

Pemanfaatan Antibakterial Herbal Kombinasi Terung Asam dengan Lempuyang dan Terung Asam dengan Temu Kunci Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*

(UTILIZATION OF HERBAL ANTIBACTERIAL COMBINATIONS
OF HAIRY EGGPLANT WITH BITTER GINGER AND HAIRY
EGGPLANT WITH FINGERROOT AGAINST VIBRIO HARVEYI)

Hardanu Idham Darsandi¹, Esti Handayani hardi², Gina Saptiani^{2*}

¹Jurusan Budidaya Perairan

²Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Akuakultur
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Mulawarman,
Jl. Gunung Tabur. Kelua, Kec. Samarinda Ulu,
Kota Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia 75242

*Email: ginaoesman@gmail.com

Abstract

This research was purposed to test the activity of combination of Hairy Eggplant with Bitter Ginger (Bioimun[®]) and Hairy Eggplant with Fingerroot (Fitoimun[®]) products as anti-bacterial agents to inhibit *Vibrio harveyi* using Agar Disc Diffusion (ADD) method and *In Vitro* co-culture. The research process began with the ADD test with 12 treatments, namely each Bioimun[®] and Fitoimun[®] diluted with distilled water, with a ratio of 1:0, 0:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4. Meanwhile, *V. harveyi* bacteria were diluted with 10, 100, and 1000. The media used for culture are two media, namely Tryptic Soy Broth (TSB) and Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar (TCBSA). The results of this study show that Bioimun[®] dan Fitoimun[®] can inhibit the growth of *V. harveyi* bacteria *in vitro*. The concentrations of Bioimun[®] and Fitoimun[®] have similar inhibition zones. In Bioimun treatment[®] 1:4 dilution against bacteria in a 10⁻³ dilution in TSA media and Bioimun[®] in a 1:3 dilution against bacteria in a 10⁻¹ dilution in TCBSA media, produces the same inhibition zone as 10.3 mm. Fitoimun[®] treatment in 1:3 dilution against bacteria in 10⁻² dilution the inhibition zone was 10 mm in TSA media and in TCBSA there were two similar inhibition zones, namely the treatment with 1:1 and 0:1 dilutions against bacteria with 10⁻¹ and 10⁻³ dilutions with the same inhibition zone of 9.3 mm. The average diameter of the inhibition zones produced by Bioimun[®] and Fitoimun[®] is in a fairly good category. Bacterial test results with Fitoimmune co-culture are more capable of suppressing *V. harveyi* than Bioimmun.

Keywords: Hairy Eggplant with Bitter Ginger (Bioimun[®]); Hairy Eggplant with Finger root (Fitoimun[®]); *in vitro*; *Vibrio harveyi*

Abstrak

Tujuan penelitian adalah untuk menguji aktivitas antibakterial secara *in vitro* campuran ekstrak terung asam dan lempuyang (Bioimun[®]) dan campuran ekstrak temu kunci dan terung asam (Fitoimun[®]) sebagai produk antibakterial untuk menghambat *Vibrio harveyi*, menggunakan metode Agar Disc Diffusion (ADD) dan metode kultur bersama bakteri. Perlakuan pada metode ADD terdiri dari 12, yaitu masing-masing Bioimun[®] dan Fitoimun[®] diencerkan dengan akuades dengan perbandingan 1:0, 0:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4. Sedangkan bakteri *V. harveyi* diencerkan menjadi tiga pengenceran, yaitu 10, 100, and 1000. Media yang digunakan untuk kultur adalah dua media, yaitu *Tryptic Soy Agar* (TSA) dan *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar* (TCBSA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa Bioimun[®] dan Fitoimun[®] dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*. Konsentrasi Bioimun[®] dan Fitoimun[®] memiliki zona hambat yang hampir sama. Perlakuan Bioimun[®] dengan pengenceran 1:4 terhadap bakteri pengenceran 10⁻³ pada media TSA dan Bioimun[®] dengan pengenceran 1:3 terhadap bakteri pada pengenceran 10⁻¹ pada media TCBSA menghasilkan zona hambat yang sama, yaitu 10,3 mm. Perlakuan Fitoimun[®] dengan pengenceran 1:3 terhadap bakteri, dengan pengenceran 10⁻², zona hambatnya adalah 10 mm pada media TSA, dan pada TCBSA terdapat dua zona hambat yang serupa, yaitu perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:1 dan 0:1 terhadap bakteri, dengan pengenceran 10⁻¹ dan 10⁻³, dengan zona hambat yang sama, yaitu 9,3 mm. Diameter rata-rata zona hambat yang dihasilkan oleh Bioimun[®] dan Fitoimun[®] berada dalam kategori cukup baik. Hasil uji bakteri dengan kultur bersama, Fitoimun[®] lebih mampu menekan *V. harveyi* dibandingkan Bioimmun[®].

Kata-kata kunci: *in vitro*, terung asam dan lempuyang (Bioimun[®]), temu kunci dan terung asam (Fitoimun[®]), *Vibrio harveyi*

PENDAHULUAN

Udang windu (*Penaeus monodon*) masih menjadi salah satu komoditi perikanan andalan di Indonesia. Jenis udang ini merupakan udang asli Indonesia yang telah dibudidayakan sejak beberapa dekade lalu. Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) sebelumnya menyebut target ekspor udang nasional naik 250 persen dalam kurun waktu empat tahun, dari tahun 2020 hingga tahun 2024. Bila volume ekspor udang olahan pada tahun 2018 sebanyak 145,226 ton, maka di tahun 2024 menjadi 363,067 ton. Produksi udang untuk bahan baku ekspor dari 197,433 ton pada 2018, menjadi 578,579 ton pada 2024. Menurut Direktur Jenderal (Dirjen) Perikanan Budidaya KKP, alasan pemerintah meningkatkan produksi udang karena potensi lahan yang tersedia sangat besar. Dari 2,96 juta hektar, yang termanfaatkan baru 0,6 juta hektar (Kementerian Kelautan dan Perikanan 2020).

Di pihak lain kondisi ini dapat ber-

dampak pada menurunnya kondisi lingkungan yaitu kualitas perairan budidaya yang semakin tidak terkontrol. Mengakibatkan munculnya beberapa penyakit seperti yang disebabkan oleh virus maupun bakteri patogen. Hal tersebut berdampak pada penurunan produksi oleh para petani udang windu. Hingga saat ini beberapa penyakit yang disebabkan bakteri sering ditemukan pada udang seperti penyakit *white spot* yang menyerang pada udang putih atau penyakit vibriosis yang menyerang udang windu. Penyakit vibriosis dikenal pembudidaya udang sebagai penyakit yang menyerang bagian kulit udang (Ferliata *et al.*, 2014). Kematian yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi* akan meningkat terutama saat udang dalam keadaan stres dan lemah, oleh karena itu bakteri *Vibrio* sp. ini termasuk bakteri oportunistik patogen (Lightner, 1993). *Vibrio harveyi* bersifat patogen dan dapat menyerang berbagai stadia udang yang menyebabkan kematian tinggi (Saptiani *et al.*, 2017). Serangan *Vibrio* dapat menye-

babkan kematian udang pada stadia larva sampai dewasa, ketika sudah dikultivasi di tambak (Kumaravel *et al.*, 2010).

Bakteri *V. harveyi* pada umumnya menyerang larva udang pada stadia zoea, mysis, dan awal post larva, sehingga menjadi kendala dalam penyediaan benih udang. Nasmia (2007) mengemukakan bahwa *Vibrio sp.* menyebabkan mortalitas sebesar 90% pada larva udang windu, dan bakteri *V. harveyi* menyebabkan kematian sampai 100% pada larva udang windu (*P. monodon*) di hatchery. Tingkat kematian larva dan udang post-larva yang terkait dengan infeksi *V. harveyi* adalah 40-75% pada pembenihan dan 60-80% pada budidaya tambak (Saptiani *et al.*, 2020).

Beberapa tempat pembenihan udang di Kalimantan Timur, masih menggunakan bahan kimia dan antibiotik untuk mencegah infeksi patogen. Penggunaan bahan-bahan tersebut tidak terkendali dan justru menimbulkan resistansi dan toksisitas (Saptiani *et al.*, 2016b). Salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah penggunaan antibakterial yang bersifat alami dan efektif untuk membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri. 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.*, 2012; Saptiani *et al.*, 2015; Saptiani *et al.*, 2016a). Beberapa produk berbahan alami yang berpotensi sebagai bahan obat tradisional adalah Bioimun dan Fitoimun.

Produk Bioimun[®] dan Fitoimun[®] merupakan obat ikan yang dibuat dari tanaman temu kunci (*Boesenbergia pandurata*), terung asam (*Solanum ferox*), dan lempuyang (*Zingiber zerumbet*) (Hardi *et.al.*, 2019). Penggunaan bioimun, suatu produk imunostimulan komersial yang mengandung ekstrak buah terung asam (*S. ferox*) dan rimpang lempuyang (*Z. zerumbet*) selama ini diperuntukan untuk patogen ikan air tawar seperti bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas fluorescens* (Hardi *et.al.*, 2018; 2019). Sementara itu Fitoimun merupakan obat imunomodulator alami yang terbuat dari ekstrak temu kunci

(*B. pandurata*) dan ekstrak terung asam (*S. ferox*) sebagai antibakterial dan immune-stimulan alami untuk ikan dan udang.

Sebagai upaya perluasan kebermanfaatan produk, akan diujikan produk Bioimun[®] dan Fitoimun[®] pada bakteri yang menginfeksi udang (*Vibrio harveyi*). Menurut penelitian Hardi *et al.* (2016), uji phytochemical menunjukkan *B. pandurata* mengandung bahan alkaloids, flavonoids dan karbohidrat. Sementara *Z. zerumbet* mengandung bahan alkaloids, flavonoids, steroids dan karbohidrat yang lebih efektif terhadap bakteri *A. hydrophila*, dan ekstrak *S. ferox* mengandung alkaloid dan karbohidrat yang lebih efektif terhadap *Pseudomonas sp.* Bahan-bahan tersebut sangat berpotensi dikembangkan sebagai bahan antibakterial dan imunostimulan karena pada uji pencegahan, ekstrak tunggal dari ketiga ekstrak efektif meningkatkan kerja sistem imun melalui beberapa metode (Hardi *et al.*, 2016). Tujuan penelitian ini adalah mengujikan aktivitas dari Produk Bioimun[®] dan Fitoimun[®] terhadap bakteri *V. harveyi* secara *in vitro* dengan metode *Agar Dsc Diffusion* (ADD) dan dengan metode kultur bersama dari konsentrasi terbaik dari uji ADD.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan bulan November-Desember 2020 dengan lokasi penelitian di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Akua-kultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur.

Bioimun[®] dan Fitoimun[®]

Produk yang digunakan sebagai bahan antibakterial (Bioimun[®] dan Fitoimun[®]), merupakan produksi CV Bioperkasa dan Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia). Bioimun[®] yang digunakan dibuat dari ekstrak terung asam konsentrasi 600 ppm dan lempuyang kon-

sentrasi 200 ppm dengan perbandingan 1:1. Produk berupa cairan dengan pengencer akuades. Fitoimun[®] yang digunakan dibuat dari ekstrak temu kunci konsentrasi 900 ppm dan terung asam 600 ppm dengan perbandingan 9:1. Produk berupa cairan dengan pengencer akuades. Kedua produk berbentuk cairan, dan dalam kemasan botol 100 mL

Metode Agar Disc Diffusion (ADD)

Uji daya hambat produk Bioimun[®] dan Fitoimun[®] terhadap *V. harveyi* dilakukan dengan metode ADD atau *Disc Diffusion Assay* (Dulger dan Gonuz, 2004; Saptiani *et al.*, 2012) untuk mengetahui konsentrasi terbaik dari Bioimun[®] dan Fitoimun[®] yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*. Perlakuan Bioimun[®] dan Fitoimun[®] pada penelitian ini masing-masing diencerkan dengan akuades. P1= perlakuan dengan menggunakan akuades (kontrol); P2= perlakuan Bioimun[®]/Fitoimun[®] saja sebanyak 1 ml; P3= perlakuan Bioimun[®]/Fitoimun[®] 1 ml ditambah aquades 1 ml; P4= perlakuan Bioimun[®]/Fitoimun[®] 1 ml ditambah aquades 2 ml; P5= perlakuan Bioimun[®]/Fitoimun[®] 1 ml ditambah aquades 3 ml; P6= perlakuan Bioimun[®]/Fitoimun[®] 1 ml ditambah aquades 4 ml.

Kultur bakteri *V. harveyi* pada media *Tryptic Soy Broth* (TSB) yang telah tumbuh diambil menggunakan pipet steril sebanyak 0,5 mL, selanjutnya dikultur pada media *Tryptic Soy Agar* (TSA) dan juga pada media *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar* (TCBSA) dengan metode sebar, dengan menggunakan L glass, selanjutnya didiamkan selama 30 menit. *Paper disc* steril ditetesi sekitar 25 µL dengan masing-masing perlakuan Bioimun[®] dan Fitoimun[®] yang diuji, semua dilakukan ulangan sebanyak tiga kali, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30 °C. Pengamatan zona bening dilakukan pada jam ke-18, 24, 36, dan 48 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk di sekeliling diameter *paper disc* yang tidak ditumbuhi bakteri (zona bening).

Metode Kultur Bersama

Hasil uji daya hambat Bioimun[®] maupun Fitoimun[®] yang terbaik pada metode ADD dilanjutkan dengan uji daya hambat kultur bersama. Uji kultur bersama ini mengikuti tata cara Saptiani *et al.* (2016a). Bakteri *V. harveyi* ditumbuhkan pada media TSB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Masing-masing Bioimun[®] dan Fitoimun[®] yang konsentrasinya terbaik pada uji ADD dicampurkan ke dalam biakan bakteri. dikocok sampai homo-gen, dan dilakukan pengenceran sampai 10³, kemudian masing-masing ditanam pada media TSA dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Masing-masing diulangi tiga kali, kemudian dilakukan penghitungan koloni yang tumbuh dan ditentukan kandungan bakterinya dengan metode *Total Plate Co-lony* (TPC).

Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan pada penelitian ini adalah ukuran diameter zona daya hambat (mm) setiap selang waktu yang sudah ditentukan yaitu jam ke-18, 24, 36 dan 48. Diameter zona daya hambat yang terbaik diambil untuk uji kultur bersama dan diamati pada jam ke- 24.

Analisis Data

Data yang dikumpulkan pada penelitian ini adalah ukuran diameter zona hambat (mm) pada metode ADD dan jumlah koloni bakteri yang diamati pada metode kultur bersama. Data daya hambat dianalisis secara deskriptif dan data hitung koloni dianalisis kandungan bakterinya dengan menghitung TPC memakai rumus BSN (2006). Ada pun rumusnya $N = [(\mu 1.P) + (\mu 2.P) + (\mu 1.P)] \times d^{-1}$. Dalam hal ini N= hasil; μ = jumlah koloni bakteri; P= pengenceran kedua; d= pengenceran pertama yang dilakukan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daya Hambat Bioimun[®] dan Fitoimun[®]

Hasi pengamatan dan pengukuran diameter aktivitas daya hambat bioimun[®] terhadap bakteri *V. harveyi*, ditampilkan pada Tabel. 1, dan Tabel. 2, dengan mengamati dan mengukur diameter zona bening yang dihasilkan dengan selang pengamatan pada jam 18, 24, 36, dan 48.

Pada pengamatan zona hambat Bioimun[®], terlihat bahwa rata-rata daya hambat tertinggi terhadap bakteri *V. harveyi* pada media TSA terjadi pada perlakuan pengenceran 14 terhadap bakteri pengenceran 10^{-3} pada inkubasi 24 jam, dengan rata-rata zona hambat sebesar 10,3 mm. Pada media *Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar* (TCBSA) tertinggi pada perlakuan pengenceran Bioimun[®] 1:3 terhadap bakteri pengenceran 10^{-1} pada inkubasi 18 jam, dengan rata-rata zona hambat sebesar 10,3 mm, Rata-rata hasil zona hambat tersebut termasuk dalam kriteria daya hambat sedang menurut Mayer (2007), namun menurut Ramachandran (2004) diameter zona hambat antara 10-20 mm termasuk kategori daya hambat yang kuat.

Perlakuan Bioimun[®] yang menghasilkan zona daya hambat urutan kedua pada media TSA adalah pengenceran Bio-imun[®] 1:0 terhadap bakteri pengenceran 10^{-2} pada jam ke-36 dengan zona hambat rata-rata sebesar 9,7 mm, sedangkan pada media TCBSA perlakuan pengenceran Bioimun[®] 1:3 terhadap bakteri pengenceran 10^{-1} menghasilkan zona hambat 10,3 mm pada inkubasi jam ke-18. Selanjutnya pada jam ke-24, 36 dan 48 memiliki zona hambat yang sama, yang tidak berubah dari inkubasi 24 sampai 48 jam, yang menandakan bahwa jenis bakteri ini memiliki kemampuan menghadapi zat aktif dari bioimun. Menurut Ramachandran (2004) diameter zona hambat antara 5-10 mm termasuk kategori daya hambat yang sedang.

Pada penelitian Hardi *et al.* (2016) dilaporkan bahwa aktivitas gabungan ekstrak *Z. zerumbet* lebih baik jika di bandingkan dengan aktivitas ekstrak *Z. zerumbet* tunggal. Hal tersebut menandakan bahwa gabungan

ekstrak memiliki kemampuan antibakterial yang baik menurut Hardi *et al.* (2016). Ekstrak *Z. zerumbet* memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, steroid dan karbohidrat, dan bahan-bahan tersebut efektif menekan pertumbuhan bakteri (Wink, 2010). Ekstrak *S. ferox* memiliki kemampuan antibakterial baik terhadap bakteri *Pseudomonas sp.*, dibandingkan *A. hydrophila*, sedangkan *Z. zerumbet* aktivitas antibakterinya lebih baik terhadap *A. hydrophila* (Hardi *et al.*, 2016), begitu juga zona hambat tertinggi terhadap bakteri *A. hydrophila* dan *Pseudomonas sp.* gabungan ekstrak *Z. zerumbet* dan *S. ferox* memiliki zona hambat 11 mm, zona hambat ini tidak jauh berbeda dengan hasil yang di dapatkan pada penelitian ini. Secara umum kemampuan antibakteri Bioimun[®] dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*.

Pada pengamatan daya hambat Fitoimun[®] pada media TSA, terlihat bahwa rata-rata daya hambat tertinggi terhadap bakteri *V. harveyi*, pada perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:3 terhadap bakteri pengenceran 10^{-1} pada pengamatan jam ke-24 sebesar 10 mm, ini termasuk ke dalam kriteria daya hambat sedang menurut Mayer (2007), tetapi menurut Ramachandran (2004) termasuk kategori kuat, sedangkan daya hambat pada media TCBSA daya hambat tertinggi terhadap bakteri *V. harveyi*, pada perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:0 terhadap bakteri pengenceran 10^{-1} pada pengamatan jam ke-24, dan pada perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:1 terhadap bakteri pengenceran 10^{-1} pada pengamatan jam ke-24, dengan zona daya hambat yang sama sebesar 9,3 mm, dengan kriteria zona daya hambat kategori sedang menurut Ramachandran (2004). Perlakuan Fitoimun[®] yang menghasilkan zona daya hambat paling luas dibanding perlakuan lainnya, adalah perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:1 terhadap bakteri pengenceran 10^{-1} pada pengamatan jam ke 24 dan 36, perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:3 terhadap bakteri pengenceran 10^{-2} pada pengamatan jam ke-18, dan perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:4 terhadap bakteri

Tabel 1. Rata-rata daya hambat Bioimun[®] terhadap bakteri *Vibrio harveyi* pada media *tryptic soy agar* (TSA)

Bioimun [®] : akuades	Pengenceran bakteri	Diameter daya hambat (mm) jam ke-			
		18	24	36	48
0:1	10	6,0	6,7	6,7	6,1
	100	6,2	6,2	6,0	6,2
	1000	6,2	6,4	6,3	6,4
1:0	10	6,7	9,3	6,0	6,7
	100	6,0	7,0	9,7	8,0
	1000	6,0	7,7	7,0	6,7
1:1	10	6,7	9,3	8,0	7,3
	100	7,0	9,0	7,0	6,3
	1000	6,3	8,3	7,3	7,0
1:2	10	7,3	8,0	7,0	6,0
	100	6,0	7,3	7,0	8,0
	1000	6,3	8,7	8,7	8,0
1:3	10	6,3	7,0	6,3	7,0
	100	6,7	8,3	7,7	6,0
	1000	6,7	9,0	7,3	8,0
1:4	10	7,0	8,7	6,7	6,7
	100	6,3	8,7	6,0	6,0
	1000	8,7	10,3	7,3	7,3

Tabel 2. Rata-rata daya hambat Bioimun[®] terhadap *V. harveyi* pada media *thiosulfate citrate bile salts sucrose* (TCBSA)

Bioimun [®] : akuades	Pengenceran bakteri	Diameter daya hambat (mm) jam ke-			
		18	24	36	48
0:1	10	6,0	6,2	6,0	6,1
	100	6,1	6,1	6,2	6,2
	1000	6,7	6,7	6,7	6,7
1:0	10	6,3	6,3	6,3	6,3
	100	9,0	9,0	9,0	9,0
	1000	8,3	8,3	8,3	8,3
1:1	10	9,0	9,0	9,0	9,0
	100	9,0	9,0	9,0	9,0
	1000	6,3	6,3	6,3	6,3
1:2	10	6,7	6,7	6,7	6,7
	100	9,0	9,0	9,0	9,0
	1000	7,0	7,0	7,0	7,0
1:3	10	10,3	10	10	10
	100	9,7	9,7	9,7	9,7
	1000	6,0	6,0	6,0	6,0
1:4	10	6,7	6,7	6,7	6,7
	100	8,7	8,7	8,7	8,7
	1000	8,7	8,7	8,7	8,7

Tabel 3. Rata-rata daya hambat Fitoimun[®] terhadap *V. harveyi* pada media tryptic soy agar (TSA)

Fitoimun [®] : akuades	Pengenceran bakteri	Diameter daya hambat (mm) jam ke-			
		18	24	36	48
0:1	10	6,1	6,1	6,0	6,0
	100	6,0	6,1	6,3	6,0
	1000	6,2	6,2	6,1	6,1
1:0	10	6,7	7,7	7,7	8,3
	100	7,0	8,0	7,7	8,3
	1000	8,3	8,0	7,7	7,0
1:1	10	7,0	9,7	9,7	8,7
	100	8,0	6,7	6,3	7,3
	1000	8,3	8,3	8,0	8,0
1:2	10	8,3	8,3	8,7	7,3
	100	6,0	6,7	6,7	6,3
	1000	8,3	8,7	8,0	8,3
1:3	10	9,0	10	9,0	8,0
	100	9,7	7,3	7,7	7,0
	1000	7,0	9,0	8,3	7,3
1:4	10	7,3	7,7	8,7	6,3
	100	9,7	7,0	8,0	8,3
	1000	9,0	9,0	8,0	7,7

Tabel 4. Rata-rata daya hambat Fitoimun[®] terhadap *V. harveyi* pada media *thiosulfate citrate bile salts sucrose* (TCBSA)

Fitoimun [®] : akuades	Pengenceran bakteri	Diameter daya hambat (mm) jam ke-			
		18	24	36	48
0:1	10	6,0	6,1	6,1	6,0
	100	6,0	6,2	6,0	6,0
	1000	6,0	6,0	6,1	6,0
1:0	10	9,0	9,3	8,3	7,7
	100	6,0	7,0	6,7	7,3
	1000	8,3	8,7	7,7	7,3
1:1	10	7,3	9,3	8,7	8,7
	100	7,3	9,0	7,7	6,7
	1000	7,0	8,0	7,0	7,7
1:2	10	6,0	8,0	8,7	7,3
	100	7,3	7,3	7,7	7,0
	1000	8,3	9,0	8,0	7,7
1:3	10	8,0	7,0	8,3	6,7
	100	6,7	8,3	7,7	7,0
	1000	8,3	8,0	8,7	8,0
1:4	10	7,3	8,7	8,0	8,7
	100	7,0	8,7	7,7	6,7
	1000	9,0	8,0	8,3	8,0

Tabel 5. Rata-rata jumlah bakteri *V. harveyi* pada uji kultur bersama dengan Bioimun[®]

Media Tryptic Soy Agar	<i>V. harveyi</i>	Pengenceran	Jumlah bakteri (x10 ² CFU/mL)
Bioimun [®] : akuades 1:3	10 ⁻³	10 ⁻¹	0,73
		10 ⁻²	14,67
		10 ⁻³	483,33
		Rata-rata	166,24
Media thiosulfate citrate bile salts sucrose	<i>V. harveyi</i>	Pengenceran	Jumlah bakteri (x10 ² CFU/mL)
Bioimun [®] : Akuades 1:3	10 ⁻¹	10 ⁻¹	21,4
		10 ⁻²	175
		10 ⁻³	550
		Rata-rata	248

Tabel 6. Rata-rata jumlah bakteri *V. harveyi* pada uji kultur bersama dengan Fitoimun[®]

Media TSA	<i>V. harveyi</i>	Pengenceran	Jumlah bakteri (x10 ² CFU/mL)
Fitoimun [®] : akuades 1:3	10 ⁻¹	10 ⁻¹	18
		10 ⁻²	25
		10 ⁻³	0
		Rata-rata	14,33
Media TCBSA			Jumlah bakteri (x10 ² CFU/mL)
Fitoimun [®] : akuades 1:0	10 ⁻¹	10 ⁻¹	8,50
		10 ⁻²	34
		10 ⁻³	2730
		Rata-rata	924,16
Fitoimun [®] : akuades 1:1	10 ⁻¹	10 ⁻¹	14,7
		10 ⁻²	135
		10 ⁻³	560
		Rata-rata	236,56

pengenceran 10^{-2} pada pengamatan jam ke-18, pada media TSA dengan luas zona daya hambat yang sama 9,7 mm. Hasil rata-rata pengukuran zona hambat selengkapnya ada pada Tabel 3. Pada media TCBSA perlakuan yang menghasilkan zona daya hambat yang juga cukup besar, pada perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:0 atau tanpa pengenceran terhadap bakteri pengenceran 10^{-1} pada pengamatan jam ke-18, perlakuan

Fitoimun[®] pengenceran 1:1 terhadap bakteri pengenceran 10^{-2} pada pengamatan jam ke-24, perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:2 terhadap bakteri pengenceran 10^{-3} pada pengamatan jam ke-24, dan perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:4 terhadap bakteri pengenceran 10^{-3} pada pengamatan jam ke-18, dengan besar zona daya hambat yang sama yaitu 9 mm. Hasil rata-rata zona daya hambat selengkapnya disajikan pada Tabel 4. Menurut Ramachandran (2004) zona hambat tersebut termasuk sedang.

Pada penelitian Hardi *et al.* (2016) dilaporkan bahwa ekstrak gabungan *B. pandurata* memiliki aktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan aktivitas ekstrak *B. pandurata* tunggal, Wink (2010) menyatakan *B. pandurata* memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, dan karbohidrat. Dalam laporan penelitian Hardi *et al.* (2016) campuran antara ekstrak *S. ferox* dan *A. pandurata*, zona hambat yang terbentuk berkisar 8,00-10,05 mm terhadap bakteri *A. hydrophila* dan *Pseudomonas sp.*

Secara umum, kemampuan antibakterial produk Fitoimun[®] bisa untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*. Hasil ini menunjukkan bahwa Fitoimun[®] dan Bioimun[®] memiliki perbedaan daya hambatnya terhadap bakteri *V. harveyi*.

Antibakteri Bioimun[®] dan Fitoimun[®] terhadap *V. harveyi* Metode Kultur Bersama Perlakuan untuk uji kultur bersama dipilih dari hasil uji daya hambat metode ADD yang menunjukkan hasil zona hambat terbesar. Pada Bioimun[®] adalah perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:4 terhadap bakteri pengenceran 10^{-3} pada media TSA dan perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:3 terhadap bakteri pengenceran 10^{-1} pada media TCBSA. Se-

suai hasil analisis data jumlah bakteri dengan metode TPC pada Bioimun[®] terhadap bakteri *V. harveyi*, dari kedua sampel terbaik uji daya hambat pada media TSA dan TCBSA yakni Perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:4 terhadap bakteri pengenceran 10^{-3} pada media TSA dan Perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:3 terhadap bakteri pengenceran 10^{-1} seperti pada (Tabel 5), pada sampel perlakuan 6 pengenceran bakteri 10^{-1} media TSA rata-rata jumlah bakterinya $166,24 \times 10^2$ CFU/mL.

Pada perlakuan Bioimun[®] pengenceran 1:3 terhadap bakteri pengenceran 10^{-1} jumlah koloninya pada batas 30-300 koloni. Rata-rata jumlah bakterinya 248×10^2 CFU/mL. Sebaran jumlah koloni tiap sampel dan faktor pengenceran menunjukkan adanya keragaman data yang seragam dan sesuai prinsip faktor pengenceran, yang mana semakin tinggi faktor pengenceran maka semakin rendah jumlah mikrob atau berbanding terbalik dengan jumlah koloni mikrob (Fardiaz, 2004).

Perlakuan untuk kultur bersama dipilih dari hasil daya hambat metode ADD yang menunjukkan hasil zona hambat terbesar, yaitu pada Fitoimun[®] adalah perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:4 pada media TSA terhadap bakteri pengenceran 10^{-2} dan pada media TCBSA pada perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:1 terhadap bakteri pengenceran 10^{-3} dan perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:2 terhadap bakteri pengenceran 10^{-1}

Hasil analisis data jumlah bakteri Fitoimun[®], pada media TSA berada pada batas 30-300 koloni, perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:3 terhadap bakteri pengenceran 10^{-2} rata-rata jumlah bakteri $14,33 \times 10^2$ CFU/mL. Pusat Pendidikan Kelautan dan Perikanan melaporkan bila jumlah populasi kurang dari 25 koloni akan menghasilkan penghitungan yang kurang teliti secara statistika, namun bila lebih dari 250 koloni akan menghasilkan hal yang sama karena terjadi persaingan antar koloni. Pada pengenceran bakteri 10^{-3} bakteri tidak tumbuh sama sekali.

Nilai TPC bervariasi tergantung berbagai faktor di antaranya kualitas sumber air, jenis perlakuan, konsentrasi residu disinfektan, lokasi sampling, suhu air mentah dan Air minum dalam kemasan, waktu pengujian, metode uji meliputi suhu dan waktu inkubasi (Allen *et al.*, 2004).

Pada media TCBSA jumlah bakteri pada perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:0 terhadap bakteri pengenceran 10⁻¹ dan perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:1 terhadap bakteri pengenceran 10⁻¹, jumlah bakterinya pada pengenceran bakteri 10⁻¹ adalah 8,50 x 10² CFU/mL. pengenceran bakteri 10⁻² bakterinya 34 x 10² CFU/mL, dan yang tertinggi pengenceran bakteri 10⁻³ TPC nya 2.730 x 10² CFU/mL, sehingga rata-rata jumlah bakterinya 924,16 x 10² CFU/mL. Pada perlakuan Fitoimun[®] pengenceran 1:1 terhadap bakteri pengenceran 10⁻¹ rata-rata kandungan bakterinya 236,56 x 10² CFU/mL. Batas TPC maksimum telah diatur oleh SNI menjadi dua yaitu batas awal dan batas akhir, khususnya untuk air minum dalam kemasan. Batas awal TPC maksimum adalah 1 x 10² CFU/mL, sedangkan batas akhir TPC maksimum adalah 1 x 10⁵ CFU/mL,. Menurut WHO (2011) telah banyak di kembangkan metode TPC. Pengujian bervariasi pada suhu 20-37°C dengan waktu inkubasi dari beberapa jam sampai lebih dari tujuh hari.

Hasil uji antibakteri kultur bersama antara Bioimun[®] terhadap bakteri *V. harveyi* dan antara Fitoimun[®] terhadap *V. harveyi* menunjukkan bahwa Bioimun[®] dan Fitoimun[®] mampu menghambat *V. harveyi*, yang menekan pertumbuhan bakteri menjadi sekitar 14,33 x 10² CFU/mL. Hasil ini sejalan dengan hasil daya hambat metode ADD, bahwa kedua bahan tersebut mampu menghambat bakteri *V. harveyi* seperti yang sudah dijelaskan di atas. Jika dibandingkan sifat antibakteri antara kedua bahan tersebut, maka Fitoimun[®] mampu menekan pertumbuhan *V. harveyi* pada media TSA dan TCBSA.

SIMPULAN

Produk campuran ekstrak terung asam dan lempuyang (Bioimun[®]) dan campuran ekstrak temu kunci dan terung asam (Fitoimun[®]) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro* dan termasuk ke dalam kategori yang cukup baik untuk menghambat bakteri *V. harveyi*. Antibakterial pada metode kultur bersama, campuran ekstrak temu kunci dan terung asam (Fitoimun[®]) lebih baik dibanding campuran ekstrak terung asam dan lempuyang (Bioimun[®]) untuk menghambat *V. harveyi*.

SARAN

Hasil penelitian *in vitro* antibakterial Produk Bioimun[®] dan Fitoimun[®] terhadap *V. harveyi* perlu dilanjutkan secara *in vivo* pada ikan dan udang yang diuji tantang dengan *V. harveyi*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan rangkaian dari uji pendahuluan penelitian Kedai Reka program, Matching fund, SK no.0463/E/TU.00.01/2021. Oleh karena itu kami ucapkan terimakasih kepada Kementerian RistekDikti dan Universitas Mulawarman serta Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Akuakultur Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen MJ, Ederg SC, Reasoner DJ. 2004. Heterotrophic Plate Count Bacteria-What is Their Significance in Drinking Water? *International Journal of Food Microbiology* 92(3): 265-274. Doi:10.1016/j.jfoodmicro.2003.08.010
- Dulger B, Gonuz A. 2004. Antimicrobial Activity of Some Endemic Verbascum, Salvia and Stachys Species. *Pharmaceutical Biology* 42: 301-304

- Fardiaz S. 2004. *Analisa Mikrobiologi Pangan*. Jakarta. Raja Grafindo Persada. Hal 56
- Ferliatra, Zainuri, Yoswaty D. 2014. Pathogenitas Bakteri *Vibrio* sp Terhadap Udang Windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal Sungkai* 2(1): 23-36
- Hardi EH, Kusuma IW, Suwinarti W, Agustina, Abbas I. Nugroho RA. 2016. Antibacterial activities of some Borneo plant extracts against pathogenic bacteria of *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation Bioflux* 9(3): 638-646.
- Hardi EH, Saptiani G, Nurkadina, Kusuma IW, Suwinarti W. 2018. Uji In Vitro Gabungan Ekstrak *Boesenbergia pandurata*, *Solanum ferox*, *Zingiber zerumbet* Terhadap Bakteri Patogen pada Ikan Nila. *Jurnal Veteriner* 19(1): 35-44
- Hardi EH, Kusuma IW, Suwinarti W, Nugroho RA, Apriza. 2019. Immunomodulatory effect and disease resistance from of three Borneo plant extracts to *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens* in tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquacultura Indonesiana* 20(1): 41-47
- Kumaravel K., Ravichandran S, Bose SS. 2010. In Vitro antimicrobial Activity of Shrimps Haemolymph on Clinical Pathogens. *African Journal of Microbiology Research* 4 (23): 2592-2596
- Lightner, D.V. 1993. Shrimp Pathology: Mayor Disease of Concern to The Farming Industry in The American. *Memoars Congress Ecuador Aquacultura* 177-195
- Mayer G. 2007. *Medical Microbiology and immunology*. 3 ed. Carolina. Univ. of South Carolina School of Medicine. Pp. 165-168.
- Nasmia. 2007. Pathogenitas Beberapa Bakteri *Vibrio* sp Terhadap Udang Windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal Agroland* 14(1): 82-85.
- Ramachandran K, Srinivasan V, Hamza S, Anandaraj M. 2004. Phosphate Solubilizing Bacteria Isolated from the Rhizosphere Soll and its Growth on Black Pepper (*Piper nigrum* L.) Cutting. *Plant and Soil Sciences* 102: 325-331.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2020. Rencana dan Strategi Kementerian Kelautan dan Perikan <https://kkp.go.id/artikel/17862-pemerintah-akan-bentuk-pokja-peningkatan-eksport-udang>
- Saptiani G, Prayitno SB, Anggoro S. 2012. The Effectiveness of *Acanthus ilicifolius* in Protecting Tiger prawn (*Penaeus monodon* F.) from *Vibrio harveyi* infection. *Journal of Coastal Zone Management* 15(2): 217-224.
- Saptiani G, Hardi EH, Pebrianto CA. 2015. Antimicrobial of *Alpinia galaga* extracts against the pathogen of *Charias batrachus*. In: Isnain Setyo A (eds) Proceeding the 1st international Symposium On Marine and Fisheries Research. Department of Fisheries-Faculty Agriculture, University of Gadjahmada, Yogyakarta, August 7th, 2015.
- Saptiani G, Hardi EH, Pebrianto CA, Agustina. 2016a. Ekstrak daun Pepaya dan Kangkung untuk meningkatkan daya tetas telur dan kelangsungan hidup larva Lele. *Jurnal 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. *American Institute of Physics (AIP) Conference Proceeding* 1755, 140002-1140002-5.
- Saptiani G, Prayitno SB, Anggoro S, Pebrianto CA. 2017. The influence of *Acanthus ilicifolius* extracts to histopathological on hepatopancreas of tiger shrimp (*Penaeus monodon* F.). *International Journal of Marine and Aquatic Resource Conservation and Co-existence* 2(1): 1-6. <https://doi.org/10.14710/ijmarcc.2.1.p>
- Saptiani G, Sidik AS, Ardhani F, Hardi EH. 2020. Response of hemocytes profile in the black tiger shrimp (*Penaeus*

- monodon*) against *Vibrio harveyi* induced by *Xylocarpus granatum* leaves extract. *Veterinary World* 13: 751-757
- Wink M. 2010. Introduction: biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites. *Annual Plant Reviews* 40: 1-19.
- [WHO] World Health Organization. 2011. Guidelines Drinking-Water Quality, fourth edition. Switzerland. http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/dwq_guidelines/en/index.html. 18 Juli 2013.