

SENSITIVITAS EKSTRAK BUAH MENGGUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus agalactiae*

By

Anzila Rizki Wahyu Muharrama¹⁾, Henni Syawal²⁾, Iesje Lukistyowati²⁾

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau

²⁾ Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau

ABSTRACT

The research was conducted from October to December 2014 in the Laboratory of Parasitic Diseases of Fish Faculty of Fisheries and Marine Sciences, and Laboratory of organic and natural material of Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Riau, Pekanbaru. The purpose of this study to determine the concentration of noni fruit (*Morinda citrifolia* L.) that can inhibit the growth of *Streptococcus agalactiae* and safe dose to be given to the fish. The method that had been used was experimental method with concentration : P0: control, P1 (4%), P2 (5%), P3 (6%), P4 (7%), P5 (8%), P6 (9%), P7 (10%). The results show noni fruit solution to *Streptococcus agalactiae* sensitive average highest inhibition zone formed on treatment P7 (10%) of 9.83 mm and significantly different between treatments ($P < 0.05$). MIC test of extract methanol *Morinda citrifolia* L. on treatment P2 (5%) of 78×10^8 cfu/mL. LD₅₀ test solution for tilapia (*Oreochromis niloticus*) extract methanol *Morinda citrifolia* L. marinated for 24 hours after Reed and Muench analysis contained in the concentration of 1.42%.

Key word: *Morinda citrifolia* L., *Streptococcus agalactiae*, Sensitivitas, MIC, LD₅₀.

1) Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau

2) Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau

PENDAHULUAN

Penyakit merupakan salah satu faktor pembatas dalam keberhasilan usaha budidaya perikanan yang diakibatkan oleh bakteri, virus, jamur dan parasit. Salah satu jenis penyakit bakterial yang sering menyerang ikan adalah penyakit streptococcosis yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus* sp. *Streptococcus agalactiae* merupakan salah satu spesies dari bakteri *Streptococcus* yang bersifat patogen pada budidaya ikan nila di Indonesia. Selama lima tahun terakhir wabah penyakit Streptococcosis hampir ditemukan di seluruh daerah budidaya ikan nila di Indonesia (Taukhid, 2009). Selain itu juga dapat menyebabkan kematian hingga lebih dari 50% populasi pada ikan *Yellow oscar*

dalam waktu kurang dari satu minggu setelah terinfeksi (Tukmechi *et al.*, 2009).

Selama ini pencegahan dan pengobatan terhadap serangan bakteri dilakukan dengan menggunakan antibiotika seperti *methicillin*, *chloramphenicol*, dan *tetracycline* yang dapat menyebabkan bakteri tersebut menjadi resisten, menimbulkan residu antibiotik pada ikan, dan akhirnya dapat membahayakan konsumen yang mengkonsumsinya. Sehubungan dengan permasalahan tersebut, maka perlu dicarikan bahan alternatif yang aman dan dapat digunakan untuk pengendalian penyakit Streptococcosis tersebut.

Salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi serangan penyakit bakterial adalah dengan

menggunakan antibiotik alami dari tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai antibakteri, karena antibiotik alami memiliki keunggulan mudah didapat dan ramah lingkungan. Tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antibiotik alami salah satunya adalah buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) karena mengandung senyawa antibakteri antara lain, seperti flavonoid, alkaloid, saponin, antrakuinon, acubin, dan alizarin (Djauhariya *et al.*, 2006; Jayaraman *et al.*, 2008). Jayaraman *et al.*, (2008), melaporkan bahwa ekstrak metanol buah mengkudu pada dosis 100 mg/mL dapat menghasilkan zona hambat terhadap bakteri *Streptococcus thermophilus* (11,3 mm). Berdasarkan hal tersebut peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang sensitivitas ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae*.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui sensitivitas dari ekstrak buah mengkudu terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* dan konsentrasi minimum ekstrak buah mengkudu yang masih dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus agalactiae* serta dosis aman dengan uji (LD₅₀) ekstrak buah mengkudu terhadap ikan nila dengan cara perendaman. Manfaat dari penelitian ini adalah didapatkan dosis optimal ekstrak buah mengkudu untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae*, dan konsentrasi ekstrak buah mengkudu yang aman untuk kelangsungan hidup ikan.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor dengan delapan taraf perlakuan, untuk mengurangi tingkat kekeliruan maka setiap perlakuan dilakukan ulangan sebanyak tiga kali. Konsentrasi

perlakuan yang digunakan adalah P0 (kontrol, Ampicillin), P1 (4%), P2 (5%), P3 (6%), P4 (7%), P5 (8%), P6 (9%), P7 (10%).

Media Tumbuh Bakteri untuk *Streptococcus agalactiae*.

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 30 menit. Media diferensiasi *Blood agar* (40 g/L), Media padat *Bacto agar* (16 g/L) dan BHI (*Brain Heart Infusion*) (37 g/L) dan media cair BHI (*Brain Heart Infusion*) (37 g/L) serta media uji sensitivitas MHA (*Muller Hinton Agar*) (34 g/L).

Proses Pembuatan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

Proses pembuatan ekstrak buah mengkudu adalah sebagai berikut : Pertama, dipersiapkan buah mengkudu yang berwarna putih kekuningan merata, dan daging buah masih keras sebanyak 2 kg. Kemudian buah dicuci bersih dan ditiriskan serta dipotong-potong tipis. Selanjutnya potongan buah dijemur di bawah sinar matahari, dengan naungan kain hitam. Tujuannya untuk mempercepat proses pengeringan (Dewi, 2010). Penjemuran dilakukan selama dua hari, sampai potongan buah benar-benar kering. Setelah penjemuran dari 2 kg buah mengkudu yang segar setelah dikeringkan didapat 200 gram mengkudu kering. Mengkudu yang sudah kering dibuat tepung dengan cara dihancurkan dengan alat *blender*. Tepung mengkudu yang dihasilkan sebanyak 130 gram dan siap untuk dimaserasi.

Sebelum dilakukan maserasi, dilakukan destilasi metanol 70% menjadi metanol murni yang akan digunakan sebagai pelarut. Maserasi dilakukan dengan merendam tepung sebanyak 130 gram ke dalam 650 mL pelarut metanol murni selama 24 jam. Perbandingan tepung dan pelarut yang

digunakan adalah 1:5, dimana untuk satu kilogram tepung dilarutkan dengan lima liter metanol (Jayaraman *et al.*, 2008). Kemudian disaring dengan kertas penyaring.

Sisa dari penyaringan pertama kembali dimaserasi lagi dengan cara yang sama, sampai 3x penyaringan. Ekstrak hasil maserasi atau filtrat yang dihasilkan, ditampung menjadi satu dan diuapkan, untuk memisahkan pelarutnya. Penguapan dilakukan dengan menggunakan alat *Rotary vacuum evaporator* pada suhu 40-45°C dengan kecepatan 120 rpm, sampai pelarut habis menguap, sehingga didapatkan ekstrak kental buah mengkudu sebanyak 50 gram.

Penyediaan *Streptococcus agalactiae*.

Penyediaan *Streptococcus agalactiae* yang dipakai dalam penelitian ini adalah isolat yang berasal dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar Sukabumi. Isolat stok *Streptococcus agalactiae* pada BHIA di agar miring diinokulasi kembali dengan mengkultur isolat pada media agar miring. Penyiapan inokulum bakteri *S. agalactiae* dengan cara dilakukan pengkulturan ke dalam media cair (BHI). Satu ose penuh biakan bakteri dari agar miring (padat) dikultur dalam 10 mL medium BHI, diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 29-30°C selama 24 jam. Setelah itu bakteri siap panen.

Uji *In Vitro*

Pengamatan Zona Hambat (*Clear Zone*)

Pengamatan zona hambat ekstrak buah mengkudu terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae* dilakukan berdasarkan metoda cakram Kirby-Bauer Disk-Diffusion. Isolat *S. agalactiae* ditumbuhkan dalam 10 mL BHI dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28-30°C. Suspensi bakteri diambil sebanyak 100 µL dan disebar dengan menggunakan *spedder glass* dalam MHA kemudian didiamkan selama ±5 menit, *disk blank* yang

telah mengandung ekstrak buah mengkudu sebanyak 50 µL dengan dosis perlakuan (4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% dan 10% dan kontrol) kemudian didiamkan selama satu menit. Setelah itu *disk blank* diletakkan ke dalam inokulasi bakteri uji, setelah itu diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 28-30°C. Zona hambat (zona bening) yang terbentuk diukur diameternya dengan menggunakan jangka sorong.

Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Uji MIC dilakukan untuk mengetahui konsentrasi minimum yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* dengan menggunakan ekstrak buah mengkudu. Metode yang digunakan dalam uji MIC adalah uji pengenceran. Ekstrak buah mengkudu diencerkan hingga didapat konsentrasi perlakuan yang berbeda yaitu 4%, 4,1%, 4,2%, 4,3%, 4,4%, 4,5%, 5% dan kontrol positif (BHI diberi *S. agalactiae* ± 10⁹ cfu/mL tanpa diberi ekstrak buah mengkudu). Masing-masing perlakuan kemudian diinokulasi dengan bakteri *S. agalactiae* sebanyak 0,1 mL dari stok ± 10⁹ cfu/mL dan diinkubasi di dalam media cair BHI selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengamatan dengan cara melihat kekeruhan dari masing-masing perlakuan.

Cara menghitung kepadatan bakteri yang telah diberi ekstrak buah mengkudu yaitu masing-masing perlakuan ditanam pada media BHIA sebanyak 100 µL dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 28°C selama 24 jam. Setelah itu dilakukan pengamatan dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri. Perhitungan jumlah bakteri yang hidup dihitung dengan menggunakan rumus *coloni forming units* (CFU) (Harmita dan Radji, 2008):

$$CFU = \frac{\text{Jumlah koloni} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{Volume inokulasi}}$$

Uji Toksisitas Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Uji Toksisitas diawali dengan mempersiapkan ikan uji yang digunakan adalah ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang berukuran 5-10 cm sebanyak 10 ekor per akuarium. Akuarium yang digunakan bervolume 10 L dicampurkan ekstrak buah mengkudu dengan konsentrasi terbaik berdasarkan uji MIC yang telah dilakukan sebelumnya. Ikan uji dimasukkan ke dalam akuarium untuk diamati tingkah laku selama 24 jam. Data yang ditabulasikan dalam pengujian tersebut akan ditentukan LD₅₀ dengan perhitungan metode Reed dan Muench (1983) sehingga diketahui dosis toksik 50% pada populasi ikan uji.

Analisis data uji daya hambat (*Clear zone*) dan nilai MIC dilakukan secara statistik dengan menggunakan SPSS 16.0. Apabila perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata dimana $P < 0.05$ maka dilakukan uji lanjut Newman-Keuls untuk menentukan perbedaan dari masing-masing perlakuan (Sudjana, 1991). Sedangkan uji *Lethal Dosis* 50% dianalisis dengan menggunakan metode Reed dan Muench (1983) dalam Harmita dan Radji (2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri *Streptococcus agalactiae*.

Isolat bakteri yang berasal dari koleksi Laboratorium Kesehatan Ikan Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar Sukabumi dilakukan identifikasi kembali dengan uji fisika, uji biokimia dan aktivitas hemolitik (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil karakteristik morfologi, uji Fisika dan Biokimia, Aktivitas hemolitik bakteri *Streptococcus agalactiae*

Morfologi	Uji Fisika		Uji Biokimia				Aktivitas hemolitik
	Pewarnaan Gram	Katalase	Oksidase	O/F	SIM		
Bulat	Gram +	-	+	F	-		Non hemolitik

Berdasarkan uji diatas bentuk koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* adalah coccus (bulat), oksidase positif, katalase negatif, uji O/F bersifat fermentatif dan SIM negatif. Hasil diatas sesuai dengan hasil penelitian Hardi, (2011) menyatakan bahwa *Streptococcus agalactiae* berbentuk coccus (bulat) berantai, uji katalase (-), uji oksidase (+), O/F (Fermentatif) dan uji SIM (-).

Pengujian aktivitas hemolitik dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri melisis eritrosit yang diwakili darah kambing. Hasil dari pengamatan, diketahui aktivitas hemolitik bakteri *S. agalactiae* adalah non hemolitik. Hal ini sesuai dengan penelitian Hardi, (2011) menyatakan bahwa bakteri *Streptococcus agalactiae* yang mempunyai aktivitas hemolitik non hemolitik, jika diinokulasi ke media *Blood agar*, maka bakteri tersebut tidak melisis darah domba pada media tersebut.

Sensitivitas Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae*.

Hasil uji sensitivitas menunjukkan bahwa penggunaan *ampicillin* (P₀), ekstrak buah mengkudu 4% (P₁), 5% (P₂), 6% (P₃), 7% (P₄), 8% (P₅), 9% (P₆) dan 10% (P₇) memiliki kemampuan zona hambat yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* (Tabel. 2).

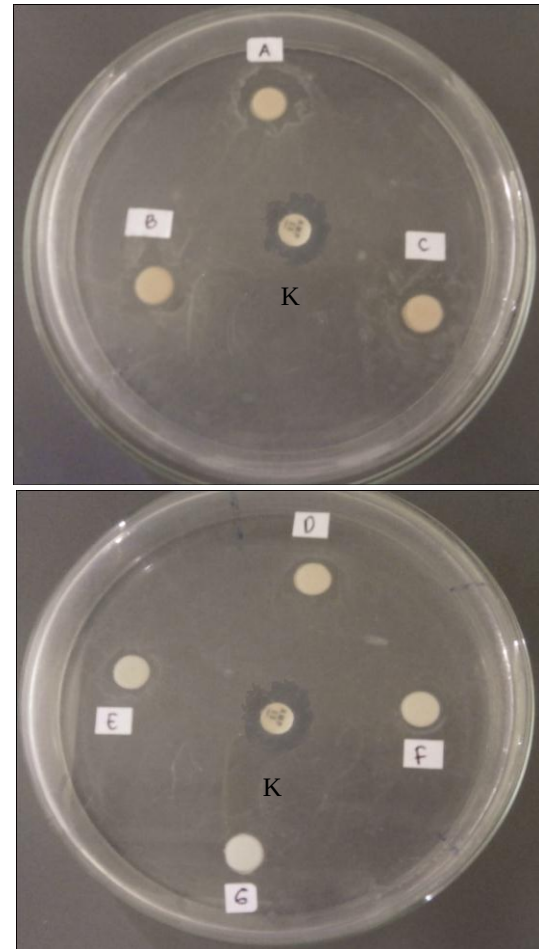
Tabel 2. Hasil Pengamatan Zona Hambat Ekstrak Metanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae*.

Konsentrasi Perlakuan	Zona hambat (mm)			Rerata Zona Hambat ± Standar deviasi
	1	2	3	
<i>Ampicillin</i>	10,25	11,15	9,50	10.30 ± 0.83 ^a
4%	0	0	0	0
5%	3,15	1,75	2,75	2,55 ± 0.72 ^e
6%	5,15	4,25	5,25	4,89 ± 0.55 ^d
7%	6,25	5,50	6,75	6,17 ± 0.63 ^c
8%	7,15	6,75	8,25	7,38 ± 0.78 ^b
9%	7,75	7,50	8,50	7,92 ± 0.52 ^b
10%	9,50	9,25	10,75	9,83 ± 0.80 ^a

Keterangan : Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Berdasarkan Tabel 2. terlihat bahwa rerata zona hambat *Ampicillin* dan konsentrasi 10%, tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa antibakteri ekstrak metanol buah mengkudu dapat menghambat bakteri *Streptococcus agalactiae* yang dapat menggantikan penggunaan antibiotik *Ampicillin*. Sedangkan rerata zona hambat pada konsentrasi 9%, 8%, 7%, 6%, 5% dan 4%, berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan konsentrasi 10%. Namun pada 8% dan 9% rerata zona hambat tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Hal ini disebabkan karena dipengaruhi oleh peningkatan konsentrasi ekstrak metanol buah mengkudu, juga dipengaruhi oleh penurunan konsentrasi dari berbagai senyawa fitokimia (flavonoid, alkaloid dan saponin) dalam ekstrak metanol buah mengkudu sehingga daya hambat menjadi berkurang. Hal ini sesuai dengan pernyataan Jayaraman *et al.*, (2008) bahwa buah mengkudu mengandung senyawa fitokimia antara lain yaitu flavonoid, saponin dan alkaloid.

Diameter rerata zona hambat yang terbesar adalah pada konsentrasi 10 % (100 mg/mL akuades) sebesar $9,83 \pm 0,8$ mm dan yang terkecil adalah pada konsentrasi 5% (50 mg/mL akuades) sebesar $2,55 \pm 0,72$ mm. Hasil ini jauh lebih bagus bila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan Lee *et al.*, (2008) yang mengatakan adanya aktivitas antibakteri ekstrak metanol buah mengkudu terhadap bakteri *Streptococcus* sp. dengan dosis 250 mg/mL menghasilkan zona hambat sebesar 7 mm. Hal ini diduga karena bakteri *Streptococcus agalactiae* lebih sensitif terhadap ekstrak metanol buah mengkudu daripada bakteri *Streptococcus* sp. Hasil uji daya hambat ekstrak metanol buah mengkudu dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji daya hambat ekstrak buah mengkudu terhadap *S. agalactiae*

Keterangan : A. 10%, B. 9%, C. 8%, D. 7%, E. 6%, F. 5%, G. 4%, K. *Ampicillin*

Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*).

Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dilakukan berdasarkan hasil uji sensitivitas ekstrak buah mengkudu sesuai dengan konsentrasi yang menghasilkan zona hambat minimum yaitu 4%, 4,1%, 4,2%, 4,3%, 4,4%, 4,5%, 5%. Hal ini bertujuan untuk mengetahui pada konsentrasi berapa besar konsentrasi minimum yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil uji MIC dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Perhitungan Jumlah Koloni *Streptococcus agalactiae* setelah diberi Perlakuan Ekstrak Buah Mengkudu.

Konsentrasi Perlakuan	MIC	Ulangan			Rerata Koloni Bakteri ± Standar deviasi
		1	2	3	
0%	Keruh	∞	∞	∞	∞
4 %	Keruh	∞	∞	∞	∞
4,1%	Keruh	∞	∞	∞	∞
4,2 %	Keruh	489	520	493	500.67±16.86 ^a
4,3%	Keruh	378	350	397	375.00±23.64 ^b
4,4%	Keruh	246	287	258	263.67±21.08 ^c
4,5%	Keruh	158	145	135	146.00±11.53 ^d
5%	Keruh	74	84	76	78.00±5.29 ^e

Keterangan : Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dan tanda '∞' menunjukkan koloni bakteri tidak dapat dihitung.

Berdasarkan pada Tabel 3 terlihat bahwa hasil Analisis Variansi (ANOVA) pada semua perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$). Dimana pada konsentrasi 5% (50 mg/mL) dan 4,5% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* dengan rerata jumlah koloni sebanyak 78×10^8 cfu/mL dan 146×10^8 cfu/mL. Sedangkan pada konsentrasi 4,4%,4,3%,4,2%, 4,1% dan 4% sudah tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. agalactiae*. Lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Jayaraman *et al.*, (2008), pada penelitiannya menunjukkan konsentrasi ekstrak metanol buah mengkudu yang efektif menghambat bakteri *Streptococcus thermophilus* mulai bekerja pada konsentrasi 100 mg/mL. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan antara bakteri *S. agalactiae* dan *S. thermophilus* yang digunakan sehingga konsentrasi ekstrak buah mengkudu yang dapat menghambat bakteri tersebut juga berbeda.



Gambar 2. Uji MIC Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada media BHI

Berdasarkan Gambar 2 menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah mengkudu memiliki aktivitas antibakteri yang mengandung senyawa fitokimia yaitu flavonoid, saponin dan alkaloid yang bersifat bakteristatik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae*. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Djauhariya (2003), flavonoid, saponin dan alkaloid merupakan senyawa antibakteri pada buah mengkudu.

Senyawa flavonoid merupakan senyawa antibakteri yang paling banyak terdapat pada buah mengkudu (Djauhariya, 2013). Aktivitas biologis senyawa flavonoid bekerja dengan cara merusak dinding sel bakteri. Gunawan *et al.*, (2008) menyatakan mekanisme ini dapat terjadi akibat reaksi antara senyawa lipid dan asam amino dengan gugus alkohol pada flavonoid, sehingga dinding sel mengalami kerusakan dan mengakibatkan senyawa tersebut dapat masuk kedalam inti sel bakteri. Senyawa ini kemudian akan bereaksi dengan DNA pada inti sel bakteri. Akibat perbedaan kepolaran antara lipid dan penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid akan terjadi reaksi sehingga struktur lipid dari DNA bakteri sebagai inti sel bakteri akan mengalami kerusakan dan lisis. Tiga mekanisme yang dimiliki flavonoid dalam memberikan efek antibakteri, antara lain:

menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma dan menghambat metabolisme energi (Ceshni *et al.*, 2005).

Saponin merupakan senyawa aktif berbentuk busa yang stabil bila ditambahkan asam klorida satu persen (Poeloengan *et al.*, 2013). Saponin tergolong senyawa antibakteri karena memiliki kemampuan dalam menekan pertumbuhan bakteri. Arabski *et al.*, (2009) dan Karlina *et al.*, (2013) menyatakan saponin akan berikatan dengan lipopolisakarida pada dinding sel bakteri, mengakibatkan meningkatnya permeabilitas dinding sel serta menurunkan tegangan permukaan dinding sel sehingga ketika terjadi interaksi dinding sel tersebut akan pecah atau mengalami lisis dan membuat zat antibakteri akan masuk kedalam sel dengan mudah dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadi kematian bakteri.

Uji Toksisitas

Uji toksisitas ekstrak buah mengkudu dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan kematian 50% selama 24 jam pada ikan nila yang diujikan sebanyak 10 ekor. Konsentrasi yang digunakan yaitu 4,5%, 4%, 3,5%, 3%, 2,5%, 2%, 1,5%, 1% dan 0%. Hasil uji toksisitas dapat dilihat pada Tabel 4.

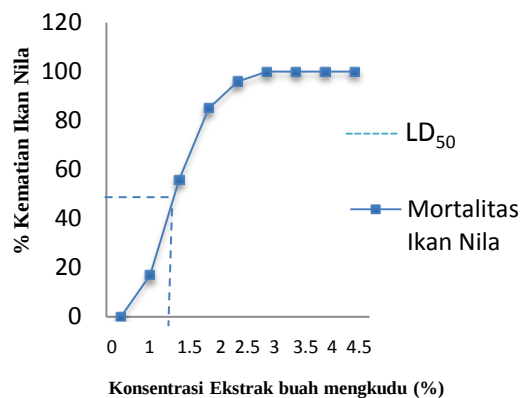
Tabel 4. Hasil perhitungan penentuan LD₅₀ menurut metode Reed dan Muench (1938)

Konsentrasi (%)	Respon		Kumulatif		Total	Ratio	% Kematian
	Mati	Hidup	Mat i	Hidup			
0	0	10	0	24	24	0/24	100
1	3	7	3	14	17	3/17	17
1,5	6	4	9	7	16	9/16	56
2	8	2	17	3	20	17/20	85
2,5	9	1	26	1	27	26/27	96
3	10	0	36	0	36	36/36	100
3,5	10	0	46	0	46	46/46	100
4	10	0	56	0	56	56/56	100
4,5	10	0	66	0	66	66/66	100

Keterangan: } menunjukkan nilai LD₅₀ pada konsentrasi antara 1-1,5 %

Berdasarkan Tabel 4. menunjukkan nilai LD₅₀ 24 jam adalah 1,42%. Hal ini

menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah mengkudu tidak bersifat racun bagi ikan pada konsentrasi dibawah 1,42%. Mortalitas ikan uji yang terjadi pada saat penelitian disebabkan oleh senyawa fitokimia saponin dari ekstrak buah mengkudu. Hal ini sesuai dengan pendapat Jayaraman *et al.*, (2008) yang menyatakan bahwa senyawa fitokimia yang terkandung dalam buah mengkudu antara lain yakni saponin. Saponin memiliki rasa yang pahit dan bersifat toksik bagi hewan berdarah dingin, mempunyai aktivitas hemolisis, dan dapat merusak sel darah merah, menghambat proses pernapasan dan juga sebagai senyawa protein spesifik yang bersifat toksik. Selanjutnya saponin sangat beracun untuk ikan dalam larutan yang sangat encer (Robinson, 1995). Proses ini diduga terjadi pada pada konsentrasi 4,5%, 4%, 3,5% dan 3%, yang mana semakin tinggi konsentrasi ekstrak buah mengkudu maka mortalitas ikan uji semakin tinggi (Gambar 3).



Gambar 3. Grafik kematian ikan nila setelah direndam ekstrak buah mengkudu

Hasil pengamatan yang dilakukan selama uji toksisitas akut terhadap benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*) terdapat gejala-gejala tingkah laku dan morfologi dalam kondisi normal. Toksikan dalam penelitian ini dapat mengubah kondisi ikan nila yang pada awalnya normal sampai

menjadi lethal. Terganggunya lingkungan akibat ekstrak buah mengkudu telah menyebabkan ikan menjadi stress, sehingga respon yang terlihat menjadi berbeda tergantung pada sensitifitas dan daya tahan ikan. Kondisi normal benih ikan nila sebagai organisme uji dalam penelitian ini pergerakannya aktif, lincah, dan bagian tubuh secara morfologi tidak ada yang rusak. Kondisi normal benih ikan nila dalam penelitian ini sama dengan kondisi normal

ikan nilam yang direndam ekstrak metanol buah mengkudu dalam penelitian Nurrafita (2013), yaitu sirip dan sisik tidak ada yang terlepas, dan sangat tanggap terhadap rangsangan. Adapun tingkah laku ikan nila yang direndam dengan ekstrak buah mengkudu selama 24 jam dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Tingkah laku ikan nila yang direndam dengan ekstrak buah mengkudu

Konsentrasi perlakuan (%)	Waktu pengamatan (jam)			
	1-6	7-12	13-18	19-24
0	Ikan berenang normal.	Ikan berenang normal.	Ikan berenang normal.	Ikan berenang normal.
1	Ikan diam di dasar akarium.	Ikan berenang ke permukaan.	Ikan mengalami kematian sebanyak satu ekor.	Ikan mengalami kematian sebanyak dua ekor.
1,5	Ikan diam di dasar perairan.	Ikan berenang mendekati aerasi.	Ikan mengalami kematian sebanyak satu ekor	Ikan mengalami kematian sebanyak lima ekor.
2	Ikan berenang ke permukaan perairan.	Ikan berenang tidak seimbang.	Ikan mengalami kematian sebanyak tiga ekor.	Ikan mengalami kematian sebanyak lima ekor.
2,5	Ikan diam di dasar perairan.	Ikan berenang mendekati aerasi.	Ikan mengalami kematian lima ekor.	Ikan mengalami kematian sebanyak empat ekor.
3	Ikan berenang mendekati aerasi.	Ikan berenang melayang-layang.	Ikan mengalami kematian lima ekor.	Ikan mengalami kematian sebanyak lima ekor.
3,5	Ikan berenang mendekati aerasi.	Ikan melayang-layang ke permukaan.	Ikan mengalami kematian tujuh ekor.	Ikan mengalami kematian tiga ekor.
4	Ikan berenang mendekati aerasi.	Ikan berenang lemah	Ikan mengalami kematian 10 ekor.	
4,5	Ikan berenang mendekati aerasi	Ikan berenang melayang-layang	Ikan mengalami kematian 10 ekor.	

Berdasarkan Tabel 5. dapat dilihat hasil uji LD₅₀ ekstrak buah mengkudu selama 24 jam dengan menggunakan konsentrasi 1% paling sedikit menimbulkan kematian ikan nila yaitu sebanyak empat ekor, sedangkan

pada konsentrasi 1,5% menyebabkan kematian sebanyak enam ekor, konsentrasi 2% menyebabkan kematian sebanyak delapan ekor, konsentrasi 2,5% menyebabkan kematian sebanyak sembilan ekor dan pada konsentrasi 3%, 3,5%, 4%

serta 4,5% menyebabkan kematian sebanyak 10 ekor. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak buah mengkudu bersifat racun jika diberikan pada konsentrasi diatas 1,42% atau setara dengan 14200 ppm. Hasil ini berbeda dengan Nurrafita (2013) yang menggunakan ekstrak metanol buah mengkudu pada konsentrasi 110 ppm merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam mengobati *Aeromonas hydrophila*.

Tingkah laku ikan setelah direndam dengan ekstrak buah mengkudu umumnya ikan berenang melayang-layang, berenang ke permukaan, melompat-lompat, berenang mendekati aerasi dan bukaan operculum semakin cepat. Hal tersebut senada dengan pernyataan Irianto (2005), tindakan pengobatan dan pencegahan penyakit dapat menyebabkan pergerakan ikan melompat-lompat (*darting*) ke atas permukaan air itu menunjukkan bahwa ikan merasa tidak nyaman dengan lingkungannya, sehingga ikan tersebut berusaha untuk menghindar. Akibat adanya rasa tidak nyaman tersebut kemungkinan ikan menjadi *shock*, kondisi tubuh melemah dan akhirnya ikan tersebut mati.

KESIMPULAN

Ekstrak metanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus agalactiae* pada konsentrasi 10% sebesar 9,83 mm dan konsentrasi minimum ekstrak metanol buah mengkudu pada konsentrasi 5% dengan jumlah koloni yang tumbuh dalam media BHIA adalah 78×10^8 cfu/mL. Konsentrasi aman pada uji (LD_{50}) ekstrak buah mengkudu terhadap ikan nila dengan cara perendaman yaitu pada konsentrasi 1,42%.

DAFTAR PUSTAKA

Arabski, M.S., Wasik K, Dworecki W and Kaca. 2009. Laser Interferometric and Cultivation Methods for

- Measurement of Colistin/ Ampicilin and Saponin Interactions with Smooth and Rough of *Proteus Mirabilis* Lipopolysaccharides and Cells. *Journal Microbiology of Methods*. 77: 179-183
- Ceshni T and Lamb A.J. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26 : 343-356.
- Dewi, A. 2010. *Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dari daun sirih merah (Pipper betle L.var rebrum)*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Hlm.37.
- Djauhariya, E., 2003. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) tanaman obat potensial. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. *Jurnal Perkembangan Teknologi Tanaman Rempah dan Obat*. Vol. XV, No. 1, p. 21
- Djauhariya, E., Raharjo M., dan Ma'mun. 2006. Karakteristik morfologi dan mutu buah mengkudu. *Buletin Plasma Nutfah*, Vol.12, No 1, Th 2006, Balai Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor, Hlm. 6.
- Gunawan I.W.G, Bawa I.G.A.G, Sutrisnayanti N.L. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Aktif Antibakteri pada Herbal Meniran (*Phylanthus niruri* Linn.). *Jurnal Kimia*. 2 (1) : 31-39.
- Harmita., Radji M. 2008. *Buku ajar analisis hayati*. Edisi 3. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. EGC.
- Hardi, E.H. 2011. Kandidat vaksin potensial *Streptococcus agalactiae* untuk pencegahan penyakit streptococcosis pada ikan nila *Oreochromis niloticus* [disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

- Irianto, A. 2005. *Patologi ikan Teleostei*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Jayaraman, S. K., Saravanan M.M., Illanchezian S. 2008. Antibacterial, antifungal and tumor cell suppression potential of *Morinda citrifolia* fruit extract. *International Journal of Integrative Biology* 3(1): 44-49.
- Karlina C. Y, Ibrahim M dan Trimulyono G. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herbal Krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal UNESA LenteraBio*. 2 (1) : 87-93.
- Lee S.W., Najiah M, Chuah T.S., Wendy W., Noor A.M.S. 2008. Antimicrobial properties of tropical plants against 12 pathogenic bacteria isolated from aquatic organisms. *Afr. J. Biotechnol.* 7(13): 2275-2278.
- Nurrafita, H. 2013. *Efektivitas ekstrak buah mengkudu untuk pengobatan infeksi bakteri Aeromonas hydrophila pada benih ikan nilam (Osteochilus vittatus)*. Skripsi. Program Studi Perikanan, FAPERIKA. UNPAD. Jatinangor. Hlm 37.
- Poeloengan M dan Andriani. 2013. Kandungan Senyawa Aktif dan Daya Antibakteri Daun Sambung Darah. *Journal Veteriner*. 14 (2) : 145-152.
- Reed, L.J. and H. Muench. 1938. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *American Journal of Hygiene*. 27: 493-497.
- Robinson, Trevor. 1995. *Kandungan organik tumbuhan tinggi*. Bandung. Penerbit ITB. 367 Hlm.
- Sudjana, M. A. 1991. *Desain dan Analisis Eksperimen edisi III*. Penerbit Arsito, Bandung
- Tukmechi, A., Hobbenaghi R., Holasso H.R., Morvaridi A. 2009. *Streptococcosis in a Pet Fish, Astronotus ocellatus: A Case Study*. *Int. J. Biol. Life Sci.*, 1(1): 30-31
- Taukhid. 2009. Efektivitas pemberian vaksin *Streptococcus* spp. pada benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*) melalui teknik perendaman untuk pencegahan penyakit Streptococcosis. *Laporan Penelitian Hibah Penelitian Bagi Peneliti dan Perekayasa Departemen Kelautan dan Perikanan*. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar Pusat Riset Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan.