

SENSITIVITAS EKSTRAK DAUN *Xylocarpus* sp. TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas* sp.

Atika Putri NF¹⁾, Henni Syawal²⁾, Iesje Lukistyowati²⁾

Budi Daya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan
Universitas Riau, Pekanbaru, Provinsi Riau

ABSTRACT

This research was conducted from November 2016 until April 2017 in the Parasites and Fish Disease Laboratory, Faculty of Fisheries and Marine, University of Riau and Integrated Chemical Laboratory, Faculty of Mathematics and Natural Science of Health Muhammadiyah University of Riau. The aims of this research was to determine the sensitivity of *Xylocarpus* sp. leaf extract on *Pseudomonas* sp., the range of *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) of *Xylocarpus* sp. leaf extract can inhibit the growth of *Pseudomonas* sp. and know the toxicity of *Xylocarpus* sp. leaf extract against African catfish, the LC_{50} test conducted by immersion for 24 hours. This research used an experimental method. The treatment that being used were giving *Xylocarpus* sp. leaf extract at a concentration of D₁ (100%), D₂ (90%), D₃ (80%), D₄ (70%), D₅ (60%), D₆ (50%), D₇ (40%), D₈ (30%), D₉ (20%), D₁₀ (10%) and Kp : control (cloramphenicol). The results showed that *Xylocarpus* sp. leaf extract can inhibit the growth of *Pseudomonas* sp. at a concentration of 10% with an average of 8,12 mm zone of inhibition. MIC test showed a concentration of 8,5% average number of colonies of bacteria as much as $248,67 \times 10^8$ CFU/mL can inhibit the growth of *Pseudomonas* sp. LC_{50} *Xylocarpus* sp. leaf extract against African catfish by immersion for 24 hours in the concentration 8,6% (860 ppm).

Key words : *Xylocarpus* sp., *Minimum Inhibitory Concentration*, *Pseudomonas* sp., Sensitivitas, LC_{50}

1. Mahasiswa pada Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau
2. Dosen pada Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

PENDAHULUAN

Permasalahan yang sering muncul dalam budi daya ikan adalah timbulnya penyakit. Serangan penyakit ikan yang disebabkan oleh bakteri banyak menimbulkan kerugian bagi para petani. Menurut Handayani (2012), salah satu penyakit menular yang dapat menimbulkan kerugian besar adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Pseudomonas* sp. Biasanya, ikan yang terserang akan mengalami pendarahan pada bagian tubuh terutama di bagian

dada, perut, dan pangkal sirip (Khairuman dan Sudenda 2011). Untuk mengatasi permasalahan akibat serangan agen patogenik pada ikan, para petani ataupun pengusaha ikan banyak menggunakan berbagai bahan-bahan kimia maupun antibiotika dalam pengendalian penyakit tersebut. Untuk mengatasi penyakit bakterial pada ikan dapat digunakan berbagai macam antibiotika tertentu. Namun penggunaan antibiotika dengan dosis yang tidak tepat dan dalam jangka waktu lama, berdampak negatif yaitu dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten atau

kebal terhadap antibiotika yang diberikan. Upaya pencegahan dan pengobatan penyakit ikan pada sistem budi daya sedang diarahkan pada penggunaan bahan alami yang terbukti efektif dan aman untuk manusia dan lingkungan.

Salah satu alternatif bahan fitofarmaka yang berpotensi mempunyai aktivitas sebagai antibakteri adalah ekstrak daun *Xylocarpus* sp. Hasil uji fitokimia ekstrak daun *Xylocarpus* sp. yang telah dilakukan oleh Syawal dan Rahman (2016) membuktikan bahwa terkandung senyawa-senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antibakteri, diantaranya adalah senyawa golongan steroid, flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil penelitian Akter *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa daun *X. mekongensis* yang diekstrak dengan metanol kemudian diuji sensitivitasnya pada *Pseudomonas aeruginosa* dengan dosis 250 mg/mL menghasilkan zona hambat sebesar 7,25 mm. Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik melakukan penelitian dengan menggunakan daun *Xylocarpus* sp. yang diekstrak dengan metanol untuk mengamati sensitivitasnya terhadap *Pseudomonas* sp. serta efek toksisitas akut pada ikan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui sensitivitas ekstrak daun *Xylocarpus* sp. terhadap *Pseudomonas* sp., konsentrasi *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dari ekstrak daun *Xylocarpus* sp. yang dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas* sp. serta *Lethal Concentration*₅₀ (LC₅₀) ekstrak daun *Xylocarpus* sp. terhadap ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah memberikan informasi bagi masyarakat tentang potensi daun *Xylocarpus* sp. sebagai bahan antibakteri alami.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif dengan menggunakan metode difusi cakram yang menggunakan *disk blank* berdiameter 6

mm. Adapun konsentrasi ekstrak daun *Xylocarpus* sp. yang digunakan adalah sebagai berikut : D₁ (100%), D₂ (90%), D₃ (80%), D₄ (70%), D₅ (60%), D₆ (50%), D₇ (40%), D₈ (30%), D₉ (20%), D₁₀ (10%) dan kontrol positif (Kp) dengan menggunakan antibiotik (*Kloramfenikol*) dengan konsentrasi 10 µg/mL.

Media Tumbuh Bakteri untuk *Pseudomonas* sp.

Sebelum dilakukan pembuatan media, alat-alat yang digunakan seperti cawan petri dan tabung reaksi terlebih dahulu disterilisasikan dengan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit. Media tumbuh untuk *Pseudomonas* sp. adalah media GSP (*Glutamat Starch Phenol*) dengan perbandingan 45g/L, kemudian untuk memurnikan bakteri *Pseudomonas* sp. digunakan media TSA (*Triptic Soya Agar*) dengan perbandingan 40g/L dan media cair TSB (*Triptic Soya Broth*) dengan perbandingan 30g/L (Dwijoseputro, 2010).

Proses Pembuatan Ekstrak daun *Xylocarpus* sp.

Sampel daun *Xylocarpus* sp. diambil sebanyak 15 kg dalam berat basah berasal dari Kawasan Konservasi Bandar Bakau Kota Dumai. Kemudian dicuci dengan air mengalir dan dipotong kecil-kecil, lalu dikeringanginkan selama 7 hari dan didapatkan 6 kg daun *Xylocarpus* sp. kering. Daun *Xylocarpus* sp. kering dihaluskan menggunakan *blender*, dan diayak menggunakan saringan *mesh size* 20 hingga didapatkan tepung daun (*simplisia*) berupa butiran halus dan seragam. *Simplisia* daun *Xylocarpus* sp. diambil sebanyak 200 g terlebih dahulu dimaserasi dalam larutan metanol 96%, dengan perbandingan bahan dan pelarut adalah 1:5 (b/v).

Botol kaca yang berisi rendaman tersebut disimpan pada suhu ruang selama 24 jam sambil sesekali diaduk untuk mempercepat kontak antara sampel dengan

pelarut. Setelah itu, sampel disaring dengan kertas saring *mesh size* 50 μm sehingga diperoleh filtrat dan residu. Selanjutnya residu dilakukan remaserasi (perendaman kembali menggunakan pelarut dengan cara yang sama), sebanyak 8 kali sampai diperoleh filtrat berwarna bening. Filtrat yang dihasilkan ditampung menjadi satu dan dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 50°C dengan kecepatan 250 rpm, untuk memisahkan ekstrak dengan pelarutnya dan diperoleh ekstrak kental.

Penyediaan Isolat Bakteri *Pseudomonas* sp.

Isolat *Pseudomonas* sp. berasal dari sampel ikan lele dumbo yang menunjukkan gejala klinis terserang penyakit berupa luka dan pendarahan pada beberapa bagian tubuh. Isolasi dilakukan pada kulit dan luka tubuh ikan lele dumbo, kemudian dikultur pada media GSP selanjutnya diinkubasi dalam inkubator selama 18-24 jam pada suhu 28-30°C, setelah 24 jam diamati koloni bakteri yang tumbuh. Jika koloni berbentuk bulat dan berwarna putih-krem kekuningan pada media GSP, berarti yang tumbuh tersebut adalah *Pseudomonas* sp. Kemudian inokulum *Pseudomonas* sp. dikultur ke media TSB dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 28-30°C selama 24 jam.

Uji *In Vitro*

Pengamatan Zona Hambat (*Clear Zone*)

Pengamatan zona hambat dengan menggunakan metode difusi cakram yang menggunakan *disk blank* berdiameter 6 mm. Tahap awal, media TSA padat diberi suspensi *Pseudomonas* sp. dari TSB dengan kepadatan bakteri 10⁸CFU/mL sebanyak 50 μL disebarkan secara merata menggunakan *spreader glass*. Selanjutnya, disiapkan *disk blank* untuk diberi ekstrak daun *Xylocarpus* sp. sebanyak 50 μL sesuai konsentrasi yang telah ditentukan dan didiamkan selama \pm 2 menit. Masing-

masing *disk blank* yang sudah diberi ekstrak daun *Xylocarpus* sp. diletakkan pada media TSA yang telah diberi inokulum *Pseudomonas* sp., hal ini dilakukan secara aseptik di *laminar flow*. Selanjutnya, diinkubasi dalam inkubator pada suhu 28-30°C selama 18-24 jam. Setelah 24 jam masa inkubasi maka dapat dilakukan pengamatan zona hambat dan diameter diukur menggunakan jangka sorong (Affandi *et al.*, 2009).

Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Uji MIC dilakukan untuk mengetahui konsentrasi minimum dari ekstrak daun *Xylocarpus* sp. untuk menghambat pertumbuhan *Pseudomonas* sp. Konsentrasi yang digunakan berdasarkan hasil uji sensitivitas, yaitu konsentrasi yang menghasilkan zona hambat terkecil sampai konsentrasi yang tidak menghasilkan zona hambat. Masing-masing konsentrasi yang telah ditentukan ditambahkan 50 μL *Pseudomonas* sp. dengan kepadatan bakteri 10⁸ CFU/mL, kemudian divortex agar homogen. Selanjutnya, suspensi bakteri diambil sebanyak 50 μL untuk ditumbuhkan pada media TSA dan inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 28-30°C dalam inkubator. Setelah 18-24 jam, pertumbuhan koloni bakteri diamati dan dihitung jumlah koloni bakteri (Soleha, 2015). Cawan penghitungan koloni bakteri sesuai dengan kaidah statistik yaitu cawan yang berisi 30-300 koloni bakteri (Waluyo, 2008).

Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Xylocarpus* sp. terhadap Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Uji toksisitas diawali dengan mempersiapkan ikan uji, yaitu ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) berukuran 8-10 cm sebanyak 10 ekor per wadah. Selanjutnya wadah dibersihkan menggunakan KMnO₄ (PK) dan didiamkan selama 24 jam, setelah itu wadah dikeringkan. Wadah yang digunakan bervolume 10 L dan

dilarutkan dengan ekstrak daun *Xylocarpus* sp. dengan konsentrasi yang digunakan berdasarkan konsentrasi pada uji MIC dan kontrol. Ikan uji dipelihara selama 24 jam untuk mengamati tingkah laku ikan dan kematian ikan mencapai 50%. Data yang diperoleh ditabulasikan dan ditentukan LC₅₀ dengan perhitungan metode Reed dan Muench (1938) dalam Harmita dan Radji (2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sensitivitas Ekstrak Daun *Xylocarpus* sp. terhadap *Pseudomonas* sp.

Hasil uji sensitivitas menunjukkan bahwa penggunaan kloramfenikol sebagai kontrol positif (Kp) dan ekstrak daun *Xylocarpus* sp. dengan konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% dan 10% memiliki kemampuan zona hambat yang berbeda terhadap pertumbuhan *Pseudomonas* sp. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Zona Hambat Ekstrak daun *Xylocarpus* sp. terhadap *Pseudomonas* sp.

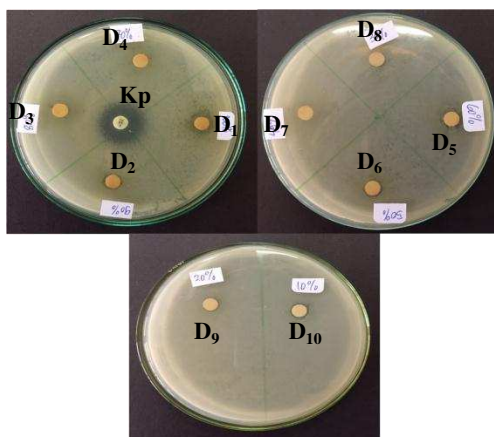
Konsentrasi (%)	Zona Hambat (mm) pada Setiap Ulangan			Rerata Zona Hambat yang terbentuk (mm)
	1	2	3	
100%	10,10	9,40	8,37	9,42
90%	10,45	8,55	7,90	8,97
80%	10,95	8,00	7,90	8,95
70%	10,05	8,55	7,50	8,70
60%	9,80	8,20	7,85	8,62
50%	9,30	8,20	7,80	8,43
40%	9,55	8,25	7,45	8,42
30%	9,20	8,00	7,35	8,18
20%	8,45	8,25	7,70	8,13
10%	8,55	8,25	7,55	8,12
Kloramfenikol	20,15	21,50	20,25	20,63

Keterangan :Kp = Kontrol positif dengan menggunakan antibiotik (*Kloramfenikol*, kadar dalam disk 30µg/mL)

Berdasarkan Tabel 1, dapat diketahui bahwa ekstrak daun *Xylocarpus* sp. konsentrasi 100% - 10% dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas* sp., hal ini dapat dilihat dari rerata zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi. Zona hambat dari kloramfenikol mempunyai rerata diameter lebih besar yaitu 20,63 mm dibandingkan diameter zona hambat dari ekstrak daun *Xylocarpus* sp., walaupun konsentrasi yang digunakan lebih rendah dari konsentrasi ekstrak.

Kloramfenikol merupakan zat antibakteri murni, sehingga dalam konsentrasi kecil dapat menghambat

pertumbuhan bakteri dengan kekuatan tinggi. Sedangkan ekstrak *Xylocarpus* sp. yang digunakan masih merupakan ekstrak kasar (*crude extract*). Menurut Raphael (1987) dalam Sari (2008), kloramfenikol merupakan antibiotik aminoglikosida, yaitu antibiotik bakteriostatik yang tidak membunuh bakteri melainkan menghambat sintesis protein yang sangat diperlukan dalam perbanyakan dan pembelahan sel bakteri. Hasil uji sensitivitas ekstrak daun *Xylocarpus* sp. terhadap *Pseudomonas* sp. dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Uji Zona Hambat Ekstrak daun *Xylocarpus* sp. terhadap *Pseudomonas* sp.
Keterangan : D₁ (100%); D₂ (90%); D₃ (80%); D₄ (70%); D₅ (60%); D₆ (50%); D₇ (40%); D₈ (30%); D₉ (20%); D₁₀ (10%) dan Kp = Kontrol positif (Antibiotik Kloramfenikol) dosis 30µg/mL

Berdasarkan Gambar 1, adanya zona bening disekeliling cakram kertas membuktikan bahwa ekstrak daun *Xylocarpus* sp. dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas* sp. Konsentrasi 100% menghasilkan rerata zona hambat terbesar, yaitu 9,42 mm, sedangkan rerata zona hambat terkecil yaitu 8,12 mm pada konsentrasi 10%. Adanya perbedaan diameter zona hambat yang terbentuk dipengaruhi oleh peningkatan dan penurunan konsentrasi dari zat yang terkandung dalam ekstrak daun *Xylocarpus* sp. Menurut Ajizah (2004), bahwa semakin pekat konsentrasi suatu ekstrak, maka senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya akan semakin banyak, sehingga memberikan pengaruh terhadap diameter zona hambat yang terbentuk. Menurut Dewi (2010), penurunan luas zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi yang lebih rendah kemungkinan terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar.

Hasil penelitian Akter *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa adanya aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun mangrove *X.mekongensis* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi 250 mg/mL menghasilkan zona hambat sebesar 7,25 mm. Selain itu, pada konsentrasi yang sama menghasilkan

zona hambat terhadap bakteri *E. coli* (7,5 mm), *S. thypi* (8,25 mm), *S. parathypi* (8,75 mm) dan *S. aureus* (7,75 mm). Sedangkan hasil penelitian Hendrawan *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun mangrove *X. granatum* dengan konsentrasi 100 mg/mL tidak memiliki zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Zona hambat yang terbentuk pada penelitian ini menunjukkan hasil yang lebih baik yaitu sebesar 9,42 mm.

Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) Ekstrak Daun *Xylocarpus* sp. terhadap *Pseudomonas* sp.

Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dilakukan berdasarkan hasil uji sensitivitas ekstrak daun *Xylocarpus* sp. dengan konsentrasi yang menghasilkan zona hambat minimum, yang selanjutnya dilakukan pengenceran hingga diperoleh konsentrasi 9%, 8%, 7%, 6% dan 5%. Namun, pada konsentrasi 5% – 7% tidak mampu menghambat pertumbuhan *Pseudomonas* sp. dan menghasilkan jumlah koloni tidak terhingga (∞) sehingga dilakukan peningkatan konsentrasi ekstrak daun *Xylocarpus* sp. menjadi 9,5%, 9%, 8,5% dan 8%. Uji MIC bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimum yang

mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil uji MIC ekstrak daun *Xylocarpus* sp.

terhadap bakteri *Pseudomonas* sp. dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri *Pseudomonas* sp. Setelah diberi Perlakuan Ekstrak daun *Xylocarpus* sp.

Konsentrasi (%)	Kepadatan Bakteri Uji MIC pada Media TSB	Jumlah Koloni pada Media TSA (10 L)			Rerata Jumlah Koloni Bakteri (CFU/mL)
		I	II	III	
9,5	+	57	51	40	$49,33 \times 10^8$
9	++	81	100	51	$77,33 \times 10^8$
8,5	+++	231	253	262	$248,67 \times 10^8$
8	∞	∞	∞	∞	∞

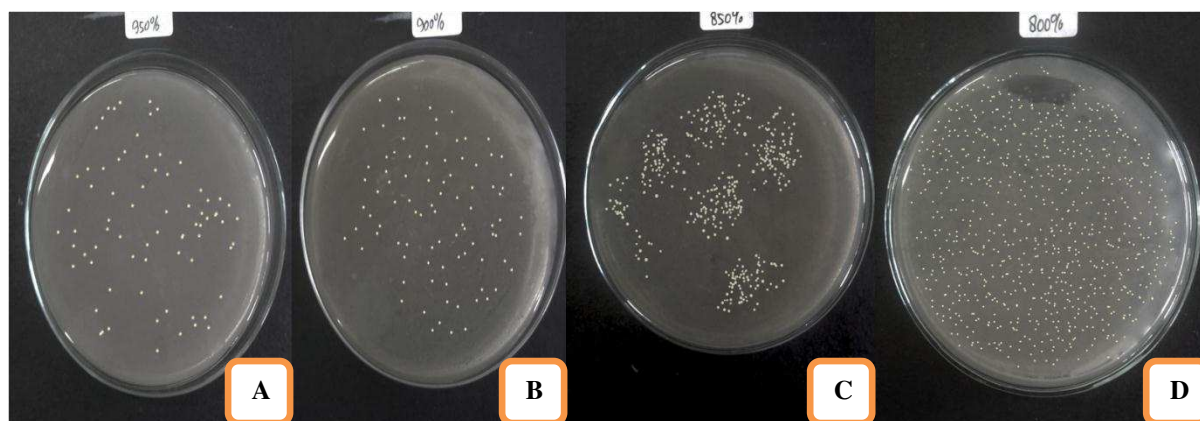
Keterangan : ∞ = Tidak Terhingga; + = Keruh; ++ = Agak Keruh; +++ = Sangat Keruh

Tingkat kekeruhan dan kepadatan bakteri pada data Tabel 2 menunjukkan kemampuan dari ekstrak daun mangrove *Xylocarpus* sp. dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini menandakan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan, maka jumlah bakteri yang tumbuh pada media TSB maupun TSA semakin sedikit. Untuk menandakan tingkat pertumbuhan dari bakteri pada media TSB ditandai dengan tingkat kekeruhan media, yaitu semakin banyak

bakteri yang tumbuh maka semakin pekat kekeruhannya (Gambar 2), sedangkan pada media TSA ditandai dengan jumlah koloni bakteri yang tumbuh (Gambar 3). Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Purwoko (2007) dalam Munfaati *et al.*, (2015) yang menyatakan bahwa jumlah sel bakteri dapat diukur dengan cara mengetahui tingkat kekeruhan (turbiditas) media kultur, semakin keruh suatu kultur maka semakin banyak jumlah selnya.



Gambar 2. Hasil Uji MIC Ekstrak daun *Xylocarpus* sp. terhadap Bakteri *Pseudomonas* sp.



Gambar 3. Pertumbuhan Koloni *Pseudomonas* sp. yang diberi Ekstrak Daun *Xylocarpus* sp.
Keterangan : A. 9,5%; B. 9%; C. 8,5% dan D. 8%

Menurut Dwijoseputro (2010), pertumbuhan koloni bakteri yang terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah 30 – 300 koloni. Sifat antibakteri suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas yang tinggi apabila nilai konsentrasi MIC penghambatan bakteri yang terendah atau kecil, tetapi mempunyai diameter penghambatan yang besar (Irianto, 2006).

Dibandingkan ekstrak metanol daun *Xylocarpus* sp. terhadap *Pseudomonas* sp. pada konsentrasi 8,5% mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan rerata jumlah koloni sebanyak $248,67 \times 10^8$ CFU/mL. Hasil penelitian Vadlapudi *et al.*, (2009), menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji dan kulit batang *X. granatum* pada konsentrasi 80 μ g/mL mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. marginales*. Mondal *et al.*, (2008), melaporkan bahwa ekstrak pneumatofor *X. moluccensis* pada konsentrasi 700 μ g/mL mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*. Sedangkan Akter *et al.*, (2016), menyatakan bahwa ekstrak metanol daun *X. mekongensis* pada konsentrasi 1000 μ g/mL mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun *Xylocarpus* sp. yang diberikan maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri *Pseudomonas* sp. yang tumbuh, dibuktikan dari hasil nilai MIC pada konsentrasi 9,5%

yang ditandai dengan rerata jumlah koloni bakteri *Pseudomonas* sp. yang tumbuh yaitu $49,33 \times 10^8$ CFU/mL. Penurunan jumlah koloni bakteri pada penelitian ini diduga karena pada konsentrasi yang semakin tinggi mengandung senyawa antibakteri yang lebih banyak sehingga semakin banyak senyawa antibakteri yang diserap oleh bakteri dan menyebabkan pertumbuhan koloni bakteri menjadi terhambat.

Menurut Gazali *et al.*, (2014), bahwa ekstrak dari tumbuhan mangrove *Xylocarpus* sp. mengandung senyawa metabolit sekunder seperti; steroid, flavonoid, saponin dan tannin aktif sebagai senyawa antibakteri. Mekanisme penghambatan antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri dapat berupa kerusakan dinding sel yang mengakibatkan lisis atau penghambatan sintesis dinding sel, mengubah permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan melalui dinding sel, denaturasi protein sel dan perusakan sistem metabolisme di dalam sel dengan cara penghambatan kerja enzim intraseluler (Pelczar dan Reid, 1972 dalam Oktavianus, 2013).

Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Xylocarpus* sp. terhadap Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Uji toksisitas LC_{50} ekstrak daun *Xylocarpus* sp. dilakukan untuk

mendapatkan konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) yang diujikan sebanyak 10 ekor per akuarium dan dilakukan ulangan sebanyak 3 kali selama 24 jam. Konsentrasi yang digunakan

berdasarkan hasil uji MIC yang didapatkan, yaitu; kontrol (perendaman ikan uji tanpa diberi ekstrak daun), 9,5% (950 ppm), 9% (900 ppm), 8,5% (850 ppm) dan 8% (800 ppm). Hasil uji toksisitas dapat dilihat pada Tabel 3.

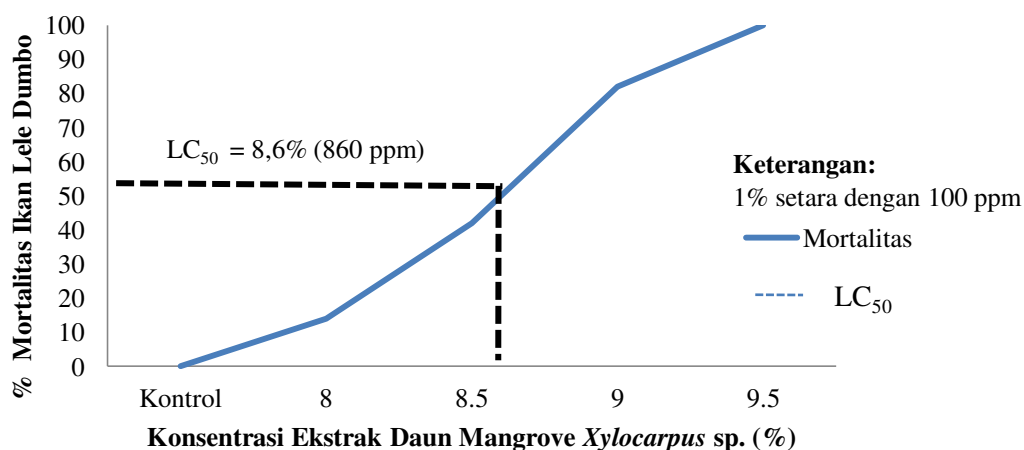
Tabel 3. Hasil Perhitungan Penentuan LC₅₀ Menurut Metode Reed dan Muench (1938) Selama 24 Jam

Konsentrasi (%)	Mati	Hidup	Akumulasi			Ratio Kematian	% Kematian	LC ₅₀ (ppm)
			Mati	Hidup	Total			
9,5	30	0	71	0	71	71/71	100	} 860
9	21	9	41	9	50	41/50	82	
8,5	12	18	20	27	47	20/47	42	
8	8	22	8	49	57	8/57	14	
Kontrol	0	30	0	79	79	0/79	0	

Keterangan : } Menunjukkan nilai LC₅₀ pada konsentrasi antara 8,5-9 %

Berdasarkan Tabel 3, mortalitas ikan lele dumbo terhadap ekstrak daun *Xylocarpus* sp. menunjukkan bahwa tingkat mortalitas tertinggi yaitu pada konsentrasi 900 ppm dan 950 ppm sebesar 82% dan 100%, sedangkan tingkat mortalitas terendah terdapat pada konsentrasi 800 ppm sebesar 14%. Pada konsentrasi 850 ppm, mortalitas ikan lele dumbo hampir mencapai 50% selama 24 jam pengamatan. Berdasarkan hasil perhitungan LC₅₀ menurut Reed dan Muench, konsentrasi yang dapat menimbulkan kematian ikan ikan lele

dumbo sebanyak 50% selama 24 jam adalah 860 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun *Xylocarpus* sp. tidak bersifat racun bagi ikan apabila diberikan pada konsentrasi < 860 ppm sehingga bila diaplikasikan pada ikan diperlukan pembatasan konsentrasi larutan yang tidak bersifat racun tetapi dapat meningkatkan daya tahan tubuh ikan terhadap serangan bakteri. Grafik mortalitas ikan lele dumbo setelah direndam menggunakan larutan ekstrak daun *Xylocarpus* sp. selama 24 jam dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik Mortalitas Ikan Lele Dumbo Setelah direndam Larutan Ekstrak Daun *Xylocarpus* sp. Selama 24 Jam

Berdasarkan Gambar 4, menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pemberian ekstrak daun *Xylocarpus* sp. maka semakin meningkat pula mortalitas pada ikan uji. Hal ini dikarenakan senyawa toksik yang terdapat dalam ekstrak daun *Xylocarpus* sp. semakin meningkat juga. Harborne (1987) dalam Melki *et al.*, (2011) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya akan semakin tinggi.

Faktor lain yang menyebabkan mortalitas pada ikan lele dumbo selama pengamatan disebabkan oleh adanya

Tingkah laku ikan lele dumbo setelah direndam ekstrak daun *Xylocarpus* sp. umumnya pergerakan ikan pasif dan tidak beraturan, ikan tidak responsif terhadap ikan kesulitan untuk bernafas, sebagai upaya untuk menghirup udara (berenang di permukaan air). Menurut Huri dan Syafriadiman (2009), tanda-tanda ikan yang terpapar dengan toksikan yaitu; (1) ikan pasif dan bila diberi rangsangan tidak memberi respon, (2) keseimbangan tubuh ikan cenderung mengapung di permukaan air, (3) sulit untuk bernafas dan gerakan operculum cepat.

Robert (1982) dalam Syawal *et al.*, (2008) menyatakan bahwa, stres pada ikan merupakan upaya yang dilakukan oleh sistem fisiologis untuk mempertahankan diri atau beradaptasi dengan perubahan kondisi lingkungan, hal ini juga dipengaruhi oleh umur dan spesies ikan. Stres yang ditimbulkan pada ikan seperti dari tindakan pengobatan atau pencegahan penyakit dapat menyebabkan gangguan produksi mukus sehingga ikan akan kehilangan salah satu sistem pertahanan tubuh dan fungsi osmoregulasi. Selain itu, adanya gerakan ikan yang melompat-lompat ke permukaan air menunjukkan ikan merasa tidak nyaman dengan lingkungannya, sehingga ikan tersebut berusaha untuk menghindar (Irianto, 2005).

senyawa saponin yang terkandung di dalam ekstrak daun *Xylocarpus* sp. Adanya saponin ini menimbulkan buih di dalam air, sehingga ikan mengalami kesulitan untuk mendapatkan oksigen. Menurut Lukistyowati (2012), saponin merupakan golongan senyawa glikosida yang dapat menimbulkan busa bila dikocok di dalam air dan menyebabkan hemolisis eritrosit, serta dapat bersifat racun pada hewan akuatik/ikan. Saponin masuk ke dalam tubuh ikan dan mengikat hemoglobin sehingga menyebabkan ikan kekurangan darah dan dapat menyebabkan kematian. rangsangan dari luar, bergerak bergerombol mendekati aerasi, produksi mukus berlebihan dan ikan sering muncul ke permukaan karena

Rudiyanti *et al.*, (2010) menyatakan bahwa ikan yang terkena toksikan dapat diketahui dengan gerakan yang hiperaktif, lebih sering berada di permukaan, lumpuh sehingga kemampuan ikan untuk beradaptasi semakin berkurang dan akhirnya dapat menyebabkan kematian. Secara klinis ikan yang terkontaminasi zat toksik memperlihatkan gejala stres, ditandai dengan gerakan yang kurang stabil dan cenderung berada di dasar. Hal ini merupakan salah satu cara memperkecil proses biokimia dalam tubuh yang teracuni sehingga efek lethal yang terjadi lebih lambat. Menurut Kinasih *et al.*, (2013), pengaruh zat toksik terhadap ikan menyebabkan perubahan morfologi insang. Selain itu, zat toksik dapat merusak fungsi respirasi dari insang sehingga proses metabolisme tubuh terganggu.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun *Xylocarpus* sp. pada konsentrasi 10% masih mampu menghambat pertumbuhan *Pseudomonas* sp. dengan rerata zona hambat sebesar 8,12 mm. Konsentrasi *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

ekstrak daun *Xylocarpus* sp. adalah pada konsentrasi 8,5% dengan rerata jumlah koloni bakteri yang tumbuh yaitu $248,67 \times 10^8$ CFU/mL. Hasil uji toksisitas LC_{50} (*Lethal Concentration*₅₀) ekstrak daun *Xylocarpus* sp. terhadap ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) dengan cara perendaman selama 24 jam adalah pada konsentrasi 8,6% (860 ppm).

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, A. A. Fauzia dan S.D. Lesmana. 2009. Penentuan Dosis Hambat Minimal dan Konsentrasi Bunuh Minimal Larutan Povidon Iodium 10% terhadap *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (MRSA) dan *Staphylococcus aureus* Sensitif Metisilin (MSSA). *JIK*, 3 (1) : 14-19.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Bioscientiae*, 1 (1) : 8-31.
- Akter, M., S. Afrin., Sk. N. Sakib., R. Biswas., Md. M. Billah., M. S. Rahman and U.S. Zohora. 2016. Investigation of Antibacterial, Cytotoxic and Antioxidant Properties of the Mangrove Plant *Xylocarpus mekongensis*. *J. Advances in Bioscience and Biotechnology*, 7 : 205-213.
- Dewi, F. K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 38 hlm (tidak dipublikasikan).
- Dwijoseputro, D. 2010. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta : Djambatan Press. 214 hlm.
- Gazali, M., N. P. Zamani dan I. Batubara. 2014. Potensi Limbah Kulit Buah Nyirih *Xylocarpus granatum* Sebagai Inhibitor Tirosinase. *Depik*, 3 (3) : 187-194.
- Handayani, E. 2012. Prevalensi Infeksi Bakteri Patogen pada Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) di Kawasan Minapolitan Kabupaten Banjar. [Tesis]. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 99 hlm.
- Huri, E dan Syafridiman. 2009. Pengaruh Konsentrasi $ALK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ (Aluminium Potassium Sulfat) terhadap Perubahan Bukaam Operkulum dan Sel Jaringan Insang Ikan Nila Merah (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Berkala Perikanan Terubuk*, 37 (2) : 21-36.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi Jilid I : Menguk Dunia Mikroorganisme*. Bandung : CV. Yrama Widya. 256 hlm.
- Khairuman dan Sudenda D. 2011. *Budidaya Ikan Patin Secara Intensif*. Jakarta : Agro Media Pustaka. 89 hlm.
- Kinasih, I., Supriyatna, A dan Rusputa R.N. 2013. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides* Linn) terhadap Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linn) Sebagai Organisme Non-Target. *ISSN 1979-8911*, VII (2) : 121-132.
- Lukistyowati, I. 2012. Studi Efektivitas Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) untuk Mencegah Penyakit *Edwardsiellosis* pada Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). *Jurnal Berkala Perikanan Terubuk*, 40 (2) : 56-74.

- Melki., D. Soedharma., H. Effendi dan A. Z. Mustopa. 2011. Biopotensi Tumbuhan Mangrove untuk Pencegahan Penyakit Vibrosis pada Udang Windu. *Maspari Journal*, 2 : 39-47.
- Mondal, S., Paul S.K., Uddin S.J., Nahar L., Auzi A.A and Sarker S.D. 2008. A Comparative Study on the In Vitro Antibacterial Activity of the Pneumatophores of *Heritiera fomes* and *Xylocarpus moluccensis*. *Ars Pharm*, 49 (1) : 51-56.
- Munfaati, P.N., E. Ratnasari dan G. Trimulyono. 2015. Aktivitas Senyawa Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro. *LenteraBio*. 4 (1) : 64-71.
- Oktavianus, S. 2013. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove Jenis *Avicennia marina* terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. [Skripsi]. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hasanuddin. Makassar. 62 hlm.
- Rudiyanti, S. 2010. Toksisitas Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotina tobacum*) terhadap Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Saintek Perikanan*, 6 (1) : 56-61.
- Sari, D.K. 2008. Penapisan Antibakteri dan Inhibitor Topoisomerase I dari *Xylocarpus granatum*. [Tesis]. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 73 hlm.
- Soleha, T. U. 2015. Uji Kepekaan Terhadap Antibiotik. *Juke UniLa*, 5 (9) : 119-123.
- Syawal, H., Syafriadiman dan S. Hidayah. 2008. Pemberian Ekstrak Kayu Siwak (*Salvadora persica* L.) untuk Meningkatkan Kekebalan Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) yang dipelihara dalam Keramba. *Biodiversitas*. 1 (9) : 44-47.
- _____ dan R. Karnila. 2016. Isolasi Flavonoid dari Tumbuhan Mangrove sebagai Bahan Imunostimulan untuk Meningkatkan Kekebalan Ikan Air Tawar terhadap Penyakit *Ichthyophthiriasis*. Laporan Penelitian Fundamental. Universitas Riau. Pekanbaru. 41 hlm.
- Vadlapudi, V.R., V. Bobbarala and K.C. Naidu. 2009. Comparative Screening of Selected Mangrove Plant Methanolic Extracts Against Clinical and Plant Pathogens. *Journal of Pharmacy Research*, 2 (6) : 1062-1064.
- Waluyo, L. 2008. *Teknik Metode Dasar Mikrobiologi : Teknik Pengenceran dan Penghitungan Bakteri*. Malang : UMM Press.