



Biosaintifika 6 (1) (2014)

Biosaintifika

Journal of Biology & Biology Education

<http://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/biosaintifika>



Efek Antibakteri Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus* Secara In Vitro

Neem Leaf Extract Antibacterial Effect (Azadirachta indica A. Juss) against Vibrio alginolyticus Bacteria In Vitro

✉ Uli Ayini, Siti Harnina B., Titis Candra Dewi

Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang, Indonesia

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima Desember 2013
Disetujui Januari 2014
Dipublikasikan Maret 2014

Keywords:

antibacterial, neem leaf extract, Vibrio alginolyticus

Abstrak

Budidaya udang windu di Indonesia telah berkembang pesat. Salah satu kendala budidaya udang adalah penyakit Vibriosis yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio alginolyticus*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*. Penelitian ini menggunakan metode dilusi untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* secara in vitro. Konsentrasi ekstrak yang digunakan (%) yaitu: 0; 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5 dan sebagai kontrol terdiri dari kontrol positif, dan kontrol negatif. Pengumpulan data untuk menentukan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dilakukan dengan membandingkan kejernihan kultur di medium TSB 2% pada berbagai konsentrasi yang berbeda, dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Penentuan MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*) dilakukan dengan melihat ada tidaknya dan jumlah koloni bakteri *Vibrio alginolyticus* yang muncul pada medium subkultur TSA 2% setelah inkubasi 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan nilai MIC yaitu konsentrasi 5%, hal ini ditunjukkan dengan tabung yang mulai jernih. Nilai MBC ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* adalah konsentrasi 12,5% ditandai dengan sudah tidak munculnya koloni bakteri *Vibrio alginolyticus*. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun mimba dapat memberikan efek antibakteri terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* secara in vitro.

Abstract

Tiger shrimp cultivation in Indonesia has been growing rapidly. The main obstacle is the shrimp farming vibriosis disease caused by the bacterium Vibrio alginolyticus. The aim of this research was to determine the effects of neem leaf extract antibakteri against Vibrio alginolyticus. This study used a dilution method to determine the antibacterial effect of neem leaf extract against Vibrio alginolyticus bacteria in vitro. The concentration of the extract used (%): 0; 2.5; 5; 7.5; 10; 12.5 and as a control consisting of a positive control, and negative control. Data collection to determine the MIC (Minimum Inhibitory Concentration) was done by comparing the clarity of culture in TSB medium 2% on a variety of different concentrations, the positive control and a negative control. Determination MBC (Minimum Bacterisidal Concentration) was done by looking at the presence or absence and the number of colonies of bacteria Vibrio alginolyticus that appears in the subculture medium TSA 2% after 24 h incubation. The results showed that the value of MIC was 5%, as shown by the tube began to clear. Value of MBC of neem leaf extract against Vibrio alginolyticus was characterized by a concentration of 12.5% has been no emergence of bacterial colonies Vibrio alginolyticus. Based on the research, it concluded that neem leaf extract can provide antibacterial effect against bacteria Vibrio alginolyticus in vitro.

© 2014 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:

FMIPA UNNES Gd D6 Lt 1 Jln. Raya Sekaran- Gunungpati- Semarang 50299
Telp./Fax. (024) 8508033; E-mail: uli_lamb@yahoo.co.id

p-ISSN 2085-191X
e-ISSN 2338-7610

PENDAHULUAN

Budidaya udang di Indonesia, khususnya udang windu telah berkembang pesat. Udang windu merupakan komoditas ekspor yang mempunyai nilai ekonomi tinggi. Permintaan pasar terhadap udang windu sangat tinggi, baik di dalam negeri maupun dari luar negeri. Udang windu memiliki kandungan gizi yang tinggi, diperkirakan mengandung 90 % protein (Amri, 2003). Udang windu juga memiliki keunggulan dibandingkan dengan udang biasa lainnya, misalnya ukurannya yang lebih besar dan cita rasa yang enak (Agung, 2007). Pada saat ini permintaan udang dunia meningkat dan untuk memenuhi pasar udang yang begitu besar maka pemerintah melakukan upaya kegiatan guna meningkatkan kualitas dan kuantitas udang (Dirjen Perikanan Budidaya, 2007). Udang windu (*Penaeus monodon*) merupakan salah satu jenis udang yang potensial untuk dibudidayakan. Udang windu menjadi komoditas perikanan yang memiliki peluang usaha prospektif. Namun sejak tahun 1990-an produksi udang terus mengalami penurunan akibat berbagai masalah penyakit dan penurunan kualitas lingkungan (Agung, 2007).

Salah satu kendala yang sering dihadapi dalam budidaya udang windu maupun ikan lainnya adalah serangan penyakit bakterial. Salah satu jenis bakteri yang menimbulkan penyakit pada budidaya udang dan ikan adalah bakteri *Vibrio sp.*, penyakitnya disebut dengan *vibriosis*. *Vibriosis* merupakan suatu kendala yang umum dihadapi dalam pemeliharaan udang. Bakteri *Vibrio sp.* merupakan bakteri patogen oportunistik yaitu organisme yang dalam keadaan normal ada dalam lingkungan pemeliharaan, kemudian berkembang dari sifat saprofit menjadi patogenik apabila kondisi lingkungan memungkinkan. Bakteri *Vibrio* tumbuh optimal pada lingkungan air laut bersalinitas 20-40%, pada pH 4 - 9 (Rukyani *et al.*, 1992).

Menurut penelitian Johnny *et al.* (2002) di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol Bali, kasus penyakit borok pada ikan kerapu dapat menyebabkan kematian masal ikan dan bakteri penyebab infeksi ini adalah *Vibrio alginolyticus*. Menurut Murtidjo (2003), Bakteri *Vibrio alginolyticus* merupakan penyebab penyakit bakterial yang sering menimbulkan masalah pada larva udang windu yang disebut penyakit bakteri menyala. Larva yang terinfeksi terlihat bercahaya pada kondisi gelap. Penyakit bakteri menyala banyak ditemukan pada musim hujan, yaitu ketika salinitas menurun dan terjadi perbedaan suhu yang besar antara siang dan malam hari (Amri,

2003).

Selama ini pencegahan terhadap serangan bakteri dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia. Usaha-usaha penanggulangan tersebut tingkat keberhasilannya sangat bervariasi menurut lokasi dan waktu, bahkan penggunaan antibiotik secara berkelanjutan dan tidak terkontrol dapat menimbulkan resistensi bakteri terhadap obat-obatan tersebut (Roza, 1993). Selain itu, residu dari antibiotik dapat mencemari perairan yang mengakibatkan kualitas air menjadi menurun. Dampak lain dari antibiotik sintetis juga bisa menimbulkan toksik dan bersifat residu bagi tubuh konsumen. Hal ini berimbas pada penolakan hasil perikanan yang diduga masih menggunakan pestisida. Dalam rangka menghasilkan produk perikanan non toksik, perlu dilakukan penggunaan bahan-bahan alami (Munti *et al.*, 2010).

Salah satu bahan alami yang dapat digunakan untuk mengatasi serangan bakteri vibriosis adalah tanaman Mimba (*Azadirachta indica*). Tanaman mimba banyak tumbuh didataran rendah yang beriklim tropis maupun sub tropis (Sugiharjo, 2007). Mimba merupakan tanaman multifungsi, karenanya tanaman ini juga dikenal sebagai *Wonderful tree*. Menurut Sukrasno (2003), Daun dan biji mimba mempunyai banyak manfaat. Biji mimba dapat dimanfaatkan untuk insektisida alami, fungisida, antibakteri, spermisida, sabun minyak mimba dan pelumas minyak mimba. Pada saat ini pemanfaatan mimba lebih berorientasi sebagai insektisida, padahal selain insektisida, mimba juga berpotensi sebagai bakterisida. Menurut penelitian Ambarwati (2007), tanaman mimba dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thiposa* dan *Staphylococcus aureus*. Mekanisme tanaman mimba yang berpotensi sebagai antibakteri yaitu menghambat sintesis membran sel bakteri sehingga pertumbuhannya bisa dihambat (Ambarwati, 2007). Ekstrak daun mimba juga menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* (Sri *et al.*, 2005), Tanaman mimba juga bisa memberikan efek antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif (Saradhajyothi *et al.*, 2011). Penelitian yang dilakukan El Mahmood *et al.* (2010), menunjukkan tanaman mimba mampu menghambat bakteri *E.coli*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus sp.*

Aktifitas antibakteri tersebut karena kandungan senyawa-senyawa yang terdapat dalam tanaman mimba. Menurut Nurtiati *et al.* (2001), Zat aktif yang terkandung dalam tanaman mimba diantaranya adalah azadirachtin, salanin, meliantriol, nimbin, dan nimbidin. Senyawa azadirachtin merupakan kandungan utama daun

mimba yang berfungsi sebagai repellent (sebagai penghalau), antifeedant (penurun nafsu makan), dan penghambat pertumbuhan mikroba. Mimba juga mengandung senyawa nimbin dan nimbidin yang merupakan senyawa alkaloid. Senyawa alkaloid ini memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun petidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Robinson, 1995).

Penggunaan mimba sebagai antibakteri merupakan suatu cara alternatif yang perlu dikaji dan diuji lebih lanjut untuk mengetahui seberapa besar pengaruh ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*. Dari pernyataan tersebut perlu dilakukan penelitian daun mimba terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh daun *Vibrio alginolyticus* secara *in vitro* dan mengetahui konsentrasi yang tepat dari ekstrak daun mimba yang dapat menghambat bakteri *Vibrio alginolyticus* secara *in vitro*.

METODE

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif. Penelitian dilakukan di laboratorium bakteri Balai Karantina Ikan Semarang, untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* secara *in vitro* dengan menggunakan metode dilusi. Perlakuan dalam penelitian ini adalah: bahan dasar ekstrak daun mimba dibagi dalam beberapa konsentrasi yang diperoleh dari pengenceran yaitu: 0%, 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5% dan sebagai kontrol terdiri dari kontrol sterilitas yang berisi aquades, kontrol positif, dan kontrol negatif. Setiap perlakuan dilakukan lima kali ulangan.

Langkah awal penelitian ini adalah mensterilkan semua alat yang dipakai menggunakan autoclaf dengan suhu 121 °C (tekanan 2 atm) selama 2 menit. Lalu membuat bahan TCBS (*Thio-sulfate Citrate Bile Salt Sucrose*), TSA 2% (*Tryptic Soy Agar*), dan TSB 2% (*Tryptic Soy Broth*). Kemudian mempersiapkan sampel bakteri *Vibrio alginolyticus* dan membuat ekstrak daun mimba.

Pembuatan sampel bakteri dilakukan dengan cara mengambil koloni *Vibrio alginolyticus* dari medium TSA 2% dengan menggunakan ose bulat. Inokulum dimasukkan ke dalam pengencer NaCl fisiologis 0,9%, kemudian dikocok hingga kekeruhannya sama dengan Mac Farlan 0,5 yang diasumsikan mengandung $1,5 \times 10^8$ sel/ml. Dalam penelitian ini jumlah bakteri yang di-

gunakan adalah $1,5 \times 10^8$ sel/ml.

Pembuatan ekstrak daun mimba dilakukan dengan cara mengambil daun mimba sebanyak 1000 gr diambil dari kebun biologi FMIPA UNNES. Daun segar dicuci lalu dikering anginkan, kemudian diblender hingga halus lalu dimaserasi dengan menggunakan 1 L etanol 96% selama 24 jam. Setelah proses maserasi larutan disaring dengan menggunakan kertas saring Whatmann no 1 kemudian dipanaskan untuk memisahkan etanol dengan zat terlarut hingga didapatkan filtrat/ larutan stok yang kemudian ditempatkan kedalam botol steril dan ditutup rapat. Ekstrak daun mimba yang diperoleh selanjutnya diencerkan dengan menggunakan akuades untuk membuat konsentrasi yang diinginkan sesuai dengan kelompok perlakuan (Kardinan, 2000).

Langkah selanjutnya yang dilakukan adalah menentukan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimum Bacterisid Concentration*). Untuk menentukan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*), masing-masing 0,5 ml ekstrak daun mimba dari tabung pengenceran ekstrak daun mimba dimasukkan kedalam 4,5 ml TSB 2%, kontrol positif hanya berisi medium TSB 2% dan suspensi bakteri tanpa penambahan ekstrak daun mimba, dan kontrol negatif yang hanya berisi medium TSB 2% tanpa suspensi bakteri. Selanjutnya dilakukan penambahan suspensi bakteri $1,5 \times 10^8$ sebanyak 0,25ml kedalam masing-masing tabung kemudian semua tabung diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Langkah selanjutnya setelah masa inkubasi 24 jam, melakukan pengamatan pada semua tabung dengan membandingkan kejernihan pada tabung konsentrasi dengan kontrol. kultur dianggap jernih apabila sama dengan kontrol negatif dan dianggap keruh apabila sama dengan kontrol positif. Sedangkan untuk menentukan nilai MBC (*Minimum Bacterisid Concentration*) dengan cara menambahkan sub kultur ke dalam medium TSA 2 % secara *spread plate* dengan mengambil 0,1ml dari tabung pengamatan MIC dan diinkubasi selama 24 jam pada tabung yang mulai jernih dari penentuan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). Lalu mengamati pertumbuhan koloni dan menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada TSA 2% dengan colony counter.

Metode pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen karena data diperoleh setelah melakukan percobaan di laboratorium. Pengumpulan data untuk menentukan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dilakukan dengan membandingkan kejernihan kultur di medium TSB 2% pada

berbagai konsentrasi yang berbeda, dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Kultur dianggap jernih apabila sama dengan kontrol negatif dan sebaliknya dianggap keruh apabila kekeruhannya sama dengan kontrol positif, sedangkan untuk menentukan MBC (*Minimum Bacterisida Concentration*), dilakukan dengan melihat ada tidaknya dan jumlah koloni bakteri *Vibrio alginolyticus* yang muncul pada medium subkultur TSA 2% setelah inkubasi 24 jam.

Data yang diperoleh dari penelitian adalah data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif berupa kejernihan kultur suspensi ekstrak daun mimba dengan bakteri *Vibrio alginolyticus* pada medium TSB 2%, dan ada tidaknya koloni yang muncul pada medium subkultur TSA 2% sebagai indikator efek antibakteri yang diberikan ekstrak daun mimba terhadap *Vibrio alginolyticus* apakah bersifat bakterisid atau bakteriostatik, oleh karena itu analisa data yang digunakan adalah analisa deskriptif. Analisa ini dimaksud untuk mendeskripsikan ada tidaknya pertumbuhan bakteri *Vibrio alginolyticus* setelah mendapatkan perlakuan dengan pemberian ekstrak daun mimba.

Data kuantitatif berupa jumlah koloni yang muncul pada medium subkultur Tryptic Soy Agar 2% setelah inkubasi selama 24 jam. Dilakukan penghitungan jumlah koloni dimaksudkan untuk mengetahui penurunan jumlah koloni bakteri *Vibrio alginolyticus* akibat ekstrak daun mimba.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak daun mimba dengan inokulum *Vibrio alginolyticus* menunjukkan bahwa nampak adanya efek antibakteri oleh ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*. Hasil uji MIC menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0% dan 2,5% terlihat adanya kekeruhan larutan yang menunjukkan masih ada pertumbuhan bakteri *Vibrio alginolyticus* sedangkan pada konsentrasi 5% sampai 12,5% terlihat adanya kejernihan

larutan setelah inkubasi 24 jam, hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri *Vibrio alginolyticus* mulai dihambat pada konsentrasi 5%. Hasil penelitian El mahmood *et al.* (2010), tabung yang sudah mulai menunjukkan kejernihan berarti tidak ada pertumbuhan bakteri dan dikatakan sebagai nilai MIC. Hal ini diperkuat oleh Pratiwi (2008) menyatakan bahwa apabila media jernih berarti antibiotik efektif menghambat pertumbuhan bakteri (bersifat bakteriostatik), sedangkan apabila media keruh maka bakteri masih tumbuh yang berarti antibiotik tidak efektif menghambat pertumbuhan bakteri. Dari pengamatan hasil uji MIC, kemudian dilakukan penanaman ekstrak daun mimba dengan inokulum bakteri *Vibrio alginolyticus* ke dalam medium agar supaya dapat diketahui nilai MBC atau konsentrasi daya bunuh minimal terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*.

Ekstrak daun mimba dengan berbagai konsentrasi di dalam tabung I sampai tabung VII setelah diinokulasi bakteri *Vibrio alginolyticus* dan diinkubasi terlihat ada tabung yang mulai jernih. Tabung yang mulai jernih dijadikan penentuan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) yaitu tabung III atau konsentrasi ekstrak 5%. Tabung kontrol positif berisi bakteri *Vibrio alginolyticus* tanpa ekstrak daun mimba sedangkan tabung kontrol negatif hanya berisi medium TSB 2% tanpa inokulum bakteri *Vibrio alginolyticus*. Data mengenai hasil pengamatan kekeruhan tabung kultur suspensi ekstrak daun mimba setelah inkubasi 24 jam untuk menentukan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dapat dilihat pada Tabel 1.

Pada tabung kontrol negatif hasilnya tetap jernih, hal ini menunjukkan bahwa pada tabung yang tetap jernih tidak terdapat kontaminasi bakteri *Vibrio alginolyticus*, sedangkan tabung I merupakan kontrol positif hasilnya tetap keruh artinya tetap ada pertumbuhan bakteri *Vibrio alginolyticus*. Tabung kontrol positif dan tabung kontrol negatif merupakan kontrol dalam menentukan kejernihan dan kekeruhan pada tabung-tabung perlakuan. Berdasarkan data kualitatif pada

Tabel 1. Hasil Pengamatan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) Ekstrak Daun Mimba Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*

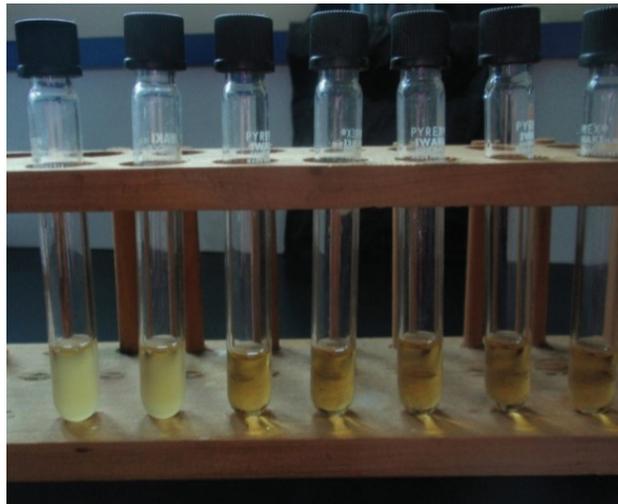
| Ulangan | Tabung (Konsentrasi Ekstrak dalam %) | | | | | | | Kontrol steril |
|---------|--------------------------------------|-----------|----------|-----------|---------|------------|-----------|----------------|
| | I K+(0) | II 2,5 | III 5 | IV 7,5 | V 10 | VI 12,5 | VII K- | |
| 1 | + | + | - | - | - | - | - | - |
| 2 | + | + | - | - | - | - | - | - |
| 3 | + | + | - | - | - | - | - | - |
| 4 | + | + | - | - | - | - | - | - |
| 5 | + | + | - | - | - | - | - | - |

Tabel 1 dapat diketahui bahwa secara *in vitro* ekstrak daun mimba mulai menunjukkan adanya penghambatan bakteri *Vibrio alginolyticus* pada konsentrasi ekstrak 5%. Dari hasil uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) kemudian dilakukan penanaman pada media TSA 2% untuk mengetahui nilai MBC (*Minimum Bacterisid Concentration*) ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*. Hasil pengamatan MIC dengan Metode Dilusi dapat dilihat pada Gambar 1.

Penanaman dari tabung pengamatan MIC pada cawan petri yang berisi medium TSA 2% bertujuan untuk mengetahui nilai MBC (*Minimum Bacterisid Concentration*) dari ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*. Pada pengamatan hasil uji MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*) dilakukan dengan melihat tumbuh atau tidaknya koloni bakteri *Vibrio alginolyticus* pada media TSA 2%. Hasil uji MBC menunjukkan bahwa pada konsentrasi 2,5% sampai konsentrasi 10% masih tumbuh koloni bakteri *Vibrio*

alginolyticus, tetapi pada konsentrasi 12,5% tidak tumbuh koloni bakteri *Vibrio alginolyticus*. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 12,5% ekstrak daun mimba mempunyai daya bunuh terhadap bakteri dan bisa dikatakan sebagai nilai MBC (*Minimum Bacterisid Concentration*). Tabung kontrol negatif tidak tumbuh bakteri *Vibrio alginolyticus*, sedangkan tabung kontrol positif tumbuh bakteri *Vibrio alginolyticus*. Data pengamatan subkultur pemberian ekstrak daun mimba dengan inokulum *Vibrio alginolyticus* dalam medium TSA 2% setelah inkubasi 24 jam untuk menentukan nilai MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*) dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2 pada pengamatan hasil MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*) menunjukkan bahwa pada konsentrasi 2,5% sampai 10% setelah diinkubasi 24 jam masih tumbuh koloni bakteri *Vibrio alginolyticus*, sedangkan pada konsentrasi 12,5% sudah tidak tumbuh koloni bakteri *Vibrio alginolyticus* sehingga dikatakan



Gambar 1. Hasil uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Keterangan: a. Kontrol positif, b. Konsentrasi 2,5%, c. Konsentrasi 5%, d. Konsentrasi 7,5%, e. Konsentrasi 10%, f. Konsentrasi 12,5%, g. Kontrol negatif

Tabel 2. Hasil Pengamatan MBC (*Minimum Bacterisid Concentration*) Ekstrak Daun Mimba Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*

| Ulangan | Konsentrasi Ekstrak | | | | | | K- |
|---------|---------------------|------|----|------|-----|-------|----|
| | K+ | 2,5% | 5% | 7,5% | 10% | 12,5% | |
| 1 | + | + | + | + | + | - | - |
| 2 | + | + | + | + | + | - | - |
| 3 | + | + | + | + | + | - | - |
| 4 | + | + | + | + | + | - | - |
| 5 | + | + | + | + | + | - | - |

Keterangan:

+ : Tumbuh koloni bakteri *Vibrio alginolyticus*

- : Tidak tumbuh koloni bakteri *Vibrio alginolyticus*

sebagai nilai MBCnya. Nilai MBC atau konsentrasi terendah yang mempunyai daya bunuh terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* ditentukan dengan cara pengamatan ada tidaknya koloni bakteri *Vibrio alginolyticus* yang tumbuh pada medium agar setelah inkubasi 24 jam. Menurut El mahmood *et al.* (2010), bahwa konsentrasi bunuh minimum atau MBC ditentukan jika pada plate tidak menunjukkan pertumbuhan koloni dari inokulum asal pada sub-biakan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba mempunyai daya bunuh terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*. Apabila pada media agar terdapat pertumbuhan bakteri berarti antibiotik hanya efektif menghambat pertumbuhan bakteri (sifat bakteriostatik), sedangkan apabila tidak terdapat pertumbuhan bakteri maka antibiotik efektif membunuh bakteri (sifat bakterisidal).

Hasil data Jumlah sel pada Pengamatan Subkultur Pemberian Ekstrak Daun Mimba dengan Inokulum Bakteri *Vibrio alginolyticus* menunjukkan bahwa rata-rata jumlah sel bakteri *Vibrio alginolyticus* yang dihasilkan pada media TSA 2% berbeda pada tiap perlakuan konsentrasi. Pada konsentrasi 5% rata-rata jumlah sel bakteri *Vibrio alginolyticus* adalah sebesar $8,3 \cdot 10^2$ sel. Pada konsentrasi 7,5% rata-rata jumlah sel bakteri yaitu $5,0 \cdot 10^2$ sel, sedangkan jumlah rata-rata sel pada konsentrasi 10% yaitu $3,6 \cdot 10^2$ sel. Dari Tabel 3 diketahui bahwa terdapat penurunan jumlah sel bakteri *Vibrio alginolyticus* akibat pemberian ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica A. Juss*) secara in vitro. Berdasarkan Tabel 3 tersebut diketahui jumlah rata-rata sel bakteri *Vibrio alginolyticus* terus mengalami penurunan dari konsentrasi 2,5% sampai konsentrasi ekstrak daun mimba 12,5%. Pada konsentrasi 12,5% tidak didapatkan koloni yang tumbuh pada media TSA 2%. Pada penelitian ini MBC (*Minimum Bacterisid Concentration*) ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* ditentukan pada konsentrasi 12,5%. Menurut Shulman dan Sommer 1994, menyatakan bahwa konsentrasi bunuh mini-

mum atau MBC ditentukan jika pada plate tidak menunjukkan pertumbuhan koloni dari inokulum asal pada sub-biakan. Penghitungan koloni pada subkultur pemberian ekstrak daun mimba dengan inokulum bakteri *Vibrio alginolyticus* pada medium TSA 2% bertujuan untuk mengetahui penurunan jumlah koloni akibat antibakteri yang terdapat pada ekstrak daun mimba.

Tabel 3 menunjukkan hasil penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada subkultur pemberian ekstrak daun mimba dengan inokulum bakteri *Vibrio alginolyticus* setelah diinkubasi 24 jam, dan dihitung dengan menggunakan colony counter menunjukkan terjadinya penurunan jumlah koloni bakteri *Vibrio alginolyticus*. Berdasarkan Tabel 3 dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun mimba semakin sedikit koloni yang tumbuh pada medium TSA 2%. Menurut Sri K *et al.* (2005) bahwa semakin tinggi konsentrasi zat anti mikroba maka semakin besar kemampuannya untuk mengendalikan dan membunuh mikroorganisme tersebut. Berdasarkan Tabel 3 dapat diketahui bahwa ekstrak daun mimba mempunyai daya bunuh atau nilai MBC pada konsentrasi ekstrak daun mimba 12,5% terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*.

Aktivitas antibakteri dari daun mimba diduga karena adanya senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, polifenol, saponin dan flavonoid. Menurut Faiza *et al.* (2009), tanaman mimba mengandung berbagai komponen metabolit sekunder diantaranya alkaloid dan fenol. Namun terdapat perbedaan jumlah kandungan senyawa antibakteri dalam tiap bagian tanaman. Menurut Siswomiharjo (2007), batang mimba mempunyai kandungan antibakteri yang lebih tinggi dibanding dengan daun mimba, sedangkan menurut Ambarwati (2007), kandungan senyawa antibakteri pada tanaman mimba paling banyak terdapat pada bijinya. Didalam bagian akar, batang, biji, bunga dan buah sebagian tanaman mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, tannin, dan fenol (Levin *et al.*, 1999; Benli *et al.*,

Tabel 3. Data Jumlah sel pada Pengamatan Subkultur Pemberian Ekstrak Daun Mimba dengan Inokulum Bakteri *Vibrio alginolyticus*

| Ulangan | Jumlah bakteri dalam satuan cfu pada TSA 2% (Konsentrasi) | | | | | | K- |
|-----------|---|-------------------|------------------|------------------|------------------|-------|----|
| | K+ | 2,5% | 5% | 7,5% | 10% | 12,5% | |
| 1 | $1,5 \cdot 10^3$ | $1,29 \cdot 10^3$ | $9 \cdot 10^2$ | $4,8 \cdot 10^2$ | $3,3 \cdot 10^2$ | 0 | 0 |
| 2 | $1,55 \cdot 10^3$ | $1,27 \cdot 10^3$ | $7,6 \cdot 10^2$ | $5,4 \cdot 10^2$ | $3,9 \cdot 10^2$ | 0 | 0 |
| 3 | $1,57 \cdot 10^3$ | $1,26 \cdot 10^3$ | $8,3 \cdot 10^2$ | $4,7 \cdot 10^2$ | $3,8 \cdot 10^2$ | 0 | 0 |
| 4 | $1,48 \cdot 10^3$ | $1,28 \cdot 10^3$ | $8,5 \cdot 10^2$ | $6,1 \cdot 10^2$ | $4 \cdot 10^2$ | 0 | 0 |
| 5 | $1,5 \cdot 10^3$ | $1,28 \cdot 10^3$ | $8,1 \cdot 10^2$ | $5,2 \cdot 10^2$ | $3,1 \cdot 10^2$ | 0 | 0 |
| Rata-rata | $1,52 \cdot 10^3$ | $1,27 \cdot 10^3$ | $8,3 \cdot 10^2$ | $5,0 \cdot 10^2$ | $3,6 \cdot 10^2$ | 0 | 0 |

2008, El mahmood *et al.*, 2008). Kandungan senyawa-senyawa antibakteri pada daun mimba juga bergantung pada metode ekstraksi yang digunakan untuk mengikat senyawa-senyawa tersebut.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Etanol merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga senyawa-senyawa yang bersifat polar banyak yang ikut tertarik kedalam ekstrak (Kusmayati & Agustini, 2007). Penggunaan etanol sebagai pelarut dalam pembuatan ekstrak daun bisa melarutkan kandungan senyawa-senyawa alkaloid, polifenol yang berfungsi sebagai antibakteri pada daun mimba. Hal ini sesuai pernyataan Cowan (1999), pelarut etanol dapat digunakan untuk mengikat berbagai senyawa aktif seperti tannin, polifenol, flavonoid, terpenoid, dan alkaloid. Berdasarkan hasil penelitian ini, diduga senyawa-senyawa seperti alkaloid, polifenol, saponin larut dalam pelarut etanol.

Menurut Baswa (2001) diketahui bahwa aktivitas mimba yang utama dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan menghambat sintesis membran sel bakteri. Kerusakan pada membran sel memungkinkan nukleotida dan asam amino keluar sel. Selain itu kerusakan ini dapat mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel, karena membran sel juga mengendalikan pengangkutan aktif kedalam sel. Hal ini menyebabkan kematian sel bakteri atau menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa alkaloid yang terkandung didalam daun mimba diduga memiliki aktivitas antibakteri. Menurut Juliantina (2008), senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu, menurut Gunawan (2009), bahwa di dalam senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino. Sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan dan mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel bakteri.

Senyawa Flavonoid yang terkandung didalam ekstrak mimba merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Senyawa fenol dapat mengubah tegangan permukaan, sehingga merusak permeabilitas selektif dari membran sel mi-

kroba yang menyebabkan keluarnya metabolik penting dan menginaktifkan enzim-enzim pada bakteri. Menurut (Singh, 2005), senyawa fenol memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein pada membran sel. Fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga menghambat sintesa protein bakteri. Bakteri *Vibrio alginolyticus* merupakan bakteri Gram negatif yang struktur dinding selnya terdiri dari protein lipopolisakarida dan lipid, dengan terhambatnya sintesa protein menyebabkan rusaknya dinding sel. Rusaknya dinding sel menyebabkan proses masuknya bahan-bahan dari luar terhambat sehingga menyebabkan kematian bakteri (Faiza *et al.*, 2009).

Berdasarkan hasil penelitian dengan menggunakan Metode Dilusi dapat diketahui bahwa terdapat petunjuk adanya efek antibakteri oleh ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*. Hal ini sesuai dengan penelitian Saradhajothi *et al.* (2011), bahwa ekstrak daun mimba mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif dengan menggunakan Metode Difusi, yang ditandai dengan terbentuknya zona bening atau tidak adanya pertumbuhan bakteri disekitar ekstrak mimba setelah inkubasi 24 jam. Penelitian yang dilakukan oleh El mahmood *et al.* (2010) menunjukkan bahwa ekstrak mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli*, *Staphylococcus sp.*

Bakteri *Vibrio alginolyticus* merupakan penyebab penyakit udang menyala, dan biasanya menyerang budidaya udang pada stadium larva dan pasca larva. Menurut Amri (2003), gejala-gejala udang yang terinfeksi oleh bakteri *Vibrio alginolyticus* adalah tubuhnya tampak menyala pada malam hari, tubuh menjadi lemah, tidak aktif berenang, nafsu makan berkurang, dan terdapat bercak merah disetiap bagian tubuhnya. Bakteri *Vibrio* menyerang dengan merusak lapisan kutikula udang yang mengandung kitin dikarenakan *Vibrio* memiliki enzim kitinase, lipase, dan protease. kitinase merupakan enzim yang dapat menghidrolisa polimer kitin menjadi kitin oligosakarida atau monomer N-asetilglukosamin. Enzim ini dihasilkan oleh bakteri. Bakteri *Vibrio* diketahui dapat menghasilkan enzim kitinase dan kitin deasetilase. Kerusakan struktur eksoskeleton udang diakibatkan terdegradasi oleh aktivitas kitinase yang dihasilkan oleh bakteri kitinolitik. Degradasi kitin ini terutama dilakukan oleh mikroorganisme, dimana kitin dapat merupakan sumber karbon dan nitrogen untuk pertumbuhannya (Kirchman, 1997). Bakteri

Vibrio alginolyticus dapat berperan sebagai patogen primer ataupun patogen sekunder. Sebagai patogen primer, *Vibrio alginolyticus* masuk melalui kontak langsung dengan organisme, sedangkan sebagai patogen sekunder, *Vibrio alginolyticus* menginfeksi organisme yang telah terlebih dahulu terinfeksi penyakit lain. Penyakit udang yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio alginolyticus* masih menjadi fokus perhatian utama dalam produksi budidaya udang. Penggunaan antibiotik dalam budidaya udang dapat memunculkan strain bakteri yang tahan terhadap antibiotik serta dapat memunculkan residu antibiotik. Oleh sebab itu diperlukan alternatif lain dalam mengatasi masalah tersebut. Dalam penelitian ini secara in vitro dengan menggunakan metode dilusi daun mimba mempunyai efek antibakteri terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* dan diharapkan bisa menghambat pertumbuhan bakteri yang menyebabkan penyakit udang menyala dalam budidaya udang. Kelebihan menggunakan Metode Dilusi dalam menentukan efek antibakteri adalah dapat diketahui pula efek antibakterinya apakah bersifat bakteristatik atau bakterisid, tetapi selain itu juga terdapat beberapa kelemahan Metode Dilusi antara lain: sulitnya mendeteksi adanya kontaminasi oleh bakteri lain, tetapi kendala ini dapat diatasi dengan cara menanamkan kultur ke dalam medium subkultur berupa medium agar sehingga dapat diketahui bakteri kontaminasi atau bukan. Hal ini yang menyebabkan Metode Dilusi kurang efektif bila dibandingkan dengan Metode Difusi agar.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa Ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) secara in vitro dapat memberikan efek antibakteri terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*, dan efek antibakteri yang diberikan bersifat bakteristatik dan bakterisida pada bakteri *Vibrio alginolyticus*. Nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* yaitu pada konsentrasi 5%, sedangkan nilai MBC (*Minimum Bacterisida Concentration*) ekstrak daun mimba terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* adalah pada konsentrasi 12,5%.

DAFTAR PUSTAKA

Agung, M. U. K. (2007). *Penelusuran efektifitas beberapa bahan alam sebagai kandidat antibakteri dalam mengatasi penyakit vibriosis pada udang windu*. makalah. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelau-

- tan Universitas Padjajaran, Bandung
- Ambarwati. (2007). Efektivitas zat antibakteri biji mimba (*Azadirachta indica*) untuk Menghambat Pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*. *Journal Biodiversitas*, 8(3), 320-325
- Amri, K. (2003). *Budidaya udang windu secara intensif*. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Baswa, M., Rath, C., Dash, S. K. & Mishra, R. K. (2001). Antibacterial Activity of Karanj (*Pongamia pinata*) and Neem (*Azadirachta indica*) Seed Oil : A Preliminary Report. *Journal Microbios*, 105(412), 183-9.
- Benli, M., Bingel, U., Gaven, F., Guney, K. & Yugit, N. (2008). An investigation into antimicrobial activity on some endemic plant species from Turkey. *Afr. Journal Biotechnol*, 7(1), 001-005.
- Cowan, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Journal American Society for Microbiology*, 12(4), 564-582.
- Dirjen Perikanan Budidaya. (2006). *Penanggulangan penyakit kunang-kunang*. Jakarta: Dirjen Perikanan Budidaya.
- El Mahmood, Ogbonna & Raji, M. (2010). The antibacterial activity of *Azadirachta indica* (neem) seeds extracts against bacterial pathogens associated with eye and ear infections. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(14), 1414-1421.
- Faiza, A., Khlil, R., Muhammad, Asghar & Sarwar, M. (2009). Antibacterial Activity Of Various Phytoconstituents Of Neem. *Pak. J. Agriculture Scientific*, 46(3), 209-213.
- Johnny, F., Prisdininggo & Roza, D. (2002). *Kasus Penyakit Infeksi Bakteri Pada Ikan Kerapu Di 12 Karamba Jaring Apung Teluk Ekas, Desa Batunampar, Lombok Timur, NTB*. Laporan Hasil Penelitian Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol, Bali.
- Kirchman, D. L., Svitil, A. L., Chadain, S. M. N., & Moore, J. A. (1997). Chitin degradation proteins produced by the marine bacterium *Vibrio* growing in different form of chitin. *Journal application environment microbial*, 63(2), 408-413.
- Kusmayati & Agustini, N. W. R. (2007). Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*). *Biodiversitas*, 8(1), 48-53.
- Levin, M. D., Vandon-Berghe, D. A., Marten, T., Vilentmick, A. & Lomwease, I. C. (1979). Screening of higher plants for biological activities/ antimicrobial activity. *Journal Plant Medica*, 36, 311-312.
- Munti, S., Tarsim & Faisal, I. (2010). Pengaruh Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dalam Menghambat Pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* Secara *In Vitro*. *Jurnal Penelitian Sains*, 13(3), 133-135.
- Murtidjo, B. (2003). *Benih udang windu sekala kecil*. Yogyakarta: Kanisus.
- Nurtiati, Hamidah & Tresnadi, W. (2001). Pemanfaatan Bioinsektisida Ekstrak Daun *Azadirachta indica* A. Juss Sebagai Pengendali Hayati Ulat Daun Kubis *Plutella xycolotella*. *Jurnal MIPA*, 6(i), 55-62.

- Pratiwi, S. T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga
- Roza, D. (1993). *Pengendalian populasi bakteri harveyi di hatchery udang windu*. Prosiding Simposium Perikanan Indonesia I. Jakarta
- Rukyani, A., Taufik, P. & Taukid. (1992). Penyakit kunang-kunang (luminescence vibriosis) di hatchery udang windu dan cara penanggulangan penyakit benur di hatchery udang. *Jurnal litbang Pertanian*, (2), 1-17.
- Saradhajyothei, K. & Subbarao, B. (2011). Antibacterial Potential of the Extracts of the Leaves of *Azadirachta indica* Linn. *Not Sci Biol*, 3(1), 65-69.
- Shulman, P. & Sommers. (1994). *Dasar Biologi & Klinis Penyakit Infeksi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Singh, I. P. & Bharate, S. B. (2005). Anti-HIV Natural Products. *Journal Current Science*, 89(2), 269-290.
- Siswomiharjo, W., Sunarintyas, S., Masahiro & Taizo, H. (2007). The difference of antibacterial effect of neem leaves and stick extracts. *International Chin Journal dental*, 7, 27-29.
- Sri, K., Widowati, S. & Sunarintyas, S. (2005). The effect of different concentrations of Neem (*Azadirachta indica*) leaves extract on the inhibition of *Streptococcus mutans* (In vitro). *Dental journal*, 38(4), 176-179.
- Sukrasno & Lentera, T. (2003). *Mengenal Lebih dekat Mimba Tanaman Obat Multifungsi*. Jakarta: Agromedia Pustaka.