Aktivitas Antimikroba Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* L.) Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila, Streptococcus agalactiae* dan Jamur *Saprolegnia* sp.

(Antimicrobial Activity of Lotus Seeds (*Nymphaea pubescens* L.) on Bacteria *Aeromonas hydrophila, Streptococcus agalactiae,* and *Saprolegnia* sp.)

Dewi Roma Widya[1], Dwi Suryanto[2], Desrita[3]

[1]Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, (Email : dewi.roma@yahoo.com)
[2]Departemen Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sumatera Utara
[3]Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara

ABSTRACT

Disease prevention in fish using chemicals or antibiotics leads to microbial resistance. One alternative to control the fish disease is to use plant extract. The aim of this study was to investigate the antimicrobial activity of lotus seeds (*Nymphaea pubescens* L.) on pathogenic bacteria and fungi in fish. The lotus seed was extracted with several solvent, such as n-hexsane, ethyl-acetate, and methanol. Antimicrobial activity assay was carried out using disc diffusion method. Phytochemical preliminary test was done to determine seed chemical compounds. The brine shrimp lethality test was utilised to determine the extract toxicity. The result showed that all extracts inhibited *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae*, and *Saprolegnia* sp. growth to some extent. The extract was to inhibit more to *S. agalactiae* with inhibition zone of 10.72 mm. In general extract of n-heksana was to inhibit more to the test microbes. Cytotoxic activity (LC_{50}) was <1000 µg/ml. Preliminary test of phytochemical compound showed that extracts of lotus seed contains alkaloid, fenolic, glicoside, saponin and steroid/terpenoid.

Keywords: Antimicrobial activity, microbial pathogenic, *Nymphaea pubescens* L.

PENDAHULUAN

Penyakit pada ikan dapat disebabkan oleh bakteri, jamur, virus dan parasit yang terdapat di perairan. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri, selain dapat menyebabkan kematian massal juga mengganggu kualitas ikan dengan menurunkan mutu daging ikan yang terinfeksi sehingga tidak disukai oleh konsumen (Gardenia dkk., 2010). Salah satu penyakit bakteri pada ikan disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Streptococcus agalactiae*. Serangan bakteri *Aeromonas* yang pernah menimbulkan kematian puluhan ton ikan di Indonesia terjadi di Jawa Barat pada bulan Oktober 1980 (Ghufran dan Kordi, 2004).

Disamping bakteri beberapa jamur dapat menimbulkan penyakit infeksi pada ikan budidaya, baik ikan air tawar maupun ikan laut atau payau, ikan konsumsi ataupun ikan hias.

Salah satunya adalah jamur *Saprolegnia* sp. Ikan yang terserang penyakit ini dipenuhi benang-benang putih seperti kapas yang tumbuh pada kulit, sirip, insang mata dan telur ikan.

Penanggulangan penyakit pada ikan biasanya menggunakan zat kimia atau antibiotik. Penggunaan antibiotik dapat menimbulkan resistensi terhadap bakteri, jamur, virus, dan parasit. Selain itu juga membutuhkan biaya yang cukup besar serta dapat mencemari lingkungan.

Penanggulangan secara alami dengan memanfaatkan ekstrak tanaman merupakan salah satu alternatif. Beberapa tanaman mengandung senyawa yang bersifat antimikroba yang dapat dimanfaatkan untuk menghambat pertumbuhan dan membunuh agen penyebab penyakit, salah satunya adalah biji teratai (*Nymphaea pubescens* L).

Tujuan penelitian ini mengidentifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak biji teratai, mengetahui daya antimikroba ekstrak biji teratai terhadap bakteri uji *A. hydrophila*, *S. agalactiae* dan jamur *Saprolegnia* sp. secara *in vitro* dan mengetahui daya toksisitas ekstrak biji teratai dengan metode uji *Brine Shrimp*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Mikroskop, mortar, ayakan mesh 32, labu Erlenmeyer, spatula, blender, pipet tetes, rak tabung, *object glass*, *cover glass*, tabung reaksi, timbangan analitik, corong, *rotary evaporator*, *water bath*, corong pemisah, kaki tiga, wadah penetasan, aerasi, sendok teh, tanggok, gelas ukur, botol vial, jarum suntik, cawan Petri, oven, *hot plate*, *stirer*, *autoclave*, *Laminar air flow*, jarum ose, bunsen, inkubator, *beaker glass*, pinset, *micropipet*, *vortex*, jangka sorong, kertas saring.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji teratai (*Nymphaea pubescens* L.), isolat murni bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Medan II, *S. agalactiae* diperoleh dari Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar Bogor dan jamur *Saprolegnia* sp., diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara, *Thin Layer Cromatography* (TLC), air, garam non-yodium, kista *Artemia salina* (Mackay Marine), pelarut n-Heksana, Etil asetat, Metanol, *Dimethyl sulfoxide* (DMSO), asam asetat anhidrat, H_2SO_4 pekat, air laut, HCl 2 N, Pb asetat, kloroform isopropanol, $FeCl_3$ 1%, metanol, NaOH 10%, pereaksi Dragendrauf, pereaksi Bauchardat, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, *Trypticase soy agar* (TSA), *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Brain-Heart Infusion Agar* (BHIA), akuades, alkohol 70%, NaCl 0,9%, kertas cakram, disk kloramfenikol, disk nistatin, kapas, kertas label, aluminium foil.

Pembuatan Ekstrak Biji Teratai

Biji teratai dikeringkan pada suhu ruangan tanpa terkena sinar matahari langsung selama ± 1 minggu. Biji direndam (maserasi) dengan n-heksana selama ± 24 jam, dilakukan pengadukan sesekali. Sampel disaring sehingga diperoleh filtrat dan ampas. Filtrat dievaporasi dengan *rotary evaporator* dan dilakukan pemekatan ekstrak dengan penangas air (*water bath*). Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap pelarut etil asetat

dan metanol secara berturut-turut dengan pengenceran tunggal.

Uji Fitokimia Biji Teratai

Pengujian golongan alkaloid, dengan cara ekstrak diambil 4 ml dimasukkan masing-masing 1 ml kedalam 4 tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat, apabila terbentuk endapan berwarna cokelat sampai hitam maka sample positif alkaloid. Tabung kedua ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendroff, apabila terbentuk endapan berwarna merah/jingga maka sampel positif alkaloid. Tabung ketiga ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, apabila terbentuk endapan berwarna putih/kuning maka sampel positif alkaloid. Tabung keempat ditambahkan 2 tetes pereaksi Wagner, apabila terbentuk endapan berwarna cokelat maka sampel positif alkaloid.

Pengujian golongan fenolik, ekstrak diambil 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan $FeCl_3$ 1%. Jika terjadi perubahan warna menjadi hitam maka positif terdapat senyawa senyawa fenolik.

Pengujian golongan glikosida, Simplisia ditimbang 3 Gram kemudian dimasukkan kedalam labu Erlenmeyer, ditambahkan 30 ml campuran etanol 96%-air (7:3), ditambahkan asam sulfat pekat hingga diperoleh pH larutan 2, kemudian direfluks dengan memakai pendingin bola selama 10 menit, kemudian didinginkan lalu disaring.

Filtrat diambil 20 ml ditambahkan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok lalu didiamkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat diekstraksi 3 kali, masing-masing dengan 20 ml campuran pelarut kloroform-isopropanol (3:2) kemudian akan diperoleh dua lapisan, kumpulkan masing-masing sari (sari air dan sari pelarut organik). Pada kumpulan sari pelarut organik ditambahkan natrium sulfat anhidrat, kemudian disaring lalu filtrat diuapkan pada suhu tidak lebih dari 50^0C. Sisa penguapan dilarutkan dengan 2 ml metanol.

Uji gula, filtrat dimasukkan sari air ke dalam tabung reaksi, diuapkan diatas penangas air. Sisa filtrat ditambahkan 2 ml air dan 5 tetes molish LP dan 2 ml asam sulfat pekat, jika terbentuk cincin berwarna ungu pada batas cairan, menunjukkan adanya ikatan gula.

Uji non-gula, filtrat diuapkan diatas penangas air, sisa filtart dilarutkan dengan 5 tetes asam asetat anhidrat, ditambahkan 10 tetes asam sulfat pekat, jika terbentuk warna biru hijau, menunjukkan adanya glikosida (reaksi Liebermann Burchard)

Pengujian golongan terpenoid/ steroid dengan cara ekstrak diambil sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 tetes perekasi Liebermann-Bouchard. Apabila terbentuk warna biru ungu/ biru hijau menunjukkan adanya terpenoid/ steroid. Pengujian dengan $CeSO_4$ dilakukan dengan metode *Thin Layer Cromatography* (TLC) dengan cara ekstrak sampel diteteskan ke plat TLC kemudian disemprot dengan pereaksi $CeSO_4$ dan dipanaskan di atas *hot plate*. Kemudian diamati perubahan warna yang telah terjadi dan dibandingkan dengan standar triterpenoid dan β-sitosterol yang terbentuk.

Pengujian golongan saponin, setelah 24 jam ampas dari proses maserasi diambil dengan spatula sebanyak 0,5 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml akuades. Tabung reaksi dikocok hingga muncul buih.

Kemudian diberi 1 tetes HCl 2 N, bila buih terbentuk ± 10 menit maka terdapat senyawa saponin.

Uji Toksisitas Biji Teratai

Kista *A. salina* ditetaskan dalam bejana yang berisi air dengan salinitas 33 ppt (100 gram garam laut + 3 liter akuades) dan dilengkapi dengan alat aerasi. Selanjutnya dibiarkan selama 48 jam hingga kista menetas dan tumbuh dewasa.

Larutan induk ekstrak biji teratai untuk setiap uji dibuat dengan melarutkan 20 mg dalam 2 ml pelarut DMSO. Larutan uji 1000 ppm dibuat dengan memipet larutan induk sebanyak 500 µl, sedangkan larutan uji 100 ppm dengan memipet 50 µl dan 10 ppm dibuat 5 µl dari larutan induk. Masing-masing larutan uji dimasukkan ke dalam vial dan ditambahkan air dengan salinitas 33 ppt hingga volumenya 5000 µl. Sebanyak 10 ekor larva udang *A. salina* dimasukkan ke dalam vial. Kematian *A. salina* diamati setelah 24 jam.

Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji

Konsentrasi yang akan digunakan yaitu 0% (Kontrol negatif); 50%; 60%; 70%; 80%; dibuat dengan cara menimbang ekstrak biji teratai sebanyak 0,8 gram dan dilarutkan dalam 1 ml larutan DMSO. Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga diperoleh konsentrasi 50%; 60%; 70%. Uji antibiotik (kontrol positif) untuk jamur menggunakan disk nistatin dan bakteri disk kloramfenikol.

Penyiapan Bakteri dan Jamur Uji

Bakteri *Aeromonas hydropila* diinokulasi ke media TSA dan *Streptococcus agalactiae* ke media BHIA, sedangkan jamur *Saprolegnia* sp. diinokulasikan ke media PDA. Inokulum selanjutnya diinkubasi pada suhu 35^0C selama 24 jam untuk bakteri *Aeromonas hydropila*, 48 jam untuk bakteri *Streptococcus agalactiae* dan 7 hari untuk jamur *Saprolegnia* sp. Stok kultur bakteri yang ada diambil biakannya dengan jarum ose steril dan suspensikan ke dalam tabung yang berisi 3 ml larutan NaCl fisiologis 0,9%, dihomogenkan dengan *vortex* hingga diperoleh kekeruhan suspensi sebanding dengan kekeruhan larutan McFarland sama dengan 0,5 x 10^8 CFU/ml. Media yang telah ditumbuhi *Saprolegnia* sp. dipotong 0,5 x 0,5 cm dengan menggunakan pisau steril kemudian diletakkan ke media PDA baru.

Pengujian Ekstrak Biji Teratai Terhadap Bakteri dan Jamur

Pengujian ekstrak biji teratai dilakukan dengan metode difusi cakram menggunakan kertas cakram berdiamter 6 mm (Oxoid). Cakram dimasukkan ke dalam botol vial yang telah berisi larutan ekstrak dengan konsentrasi 50%; 60%; 70%; 80%, ditunggu ± 1 jam hingga larutan ekstrak meresap ke dalam cakram. Pengujian untuk jamur dilakukan setelah jamur berumur 2 hari dan suspensi bakteri yang telah dibuat dicelupkan lidi kapas steril dan diusapkan perlahan-lahan pada permukaan media secara merata dan ditunggu hingga mengering pada suhu kamar. Cakram yang telah ditetesi ekstrak dengan konsentrasi berbeda dan antibiotik diletakkan secara teratur pada permukaan media uji dengan menggunakan pinset.

Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri dan Jamur

Pengamatan diameter zona hambat diukur dengan mengurangkan diameter zona hambat dengan diameter kertas cakram. Pengamatan untuk jamur dilakukan dengan cara mengukur batas akhir pertumbuhan dari jamur pada sumbu x dan batas akhir pertumbuhan jamur normal pada sumbu y, kemudian mengurangkan — (Suryanto dkk., 2011).

HASIL PENELITIAN

Ekstraksi Biji Teratai (*Nymphaea pubenscens* L.)

Ekstraksi biji teratai dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol. Hasil ekstraksi biji teratai dapat dilihat pada Tabel 2.

Uji Fitokimia Biji Teratai

Ekstrak metanol mengandung senyawa alkaloid, fenolik, glikosida, saponin dan terpenoid/steroid. Ekstrak etil asetat mengandung senyawa alkaloid, glikosida dan terpenoid/steroid. Ekstrak n-heksana mengandung senyawa terpenoid/steroid. Hasil pengujian fitokimia biji teratai dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Hasil ekstrak pekat biji teratai

	n-heksana (gram)	etil asetat (gram)	metanol (gram)
Berat sampel	600	600	600
Ekstrak pekat	5,5969	4,1706	10,1379
Warna	Kuning	Hijau kekuningan	Merah bata

Tabel 3. Hasil uji fitokimia masing-masing ekstrak biji teratai

Golongan Senyawa	Pereaksi	Ekstrak n-heksana	Ekstrak etil asetat	Ekstrak metanol
Alkaloid	Bouchardat	-	-	-
	Dragendroff	-	+	+
	Mayer	-	+	+
	Wagner	-	-	-
Fenolik	$FeCl_3$	-	-	+
Glikosida	Fehling	-	+	+
	Molish	-	+	+
	Liebermann-Bourchard	-	+	+
Saponin	Akuades-HCl	-	-	+
Terpenoid/steroid	Liebermann-Bourchard	+	+	+
	Cerium sulaft ($CeSO_4$)			
	Triterpenoid	+	+	+
	β-sitosterol	+	+	+

Uji Toksisitas Biji Teratai

Hasil pengujian ekstrak biji teratai terhadap larva *A. salina* menunjukkan bahwa ekstrak biji teratai toksik dengan kisaran LC_{50} antara 250-500 µg/ml dapat dilihat pada Tabel 4.

Uji Antimikroba Ekstrak Biji Teratai Terhadap Mikroba

Ekstrak biji teratai menunjukkan adanya zona hambat pada ketiga mikroba uji. Zona hambat terlihat pada bakteri *A. hydrophila* setelah pengamatan 24 jam hanya pada pelarut n-heksana. Zona hambat yang terlihat pada bakteri *S. agalactiae* setelah pengamatan 48 jam terdapat pada setiap pelarut sama seperti pada *Saprolegnia* sp. selama pengamatan 5 hari. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 5.

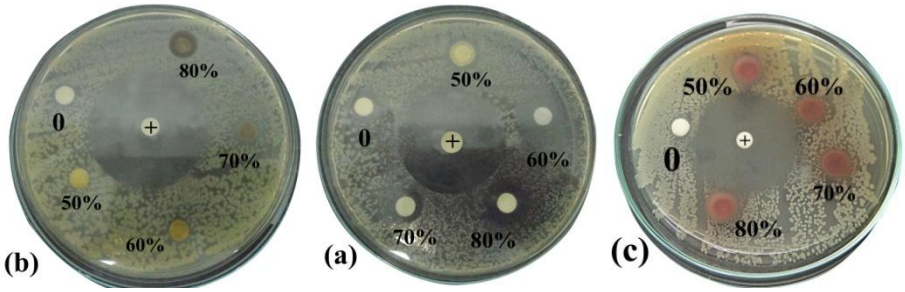
Tabel 4. Hasil pengamatan LC_{50} dengan metode BSLT

Pelarut	Konsentrasi (ppm)	Total Populasi	Jumlah Kematian	LC_{50} (ppm)
n-heksana	0	50	3	257,709
	10	50	15	
	100	50	21	
	1000	50	26	
etil asetat	0	50	3	495,675
	10	50	15	
	100	50	24	
	1000	50	23	
metanol	0	50	3	495,675
	10	50	15	
	100	50	21	
	1000	50	24	

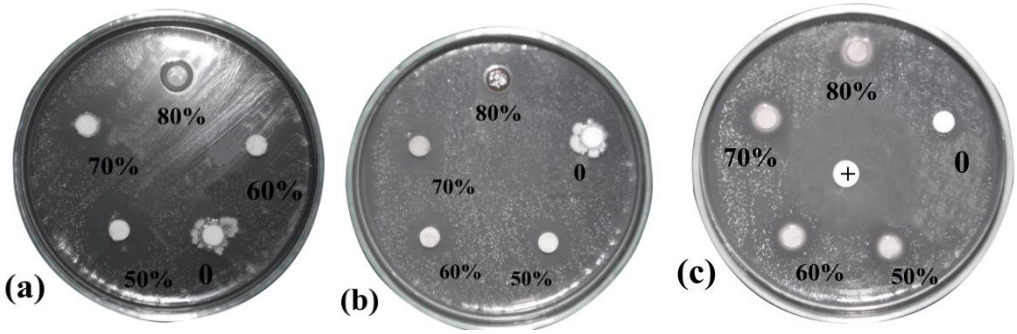
Table 5. Hasil pengamatan antimikroba dengan metode difusi

Mikroba	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)		
		n-heksana	etil asetat	metanol
A. hydrophila	0	0	0	0
	50	4,62	0	0
	60	3,46	0	0
	70	2,52	1,90	0
	80	5,74	4,40	0
	Kloramfenikol (10µg)	33,30	33	32,70
S. agalactiae	0	0	0	0
	50	15,04	6,78	5,04
	60	15,06	8,04	4,16
	70	15,24	7,98	7,72
	80	16,06	8,28	7,82
	Kloramfenikol (10µg)	43,02	45,80	45,80
Saprolegnia sp.	0	0	0	0
	50	8	5,80	8,80
	60	6,20	6	9,20
	70	9,80	9,60	9,60
	80	8,60	9	10,60
	Nistatin (20,6 µg)	11,46	12,50	10,96

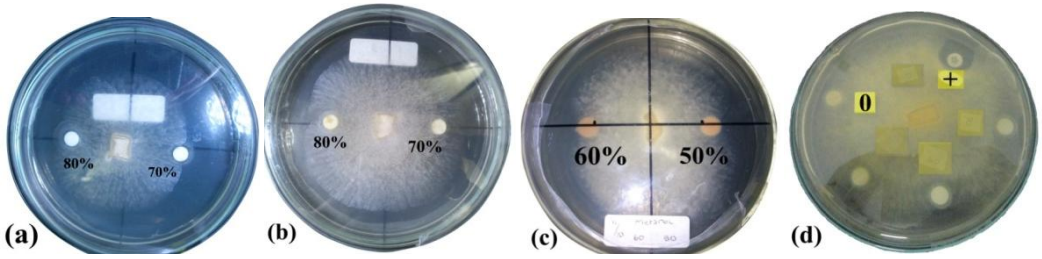
Hasil pengujian ekstrak biji teratai terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* menunjukkan adanya zona hambat pada ekstrak n-heksana. (Gambar 8). Hasil pengujian ekstrak biji teratai terhadap pertumbuhan bakteri *S. agalactiae* menunjukkan adanya zona hambat pada setiap ekstrak. (Gambar 9). Hasil pengujian ekstrak biji teratai terhadap pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp. menunjukkan adanya zona hambat pada setiap ekstrak (Gambar 10).



Gambar 8. Zona hambat ekstrak biji teratai dengan pelarut (a) n-heksana (b) etil asetat (c) metanol terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*



Gambar 9. Zona hambat ekstrak biji teratai dengan pelarut (a) n-heksana (b) etil asetat (c) metanol terhadap pertumbuhan bakteri *S. agalactiae*



Gambar 10. Zona hambat ekstrak biji teratai dengan pelarut (a) n-heksana (b) etil asetat (c) metanol terhadap pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp. (d) kontrol positif dan negatif

PEMBAHASAN

Ekstraksi Biji Teratai (*Nymphaea pubenscens* L.)

Ekstraksi biji teratai dengan menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol diperoleh secara berturut-turut adalah 5,5969 gram, 4,1706 gram dan 10,1379 gram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa komponen-komponen senyawa yang terkandung pada biji teratai lebih banyak terekstrak atau larut pada pelarut yang bersifat polar.

Uji Fitokimia Biji Teratai

Ekstrak metanol biji teratai mengandung senyawa alkaloid, fenolik, glikosida, saponin dan terpenoid/steroid, sedangkan pelarut etil asetat dan n-heksana bukan merupakan pelarut yang potensial untuk menarik senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam biji teratai. Ekstrak etil asetat mengandung senyawa alkaloid, glikosida, tanin, dan terpenoid/ steroid. Ekstrak n-heksana biji teratai diketahui hanya mengandung senyawa terpenoid/steroid.

Uji Tokisitas Biji Teratai

Metode yang digunakan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan *A. salina*. Uji ini merupakan uji yang paling sederhana sebagai langkah awal untuk menentukan sifat toksisitas dari bahan alami. Pengujian ekstrak biji teratai dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol terhadap *A. salina* menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana memiliki tingkat toksisitas lebih tinggi dengan nilai LC_{50} 257,709 µg/ml dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan metanol dengan nilai LC_{50} keduanya 495,675 µg/ml. Menurut Lisdawati dkk., (2006) golongan metabolit sekunder alkaloid, terpenoid, saponin dan senyawa polifenol yang terdapat di dalam daun dan buah tanaman mahkota dewa memiliki aktivitas antimikroba.

Hasil penelitian menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan semakin besar jumlah *A. salina* yang mati. Kematian larva disebabkan oleh senyawa-senyawa yang terkandung di dalam ekstrak biji teratai yang dapat mengganggu proses pencernaan *A. salina*, Cahyadi (2009) menyatakan cara kerja senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan.

Senyawa non polar mudah untuk masuk ke dalam membran sel melalui proses difusi yang menyebabkan sel lebih cepat mengalami kerusakan atau mati. Senyawa semi polar dan polar tidak mudah berdifusi memasuki dinding sel atau membran, hal ini mengakibatkan senyawa semi polar dan polar lebih sulit untuk masuk ke dalam dinding sel sehingga nilai ketoksikan senyawa semi polar dan polar lebih rendah.

Uji Antimikroba Ekstrak Biji Teratai Terhadap Mikroba

Pada pengujian aktivitas antibakteri digunakan bakteri Gram negatif *Aeromonas hydrophila*, bakteri Gram positif *Streptococcus agalactiae* dan jamur *Saprolegnia* sp. Dari hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak biji teratai berspektrum luas

karena mampu menghambat pertumbuhan ketiga mikroba uji.

Pengujian aktivitas ekstrak n-heksana menunjukkan bahwa hambatan pertumbuhan terbesar terdapat pada bakteri *S. agalactiae* sebesar 16,06 mm pada konsentrasi 80%, kemudian jamur *Saprolegnia* sp. sebesar 9,8 mm pada konsentrasi 70% dan bakteri *A. hydrophila* sebesar 5,74 mm pada konsentrasi 80%. Menurut Harborne (1998) terpenoid dapat menyebabkan terjadinya lisis pada bakteri dengan mengikat protein, lipid dan atau korbohidrat yang terdapat pada membran sel.

Pengujian aktivitas ekstrak etil asetat menunjukkan bahwa hambatan pertumbuhan terbesar terdapat pada bakteri *S. agalactiae* sebesar 8,28 mm pada konsentrasi 80%, kemudian jamur *Saprolegnia* sp. sebesar 9,6 mm pada konsentrasi 70% dan bakteri *A. hydrophila* sebesar 0,88 mm pada konsentrasi 80%. Menurut Juliantina dkk., (2008) alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

Pengujian aktivitas ekstrak metanol menunjukkan bahwa hambatan pertumbuhan terbesar terdapat pada jamur *Saprolegnia* sp. sebesar 10 mm pada konsentrasi 80%, kemudian bakteri *S. agalactiae* sebesar 7,82 mm pada konsentrasi 80% dan tidak memberi pengaruh pada bakteri *A. hydrophila*. Golongan fenol diketahui memiliki aktivitas antimikroba yang bersifat bakterisidal namun tidak bersifat sporisidal dengan mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri serta aktif pada pH asam. Golongan ini juga merusak lipid pada membran plasma mikroorganisme sehingga menyebabkan isi sel keluar (Pratiwi, 2008).

Menurut Ayuningtyas (2008) saponin merupakan senyawa yang diduga sebagai senyawa antibakteri karena memiliki kemampuan dalam menghambat fungsi membran sel sehingga merusak permeabilitas membran yang mengakibatkan dinding sel rusak atau hancur.

Menurut Lutfiyanti dkk. (2012) terpenoid, termasuk triterpenoid dan steroid merupakan senyawa bioaktif yang memiliki fungsi sebagai antijamur. Senyawa senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan jamur, baik melalui membran sitoplasma maupun mengganggu pertumbuhan dan perkembangan spora jamur.

Ekstrak metanol dan etil asetat mengandung senyawa antimikroba yang lebih banyak dibandingkan dengan n-heksana tetapi zona hambat yang dihasilkan n-heksana lebih besar dibandingkan kedua pelarut tersebut. Menurut Marliani dkk. (2011) zona hambat yang dihasilkan metanol lebih lemah mungkin disebabkan karena adanya kerja yang tidak sinergis antara senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol dalam peranannya sebagai antimikroba.

Hasil pengamatan yang diperoleh menunjukkan bahwa diameter zona hambat bakteri *S. agalactiae* besar bila dibandingkan dengan bakteri *A. hydrophila* dan jamur *Saprolegnia* sp.

Pelczar dan Chan (2005) bakteri Gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri

untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja, sedangkan struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks danberlapis tiga, yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa peptidoglikan dan lapisan dalam lipopolisakarida.

Pengujian kontrol negatif dengan perendaman cakram dengan pelarut DMSO tidak menunjukkan adanya aktivitas penghambatan pertumbuhan. DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar, Widowati dan Harfia (2009) DMSO pada konsentrasi di bawah 3% biasanya DMSO tidak toksik kepada sel.

Pengujian antibakteri digunakan kloramfenikol sebagai kontrol positif dimana menunjukkan aktivitas penghambatan yang sangat besar pada *S. agalactiae* sebesar 45,8 mm dan *A. hydrophila* sebesar 33 mm. kloramfenikol merupakan metabolit sekunder dari *Streptomyces venezuellae* yang berukuran relatif kecil sehingga mudah berdifusi ke dalam tubuh (Pratiwi, 2008). Pada pengujian jamur digunakan nistatin untuk kontrol positi pada jamur *Saprolegnia* sp. yang menunjukkan aktivitas penghambatan sebesar 12,5 mm. nistatin merupakan antibiotik yang dihasilkan dari *Strptomyces noursei*, Pelczar dan Chan (2005) mengemukakan cara kerja nistatin adalah merusak sel-sel khamir, juga sel cendawan lain, dengan cara bergabung dengan sterol yang terdapat dalam membran sel. Hal ini mengakibatkan kacaunya organisasi di dalam struktur molekuler membran, diikuti dengan gangguan pada fungsinya.

KESIMPULAN

Hasil uji fitokimia ekstrak biji teratai (*Nympaea pubescens* L.) dengan pelarut metanol mengandung senyawa alkaloid, fenolik, glikosida, saponin dan terpenoid/steroid, pelarut etil asetat mengandung senyawa alkaloid, glikosida dan terpenoid/steroid dan pelarut n-heksana mengandung senyawa terpenoid/steroid. Ekstrak biji teratai memiliki aktivitas antimikroba yang bervariasi dan ekstrak biji tertai dengan pelarut n-heksana merupakan pelarut yang paling efektif. Ekstrak biji teratai bersifat toksik dengan pelarut n-heksana memiliki nilai LC_{50} 257,709 µg/ml, etil asetat dan metanol memiliki nilai LC_{50} 495,656 µg/ml yang lebih kecil dari 1000 µg/ml.

SARAN

Sebaiknya dilakukan pengujian lebih lanjut secara *In vivo* dengan langsung menguji terhadap ikan untuk lebih mengetahui ekstrak biji teratai dapat dijadikan sebagai obat alami.

DAFTAR PUSTAKA

Ayuningtyas A. K., 2008. Efektivitas Campuran Meniran *Phyllanthus niruri* dan Bawang Putih *Allium sativum* untuk Pengendalian Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias gariepenus*. Skripsi. Prodi Teknologi dan Manajemen Akuakultur Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Cahyadi R., 2009. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica cahrantia* L.) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Karya Tulis Ilmiah. Fakultas

Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.

Gardenia L., Isti K., Hambali S dan Tatik M., 2010. Aplikasi Deteksi *Aeromonas hydrophila* Penghasil Aerolysin dengan Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. Jakarta.

Ghufran M dan Kordi K. 2004., Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. Rineka Cipta: Jakarta.

Juliantina F., Dewa A. C. M., Bunga N., Titis N., Endrawati T. B., 2008. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia.

Lisdawati V., Sumali W., Broto. S dan Kardono. 2006. Bioasai InVitro Antikanker Terhadap Sel Leukimia L1210 dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*). Jurnal Bahan Alam Indonesia. 5 (1). 303-309.

Lutfiyanti R., Widodo F. M dan Eko N.D., 2012. Aktivitas Antijamur Senyawa Bioaktif Ekstrak *Gelidium latifolium* terhadap *Candida albicans*. Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan. 1(1): 1-8.

Pelczar M. J dan Chan E. C. S., 2005. Dasar-dasar Mikrobiologi 2. Penerjemah Ratna. S. H. Penerbit Universitas Indonesia: Jakarta.

Pratiwi S. I., 2008. Mikrobiologi Farmasi. Penerbit Erlangga: Jakarta.

Widowati L dan Harfia M., 2009. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 50% Umbi Keladi Tikus (Typhonium flagelliforme (Lood) Bi) Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 In Vitro. Media Litbang Kesehatan. 19 (1).