen fitokimia yang persis sama, namun ekstrak B yang berfungsi lebih kuat menghambat bakteri penyebab *ice-ice* dibanding ekstrak C. Diduga konsentrasi kandungan komponen fitokimia yang berbeda pada ekstrak B dan C yang menyebabkan perbedaan tersebut. Kemungkinan jumlah alkaloid atau tanin pada ekstrak B lebih banyak dari ekstrak C. Akan tetapi pada penelitian ini besarnya kandungan setiap komponen fitokimia tidak dihitung.

KESIMPULAN

1. Daun ketapang yang diekstraksi dengan etanol 95% (ekstrak A) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan tanin, sedangkan daun ketapang yang diekstraksi dengan air suhu 40 °C (ekstrak B) dan akuades (ekstrak C) mengandung senyawa alkaloid, saponin dan tanin.
2. Daya hambat ekstrak A (14,87 mm) terhadap bakteri penyebab *ice-ice*, lebih besar dan berbeda nyata dibanding daya hambat ekstrak B (5,23 mm) dan ekstrak C (2,47 mm), sementara daya hambat ekstrak B lebih besar dan berbeda nyata dibanding ekstrak C. Akan tetapi daya hambat ketiga ekstrak daun ketapang masih jauh lebih kecil dan berbeda nyata dibanding kanamicin (kontrol +).
3. Daun ketapang yang diekstraksi dengan etanol 95%, ekstrak A, merupakan ekstrak terbaik dibanding ekstrak B dan C, ditinjau dari kandungan fitokimianya

serta daya hambat terhadap bakteri penyebab *ice-ice*

DAFTAR PUSTAKA

- Arisandi A, Fahrid A, Wahyuni AE, Rokhmaniati S. 2013. dampak infeksi *ice-ice* dan epifit terhadap pertumbuhan *Eucheuma cottoni*. Jurnal Ilmu Kelautan 18(1): 1-6.
- Aslan, La Ode M. 2011. Budidaya rumput laut. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Datangmanis RAA, Kreckhoff LR, Londong JNS. 2020. Uji pengguna pelepah pisang dan spon pada pengemasan bibit rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dalam mencegah *ice-ice*. Jurnal Budidaya Perairan 8 (2): 57-64.
- Ditjen POM. 1979. Farmakope Indonesia. Edisi Ketiga. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Herli MA, Isna Wardaniati. 2019. Skrining fitokimia ekstrak etanol dan fraksi daun ketapang yang tumbuh di Sekitar Univ. Abdurrab, Pekanbaru. Journal Of Pharmacy & Science 2(2): 1-8.
- Hotchkiss S. 2007. seaweed rediscovered. healthy hydrocolloids and beyond. nutritional seaweed. Cybercolloid LTD. Carrigaline.
- Kurniawan MP, Kreckhoff LR, Ngangi ALE, Wagey TB. 2020. Pertumbuhan rumput laut *Kappaphycus alvarezii* (Doty) yang direndam dalam ekstrak daun ketapang *Terminalia catappa* L. dengan frekuensi berbeda. Jurnal Budidaya Perairan 8(1): 2-13.
- Largo DB, Fukami K, Nishijima T, Ohno M. 1995. Laboratory-induced development of the *ice-ice* disease of the farmed red algae *Kappaphycus alvarezii* and *Euchema denticulatum*

- (Solieriaceae, Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 7(3): 539-543.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal kesehatan* 5(2): 361-367.
- Parenrengi A, Rachmansyah, Suryati E. 2010. Budidaya rumput laut penghasil karaginan (*KaraginoFit*). Balai Penelitian dan Pengembangan Kelautan dan Perikanan. Jakarta. ISBN; 978-979-3692-21-0.
- Patang, Yunarti. 2013. Pengaruh berbagai metode budidaya dalam meningkatkan produksi rumput laut *Kappahycus alvarezii* (Kasus di Kecamatan Mandalle Kabupaten Pangkep). *Jurnal Galung Tropika* 2(2): 60-63.
- Pauly G. 2001. Cosmetic, Dermatological and pharmaceutical use of an extract of *Terminalia catappa*. United States Patent Application. 200110002265: 1-2.
- Pradana D, Suryanto D, Djayus Y. 2014. Uji daya hambat ekstrak kulit batang *Rhizophora mucronata* terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae* dan Jamur *Saprolegnia* sp. secara in vitro. *Jurnal Aquacoastmarine* 2(1): 78-92.
- Rahayu SN. 2016. Hidroekstraksi daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebagai pengendali penyakit *ice-ice* pada budidaya *Kappahycus alvarezii*. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya.
- Sihe Y, Fallo G. 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Pendidikan Biologi* 1(1): 54-58.
- Solis MJL, Draegerdan S, Edison T. 2010. Marine-Derived fungi from *Kappaphycus alvarezii* and *K. Striatumas* potential causative agent of *ice-ice* disease in farmed seaweeds. *Botanica Mariana* 53(6): 587-594.
- Sukmawan R, Gana A, Elin Y. 2004. Uji potensi antimikroba ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* L.). Skripsi Departemen Farmasi Institut Teknologi Bandung. Bandung
- Syahfitri EN, Bintang M, Falah S. 2014. Kandungan fitokimia, total fenol, dan total flavonoid ekstrak buah harendong (*Melastoma affine* Don). *Current Biochemistry* 1(3): 105-115.
- Triana E, Nurhidayat N. 2016. uji air daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebagai pembersih alami dengan metode clean in place (CIP). Pusat Penelitian, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Universitas Malang.
- Trono GCJr. 1974. Eucema farming in The Philippines. University The Philippines and Natural Science Research Center. Quezon City. Philippines.
- Wulansari DE, Lestari D, Khoirunisa AM. 2020. Kandungan terpenoid dalam daun ara (*Ficus carica* L.) sebagai agen antibakteri terhadap bakteri *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus*. *PHARMACON*. 9(2): 219-225.
- Yudani T. 2012. Uji Efek antimikroba ekstrak etanol biji pare (*Momor charantia*) terhadap pertumbuhan bakteri *shigella dysenteriae* secara In Vitro. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya