

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Plasma Belangkas Bulan (*Tachypleus gigas*) Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dari Perairan Selat Madura

Alvin Aulafi Anugrah, Eka Nurrahema Ning Asih*

Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Trunojoyo Madura
Jl. Raya Telang No. 02, Kamal Kabupaten Bangkalan, Jawa Timur 69162 Indonesia

*Corresponding author, e-mail: eka.asih@trunojoyo.ac.id

ABSTRAK: Upaya penanggulangan infeksi vibriosis menggunakan antibiotik secara intensif menyebabkan resistansi dan menurunkan produktifitas budidaya. Perlu dilakukan eksplorasi upaya pencarian bahan alami sebagai anti bakteri *Vibrio parahaemolyticus* salah satunya menggunakan plasma belangkas yang mengandung *Tachypleusin Amoebocyt Lysat*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui konsentrasi terbaik dan perbedaan kemampuan zona hambat dari ekstrak plasma *Tachypleus gigas* terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* pada waktu pengamatan yang berbeda. Penelitian menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap dari dua lokasi pengambilan sampel dan 3 ulangan yaitu perairan Socah-Bangkalan dan Tambak Wedhi-Surabaya. Perlakuan konsentrasi ekstrak 0,05%, 20%, 50%, dan 100% v/v, dan kontrol positif (*chloramphenicol*) dengan 3 waktu pengamatan yaitu 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Parameter yang diamati adalah Konsentrasi Hambat Minimum dianalisis Uji *Kruskal Walis* dan Uji *Mann Whitney*. Hasil menunjukkan ada perbedaan nyata antara konsentrasi plasma dalam menghambat aktivitas bakteri uji pada waktu pengamatan berbeda di 2 lokasi tersebut dengan nilai *asympt. sig* ekstrak dari perairan Socah antara 0.036 (72 jam)-0.049 (48 jam), sedangkan nilai *asympt. sig* ekstrak dari Tambak Wedi yaitu 0.044 (24 jam). Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan konsentrasi ekstrak plasma terbaik untuk menghambat bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dari 2 lokasi penelitian adalah 1:20 ml (0,05%) dengan kisaran zona hambat yang dihasilkan $1,1 \pm 0,33$ mm (Socah) dan $1,47 \pm 0,38$ mm (Tambak Wedi). Hasil penelitian menjadi informasi awal untuk potensi pemanfaatan ekstrak plasma *Tachypleus gigas* di bidang bioteknologi kelautan kedepannya.

Kata kunci: *Vibrio parahaemolyticus*; ekstrak plasma belangkas; *Tachypleus gigas*

The Antibacterial Activity of Horseshoe Crab (*Tachypleus gigas*) Plasma Extract against *Vibrio parahaemolyticus* Bacteria from the Waters of Madura Strait

ABSTRACT: Efforts to control vibriosis infection using antibiotics intensively cause resistance and reduce cultivation productivity. It is necessary to explore efforts to find natural ingredients as anti-bacterial *Vibrio parahaemolyticus*, one of which is rapeseed plasma containing *Tachypleusin Amoebocyt Lysat*. This study aimed to determine the best concentration and differences in inhibition zone ability of *Tachypleus gigas* plasma extract against *Vibrio parahaemolyticus* bacteria at different observation times and study locations. The study used an experimental method with a completely randomized design from two sampling locations and three replications, namely Socah-Bangkalan and Wedhi-Surabaya Ponds. Treatment of extract concentrations of 0.05%, 20%, 50%, and 100% v/v, and positive control (*chloramphenicol*) with three observation times, namely 24 hours, 48 hours, and 72 hours. The observed parameters were minimum inhibitory concentration and inhibition zone diameter, which were analyzed using the *Kruskal Walis* and *Mann-Whitney Test*. The results showed a significant difference between the plasma concentrations in inhibiting the activity of the test bacteria at different observation times at the 2 locations with the *asympt. sig* value. *sig* extract from Socah waters ranged from 0.036 (72 hours) to 0.049 (48 hours), while the *asympt. sig* extract from Tambak Wedi is 0.044 (24 hours). The results of the *Mann-Whitney test* showed that the best concentration of plasma extract to inhibit *Vibrio parahaemolyticus* bacteria from 2 study sites was 1:20 ml (0.05%) with a range of inhibition zones resulting from 1.1 ± 0.33 mm (Socah) and 1.47 ± 0.38 mm (Tambak Wedi). The results of this study provide initial

information for the potential use of plasma extract *Tachypleus gigas* in the field of marine biotechnology in the future.

Keywords: *Vibrio parahaemolyticus*; extract of horseshoe crab plasm; *Tachypleus gigas*

PENDAHULUAN

Sektor perekonomian pada bidang perikanan di Indonesia ditunjang dengan besarnya keberhasilan produksi pada sektor tambak (Soebandriyo, 2015). Keberadaan organisme patogen seperti bakteri menjadi masalah serius untuk dihindari oleh pelaku usaha tambak karena bakteri ini menjadi sumber penyakit yang menginfeksi dan mengakibatkan kematian pada komoditas hasil tambak (Saragih *et. al.*, 2015). Pertumbuhan bakteri patogen saat ini dapat ditekan dengan penggunaan antibiotik akan tetapi seiring penggunaan antibiotik yang berlebihan bakteri yang ada pada tambak akan menunjukkan gejala resistensi terhadap bahan kimia yang terkandung dalam antibiotik tersebut (Ayini *et. al.*, 2014). Bakteri patogen yang sering menyerang komoditas budidaya tambak khususnya udang dan ikan ialah bakteri dari genus *Vibrio sp* (Feiatra *et. al.* 2014)., Bakteri *Vibrio* ini menyebabkan penyakit yang dinamakan *Vibriosis* dimana penyakit tersebut menyerang larva udang sehingga menimbulkan stress pada larva udang dan menyebabkan kematian hingga 100%. Infeksi bakteri ini juga dapat memicu kegagalan panen pada tambak udang (Feiatra *et. al.* 2014) memicu munculnya indikasi infeksi *Acute hepatopancreatic necrosis disease* (AHPND) pada udang dengan tanda berupa udang lesu, hepatopankreas mengalami fenomena nekrosis, atrofi dan terlihat pucat (Suryana *et. al.*, 2023).

Semakin maraknya kejadian gagal panen tambak udang di Indonesia mendorong ditemukannya alternatif solusi untuk menekan luasnya prevelensi infeksi bakteri *Vibrio sp* di perairan. Salah satu solusi yang bisa digunakan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah dengan melakukan eksplorasi sumberdaya hayati laut yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri bakteri tersebut misalnya plasma belangkas bulan (*Tachypleus gigas*). Belangkas atau kepiting tapal kuda dari genus *Limulus*, *Tachypleus*, dan *Carcinoscorpius* telah dimanfaatkan pada dunia farmasi dan diyakini mampu digunakan sebagai bahan antivirus dan antibiotik dengan memanfaatkan senyawa antikoagulan *Amoebocyt Lysat* dalam plasma darahnya (Leschen and Correia, 2010). Menurut Suwandi *et. al.* (2020) ekstrak *Tachypleus gigas* memiliki komponen bioaktif seperti alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, *phenolic* dan steroid sebagai antioksidan dalam tubuh belangkas. Kasturi *et. al.* (2021) mengungkapkan bahwa dalam darah *Tachypleus gigas* mengandung Tachystatin-A2 serta senyawa peptida antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* dengan konsentrasi penghambatan minimum sebesar 0.12 ± 0.09 dan 0.12 ± 0.05 $\mu\text{g/mL}$ pada konsentrasi ekstrak peptida dari plasma *Tachypleus gigas* tertinggi.

Aktivitas antibakteri dari plasma *Tachypleus gigas* diekstraksi dengan menggunakan pelarut polar aquades karena pelarut tersebut dapat menarik zat antibakteri yang bersifat polar. Pelarut *aquades* merupakan salah satu pelarut yang dapat mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat polar tanpa menghilangkan atau merusak kandungan senyawa ekstrak dan memiliki harga yang murah (Muljono *et. al.*, 2016). Pentingnya ekplorasi secara rinci dan ilmiah tentang potensi pemanfaatan plasma belangkas *Tachypleus gigas* sebagai agen penghambat aktivitas bakteri *Vibrio parahaemolyticus* sebagai langkah awal untuk mengantisipasi kasus prevelensi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* inilah yang melatarbelakangi penelitian ini dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terbaik dan perbedaan kemampuan zona hambat dari ekstrak plasma *Tachypleus gigas* terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* pada waktu pengamatan dan lokasi pengambilan sampel yang berbeda.

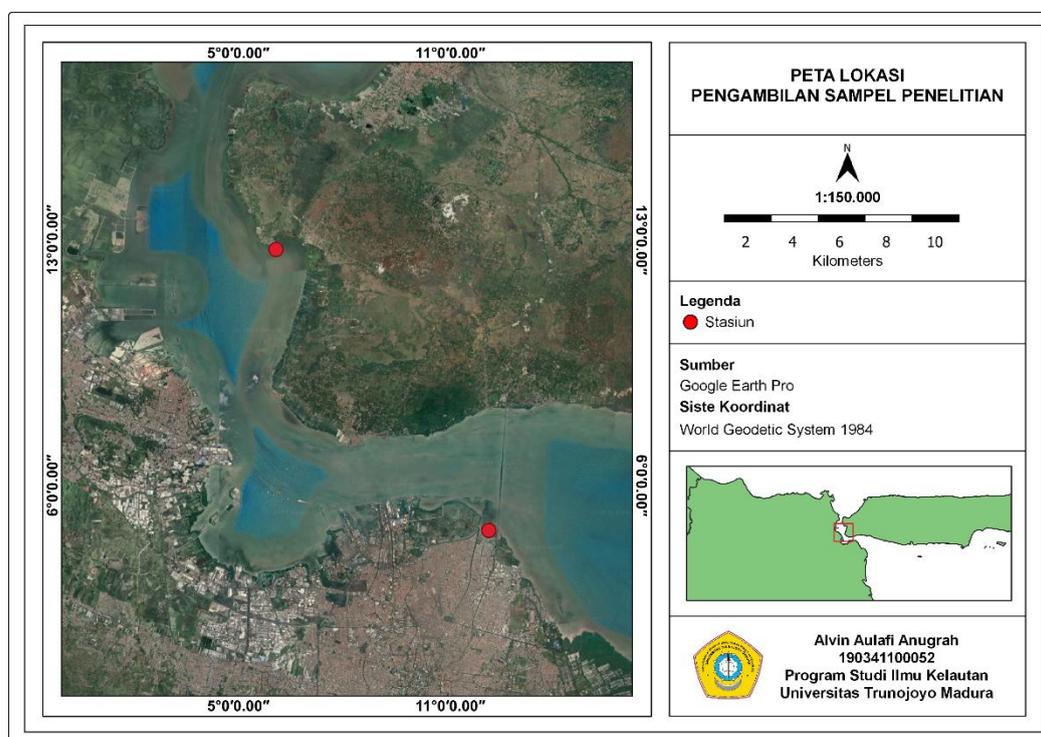
MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Laut Universitas Trunojoyo Madura,

menggunakan metode eksperimental Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan konsentrasi serta 3 kali ulangan dari 2 lokasi yang berbeda. Pengambilan sampel dilakukan pada dua titik tepatnya di perairan Desa Junganyar, Kecamatan Socah, Kabupaten Bangkalan Madura dan Kelurahan Tambak Wedi, Kecamatan Kenjeran, Kabupaten Surabaya (Gambar 1). 0,05%, 20%, 50%, dan 100% v/v dengan cara memasukkan 1 ml ekstrak plasma sampel *Tachypleus gigas* dan masing-masing dilarutkan dengan 20ml, 5ml, 2ml, aquades dan 1 ml ekstrak plasma untuk kadar 100% (Muljono *et. al.*, 2016) dan kontrol positif (chloramphenicol). Bahan yang digunakan dalam penelitian diantaranya; ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas*, media TSB (*Trypticasein Soy Broth*), Nutrien Agar (NA), akuades, Media Zobell, alkohol, dan antibiotik *chloramphenicol*. Alat yang digunakan antara lain alat kaca (tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, jarum ose, batang pengaduk dan bunsen), lemari pendingin, *sentrifuge*, *vortex stirer*, timbangan analitik, autoklaf dan *hot plate*, *laminary air flow* dan *incubator*.

Pembuatan media *Zobell* diawali dengan mempersiapkan bahan yang diperlukan untuk pembuatan media padat *Zobell* yaitu 5 gram pepton, 1 gram *yeast extract*, 0,012 gram K_2HPO_4 dan 0,01 gram $FeSO_4$ dalam 1000 mL aquades steril. Kemudian homogenkan dengan *hotplate* dan *magnetic stirer* selama hingga homogen kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu $121^\circ C$ selama 15 menit (Nurisman *et. al.* 2020). Pembuatan medium TSB (*Trypticasein Soy Broth*) Sebanyak 1,5 gram Media TSB (*Trypticasein Soy Broth*) kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang sudah berisi aquades steril sebanyak 50 ml. Media tersebut ditutup rapat dengan *aluminium foil* dan kapas untuk melindungi dari tumpahan ketika dihomogenkan menggunakan *magnetic stirer* dan disterilkan menggunakan autoklaf bersuhu $121^\circ C$ selama 15 menit kemudian didinginkan dengan suhu ruangan (Pertiwi *et. al.* 2016). Setelah media dingin, kemudian dimasukkan ke dalam vial sebanyak 5 mL untuk rekultur *Vibrio parahaemolyticus* dengan medium TSB.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Cakram dicelupkan ke dalam larutan ekstrak sampel sampai merata diseluruh permukaan cakram dengan berbagai macam konsentrasi yang telah disiapkan. Kertas cakram yang direndam selama 15 menit dalam ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* yang telah dibuat dalam konsentrasi adalah 0,05%,



Gambar 1. Peta lokasi penelitian

20%, 50%, dan 100%, dan kontrol positif (chloramphenicol). Cawan petri yang telah berisi media zobell agar disiapkan dan diisi dengan 1 ml suspensi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Cawan petri yang telah berisi suspensi bakteri dan kemudian dimasukkan kertas cakram yang telah direndam dalam suspensi ekstrak daun mangrove dan kontrol kemudian diletakan pada masing-masing cawan petri. Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada incubator suhu 37°C. Zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur dengan jangka sorong Menurut Magani *et al.*, (2020), kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut: diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5- 10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10- 20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.. Analisis data menggunakan Uji *Kruskal Wallis* dan Uji *Mann Whitney* dengan tujuan menguji dua sampel bebas pada statistik nonparametrik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* yang telah di-*centrifuge* memiliki karakter berwarna biru tua dengan total plasma yang berhasil diekstraksi sebanyak 30ml dari setiap lokasi penelitian (Gambar 2). Sampel plasma belangkas yang dihasilkan pada penelitian ini memiliki perbedaan dengan yang ditemukan pada penelitian Asih, *et. al.* (2018), dimana pada penelitian tersebut ekstrak plasma yang dihasilkan dari proses ekstraksi darah belangkas *Carsinoacorpiua rotundicauda* menghasilkan 35 ml dengan 25 ml merupakan sampel plasma berwarna biru muda dan 10 ml sisanya berwarna biru tua. Hal ini disebabkan terdapat perbedaan penggunaan alat sentrifuse serta kecepatan yang digunakan yaitu pada penelitian Asih, *et. al.* (2018) menggunakan sentrifuse berkecepatan 24.000 rpm. Ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* yang dihasilkan pada penelitian ini dipengaruhi oleh kecepatan putar sentrifuse serta lama waktu proses sentrifuse dimana semakin lama dan semakin cepat kecepatan sentrifuse maka pemisahan supernatan dan pelet akan semakin baik sehingga pemisahan senyawa bioaktif juga akan semakin baik.

Analisis aktivitas antibakteri dari ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* diamati dengan mengukur diameter zona hambat atau zona bening. Hasil pengujian antibakteri dari plasma belangkas *Tachypleus gigas* dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2. Tabel 1 menunjukkan hasil perlakuan empat konsentrasi ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* memiliki pengaruh antibakteri terhadap *Vibrio parahaemolyticus*. Aktivitas ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* dari perairan Desa Junganyar, Socah pada pengukuran pertama (1 x 24 jam) memperoleh nilai terendah pada konsentrasi 20% (1:5) sebesar 0.4 ± 0.14 mm dan tertinggi pada konsentrasi 0,05 % (1:20) sebesar 0.83 ± 0.33 mm dengan kontrol positif sebesar 25 ± 0.28 mm. Aktivitas ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* pada pengukuran kedua (2 x 24 jam) memperoleh nilai terendah pada konsentrasi 100 % (0) sebesar 0.4 ± 0.11 mm dan tertinggi pada konsentrasi 0,05 % (1:20) sebesar 1.1 ± 0.33 mm dengan kontrol positif sebesar 24.9 ± 0.93 mm. Aktivitas ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* pada pengukuran ketiga (3 x 24 jam) memperoleh nilai terendah pada konsentrasi 20 % (1:5) sebesar 0.47 ± 0.09 mm dan tertinggi pada konsentrasi 0,05 % (1:20) sebesar 0.75 ± 0.24 mm dengan kontrol positif sebesar 23.4 ± 0.26 mm.

Tabel 2 menunjukkan hasil bahwa perlakuan empat konsentrasi ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* memiliki pengaruh antibakteri terhadap *Vibrio parahaemolyticus*. kemampuan daya hambat yang dihasilkan oleh ekstrak plasma *Tachypleus gigas* dari perairan Tambak Wedi, Surabaya berbeda pada setiap konsentrasi dalam 3 pengulangan terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Aktivitas ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* dari perairan Tambak Wedi, Surabaya pada pengukuran pertama (1 x 24 jam) memperoleh nilai terendah pada konsentrasi 20% (1 : 5) sebesar 0.72 ± 0.22 mm dan tertinggi pada konsentrasi 0,05 % (1:20) sebesar 1.12 ± 0.18 mm dengan kontrol positif sebesar 21.67 ± 1.54 mm . Aktivitas ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* pada pengukuran kedua (2 x 24 jam) memperoleh nilai terendah pada konsentrasi 100 % (0) sebesar 0.92 ± 0.21 mm dan tertinggi pada konsentrasi 50 % (1:2) sebesar 1.05 ± 0.04 mm dengan kontrol positif sebesar 21.75 ± 1.25 mm. Aktivitas ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* pada pengukuran ketiga (3 x 24 jam) memperoleh nilai

Tabel 1. Hasil Perhitungan Daya Hambat ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* dari Desa Junganyar, Socah. Selama 3 waktu pengamatan

Perlakuan (%)	Diameter Zona Hambat (mm)					
	24 Jam	Kategori	48 Jam	Kategori	72 Jam	Kategori
100 % (0)	0.63 ± 0.09	Lemah	0.4 ± 0.11	Lemah	0.35±0.11	Lemah
50 % (1:2)	0.55 ± 0.11	Lemah	0.77±0.45	Lemah	0.58±0.08	Lemah
20 % (1:5)	0.4 ± 0.14	Lemah	0.45±0.16	Lemah	0.47±0.09	Lemah
0,05 % (1:20)	0.83 ± 0.33	Lemah	1.1 ± 0.33	Lemah	0.75±0.24	Lemah
+	25 ± 0.28	Sangat Kuat	24.9±0.93	Sangat Kuat	23.4±0.26	Sangat Kuat
K-	0 ± 0	-	0 ± 0	-	0 ± 0	-
K ⁰	0 ± 0	-	0 ± 0	-	0 ± 0	-

Tabel 2. Hasil Perhitungan Daya Hambat ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* dari Tambak Wedi, Surabaya. Selama 3 waktu pengamatan

Perlakuan (%)	Diameter Zona Hambat (mm)					
	24 Jam	Kategori	48 Jam	Kategori	72 Jam	Kategori
100% (0)	0.75 ± 0.17	Lemah	0.92 ± 0.21	Lemah	0.53±0.14	Lemah
50% (1:2)	0.72 ± 0.22	Lemah	1.05±0.04	Lemah	0.65±0.23	Lemah
20% (1:5)	0.83 ± 0.97	Lemah	0.97±0.14	Lemah	0.67±0.22	Lemah
0,05% (1:20)	1.12 ± 0.18	Lemah	1.47 ± 0.38	Lemah	1.03±0.32	Lemah
K+	21.67± 1.54	Sangat Kuat	21.75±1.25	Sangat Kuat	18.68±1.96	Kuat
K-	0 ± 0	-	0 ± 0	-	0 ± 0	-
K ⁰	0 ± 0	-	0 ± 0	-	0 ± 0	-

**Gambar 2.** Ekstrak Plasma *Tachypleus gigas*

terendah pada konsentrasi 100 % (0) sebesar 0.53±0.14 mm dan tertinggi pada konsentrasi 0,05 % (1:20) sebesar 1.03 ± 0.32 mm dengan kontrol positif sebesar 18.68 ± 1.96 mm. Berdasarkan

kategori hambatan bakteri menurut Magani *et al.*, (2020) apabila diameter zona hambat yang terbentuk lebih besar dari 20 mm maka kategori daya antibakteri adalah sangat kuat, apabila diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 11-20 mm termasuk kategori daya antibakterinya adalah kuat, sedangkan jika diameter zona hambat yang terbentuk sekitar 5-10 mm maka kategori daya antibakterinya adalah sedang, dan jika diameter zona hambatnya lebih kecil dari 5 mm maka kategori antibakterinya adalah lemah.

Analisis statistik sebagai pengujian data dilaksanakan dengan uji Kruskal wallis dan Uji Mann Whitney sebagai alternatif dari Uji Anova yang beberapa persyaratannya tidak terpenuhi dimana data tidak terdistribusi dengan normal dan nilai signifikansi lebih dari 0.05 (Quraisy dan Setiawan, 2021). Pengujian Kruskal wallis dan Uji Mann Whitney ditujukan untuk mengetahui adanya perbedaan nyata antara 3 waktu pengamatan dengan perbedaan zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* dari dua lokasi yang berbeda yang tertera pada tujuan ke 2 dalam penelitian. Hasil yang didapatkan berdasarkan 3 waktu pengamatan menunjukkan adanya perbedaan pada zona bening yang dihasilkan ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* dari dua lokasi yang berbeda. Perbedaan tersebut dapat diamati pada hasil nilai Asymp.sig yang ditampilkan pada Tabel 3.

Berdasarkan hasil Uji Kruskal Wallis sampel ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* dari perairan Desa Junganyar, Socah pada tabel 3 diperoleh nilai signifikansi pada waktu pengamatan 24 Jam sebesar $0,05 \leq 0,05$ sama dengan tolak H_0 yang menunjukkan terdapat perbedaan nyata diameter zona bening dari empat perlakuan ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas*. Pada waktu pengamatan 48 jam menghasilkan nilai signifikansi uji Kruskal Wallis sebesar $0.049 < 0.05$ sama dengan tolak H_0 yang menunjukkan terdapat perbedaan nyata diameter zona bening dari empat perlakuan ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas*. Pada waktu pengamatan 72 jam menunjukkan nilai signifikansi sebesar $0.036 < 0.05$ sama dengan tolak H_0 yang menunjukkan terdapat perbedaan nyata diameter zona bening dari empat perlakuan ekstrak plasma belangkas.

Berdasarkan hasil Uji Kruskal Wallis sampel ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* dari perairan Kelurahan Tambak Wedi, Surabaya pada tabel 4 diperoleh nilai signifikansi pada waktu pengamatan 24 Jam sebesar $0,044 < 0,05$ sama dengan tolak H_0 yang menunjukkan terdapat perbedaan nyata diameter zona bening dari empat perlakuan ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas*. Pada waktu pengamatan 48 jam menghasilkan nilai signifikansi uji Kruskal Wallis sebesar $0.075 > 0.05$ sama dengan terima H_0 yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata diameter zona bening dari empat perlakuan ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas*. Pada waktu pengamatan 72 jam menunjukkan nilai signifikansi sebesar $0.068 > 0.05$ sama dengan terima H_0 yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata diameter zona bening dari empat perlakuan ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas*. Hasil yang didapatkan kemudian dianalisa lebih lanjut dengan uji Mann-Whitney untuk mengetahui adanya perbedaan nyata kemampuan daya hambat ekstrak plasma belangkas dari kedua stasiun yang berbeda.

Berdasarkan hasil pengujian Mann-Whitney yang tertera pada Tabel 4. pengamatan 2 x 24 jam menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,05% (1:20) dan kontrol positif ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* dari perairan Desa Junganyar, Socah dan Kelurahan Tambak Wedi, Surabaya menunjukkan bahwa nilai sig (2-tailed) $0,050 \leq 0,05$ sama dengan Tolak H_0 , yang artinya terdapat perbedaan diameter zona bening yang dihasilkan pada ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas*. Berdasarkan pengujian Mann-Whitney diatas dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* terbaik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* ada pada konsentrasi 0,05% (1 ml plasma : 20 ml pelarut) dari perairan Tambak Wedi, Kecamatan Kenjeran, Surabaya (stasiun 2) dikarenakan pada keempat perlakuan dan kontrol positif dari 3 waktu pengamatan menunjukkan hasil zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak plasma belangkas dari perairan Desa Junganyar, Kecamatan Socah, Bangkalan (stasiun 1).

Menurut Suwandi *et al.* (2020) ekstrak *Tachypleus gigas* memiliki komponen bioaktif seperti alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, phenolic dan steroid. Senyawa bioaktif tersebut diketahui memiliki aktivitas antioksidan dimana semakin kecil konsentrasi larutan sampel yang diperlukan

untuk menghambat 50% radikal bebas maka antioksidan tersebut semakin kuat dalam menangkal radikal bebas. Berdasarkan penelitian yang dilaksanakan oleh Nadzari (2014) menunjukkan bahwa ekstrak kasar plasma *Tachypleus gigas* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pengujian dengan kedua isolat bakteri tersebut menghasilkan sedikit aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya sedikit zona bening pada cakram berisi ekstrak kasar plasma *Tachypleus gigas*, hal ini disebabkan oleh adanya hambatan dalam mengontrol pertumbuhan sel bakteri akibat senyawa antibakteri yang diekstrak masih dalam bentuk kasar dan tidak spesifik.

Senyawa bioaktif seperti flavonoid mengandung fenol dimana fenol merupakan salah satu alkohol yang memiliki sifat asam dengan kemampuan mendenaturasi protein, kemampuan ini dapat merusak membran sel khususnya dalam aktivitas antioksidan. Flavonoid dapat menjadi antibakteri dengan merusak dinding sel bakteri yang dapat merusak membran sel bakteri sehingga mengganggu transport nutrisi dan dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel (Yulneriwarni *et al.*, 2016). Syeikh *et al.* (2021) mengemukakan dalam penelitiannya belangkas *Tachypleus gigas* liar yang sehat memiliki densitas sel amebosit berkisar antara $2-6 \times 10^7$ sel/mL, hal tersebut dapat dipengaruhi oleh ukuran dan usia *Tachypleus gigas*. Kuantitas sel amebosit dalam plasma *Tachypleus gigas* juga dipengaruhi oleh produksi hemolimf dalam sel, produksi hemolimf dapat terganggu apabila terjadi infeksi penyakit akibat *Cyanobacteria*, jamur, bakteri gram positif & negatif sehingga dapat mempengaruhi kualitas sel amebosit belangkas dalam perannya sebagai antibodi hewan tersebut.

Tabel 3. Hasil Uji Kruskal Wallis ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* dari perairan Desa Jungnyar, Socah

Stasiun	Nilai Asymp. sig					
	24 Jam	Kategori	48 Jam	Kategori	72 Jam	Kategori
Stasiun 1	0.050	Berbeda Nyata	0.049	Berbeda Nyata	0.036	Berbeda Nyata
Stasiun 2	0.044	Berbeda Nyata	0.075	Tidak berbeda nyata	0.068	Tidak berbeda nyata

Tabel 4. Hasil Uji Mann Whitney Ekstrak Plasma Belangkas *Tachypleus gigas* Stasiun 1 dan Stasiun 2

Perlakuan (%)	Nilai Sig (2-tailed) Uji Mann-Whitney					
	24 Jam	Kategori	48 Jam	Kategori	72 Jam	Kategori
100% (0)	0.369	Tidak berbeda nyata	0.077	Tidak berbeda nyata	0.127	Tidak berbeda nyata
50% (1:2)	0.275	Tidak berbeda nyata	0.513	Tidak berbeda nyata	0.658	Tidak berbeda nyata
20% (1:5)	0.121	Tidak berbeda nyata	0.050	Berbeda Nyata	0.246	Tidak berbeda nyata
0,05% (1:20)	0.376	Tidak berbeda nyata	0.275	Tidak berbeda nyata	0.275	Tidak berbeda nyata
K+	0.046	Berbeda Nyata	0.050	Berbeda Nyata	0.050	Berbeda Nyata

KESIMPULAN

Ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* yang diperoleh dari perairan Tambak Wedi, Surabaya menunjukkan aktivitas zona hambat terhadap pertumbuhan Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang lebih efektif dikarenakan pada keempat perlakuan dan kontrol positif pada 3 waktu pengamatan menunjukkan hasil zona bening yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* dari perairan Desa Junganyar, Socah. Konsentrasi terbaik dari Ekstrak plasma belangkas *Tachypleus gigas* untuk menghambat pertumbuhan Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* adalah pada konsentrasi 1 : 20 ml untuk ekstrak belangkas *Tachypleus gigas* dari perairan Desa Junganyar, Socah dan konsentrasi 1 : 20 ml dari perairan Tambak Wedi, Surabaya dikarenakan menghasilkan zona hambat tetapi masih dikategorikan ke dalam aktivitas penghambatan lemah. Penelitian lebih lanjut disarankan untuk melakukan proses ekstraksi plasma hingga dalam fase murni agar mendapatkan kisaran zona hambat yang lebih bagus.

DAFTAR PUSTAKA

- Asih, E.N.N., Kawaroe, M., & Bengen, D.G., 2018. Biomaterial compounds and bioactivity of horseshoe crab *Carsinoscorpius rotundicauda* biomass harvested from the Madura Strait. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 141(1):p.012004. DOI: 10.1088/1755-1315/141/1/012004
- Ayini, U., Siti, H.B., & Titis, C.D., 2014. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus* secara In Vitro. *Biosaintifika*, 6(1):67-78.
- Feliatra., Zainuri., & Dessy, Y., 2014. Pathogenitas Bakteri *Vibrio sp* terhadap Udang Windu (*Penaeus Monodon*). *Jurnal Sungkai*, 2(1):23-33.
- Kasturi, M.M.M., Kamaruding, N.A., & Ismail, N., 2021. Characterization of Purified Tachypleus A2 Isolated From Amoebocytes of Asian Horseshoe Crab, *Tachypleus Gigas* as Potential Antibacterial Peptide. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 57(3):311-318. DOI: 10.1134/S0003683821030054
- Leschen, A.S., & Correia, S.J., 2010. Mortality in Female Horseshoe Crabs (*Limulus polyphemus*) from Biomedical Bleeding and Handling Implications for Fisheries Management. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 43(2):135-147. DOI:10.1080/10236241003786873
- Magani, S.K., Mupparthi, S.D., Gollapalli, B.P., Shukla, D., Tiwari, A.K., Gorantala, J., & Tantravahi, S., 2020. Salidroside-can it be a multifunctional drug? *Current Drug Metabolism*, 21(7):512-524. DOI:10.2174/1389200221666200610172105
- Muljono, P., & Manampiring, A.E., 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mayana Jantan (*Coleus atropurpure Benth*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus* Sp. dan *Pseudomonas* sp. *eBiomedik*, 4(1):165- 172. DOI:10.35790/ebm.4.1.2016.10860
- Nadzari, M.F.M., 2014. Characterization of crude extracts from horseshoe crabs *Tachypleus gigas* and *Carsinoscorpius rotundicauda* in Malaysia. Terengganu: Universiti Malaysia Terengganu.
- Nurisman, E., Syaiful, S., Faizal, M., & Estuningsih, S.P., 2020. Studi eksperimental uji potensi isolat bakteri petrofilik dalam menurunkan kadar amoniak pada air limbah. *Applicable Innovation of Engineering and Science Research*, pp.511-519.
- Pertiwi, R.D., Kristanto, J., & Praptiwi, G.A., 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Formulasi Gel Untuk Sariawan dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius* Linn.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2(2):239-247. DOI:10.51352/jim.v2i2.72
- Quraisy, A., & Madya, S., 2021. Analisis Nonparametrik Mann Whitney Terhadap Perbedaan Kemampuan Pemecahan Masalah Menggunakan Model Pembelajaran Problem Based Learning. *Journal of Statistics and Its Application On Teaching And Research*, 3(1):51–57. DOI:10.35580/Variansium23810
- Saragih, N.S., Sukiyono, K., & Cahyadinata, I., 2015. Analisis Resiko Produksi Dan Pendapatan Budidaya Tambak Udang Rakyat di Kelurahan Labuhan Deli, Kecamatan Medan Marelan,

- Kota Medan. *Jurnal AGRISEP Kajian Masalah Sosial Ekonomi Pertanian dan Agribisnis*,14(1): 39-52. DOI:10.31186/jagrisep.14.1.39-52
- Soebandriyo, S., 2015. Analisis Produksi Perikanan Laut, Budidaya Laut, Tambak, Dan Kolam, Perikanan Tangkap Di Kabupaten Rembang. *Jurnal Litbang Provinsi Jawa Tengah*, 13(1): 25-43.
- Suryana, A., Asih, E.N.N., & Insafitri, I., 2023. Fenomena Infeksi Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease pada Budidaya Udang Vaname di Kabupaten Bangkalan. *Journal of Marine Research*, 12(2):212-220.
- Suwandi, R., Ula, M.Z., & Pertiwi, R.M., 2020. Characteristics of chemical compounds of horseshoe crabs *Tachypleus gigas* in different body proportions. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 404(1): p.012029. DOI:10.1088/1755-1315/404/1/012029
- Sheikh, H.I., John, B.A., Ichwan, S.J., & Kamaruzzaaman, B.Y. 2021. Effect of prolonged captivity on the hemolymph profile of *Tachypleus gigas* using the various anticoagulant formulations. *Aquaculture Reports*, 20: p.100760.