

**UJI KONSENTRASI HAMBAT MINIMAL DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* PADA IKAN BANDENG
(*Chanos chanos*) (STUDI IN VITRO)**

Fatmawati Saifuddin¹⁾ dan Husnidar²⁾

¹⁾Dosen Biologi FKIP Universitas Almuslim

²⁾Dosen Budi Daya Perairan fakultas Pertanian Universitas Almuslim

Email: fatmawatisaifuddin@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian mengenai “uji konsentrasi hambat minimal ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos*)” telah dilaksanakan di Laboratorium MIPA Fakultas Pertanian, Universitas Almuslim sejak bulan April hingga Mei 2018. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 7 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Konsentrasi ekstrak daun jeruk purut yang ditambahkan ke dalam media *Nutrient Broth* (NB) yaitu 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% diujikan pada *Staphylococcus aureus*, dengan kontrol positif klorheksidin 2% dan kontrol negatif aquades. Parameter dari penelitian ini adalah konsentrasi hambat minimal. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Data hasil penelitian ditentukan dengan memperhatikan kejernihan media dengan konsentrasi ekstrak yang berbeda. Hasil penelitian yang diperoleh hanya konsentrasi ekstrak daun jeruk purut 5 % yang menunjukkan adanya kekeruhan pada media, namun berbeda halnya dengan konsentrasi ekstrak daun jeruk purut 10 %, 15%, 20% dan 25% yang menunjukkan tidak adanya kekeruhan pada media. Hal ini menandai pada konsentrasi 10 %, 15%, 20% dan 25% tidak terjadinya pertumbuhan bakteri pada media tersebut.

Kata kunci : Daun jeruk purut (*Citrus hystrix*), *Staphylococcus aureus*, konsentrasi hambat minimal, Ikan Bandeng (*Chanos chanos*).

PENDAHULUAN

Ikan bandeng (*Chanos chanos*) merupakan ikan bernilai ekonomis penting yang banyak dielihara di Indonesia, Budidaya bandeng di Indonesia menunjukkan prospek yang baik, pada tahun 2008 produksi bandeng mencapai 422.086 ton, lebih tinggi dari Filipina yang hanya 349.432 ton. Kemudian produksi meningkat pada tahun 2012 yaitu sebesar 482.930 ton (Anwar, 2014). Ikan bandeng memiliki keunggulan yaitu mudah beradaptasi dan mempunyai toleransi tinggi terhadap kadar garam 0–158 ppt sehingga ikan bandeng dapat dibudidayakan di perairan tawar, payau dan laut (Martinez *et al.*, 2003).

Salah satu faktor pembatas dalam keberhasilan usaha budidaya ikan bandeng adalah penyakit infeksi yang diakibatkan oleh bakteri, virus, jamur dan parasit. Munculnya penyakit yang menyerang ikan bandeng menyebabkan mutu ikan bandeng menurun

(Anwar, 2014). Bakteri yang sering menimbulkan penyakit adalah bakteri patogen pada ikan yaitu *Staphylococcus aureus* (Jamaluddin, 2016). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif, yang infeksiya disebabkan oleh kontaminasi langsung pada luka. Ditandai dengan munculnya *furunkel* atau abses lokal lainnya, diikuti dengan reaksi peradangan yang mengalami purnanahan (Public Health England, 2014).

Upaya yang telah dilakukan untuk pengobatan penyakit pada ikan umumnya menggunakan antibiotika yang dapat menimbulkan resistensi bakteri patogen dan residu antibiotika pada ikan dan manusia (Yuhana dkk., 2011). Oleh karena itu, diperlukan pengembangan alternatif bahan antibakteri dari tanaman yaitu salah satunya menggunakan bahan alami/tradisional dengan

menggunakan daun jeruk purut (*Citrus hystrix*). Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi hambat minimal dari ekstrak daun jeruk purut yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Penelitian ini juga diharapkan menjadi dasar berbagai penelitian lanjutan, terutama dalam bidang perairan dan biologi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium MIPA Fakultas Pertanian, Universitas Almuslim sejak bulan April hingga Mei 2018. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, inkubator, tabung reaksi (*pyrex*, USA), rak tabung, timbangan analitik (*sartorium* mms, USA), cawan petri, gelas ukur, kapas, pipet (0,1, 1,0 dan 10 ml), mikroskop binokuler, *Laminar Air Flow* (LAF), gelas objek, jarum ose, *paper disc*, pinset, lampu spiritus, mikropipet, gelas kimia, kamera digital (*Canon Power Shoot A 430*).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ikan bandeng (*Chanos chanos*) yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan yang diperoleh dari penambak di wilayah Kecamatan Jangka, Matangglumpang Dua, Kabupaten Bireuen. Bahan lainnya yang diperlukan adalah Ekstrak etanol daun jeruk purut, *Khlorheksidin* 2%, medium *Nutrient Broth* (NB), Aquades, dan etanol 96%.

Sampel ikan bandeng (*Chanos chanos*) diambil dari tambak, Sebanyak 10 gram sampel untuk isolasi bakteri diambil dari luka di kulit ikan, kemudian dihaluskan masing-masing dengan cara menggerusnya menggunakan mortar yang steril sampai halus. Langkah selanjutnya dilakukan pengenceran (Jamaluddin, 2016). Sampel yang sudah diencerkan kemudian dikultur langsung secara aseptis pada suhu 37°C selama 24 jam, Morfologi koloni yang tumbuh kemudian dikelompokkan dan dilanjutkan pengecatan Gram (Pommerville, 2011). Gram positif bentuk kokus dilakukan uji katalase. Uji katalase dilakukan dengan mengambil sedikit koloni dari

kultur murni dan koloni diletakkan pada obyek glass yang telah ditetesi H₂O₂ (Todar, 2005).

Pembuatan ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) dilakukan dengan cara serbuk daun jeruk purut masing-masing 150 gram ditimbang. Serbuk ini kemudian direndam dalam larutan etanol 96% dan didiamkan selama ±3 hari. Hasil yang diperoleh disaring dan diuapkan selama tiga hari. Proses ini bertujuan untuk menguapkan etanol sehingga diperoleh ekstrak yang kental dari daun jeruk purut. Ekstrak daun jeruk purut ditimbang masing-masing sebanyak 0,5 gram, 1 gram, 1,5 gram, 2 gram dan 2,5 gram kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 10 mL untuk memperoleh konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25% dari ekstrak daun jeruk purut.

Pengujian sampel dilakukan dengan cara memasukkan medium NB sebanyak 5 ml ke dalam 5 tabung. Kemudian masukkan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 0.02 ml pada masing-masing tabung. Ekstrak daun jeruk purut yang sudah diencerkan dimasukkan ke dalam lima tabung masing-masing sebanyak 5 mL. Semua tabung diinkubasi pada temperatur 37°C selama 24 jam dengan tiga kali ulangan, kemudian dilakukan pemeriksaan ada tidaknya pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan dalam media. Konsentrasi hambat minimal ditentukan dengan memperhatikan media dengan konsentrasi yang terlihat jernih. Media yang terlihat keruh menunjukkan masih adanya pertumbuhan bakteri (Miftahendarwati, 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan secara aseptik dan terkontrol. Semua perlakuan yang diberikan telah sesuai dengan prosedur penelitian. Media yang digunakan serta volume dan kepadatan suspensi bakteri yang diinokulasikan telah dilakukan secara tepat. Uji kemurnian bakteri yang dilakukan meliputi pengamatan morfologi koloni pada medium petri agar, pengecatan Gram, dan uji katalase (Tabel 1). Hasil dari uji kemurnian bakteri uji yang dilakukan menunjukkan bahwa bakteri yang digunakan

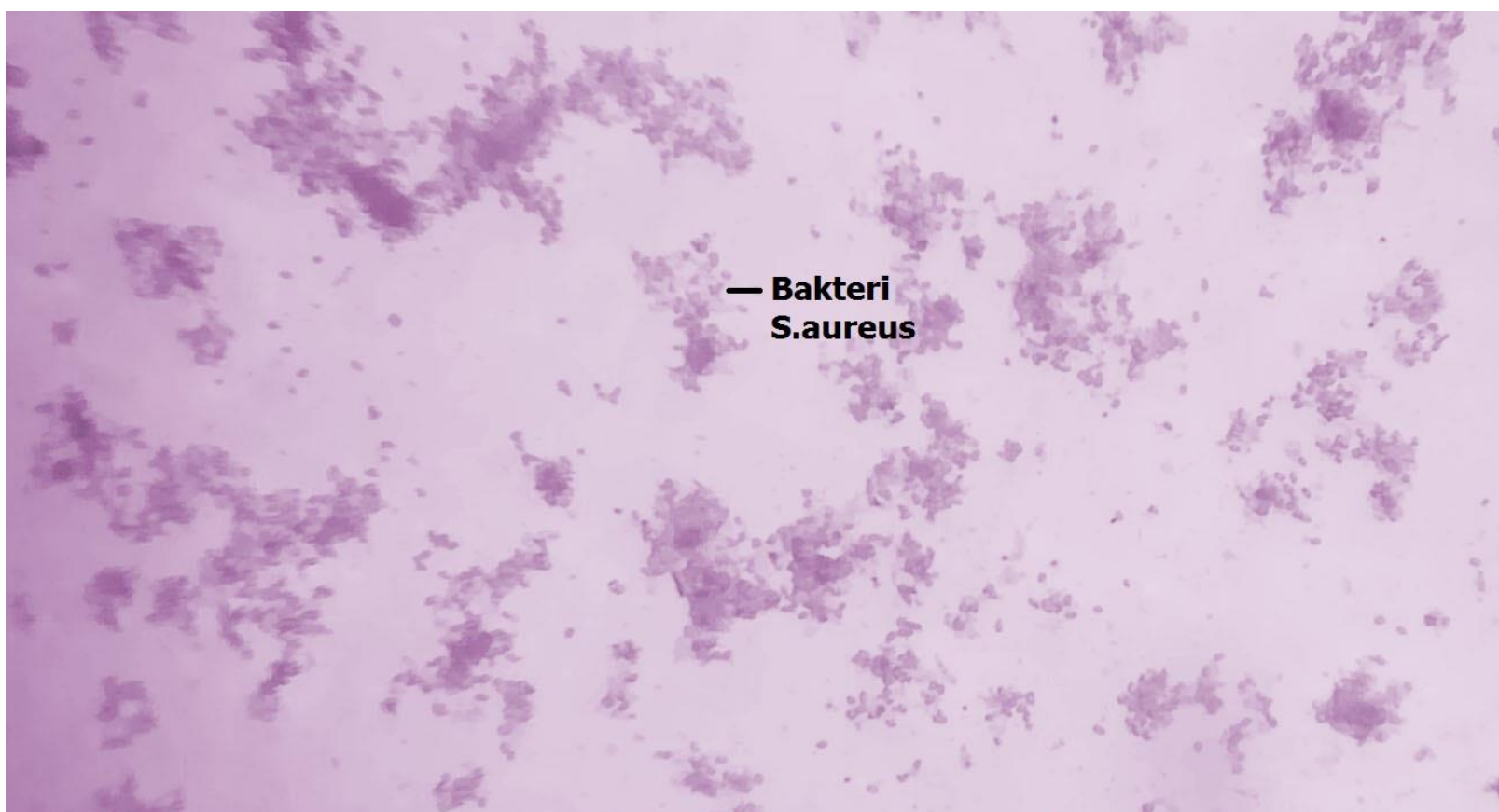
benar bakteri sesuai dengan penjelasan yang dikemukakan oleh Holt et al., (1994) dan Toelle dan Viktor, (2014).

Tabel 1. Hasil identifikasi isolat bakteri *Staphylococcus aureus*

No	Karakteristik	Hasil identifikasi	Pustaka
1	Warna koloni pada media	Putih atau krem	Putih atau krem (1,2)
2	Pewarnaan Gram	Gram positif	Gram positif (1,2)
3	Morfologi sel	Kokus	Kokus (1,2)
4	Katalase	terdapat gelembung udara (+)	terdapat gelembung udara (+) (1,2)

Keterangan: 1= Holt, *et al.*, 1994; 2= Toelle dan Viktor, 2014

Pengamatan mikroskopis morfologi hasil pewarnaan gram memperlihatkan bahwa hasil identifikasi sesuai dengan data pada Tabel 1 dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 morfologi hasil pewarnaan gram dengan mikroskop pembesaran 40x

Hasil maserasi daun jeruk purut berupa filtrat berwarna hijau kehitaman sebanyak 530,6 mL. Kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental berwarna hijau kehitaman sebanyak 45 Gram. Ekstrak ini akan digunakan dalam uji aktivitas antibakteri. Konsentrasi hambat minimal ditentukan dengan memperhatikan media dengan konsentrasi yang terlihat jernih. Setelah diinkubasi selama 24 jam pengamatan dilakukan dengan pengamatan kekeruhan secara visual. Inkubasi menunjukkan

hasil yang sama yaitu hasil pengamatan visual ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Staphylococcus aureus* hanya konsentrasi ekstrak daun jeruk purut 5 % yang menunjukkan adanya kekeruhan pada media, namun berbeda halnya dengan konsentrasi ekstrak daun jeruk purut 10 %, 15%, 20% dan 25% yang menunjukkan tidak adanya kekeruhan pada media dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Kekeruhan media adalah akibat pertumbuhan bakteri yang telah dibandingkan

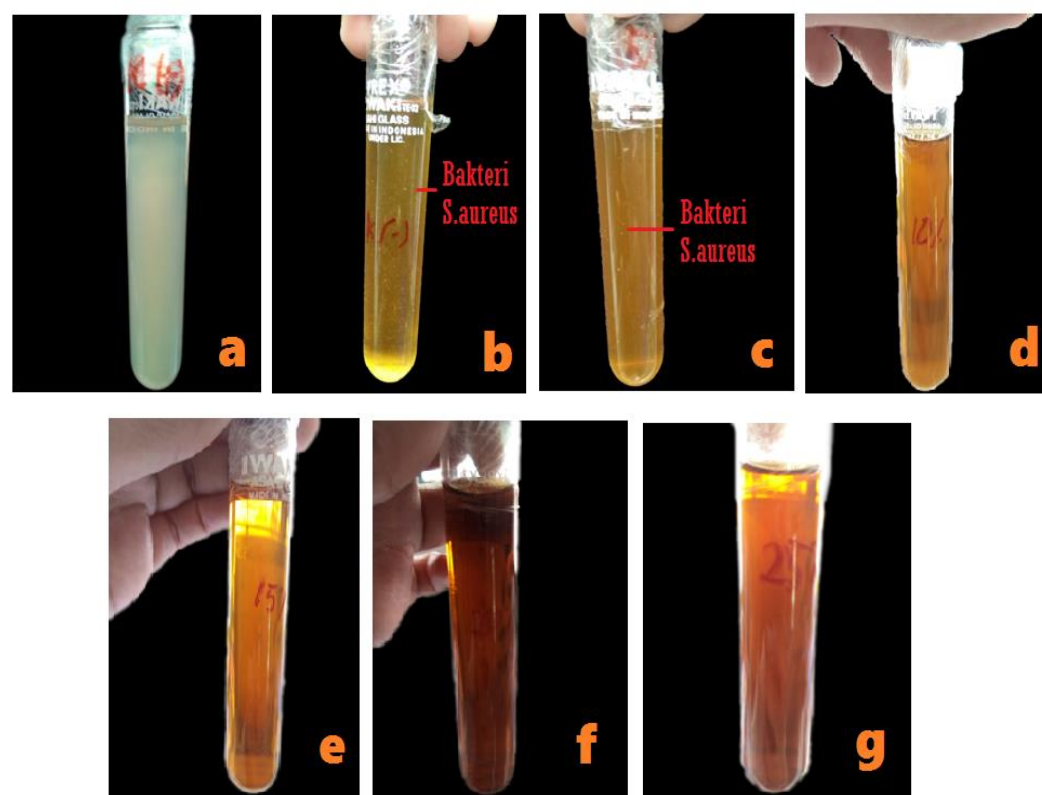
dengan perlakuan kontrol. Hasil uji konsentrasi hambat minimal dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Hasil uji konsentrasi hambat minimal pada perlakuan

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
Kontrol negatif	Keruh (kuning)	Keruh (kuning)	Keruh (kuning)
Kontrol positif	Jernih (putih)	Jernih (putih)	Jernih (putih)
5%	Keruh (kuning)	Keruh (kuning)	Keruh (kuning)
10%	Jernih (kuning)	Jernih (kuning)	Jernih (kuning)
15%	Jernih (kuning)	Jernih (kuning)	Jernih (kuning)
20%	Jernih (kuning kecoklatan)	Jernih (kuning kecoklatan)	Jernih (kuning kecoklatan)
25%	Jernih (kuning kecoklatan)	Jernih (kuning kecoklatan)	Jernih (kuning kecoklatan)

Ekstrak daun jeruk purut yang digunakan juga telah diuji sebelumnya menggunakan metode yang sama terhadap *Streptococcus iniae* (Saifuddin dan Husnidar, 2018). Sama halnya dengan penelitian sebelumnya, berdasarkan pengamatan visual, konsentrasi 15% mulai terjadi perubahan warna dari kuning menjadi kuning kecoklatan, karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun jeruk purut warna media menjadi lebih pekat dan warna media semakin jernih pada konsentrasi 5%. Pada

konsentrasi 20% dan 25% berwarna kuning kecoklatan. Walaupun konsentrasi 20% dan 25% berwarna kuning kecoklatan, namun tidak terjadinya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi ini dapat diamati dengan jelas secara visual walaupun pekatnya larutan ekstrak. Hasil pengamatan visual uji konsentrasi hambat minimal pada perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Hasil pengamatan uji konsentrasi hambat minimal pada perlakuan

- Keterangan :
- a. Perlakuan kontrol positif (*Klorheksidin* 2%)
 - b. Perlakuan kontrol negatif (Aquades)
 - c. Perlakuan ekstrak daun jeruk purut 5%
 - d. Perlakuan ekstrak daun jeruk purut 10%
 - e. Perlakuan ekstrak daun jeruk purut 15%
 - f. Perlakuan ekstrak daun jeruk purut 20%
 - g. Perlakuan ekstrak daun jeruk purut 25%

Hasil pemeriksaan visual, memperlihatkan ekstrak daun jeruk purut yang diberikan dalam konsentrasi yang terlalu rendah, menunjukkan hasil yang tidak begitu baik, karena terdapat kekeruhan pada media yang ditambahkan ekstrak daun jeruk purut 5%. Kekeruhan pada media terjadi akibat pertumbuhan bakteri setelah dibandingkan dengan kontrol perlakuan positif dan negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut, ekstrak daun jeruk purut tidak dapat menghambat pertumbuhan *S.aureus*. Namun berbeda halnya dengan konsentrasi ekstrak daun jeruk purut 10 %, 15%, 20% dan 25% yang menunjukkan tidak adanya kekeruhan pada media. Hal ini menandai pada konsentrasi 10 %, 15%, 20% dan 25% tidak terjadinya pertumbuhan bakteri pada media tersebut. Hasil ini juga terlihat pada media yang ditambahkan *klorheksidin* 2% sebagai kontrol positif. Hal ini diduga karena pada konsentrasi yang tepat, ekstrak daun jeruk purut akan berpengaruh dengan baik menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*. Ekstrak daun jeruk purut dapat menghambat bakteri *S.aureus* karena daun jeruk purut memiliki kandungan *flavanoid*, *tanin* dan *alkaloid* sebagai antibakteri. kemampuan bahan aktif tersebut membentuk ikatan dengan protein terlarut dan dengan dinding sel bakteri sehingga menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengadakan denaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan (Saifuddin dan Husnidar, 2018).

Hasil uji konsentrasi hambat minimal ekstrak daun jeruk purut pada *Staphylococcus aureus* dianggap lebih baik dibandingkan dengan uji konsentrasi hambat minimal ekstrak daun jeruk purut yang hanya mampu membunuh

Streptococcus iniae pada konsentrasi 15%, 20% dan 25%. Demikian juga uji konsentrasi hambat minimal ekstrak daun jeruk purut pada *Staphylococcus aureus* dianggap lebih baik dibandingkan dengan uji konsentrasi hambat minimal ekstrak *Aloe vera* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang pernah diteliti oleh Rieuwpassa (2011), yang menunjukkan pada konsentrasi 12,5% masih terdapat kekeruhan pada media. Hal ini diduga karena kemampuan suatu bahan antimikroba dalam meniadakan kemampuan hidup mikroorganisme tergantung pada konsentrasi bahan mikroba itu (Mpila dkk., 2012) dan kepekaan bakteri terhadap zat antibakteri tergantung pada perbedaan susunan dinding selnya misalnya jumlah peptidoglikan, adanya reseptor dan lipid, sifat hubungan silang, aktivitas enzim autolisis yang menentukan penetrasi, ikatan, dan aktivitas obat (Yuliani dkk., 2011).

KESIMPULAN

Hasil pemeriksaan visual memperlihatkan ekstrak daun jeruk purut yang diberikan dalam konsentrasi yang terlalu rendah, menunjukkan hasil yang tidak begitu baik, karena terdapat kekeruhan pada media yang ditambahkan ekstrak daun jeruk purut 5%. Namun berbeda halnya dengan konsentrasi ekstrak daun jeruk purut 10 %, 15%, 20% dan 25% yang menunjukkan tidak adanya kekeruhan pada media. Hal ini menandai pada konsentrasi 10 %, 15%, 20% dan 25% tidak terjadinya pertumbuhan bakteri pada media tersebut.

SARAN

Perlu dilakukan metode ekstraksi bertingkat dalam proses ekstraksi daun jeruk purut untuk mendapatkan hasil ekstrak murni

sehingga pertumbuhan bakteri dapat terlihat lebih jelas lagi secara visual dan photography dan perlu dilakukan uji lanjutan dengan uji daya hambat (zona inhibisi).

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, C. 2014. *Budidaya Ikan Bandeng (Chanos chanos) Pada Tambak Ramah Lingkungan*. WWF- Indonesia. Jakarta.
- Holt, J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J.T. Staley, and S. T. Williams. 1994. *Bergey's Manual® of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Williams and Wilkins. A Waverly Company. London.
- Jamaluddin. 2016. Jenis-Jenis Bakteri Gram Positif Potensial Patogen Pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) Di Tambak Desa Tanjung Rejo Paluh Putri Percut Sei Tuan. *Skripsi*. Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Martinez. F. S., M. Tseng and S. Yeh. 2003. Milkfish (*Chanos chanos*). *Culture : Situation and Trends*. Taiwan. 33 (3) : 229-244.
- Miftahendarwati. 2014. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (*in vitro*). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
- Mpila, D.A, Fatimawali, dan W. I. Wiyono. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In-Vitro*. *Jurnal Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Sam Ratulangi Manado.
- Pommerville, J.C. 2011. *Alcano's Laboratory Fundamentals of Microbiology*. Jones and Bartlett Learning, LLC.
- Public Health England. 2014. *Standards for Microbiology Investigations Identification of Staphylococcus species, Micrococcus species and Rothia species*. United Kingdom.
- Saifuddin, F dan Husnidar, 2018. Uji Konsentrasi Hambat Minimal Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus inae* pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) (*studi in vitro*). *Jurnal Edukasi dan Sains Biologi*, Volume VII, No 1.
- Todar, K. 2005. *Todar's Online Textbook of Bacteriology, Staphylococcus*. Diakses melalui http://textbookbacteriology.net/stap_2.html [20/4/2014].
- Toelle, N.N., dan Viktor Lenda. 2014. Identifikasi dan Karakteristik *Staphylococcus Sp.* dan *Streptococcus Sp.* dari Infeksi Ovarium Pada Ayam Petelur Komersial. *Jurnal Ilmu Ternak*, Vol. 1, No. 7, 32 – 37.
- Rieuwpassa, I.E., Rahmat dan Karlina, 2011. Daya Hambat Ekstrak *Aloe vera* terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (*studi in vitro*). *Dentofasial*, Vol.10, No.2,:65-70
- Yuhana, S.A., R. Kusdarwati dan Dewa Ketut Meles. 2011. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap Bakteri *Streptococcus iniae* Secara *In Vitro*. *Jurnal Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga.
- Yuliani, R., P. Indrayudha, dan S.S Rahmi, 2011. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Pharmacon*, Vol. 12, No. 2 (50-54).