

# UJI EFEKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP BAKTERI *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda* DAN FUNGI *Saprolegnia* sp.

Antimicrobial Effectivity Test of Soursop Leaf (*Annona muricata* L.) Extract against Fish Pathogenic Bacteria and fungus

Friyuanita Lubis<sup>1</sup>, Dwi Suryanto<sup>2</sup>, Yunasfi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, (Email: friyuanita\_lbs@yahoo.co.id)

<sup>2</sup>Departemen Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sumatera Utara

<sup>3</sup>Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara

## ABSTRAK

*This study was aimed to determine antimicrobial effectivity of soursop leaf (Annona muricata L.) against bacterial pathogens Aeromonas hydrophila, Edwardsiella tarda and fungus Saprolegnia sp. and to determine the extract toxicity to Artemia salina Leach. Extraction was done by maceration method using methanol, ethyl acetate and n-hexane. Phytochemical test was conducted to all extracts. Antimicrobial effectivity test was done using the agar diffusion method. Toxicity test was conducted using Brine Shrimp Lethality Test. The result of phytochemical test of soursop leaf extract showed that the extract contained of alkaloid, phenolic, and steroid/terpenoid. Antimicrobial test showed that the soursop leaf extract inhibit Aeromonas hydrophila, Edwardsiella tarda bacteria to some extent while fungus Saprolegnia sp. was not inhibited. All extracts were medium and highly toxic. LC<sub>50</sub> of extract of ethyl acetate, methanol and n-hexane were 12.16, 13.07, 63.23 ppm, respectively.*

Keywords: Antimicrobial effectivity, Toxicity, *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda*, *Saprolegnia* sp.

## PENDAHULUAN

Salah satu kendala yang sering dihadapi dalam budidaya ikan adalah serangan penyakit. Serangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri merupakan suatu kendala yang sering terjadi dalam budidaya perikanan (Sudarno dkk., 2012).

Bakteri *Edwardsiella tarda* menyebabkan beberapa gejala klinis yaitu pada infeksi ringan yang ditandai dengan luka kecil kemudian berkembang menjadi luka yang bernanah, pada infeksi berat dapat menyebabkan luka bernanah yang bertambah secara cepat dengan berbagai ukuran. Pada infeksi berat luka bernanah tersebut berisi gas dan dapat menyebar ke seluruh tubuh serta jika luka tersebut digores maka akan tercium bau busuk yang

diakibatkan kandungan H<sub>2</sub>S pada luka tersebut (Health Agency, 2001).

Selain bakteri beberapa jamur dapat menimbulkan penyakit infeksi pada ikan budidaya, 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 sistem budidaya umumnya menggunakan antibiotik. Akan tetapi, penggunaan antibiotik saat ini sudah dilarang karena dapat menimbulkan efek resisten pada bakteri patogen serta mengakibatkan pencemaran air lingkungan. Penggunaan antibiotik pada ikan konsumsi dapat

meninggalkan residu pada tubuh inangnya, sehingga tidak aman apabila dikonsumsi oleh manusia. Oleh karena itu diperlukan alternatif pengobatan lain yang lebih ramah lingkungan dan tidak menimbulkan efek resisten terhadap bakteri (Kamaludin, 2011).

Penggunaan tanaman sebagai obat memiliki beberapa keuntungan yaitu bahan alami pengganti antibiotik, ramah terhadap lingkungan, tidak menyebabkan resistensi pada ikan, mudah diperoleh dan harganya ekonomis. Tanaman obat terbukti efektif mengatasi penyakit bakteri salah satunya yaitu tanaman sirsak (*A. muricata* L.). Daun sirsak yang mengandung flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid ini berpotensi sebagai bahan untuk mencegah penyakit infeksi bakteri (Permatasari dkk., 2013). Hal ini menunjukkan bahwa daun sirsak berpotensi sebagai antimikroba terhadap *A. hydrophila*, *E. tarda* dan fungi *Saprolegnia* sp.

Tujuan penelitian ini mengidentifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak, mengetahui efektivitas antimikroba ekstrak daun sirsak terhadap bakteri uji *A. hydrophila*, *E. tarda* dan jamur *Saprolegnia* sp. secara *in vitro* dan mengetahui daya toksisitas ekstrak daun sirsak dengan metode uji *Brine Shrimp Lethality Test* terhadap *A. salina*.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian dilaksanakan dimulai dari pembuatan ekstrak dan pengujian fitokimia daun sirsak di Laboratorium Kimia Bahan Alam, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara. Pengujian Efektivitas antimikroba dan Pengujian Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp* dilakukan di Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, Dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas II Tanjungbalai Asahan.

### **Alat dan Bahan**

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow*,

timbangan digital, *Hot plate*, batang pengaduk segitiga, pisau, *rotary evaporator*, kertas saring, kertas cakram, cawan petri, sendok, jarum ose, micropipet, blender, alat shaker, gelas ukur, corong, erlenmeyer, aluminium foil, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *beaker glass*, *autoclave*, lemari es, *sprayer*, lampu bunsen, pinset, tisu, kapas, inkubator, botol vial, pipet volume, *magnetic stirrer*, oven, *coke bore*, mikroskop, refraktometer, jangka sorong, sarung tangan, masker, *water bath*, kamera digital dan alat tulis.

Bahan yang digunakan adalah daun sirsak, isolat murni bakteri *A. hydrophila*, *E. tarda*, isolat fungi *Saprolegnia* sp., kista *A. salina*, garam non-yodium, pelarut n-heksana, etil asetat, metanol, *Dimethyl sulfoxide* (DMSO), asam asetat anhidrat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, HCl 2N, Pb asetat, kloroform isopropanol, FeCl<sub>3</sub> 1%, Pb asetat, NaOH 10%, petroleum bensin, pereaksi Dragendraf, pereaksi Bauchardat, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, *Mueller Hinton agar* (MHA), *Potato Dextrose Agar* (PDA), Thin Layer Chromatography (TLC), akuades, alkohol 70%, NaCl 0,9, FeCl<sub>3</sub> 1%, kloramfenikol, kertas cakram, air, disk nistatin, kapas, aluminium foil.

### **Ekstraksi Daun Sirsak (*A. muricata* L.)**

Daun sirsak sebanyak 7000 gram dicuci hingga bersih. Daun sirsak diambil adalah daun sirsak dengan urutan ke-1 hingga ke-7 dari pucuk daun. Daun sirsak dikeringkan di dalam ruangan tanpa sinar matahari. Daun sirsak yang sudah kering digunting kecil-kecil agar memudahkan proses penghalusan. Penghalusan hingga menjadi serbuk kering (*simplisia*) menggunakan alat *blender*. Langkah selanjutnya adalah didapatkan 1.200 gram serbuk daun sirsak lalu diekstraksi dengan cara maserasi. Serbuk tersebut direndam kedalam botol penyaring menggunakan pelarut sampai semua serbuk terendam dalam pelarut selama ±24 jam secara berulang-ulang. Pada metode ini

digunakan 3 jenis pelarut yaitu secara berurutan yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol. Setelah itu, rendaman dari setiap pelarut dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* kemudian diuapkan dengan menggunakan *waterbath* sambil sesekali diaduk.

### Uji Fitokimia

Senyawa-senyawa kimia pada ekstrak daun sirsak dianalisis metode Harbone (1987) sebagai berikut, identifikasi alkaloid dilakukan dengan cara 0.05 gram ekstrak daun sirsak diberi 10 mL kloroform dan beberapa tetes amoniak. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan  $H_2SO_4$  2M. Fraksi asam diambil dan dibagi menjadi 4 bagian, kemudian ditambahkan pereaksi Dragendorf, Meyer, dan Wagner. Terdapatnya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada pereaksi Meyer, endapan merah pada pereaksi Dragendorf, endapan berwarna coklat sampai hitam pada pereaksi Baughardat dan endapan coklat pada pereaksi Wagner.

Penggolongan flavonoid dilakukan sebanyak 0.05 gram ekstrak daun sirsak ditambah 10 mL air. Campuran kemudian dipanaskan selama 5 menit, disaring, dan diambil filtratnya. Filtrat diberi serbuk Mg, 1 mL HCl pekat, dan 1 mL amil alkohol. Campuran dikocok kuat-kuat. Uji positif flavonoid ditandai dengan munculnya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol.

Penggolongan saponin yaitu sebanyak 0.05 gram ekstrak daun sirsak ditambah air kemudian dididihkan selama beberapa menit. Larutan disaring dan filtratnya dikocok kuat-kuat. Timbulnya buih yang stabil selama 10 menit setelah pengocokkan menunjukkan terdapatnya saponin.

Penggolongan tanin dilakukan dengan cara 0.05 gram ekstrak daun sirsak ditambah air kemudian dididihkan selama beberapa menit. Larutan ini disaring dan filtratnya ditambah  $FeCl_3$  1% (b/v). Warna

biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan terdapatnya tanin.

Penggolongan senyawa triterpenoid dan steroid yaitu sebanyak 0.05 gram ekstrak daun sirsak ditambah 25 mL etanol 30% lalu dipanaskan selama 5 menit dan disaring. Filtratnya diuapkan lalu ditambah eter. Lapisan eter ditambah pereaksi Lieberman Buchard. Warna merah atau ungu menunjukkan triterpenoid. Warna hijau atau biru menunjukkan steroid.

### Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji

Konsentrasi untuk uji efektivitas antimikroba adalah 10%, 20%, 30%, 40%; dibuat dengan cara menimbang ekstrak biji teratai sebanyak 0,4 gram dan dilarutkan dalam 1 ml larutan DMSO dan 0% kontrol negatif (DMSO). Kontrol positif menggunakan disk kloramfenikol dan nistatin untuk fungi. Uji toksisitas menggunakan konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm dan 0 ppm (tanpa ekstrak).

### Penyiapan Bakteri dan Fungi Uji

Media uji yaitu *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan *Potato Dextrose Agar* (PDA). Larutan *Mc.farland* sebagai pembanding kekeruhan suspensi bakteri sama dengan  $0,5 \times 10^8$  CFU/ml. Stok kultur jamur *Saprolegnia* sp. ditanam selama 3-5 hari dan stok kultur kedua jenis bakteri diambil biakannya dengan jarum ose steril dan suspensikan ke dalam tabung durham yang berisi 3 ml larutan NaCl fisiologis 0,9% kemudian divorteks sampai homogen.

### Uji Efektivitas Ekstrak Daun Sirsak Terhadap Bakteri dan Jamur

Pengujian ekstrak daun sirsak dilakukan dengan metode difusi cakram menggunakan kertas cakram berdiameter 6 mm. Stok kultur bakteri uji dipipet sebanyak 100µl dan diteteskan kedalam media MHA kemudian diusap secara merata dengan menggunakan batang pengaduk segitiga, ditunggu selama  $\pm 15$  menit. Setelah itu, kertas cakram

dicelupkan ke larutan ekstrak setiap larutan dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan ditunggu  $\pm 10$  menit 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 untuk bakteri dilakukan setelah masa inkubasi 24 jam yaitu dengan melihat adanya zona hambatan (daerah bening) di sekitar cakram. Diameter zona hambat diukur dengan jangka sorong. Daya hambat diukur dengan mengurangi diameter zona hambat dengan diameter kertas cakram. Pengamatan jamur setelah masa inkubasi 3-5 hari ditentukan dengan rumus uji antagonis yaitu caranya mengukur jari-jari pertumbuhan hifa normal dikurang dengan jari-jari pertumbuhan hifa yang terhambat oleh ekstrak (Suryanto dkk., 2011).

### **Uji Toksisitas Daun Sirsak**

Pengujian toksisitas daun sirsak dilakukan dengan menggunakan metode BSLT. Kista *A. salina* ditetaskan dalam bejana yang sudah berisi air dengan salinitas 33 ppt dan dilengkapi dengan alat aerasi. Selanjutnya dibiarkan selama 48 jam hingga kista menetas dan tumbuh dewasa (naupli). Larutan induk ekstrak daun sirsak untuk setiap uji dibuat dengan melarutkan 40 mg dalam 4 ml pelarut DMSO. Larutan uji 1000 ppm dibuat dengan memipet larutan stok sebanyak 400  $\mu$ l, sedangkan larutan uji 100 ppm dengan memipet 40  $\mu$ l dan 10 ppm dibuat 4  $\mu$ l dari larutan stok. Masing-masing larutan uji dipipet ke dalam botol vial kemudian diangin-anginkan agar pelarut dalam vial menguap dan ditambahkan air garam

dengan salinitas 33 ppt ditambah 1000  $\mu$ l pada setiap konsentrasi. Sebanyak 10 ekor larva udang *A. salina* dimasukkan ke dalam vial. Masing-masing konsentrasi dibuat pengulangan sebanyak 5 kali dan 5 vial untuk kontrol. Kematian *Artemia salina* diamati setelah 24 jam. Kemudian dilakukan analisis data dengan menggunakan analisis/tabel probit untuk menentukan  $LC_{50}$ . Perhitungan  $LC_{50}$  dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi linier yaitu  $y = a + bx$  yang diperoleh dari grafik hubungan antara log konsentrasi dengan mortalitas probit.

## **HASIL PENELITIAN**

### **Ekstraksi Daun Sirsak**

Simplisia daun sirsak sebanyak 1200 gram direndam dengan pelarut metanol, etil asetat, dan n-heksana, sehingga menghasilkan ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat berwarna hijau kehitaman, sedangkan ekstrak n-heksana berwarna hijau kekuningan.

Hasil berat bahan ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Berat Bahan Ekstraksi

	n-heksana (gram)	Etil Asetat (gram)	Metanol (gram)
Berat simplisia	400	400	400
Berat ekstrak	4,03	16,53	41,414

### **Uji Fitokimia Ekstrak Daun sirsak**

Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun sirsak mengandung senyawa fenolik dan senyawa terpenoid/steroid. Hasil pengujian fitokimia ekstrak daun sirsak dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia ekstrak daun sirsak

Golongan Senyawa	Pereaksi	Ekstrak n-heksana	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Metanol
Alkaloid	Bouchardat	-	-	-
	Dragendrauf	-	+++	-
	Meyer	-	-	-
	Wagner	-	-	-
Fenolik	FeCl <sub>3</sub>	-	-	+++
Saponin	Akuades	-	-	-
Terpenoid/steroid	CeSO <sub>4</sub> /TLC	+++	-	+++

### Uji Efektivitas Antimikroba Terhadap Bakteri dan Jamur

Ekstrak daun sirsak sebagai antibakteri menunjukkan kemampuan menghambat *A. hydrophila* dan *E. tarda* menunjukkan zona hambat setelah diinkubasi selama 24 jam namun ekstrak daun sirsak tidak menunjukkan zona hambat pada *Saprolegnia* sp. selama pengamatan 3 – 5 hari. Hasil pengamatan dari uji antimikroba dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil pengujian ekstrak n-heksana daun sirsak terhadap bakteri *A. hydrophila* menunjukkan zona hambat yang termasuk kategori lemah dengan diameter antara 0 - 4,74 mm. Ekstrak etil asetat dengan diameter antara 0 – 2,60 mm, sedangkan pada ekstrak metanol daun sirsak termasuk penghambatan sedang dengan diameter antara 0 – 6,58 mm (Gambar 1).

Tabel 3. Hasil uji antimikroba ekstrak daun sirsak

Fraksi	Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)		
		<i>A. hydrophila</i>	<i>E. tarda</i>	<i>Saprolegnia</i> sp.
N-heksana	0 (DMSO)	0	0	0
	10	2,82	2,64	0
	20	3,28	2,94	0
	30	3,72	3,66	0
	40	4,74	4,18	0
Etil asetat	0 (DMSO)	0	0	0
	10	1,72	1,28	0
	20	2,12	2,52	0
	30	2,48	2,60	0
	40	2,60	5,20	0
Metanol	0 (DMSO)	0	0	0
	10	5,62	7,94	0
	20	5,44	8,10	0
	30	5,84	10,66	0
	40	6,58	8,36	0
Kloramfenikol		39,30	26,50	-
Nistatin		-	-	25,80

Hasil pengamatan uji ekstrak n-heksana daun sirsak terhadap bakteri *E. tarda* menunjukkan zona hambat yang termasuk kategori lemah dengan diameter antara 0 – 4,18 mm. Demikian juga ekstrak etil asetat daun sirsak dengan diameter antara 0 – 5,20 mm sedangkan ekstrak metanol daun sirsak penghambatan sedang dengan diameter antara 0 – 10,66 mm. Kontrol (nistatin) menunjukkan zona hambat dengan diameter rata-rata sebesar 25,80 mm.

### Uji Toksisitas Ekstrak Daun sirsak

Nilai LC<sub>50</sub> ekstrak daun sirsak kisaran antara 10-65 µg/ml, dapat dilihat pada Tabel 5 berikut ini.

Fraksi	Konsentrasi (ppm)	Jumlah Kematian	Persen Mortalitas	LC <sub>50</sub> (ppm)
Metanol	1000	50	100%	13,07
	100	47	94%	
	10	29	58%	
	0	1	2%	
Etil Asetat	1000	50	100%	12,16
	100	48	96%	
	10	26	52%	
	0	1	2%	
N-heksana	1000	48	96%	63,23
	100	28	56%	
	10	4	8%	
	0	1	2%	

## PEMBAHASAN

### Ekstraksi Daun Sirsak

Proses ekstraksi daun sirsak dilakukan dengan metode maserasi. Untuk maserasi, diperlukan pelarut sesuai untuk mengekstrak senyawa-senyawa metabolit sekunder pada daun sirsak. Ekstrak yang paling banyak diperoleh menunjukkan pelarut metanol. Metanol adalah pelarut yang bersifat polar dan sering digunakan untuk proses ekstraksi suatu simplisia (Wardhana dkk., 2005).

### Uji Fitokimia Ekstrak Daun sirsak

Berdasarkan hasil uji fitokimia diketahui bahwa senyawa alkaloid terkandung dalam ekstrak etil, senyawa fenolik terkandung dalam ekstrak metanol, senyawa terpenoid/steroid terkandung dalam ekstrak n-heksana dan metanol dan pada senyawa saponin tidak terkandung dari setiap pelarut. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah (Robinson, 1995).

### Uji Efektivitas Antimikroba Terhadap Bakteri dan Jamur

Pengujian efektivitas antibakteri ekstrak n-heksana dan etil asetat dikategorikan lemah, ekstrak metanol dikategorikan sedang. Zona hambat yang terbentuk merupakan daerah bening yang berada di sekitar perlakuan dan tidak terdapat pertumbuhan koloni dari bakteri. Pemberian ekstrak daun sirsak ini menghambat *A. hydrophila* dan *E. tarda* yang menunjukkan zona hambat dengan diameter paling kecil masing-masing 1,72 mm dan 1,28 mm. Kecilnya zona hambat yang terbentuk dapat dipengaruhi pula oleh mutu ekstrak daun. Mutu ekstrak dipengaruhi oleh dua faktor utama yaitu faktor biologi dan faktor kimia. Faktor biologi meliputi spesies tanaman, lokasi tanaman asal, waktu pemanenan, penyimpanan bahan baku, umur serta bagian tanaman yang digunakan. Lokasi tanaman dipengaruhi oleh lingkungan seperti tanah, atmosfer, cuaca, temperatur, cahaya, air, senyawa organik dan anorganik (Sawitti dkk., 2013).

Zona hambat bakteri *A. hydrophila* dan *E. tarda* termasuk golongan lemah dan sedang. Park dkk (2012) bakteri *A. hydrophila* dan *E. tarda* yang merupakan gram-negatif, struktur selnya lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar yang berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa lipopolisakarida, dan lapisan dalam yang berupa peptidoglikan.

Sjahid (2008) mengatakan senyawa alkaloid diduga dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk secara sempurna.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol daun sirsak terhadap bakteri *A. hydrophila* dan *E. tarda*. Kontrol negatif (DMSO) menunjukkan diameter zona hambat sebesar 0 mm yang artinya di sekitar kertas cakram tidak terdapat zona bening (clear zone). Hal ini disebabkan larutan DMSO tidak mengandung senyawa-senyawa antibakteri, sedangkan kontrol positif (kloramfenikol) memiliki diameter zona hambat pada bakteri *A. hydrophila* sebesar 39,30 mm dan pada bakteri *E. tarda* yaitu sebesar 26,50 mm. Kloramfenikol memiliki efektivitas antibiotik yang tergolong sangat kuat dalam menghambat bakteri uji. Brooks dkk (2005) melaporkan kloramfenikol merupakan penghambat yang kuat terhadap sintesis protein pada mikroorganisme. Mekanisme penghambatannya yaitu dengan cara memblokir ikatan asam amino pada rantai peptide yang mulai timbul pada unit 50S ribosom dengan mengganggu kerja peptidyl transferase. Akibatnya proses pertumbuhan dari mikroorganisme terganggu.

Potensi antimikroba ekstrak daun sirsak juga diujikan pada jamur *Saprolegnia* sp. untuk melihat apakah ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol memiliki potensi sebagai antifungi atau tidak. Aktivitas antifungi ditentukan dengan pengukuran batas akhir pertumbuhan jamur normal dan batas akhir pertumbuhan yang diberi ekstrak daun sirsak secara makroskopis. Dari hasil pengamatan dan pengukuran pertumbuhan *Saprolegnia* sp., respon zona hambat ekstrak metanol, etil asetat, dan n-heksana daun sirsak pada rentang konsentrasi 0 – 40 % tidak menunjukkan zona hambat terhadap *Saprolegnia* sp. Hal ini dijelaskan Lingga dkk (2012) menerangkan ekstrak

bunga kecombrang menghambat dan mencegah infeksi jamur *Saprolegnia* sp. pada telur ikan lele sangkuriang. Penghambatan tertinggi didapatkan pada konsentrasi 60 ppm dan 80 ppm.

Kontrol positif (nistatin) mengalami penghambatan terhadap hifa *Saprolegnia* sp. Respon zona hambatnya rata-rata sebesar 25,80 mm dengan pengamatan kertas cakram yang berisi ekstrak daun sirsak sudah dipenuhi kumpulan hifa dan pertumbuhannya menjadi lebih lambat sedangkan kontrol negatif (DMSO) tidak menunjukkan zona hambat sebesar 0 mm.

### Uji Toksisitas Ekstrak Daun Sirsak

*Brine Shrimp Lethality Test* merupakan salah satu uji praskirining/pendahuluan untuk mendapatkan aktivitas biologis yang sederhana untuk menentukan tingkat toksisitas suatu senyawa atau ekstrak akut dengan menggunakan *Artemia salina* sebagai hewan uji (Meyer, 1982). Tingkat toksisitas dari ekstrak dapat ditentukan dengan melihat harga  $LC_{50}$ . Nilai  $LC_{50}$  dihitung dengan analisa probit. Perhitungan ini dilakukan dengan membandingkan antara larva yang mati terhadap jumlah larva keseluruhan, sehingga diperoleh persen kematian. Data persen kematian kemudian dikonversikan ke nilai probit untuk menghitung  $LC_{50}$  dengan persamaan regresi linier  $y = a + bx$ .

Berdasarkan uji toksisitas menggunakan metode BSLT diketahui bahwa dari ketiga pelarut ekstrak daun sirsak yang diuji yaitu ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat mempunyai sifat toksik. Fraksi metanol adalah fraksi yang paling polar dibandingkan pelarut yang lain. Sifat toksik ini diketahui dari nilai  $LC_{50}$  13,07 ppm untuk fraksi metanol dan 12,16 ppm untuk fraksi etil asetat. Suryanto dkk (2006) menyebutkan uji ini biasanya digunakan sebagai uji pendugaan awal atas kemampuan suatu senyawa menghambat pertumbuhan sel. Batas aktivitas senyawa kimia ekstrak yang ditetapkan oleh Meyer (1982) yaitu suatu zat dikatakan aktif atau

toksik bila nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm untuk ekstrak dan  $<30$  ppm untuk suatu senyawa.

Hasil pengamatan selama penelitian didapati *A. salina* melakukan respon perilaku menunjukkan gejala kehilangan keseimbangan dengan posisi renang yang tidak menentu yaitu bergetar-getar, miring, mendatar dan terbalik. Menurut Trianto dkk (2004) gejala serangga terkena racun saraf adalah menunjukkan gejala eksitasi yang ditandai dengan gerakan makin cepat. Perbedaan aktivitas toksik yang ditimbulkan oleh suatu senyawa diakibatkan karena tiap senyawa akan bekerja atau bereaksi secara spesifik pada sasarannya.

Cahyadi (2009) mekanisme kematian *A. salina* diperkirakan berhubungan dengan fungsi senyawa yang terlarut dalam ekstrak daun sirsak yang dapat menghambat daya makan larva (*antifeedant*/pengelak makanan). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai racun perut (*stomach poisoning*). Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa tersebut masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa tersebut dapat menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Meilani (2006) menambahkan bahwa keadaan membran kulitnya yang sangat tipis memungkinkan terjadinya difusi zat dari lingkungan yang mempengaruhi metabolisme dalam tubuhnya. Oleh karena itu, penambahan zat ekstraktif yang diduga mengandung senyawa bioaktif juga berpotensi sebagai senyawa obat mampu mengganggu metabolisme dan menyebabkan kematian larva udang.

## KESIMPULAN

1. Ekstrak metanol daun sirsak (*A. muricata* L.) mengandung senyawa fenolik dan terpenoid/steroid, ekstrak etil asetat mengandung senyawa alkaloid dan ekstrak n-heksana mengandung terpenoid/steroid.

2. Ekstrak daun sirsak memiliki efektivitas penghambatan yang bervariasi terhadap bakteri *A. hydrophila* dan *E. tarda*, tetapi tidak menghambat fungi *Saprolegnia* sp., meskipun efektivitasnya pada respon lemah dan sedang.
3. Ekstrak n-heksana daun sirsak bersifat toksik terhadap *A. salina* dengan nilai  $LC_{50}$  yaitu 63,23 ppm, ekstrak metanol memiliki nilai  $LC_{50}$  yaitu 13,07 ppm dan ekstrak etil asetat memiliki nilai  $LC_{50}$  yaitu 12,16 ppm.

## SARAN

Sebaiknya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan konsentrasi lebih tinggi, perlu dilakukan lebih lanjut untuk mengoptimalkan aktivitas antibakteri, untuk mengetahui senyawa antibakteri yang spesifik berperan dalam penghambatan bakteri uji.

## DAFTAR PUSTAKA

- Brooks G.F., S.S. Butel dan S.A. Morse. 2005. Medical Microbiology. Mcraw Hill. Newyork.
- Cahyadi R. 2009. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L) terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethaly Test* (BST). Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Harbone JB. 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Padmawinata K, Penerjemah. Edisi Kedua. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Health Agency. 2001. *Edwarsiella tarda*. Material Safety Data Sheets

- (MSDS). Public Health Agency of Canada.
- Kamaludin I. 2011. Efektivitas Ekstrak Lidah Buaya *Aloe vera* untuk Pengobatan Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. melalui Pakan. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Lingga M.N., I. Rustikawati dan I.D. Buwono. 2012. Efektivitas Ekstrak Bunga Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan.) Untuk Pencegahan Serangan *Saprolegnia* Sp. Pada Lele Sangkuriang. Jurnal Perikanan Kelautan. 3(4): 75-80.
- Meilani S.W. 2006. Uji Bioaktivitas Zat Ekstraktif Kayu Suren (*Toona sureni* Merr.) dan Ki Bonteng (*Platea latifolia* BL.) Menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Skripsi. Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Meyer B.N., N.R. Ferrigni., J.E. Putnam, L.B. Jacobsen, D.E. Nichols dan J.L. Mclaughlin. 1982. *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*. Journal of Medical Plant Research 45: 31-34.
- Park, S. B., T. Aoki and T.S. Jung. 2012. Pathogenesis of and Strategies for Preventing *Edwardsiella tarda* Infections in Fish. Veterinary Research 43: 67 – 72 .
- Permatasari G.A.A.A., Besung I.N.K., Mahatmi H. 2013. Daya Hambat Perasan Daun Sirsak terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Indonesia Medicus Veterinus. 2(2) : 162 – 169.
- Robinson T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Penerbit ITB. Bandung.
- Sawitti M.Y., Mahatmi H dan Besung I.N.K. 2013. Daya Hambat Perasan Daun Sambiloto terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Indonesia Medicus Veterinus. 2(2): 142-150.
- Sjahid, L.R. 2008. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Dari Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.). Skripsi. Universitas Muhammadiyah. Surakarta.
- Sudarno, S.L. Rosanti, S. Subekti. 2012. Uji Sensitivitas Sari Buah Pare (*Momordica charantia* L) Pada Bakteri *Edwardsiella tarda* Dengan Metode Difusi Kertas Cakram Secara *In Vitro*. Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan. 4(1): 109-111.
- Suryanto D., T.B. Kelana., E. Munir., dan N. Nani. 2006. Uji *Brine Shrimp* dan Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Tumbuhan Pradep (*Psychotria stipulacea* Wall (Familia: Rubiceae) terhadap Mikroba. Media Farmasi. 14(1): 85-92.
- Trianto A., Has Y.Y., Ambariyanto, Murwani R. 2004. Uji Toksisitas Ekstrak *Gorgonian isis hippuris* terhadap Nauplis *Artemia salina*. Ilmu Kelautan. 9(2): 61-66.
- Wardhana A.H., Husein A dan Manurung J. 2005. Efektivitas Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L) dengan Pelarut Air, Metanol dan Heksan terhadap Mortalitas Larva Caplak *Boophilus microplus* secara *In Vitro*. Balai Penelitian Veteriner. 10(2): 134-142.