

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

Fatmawati Saifuddin<sup>1\*</sup>, Husnidar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Almuslim Bireuen

<sup>\*</sup>Email : fatmawatisaifuddin86@gmail.com

<sup>2</sup>Program Studi Budidaya Perairan Universitas Almuslim Bireuen

Diterima 8 Maret 2018/Disetujui 30 April 2018

**ABSTRAK**

Penelitian mengenai “uji konsentrasi hambat minimal ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus iniae* 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 Brain Heart Infusion Broth (BHIB) yaitu 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% diujikan pada *Streptococcus iniae*, 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 menunjukkan bahwa media BHIB ditambah konsentrasi ekstrak daun jeruk purut 15%, 20% dan 25% dianggap memberikan hasil yang terbaik. Hal ini ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada media yang ditambahkan ekstrak daun jeruk purut 15%, 20% dan 25%. Sehingga tidak terjadinya pertumbuhan bakteri pada media tersebut.

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

**ABSTRACT**

This research is about “Minimum Inhibitory Concentration (MIC) test of kaffir lime leaves (*Citrus hystrix*) extract on the growth of *Streptococcus iniae* on Milkfish (*Chanos chanos*)”. The research was done in the Science Laboratory of Agriculture Department, Almuslim University, it was conducted from April to May 2018. This research used Completely Randomized Design (CRD) consisted of 7 treatments with 3 replications. Kaffir lime leaves (*Citrus hystrix*) extract concentrations added to *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) media were 5%, 10%, 15%, 20%, and 25% which was tested on *Streptococcus iniae*, with a positive control of 2% chlorhexidine and negative control of mineral water. The parameter of this research was minimum inhibitory concentration. The observation was done after 24 hour incubation period. The research result was determined by observing the clarity of media through different extract concentrations. The results showed that BHIB media which had been added the kaffir lime leaves extract concentration of 15%, 20% and 25% have best result. It indicated there is no turbidity found in the media which had been added the kaffir lime leaves extract of 15%, 20% and 25%; so there was no growth of bacterial populations on the media.

Key words: *kaffir lime leaves* (*Citrus hystrix*), *Streptococcus iniae*, *minimum inhibitory concentration*, *Milkfish* (*Chanos chanos*)

**PENDAHULUAN**

Usaha budidaya merupakan salah satu usaha yang dapat memberikan alternatif sumber

penghasilan untuk dapat meningkatkan pendapatan bagi petani tambak. Peningkatan permintaan produk perikanan untuk kebutuhan domestik maupun ekspor saat ini telah menempatkan sektor perikanan pada

posisi yang penting. Salah satu produk perikanan yang sering dikonsumsi oleh masyarakat adalah ikan bandeng (Sukanto dan Dedi Sumarno, 2011). Ikan bandeng (*Chanos chanos*) merupakan ikan bernilai ekonomis penting yang banyak dielihara di tambak-tambak air payau di Indonesia. Ikan ini merupakan konsumsi yang berperan penting dalam memenuhi kebutuhan protein masyarakat karena harganya relatif murah (Anwar, 2014).

Penyakit dapat menghambat pertumbuhan ikan bandeng, bahkan menyebabkan kematian dan gagal panen. Beberapa kasus wabah penyakit akibat infeksi bakteri telah menyebabkan pembudidaya mengalami kerugian besar, oleh karena itu, penanganan penyakit perlu mendapat perhatian serius (Gardenia *et al.*, 2010). Identifikasi bakteri pada berbagai anggota tubuh ikan bandeng yang diduga terdapat bakteri penyebab penyakit salah satunya adalah bakteri patogen pada ikan yaitu *Streptococcus iniae* (Jamaluddin, 2016).

Pengembangan penelitian bahan herbal sebagai sumber obat yang memiliki efek antimikroba dan dapat mengurangi efek samping dan memiliki nilai yang lebih ekonomis. Salah satunya dengan menggunakan jeruk purut (*Citrus hystrix*). Tanaman ini merupakan tanaman penghasil minyak atsiri. Minyak atsiri mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Rahmi *et al.*, 2013). Selain minyak atsiri, Ada beberapa kandungan lainnya dari daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) sebagai zat antibakteri yaitu : *flavonoid*, *tanin* (Darsana, 2012) dan *alkaloid* (Andrianto dan Subagyo, 2014). Dengan pertimbangan bahwa negara Indonesia memiliki kekayaan bahan alami berupa tumbuhan jeruk purut yang cukup melimpah, sehingga dapat digunakan sebagai bahan alternatif dalam pengendalian penyakit pada ikan, maka peneliti tertarik untuk menguji konsentrasi hambat minimal ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus iniae* pada ikan bandeng (*Chanos chanos*).

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium MIPA Fakultas Pertanian, Universitas Almuslim sejak 3 April hingga 19 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, 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, Matanglumpung Dua, Kabupaten Bireuen. Bahan lainnya yang diperlukan adalah Ekstrak etanol daun

jeruk purut, *Khlorheksidin* 2%, medium *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB), 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (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 10ml untuk memperoleh konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25% dari ekstrak daun jeruk purut.

Pengujian sampel dilakukan dengan cara memasukkan medium BHIB sebanyak 5 ml ke dalam 5 tabung. Kemudian masukkan suspensi bakteri *Streptococcus iniae* 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 PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

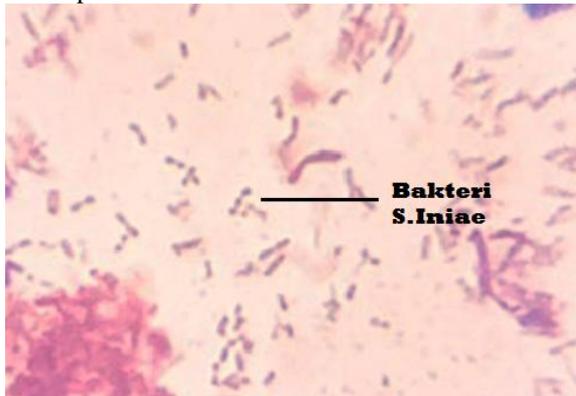
Penelitian uji konsentrasi hambat minimal ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus iniae* pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos*), telah dilaksanakan dengan mengikuti kaidah ilmiah dengan standard sterilisasi yang sesuai dengan metode kerja penelitian, Hal ini harus dilakukan agar tidak terjadi bias dalam pengambilan data hasil penelitian. Sebelum penelitian, dilakukan identifikasi bakteri. Hasil identifikasi ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil identifikasi isolat bakteri *Streptococcus Iniae*

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

Keterangan: 1= Holt, *et al.*, 1994; 2= Yuhana *et al.*, 2011

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

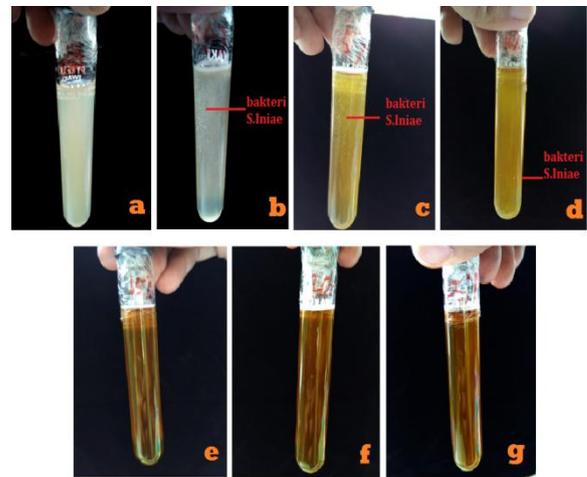


Gambar 1 Morfologi hasil pewarnaan gram dengan mikroskop pembesaran 40x

Tabel 2 Hasil uji konsentrasi hambat minimal pada perlakuan

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

Berdasarkan pengamatan, 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. Setelah diinkubasi selama 24 jam, media pada konsentrasi 5- 10% terlihat keruh. Kekeruhan media adalah akibat pertumbuhan bakteri yang telah dibandingkan dengan perlakuan kontrol (Tabel 2). 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:

- Perlakuan kontrol positif (*Klorheksidin* 2%)
- Perlakuan kontrol negatif (*Aquadest*)
- Perlakuan ekstrak daun jeruk purut 5%
- Perlakuan ekstrak daun jeruk purut 10%
- Perlakuan ekstrak daun jeruk purut 15%
- Perlakuan ekstrak daun jeruk purut 20%
- Perlakuan ekstrak daun jeruk purut 25%

Hasil dari inkubasi pada temperatur 37°C selama 24 jam, kemudian dilakukan pemeriksaan, memperlihatkan bahwa media BHIB ditambah konsentrasi ekstrak daun jeruk purut 15%, 20% dan 25% dianggap memberikan hasil yang terbaik. Hal ini ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada media yang ditambahkan ekstrak daun jeruk purut 15%, 20% dan 25%. Sehingga tidak adanya 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.iniae*. Ekstrak daun jeruk purut dapat menghambat bakteri *Streptococcus* 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 (Darsana, 2012).

Ekstrak daun jeruk purut yang diberikan dalam konsentrasi yang terlalu rendah, menunjukkan hasil yang tidak begitu baik, karena setelah dilakukan pemeriksaan visual, terdapat kekeruhan pada media yang ditambahkan ekstrak daun jeruk purut 5%, dan 10%. 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.iniae*. karena adanya selubung kapsul pada beberapa strain dari *S. iniae* (Yuhana *et al.*, 2011). Aktivitas antibakteri pada ekstrak dikarenakan kemampuan bahan aktif tersebut membentuk ikatan dengan protein terlarut dan dengan dinding sel bakteri (Darsana, 2012). Namun dengan adanya kapsul bakteri yang dapat menyebabkan bahan aktif ekstrak dalam konsentrasi yang rendah (5% dan 10%) tidak dapat berikatan dengan dinding sel sehingga tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. Iniae*.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Pengujian Ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) pada konsentrasi yang tinggi (15-25%) sesuai dengan prosedur penelitian, dianggap memberikan hasil yang terbaik. Hal ini ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada media, sehingga tidak terjadinya pertumbuhan bakteri pada media tersebut. Ekstrak daun jeruk purut yang diberikan dalam konsentrasi yang terlalu rendah, menunjukkan hasil yang tidak begitu baik, karena setelah dilakukan pemeriksaan visual, terdapat kekeruhan pada media yang ditambahkan ekstrak daun jeruk purut 5%, dan 10%. Kekeruhan pada media terjadi akibat pertumbuhan bakteri setelah dibandingkan dengan kontrol perlakuan positif dan negatif.

### 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 photography.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andrianto H., Subagyo Y.H. 2014. *Efektivitas Ekstrak Daun Jeruk Purut*. 6(1):1-6.
- Anwar, C. 2014. *Budidaya Ikan Bandeng (Chanos chanos) Pada Tambak Ramah Lingkungan*. WWF- Indonesia. Jakarta.
- Darsana, I.G.O., 2012, Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* secara *In Vitro*, *Indonesia Medicus Veterinus*, 1 (3), 337 – 351.
- Gardenia, L., I. Koesharyani, H. Supriyadi, dan T. Mufidah. 2010. Aplikasi Deteksi *Aeromonas hydrophila* Penghasil Aerolysin dengan Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*. Jakarta. Hlm : 877.
- 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.
- Miftahendarwati. 2014. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans (in vitro)*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
- Pommerville, J.C. 2011. *Alcano's Laboratory Fundamentals of Microbiology*. Jones and Bartlett Learning, LLC.
- Rahmi U, Yunazar M, Adlis S. 2013. Profil Fitokimia Metabolik Sekunder Dan Uji Aktivitas Antioksidan Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) dan Jeruk Bali (*Citrus maxima* (Burm.f.) Merr). *Jurnal Unand*. 2(2): 2303-2311. [1] [2] [SEP]
- Sukamto dan Dedi Sumarno. 2011. Penangkapan Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) dengan Alat Tangkap Jaring Insang Di Waduk Cirata, Jawa Barat. *BTL*: Vol.9 No.1.

- Todar, K. 2005. *Todar's Online Textbook of Bacteriology, Staphylococcus*. Diakses melalui [http://textbookbacteriology.net/stap\\_2.html](http://textbookbacteriology.net/stap_2.html) [20/4/2014].
- 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.