

## **AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL BIJI BUAH *Xylocarpus granatum* TERHADAP ISOLAT BAKTERI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)**

**Muhamad Hafid, Andi Noor Asikin\*, Bagus Fajar Pamungkas,  
Gina Saptiana, dan Andi Mismawati**

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,  
Universitas Mulawarman, Kampus Gn Kelua Samarinda 75123, Indonesia

\*Korespondensi: [asikin63@yahoo.com](mailto:asikin63@yahoo.com)

(Diterima 12-10-2022; Direvisi 03-07-2024; Disetujui 25-08-2024)

### **ABSTRAK**

Penggunaan berbagai jenis mangrove efektif sebagai bahan alami untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada ikan. Buah *Xylocarpus granatum* mengandung metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan mengetahui nilai *Minimum inhibitory concentration* (MIC) ekstrak metanol biji buah *X. granatum*. Tahapan penelitian yaitu : preparasi dan ekstraksi biji buah *X. granatum*, isolasi bakteri insang ikan nila, pengujian daya hambat, pengujian MIC dan pengujian *Total Plate Count* (TPC). Preparasi dilakukan dengan cara mengiris tipis biji buah *X. granatum* dan dikeringanginkan selama 30 hari. Biji buah yang sudah kering (*simplicia*) dikecilkan ukurannya menggunakan blender selanjutnya dieskraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut methanol 98% selama 24 jam, selanjutnya disaring. Filtrat dipisahkan dari pelarut methanol menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C hingga didapat ekstrak biji buah *X. Granatum*. Kandungan metabolit sekunder ekstrak methanol biji buah *X. granatum* ditemukan seyawa alkaloid, triterpenoid, flavonoid, saponin, fenol, dan tanin. Perlakuan dalam penelitian ini adalah ekstrak metanol biji buah *X. granatum* dengan konsentrasi 100 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm, kontrol positif (*Chloramphenicol*) 1000 ppm dan akuades steril sebagai kontrol negatif. Parameter yang diamati yaitu daya hambat, MIC, dan TPC. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji buah *X. granatum* memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan isolat bakteri dari insang ikan nila dengan kategori sedang (9-9.8 mm) pada konsentrasi 100 ppm dan 500 ppm, konsentrasi 1000 ppm dengan kategori kuat (11,5 mm) pada pengamatan jam ke 48. MIC ekstrak metanol biji buah *X. granatum* terhadap isolat bakteri insang ikan nila adalah pada konsentrasi 40 ppm. Hasil pengujian TPC pada konsentrasi 40 ppm adalah  $5,5 \times 10^7$  CFU/ml atau terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri sebesar 91,67%.

**Kata kunci:** Bakteri, Daya Hambat, Ekstraksi, Isolasi, MIC, TPC, *Xylocarpus granatum*

### ***Antibacterial Activity of Methanol Extract of Xylocarpus Granatum Fruit Seeds Against Tilapia (Oreochromis niloticus) Bacterial Isolates***

### **ABSTRACT**

The use of various types of mangroves is effectively used as a natural ingredient in inhibiting the growth of bacteria in fish. Fruit of *Xylocarpus granatum* contains secondary metabolites that have the potential as natural antibacterials. This study aims to determine the antibacterial activity and determine the value of the *Minimum inhibitory concentration* (MIC) of the methanol extract of *X. granatum* fruit seeds. The research stages consisted of seed preparation and extraction of *X. granatum*, isolation of bacteria from tilapia gills, inhibition testing, MIC testing, and *Total Plate Count* (TPC) testing. Preparation was done by thinly slicing the seeds of *X. granatum* and air-wdrying for 30 days. The dried seeds (*simplicia*) were reduced in size using a blender and then extracted by maceration using 98% methanol solvent for 24 hours, then filtered. The filtrate was separated from the methanol solvent using a *rotary evaporator* at a temperature of 600 °C to obtain the extract of *X. granatum* seeds. The content of secondary metabolites of the methanol extract of *X. granatum* seeds was found to be alkaloids, triterpenoids, flavonoids, saponins, phenols, and tannins. The treatment in this study were used methanol extract of *X. granatum* seeds with 3 concentrations (100 ppm, 500 ppm, 1000 ppm) and positive control (*Chloramphenicol*) 1000 ppm and negative control (sterile distilled water). The parameters observed

were the inhibitory activity, the MIC, and the TPC. The results showed that the methanol extract of *X. granatum* fruit seeds had the ability to inhibit the growth of bacteria isolated from the gills of tilapia fish with moderate categories (9-9.8 mm) at concentrations of 100 ppm and 500 ppm and the concentrations of 1000 ppm with strong categories (11.5 mm) at 48 hours. The MIC of *X. granatum* seed methanolic extract on isolates of tilapia gill bacteria was at a concentration of 40 ppm. The results of the TPC test at a concentration of 40 ppm were  $5.5 \times 10^7$  CFU/ml, with inhibition activity against 91.67% of bacterial growth.

**Keywords:** Bacteria, Extraction, Inhibition, Isolation, MIC, TPC, *Xylocarpus granatum*

## PENDAHULUAN

*Xylocarpus granatum* adalah salah satu jenis mangrove yang banyak ditemukan di daerah pesisir dan telah dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan obat-obatan dan kosmetik. Hampir seluruh bagian tumbuhan seperti daun, batang (kulit) dan buah dapat digunakan karena kandungan metabolit skundernya. Buah mengandung metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat (Rahmawati *et al.*, 2019) dan buah dapat diolah sebagai bedak basah atau dapat digunakan sebagai bahan tambah dalam pembuatan *body scrub* dan *body lotion* (Suwantara *et al.*, 2018). Buah *X. granatum* mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan fenol (Hendrawan *et al.*, 2015). Kulit buah mengandung senyawa fitokimia flavonoid, steroid, tanin, saponin, dan hidrokuinon (Gazali *et al.*, 2014). Kandungan flavonoid dan tanin pada mangrove berpotensi sebagai antibakteri alami (Sumartini dan Sari, 2021). Rollando (2019) menyebutkan bahwa antibakteri merupakan zat yang dapat mengganggu pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba.

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu jenis ikan hasil budidaya yang banyak dikonsumsi masyarakat. Penurunan mutu ikan nila selain disebabkan oleh keberadaan bakteri juga karena kandungan protein, kadar air, dan lemak (Sulistijowati *et al.*, 2020). Tubuh ikan merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme (Anggraini dan Yuniningsih, 2016). Ikan nila terdeteksi mengandung bakteri gram negatif seperti *Acinetobacter calcoaceticus*, *Klebsiella*

*pneumonia*, dan gram positif seperti bakteri *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus* (Purwani *et al.*, 2009). Penggunaan bahan pengawet pada produk perikanan yang aman diperlukan untuk menghambat proses pertumbuhan bakteri. Potensi kandungan metabolit sekunder yang dimiliki oleh biji buah *X. granatum* memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai antibakteri alami untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada ikan nila. Penelitian mengenai mangrove *X. granatum* sebagai antibakteri telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Batubara dan Latief (2021) melaporkan bahwa ekstrak kasar metanol dari daun *X. granatum* memiliki potensi antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *S. epidermidis*. Ekstrak buah *X. granatum* memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, dan *Vibrio alginolyticus* dengan daya hambat sedang <10 mm (Gabariel *et al.*, 2019). Potensi antibakteri alami yang dikandung oleh *X. granatum* sangat memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai pengawet alami pada produk perikanan karena selama ini masyarakat hanya memanfaatkan sebagai obat dan kosmetik tradisional saja. Mangrove tersebut merupakan jenis tumbuhan yang terdapat hampir sepanjang pesisir Kabupaten Kutai Kartanegara (wilayah Delta mahakam) Kalimantan Timur. Menurut Hendrawan *et al.* (2015), hampir semua bagian mangrove ini mengandung metabolit sekunder yang potensial sebagai anti bakteri. Biji buah *X. granatum* memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Pemanfaatan biji buah *X. granatum* masih terbatas penggunaannya, oleh sebab itu

penelitian ini menggunakan ekstrak biji buah *X. granatum* sebagai antibakteri alami untuk menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk pada ikan nila. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan nilai *Minimum inhibitory concentration* (MIC) ekstrak metanol biji buah *X. granatum* terhadap bakteri yang diisolasi dari insang ikan nila.

## MATERI DAN METODE

Buah *X. granatum* diperoleh dari Desa Muara Badak Hilir, Kecamatan Muara Badak Kabupaten Kutai Kartanegara. Ikan nila hidup diperoleh dari pembudidaya di daerah Talangsary, desa Tanah Merah, Kota Samarinda. Bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini adalah: methanol 98%, akuades, *Nutrient agar*, *Trypticase Soy Broth*, kertas cakram 6 mm (Oxoid).

Buah *X. granatum* sebanyak 5 buah dengan kondisi tua (warna kulit kuning kecoklatan) dipisahkan antara kulit, daging buah dan biji buah. Biji buah diiris tipis dan dikeringanginkan selama 30 hari. Simplisia yang sudah kering kemudian dikecilkan ukurannya (serbuk kasar) dan disimpan dalam toples untuk dilakukan proses ekstraksi. Proses ekstraksi biji buah *X. granatum* mengacu pada metode Saptiani *et al.* (2018) dengan modifikasi. Simplisia biji buah *X. granatum* ditimbang 300 gram dimasukkan ke dalam toples kaca dan ditambah pelarut metanol 98% sebanyak 1500 ml (1:5 (b/v) dan dimaserasi selama 24 jam, selama proses maserasi dilakukan pengadukan. Proses maserasi dilakukan 2 kali hingga pelarut jernih. Maserat disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan dari substrat dan selanjutnya dipisahkan dari pelarut metanol menggunakan rotary evaporator pada suhu 60°C hingga didapat ekstrak biji buah *X. granatum*. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dihitung rendemennya dan dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui metabolit sekunder dari biji buah *X. granatum*. Ekstrak

dimasukkan ke dalam botol dan disimpan pada lemari pendingin sebelum digunakan.

Isolasi bakteri insang ikan nila mengacu metode Saptiani *et al.* (2013), dengan cara mengambil sebanyak 1 ose lendir dari insang ikan dengan menggunakan jarum ose steril. Selanjutnya disuburkan pada media TSB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 33°C untuk selanjutnya dilakukan uji daya hambat. Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini yaitu diameter zona hambat, *Minimum inhibitory concentration* (MIC), dan pengujian *Total Plate Count* (TPC). Masing-masing parameter pengujian dilakukan pengulangan 3 kali. Data yang diperoleh dihitung rata-rata nilai pengamatan, ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif.

## Pengujian Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol biji buah *X. granatum* dengan mengacu metode Harborne (2006) untuk menguji kandungan alkaloid, triterpenoid, flavonoid, saponin, fenolik, sedangkan uji kandungan tanin mengacu pada metode Santi *et al.* (2008). Kandungan metabolit sekunder diuji dengan cara sebagai berikut :

### *Uji Kandungan Alkaloid (Metode Dragendroff)*

Sampel ditambahkan 6 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N kemudian dikocok dan didiamkan hingga terbentuk 2 fase. Fase di atas diambil, kemudian ditambahkan 5 tetes reagen *dragendroff*. Warna jingga menunjukkan ekstrak positif mengandung alkaloid.

### *Uji Kandungan Triterpenoid dan Steroid (Metode Lieberman-Burchard)*

Sampel ditambahkan 10 tetes asam asetat glasial. Tambahkan 4 tetes larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat melalui dinding tabung. Cincin berwarna coklat atau kuning keemasan

menunjukkan bahwa ekstrak positif mengandung triterpenoid. Jika terbentuk warna hijau atau biru, maka ekstrak positif mengandung steroid.

#### ***Uji Kandungan Flavonoid (Metode Willstater)***

Sampel ditambahkan dengan 2 ml air panas dan sedikit magnesium (Mg). Selanjutnya menambahkan 10 tetes HCl dan diamati. Warna merah, kuning atau jingga menunjukkan ekstrak sampel positif mengandung flavonoid.

#### ***Uji Kandungan Saponin (Metode Forth)***

Sampel ditambahkan 1 pipet air panas dan dikocok selama 15 menit. Jika menimbulkan busa maka ditambahkan 4 tetes HCl 1N, apabila stabil selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin.

#### ***Uji Kandungan Fenolik (Pereaksi FeCl<sub>3</sub>)***

Sampel ditambahkan 1 pipet air panas. Selanjutnya ditambahkan 3 tetes FeCl<sub>3</sub> 1%. Kemudian diamati, apabila warna terbentuk warna kuning kecoklatan, maka ekstrak positif mengandung fenolik

#### ***Uji Kandungan Tanin (Sangi et al., 2008)***

Pengujian tannin ekstrak ditambahkan 2 mL metanol dipanaskan selama 3 menit kemudian ditetesi FeCl<sub>3</sub> 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau.

#### **Pengujian Daya Hambat**

Pengujian daya hambat mengikuti metode *Agar Disc Diffusion* secara *in vitro* (Saptiani et al., 2013), yang dimodifikasi. Isolat bakteri

insang ikan nila yang telah disuburkan pada media TSB diencerkan hingga pengenceran 10<sup>-8</sup> dan diambil sebanyak 0,1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi NA padat (20 ml), disebar merata menggunakan batang kaca dan dibiarkan mengering sebelum diberikan perlakuan ekstrak metanol biji buah *X. granatum* yaitu 100 ppm, 500 ppm, 1000 ppm dan *chloromfenicol* (kontrol positif), akuades steril (kontrol negatif) masing-masing 1000 ppm. Pemberian perlakuan dilakukan dengan cara meneteskan sebanyak 25 µl pada masing-masing kertas cakram. Kertas cakram selanjutnya ditata pada cawan petri yang telah berisi isolat bakteri insang ikan nila dan diinkubasi pada suhu 33°C selama waktu inkubasi 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Pengamatan terhadap zona hambat dilakukan pada jam ke 24, 48 dan 72 dengan cara mengukur diameter lingkaran zona bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram.

#### ***Pengujian Minimum inhibitory concentration (MIC)***

Pengujian MIC dilakukan setelah diperoleh hasil dari pengujian daya hambat. Dari hasil pengujian daya hambat terhadap 3 konsentrasi ekstrak perlakuan, ditentukan perlakuan 100 ppm (terendah) sebagai konsentrasi terpilih untuk dilakukan pengujian MIC. Pemilihan konsentrasi 100 ppm untuk pengujian MIC karena pada perlakuan konsentrasi tersebut sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi 100 ppm selanjutnya diperkecil konsentrasinya dari 90 hingga 10 ppm untuk menentukan nilai MIC yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri dari insang ikan nila. Pengujian MIC dilakukan sesuai metode Soelama et al. (2015), yang dimodifikasi. Tabung reaksi sebanyak 9 buah diisi 2 ml TSB, kemudian ditambahkan isolat bakteri ikan nila sebanyak 1 ml (sebelumnya sudah diencerkan menjadi 10<sup>-8</sup>) ke dalam setiap tabung dan selanjutnya setiap tabung (berisi

media TSB dan isolat bakteri insang ikan nila) ditambahkan ekstrak uji sebanyak 2 ml (konsentrasi 90-10 ppm) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengamati kekeruhan (*turbidimetri*) yang terbentuk pada setiap tabung. Tabung yang mulai bening dipilih sebagai nilai MIC karena terjadi penghambatan pertumbuhan isolat bakteri insang ikan nila. Konsentrasi yang terpilih berdasarkan pengujian MIC dengan mengamati kekeruhan adalah konsentrasi 30 dan 40 ppm dan selanjutnya dilakukan pengujian TPC.

### **Pengujian TPC (Total Plate Count)**

Pengujian TPC untuk konsentrasi 30-40 ppm (suspensi bakteri dalam ekstrak hasil uji MIC) mengikuti metode Palawe dan Antahari (2018), dengan teknik pengenceran berseri dari  $10^{-1}$  hingga  $10^{-8}$ . Pengenceran konsentrasi 30 ppm dilakukan dengan mengambil 1 ml dan disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi akuades steril sebanyak 9 ml dan dihomogenkan (pengenceran  $10^{-1}$ ). Pengenceran selanjutnya dilakukan dengan cara yang sama hingga pengenceran  $10^{-8}$ . Suspensi bakteri (30 ppm) yang sudah diencerkan secara seri ( $10^{-1}$  hingga  $10^{-8}$ ), diambil sebanyak 1 ml ( $10^{-1}$ ) dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril secara duplo (cawan petri diberi kode dengan pengenceran  $10^{-1}$ ). Media NA cair sebanyak 20 ml dituang ke dalam cawan petri ( $10^{-1}$ ) selanjutnya dihomogenkan dengan cara menggoyangkan petri membentuk angka delapan. Media NA dalam cawan petri dibiarkan memadat dan selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan posisi terbalik. Jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing cawan petri dihitung, dan syarat koloni yang tumbuh pada cawan petri antara 30-300 koloni. Cara yang sama dilakukan hingga pengenceran  $10^{-8}$ .

Data yang diamati dalam penelitian ini yaitu diameter zona hambat, MIC dan TPC,

masing-masing dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Data yang diperoleh dihitung secara rata-rata dan ditabulasi selanjutnya dianalisis secara deskriptif.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Ekstraksi yang dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan senyawa bioaktif yang terkandung pada biji buah mangrove *X. granatum*. Jenis pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi mempengaruhi senyawa bioaktif yang diperoleh. Hidayah *et al.* (2016) menyatakan bahwa metanol merupakan jenis pelarut yang bersifat polar. Rendemen ekstrak metanol biji buah *X. granatum* yang diperoleh dalam penelitian ini 9,6 % yang berbentuk serbuk dan berwarna merah tua. Hasil pengujian fitokimia biji buah *X. granatum* diperoleh senyawa alkaloid, triterpenoid, flavonoid, saponin, fenol, dan tanin. Senyawa fitokimia pada tumbuhan berperan dalam menghambat atau membunuh bakteri dengan berbagai mekanisme (Pariyansyah dan Herliany, 2018). Mekanisme senyawa fenol, flavonoid dan alkaloid dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen adalah dengan cara merusak dinding sel bakteri (Septiani *et al.*, 2017). Mekanisme triterpenoid yaitu dengan merusak porin pada dinding luar sel bakteri, rusaknya porin yang merupakan jalur masuk nutrisi dapat menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat (Egra *et al.*, 2019). Mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah dengan cara meningkatkan permeabilitas membrane sel yang membuat membran tidak stabil dan mengakibatkan hemolysis sel (Rahman *et al.*, 2017). Hasil pengujian daya hambat ekstrak metanol biji buah *X. granatum* terhadap isolat bakteri insang ikan nila menunjukkan adanya zona hambat yang ditandai dengan pembentukan zona bening di sekeliling kertas cakram yang berisi ekstrak uji (Tabel 1).

Hasil pengukuran zona bening pada jam ke 24 hingga jam ke 48 menunjukkan peningkatan diameter zona hambat pada semua perlakuan. Perlakuan ekstrak 100 ppm dan 500 ppm

Tabel 1. Hasil pengujian daya hambat (dalam mm zona bening) ekstrak metanol biji buah *X. granatum* terhadap bakteri dari insang ikan nila, pada jam pengamatan ke-24, -48 dan -72.

Table 1. The results of the inhibitory test (in mm of clear zone) of methanol extract of *X. granatum* fruit seeds against bacteria from tilapia gills, at the 24th, -48th and -72nd observation hours.

Treatments	Observation time (mm)			Antibacterial strength criteria (Holetz, et al., 2002)
	24	48	72	
100 ppm	8.5±0.08	9±0.07	7±0.14	Medium
500 ppm	9±0.16	9.8±0.16	7.9±0.08	Medium
1000 ppm	10±0.14	11.5±0.08	10±0.16	Medium (24 <sup>th</sup> dan 72 <sup>nd</sup> ) Strong at 48 hours
Control (-)	18.6	19.3	19	No inhibition zone
Control (+)	-	-	-	Strong

menghasilkan diameter zona hambat kategori sedang (6-10 mm) dan perlakuan 1000 ppm menghasilkan zona hambat kategori kuat (11,5 mm). Zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak metanol biji buah *X. granatum* dimungkinkan karena ekstrak mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, fenol, dan triterpenoid yang diketahui bersifat antibakteri. Gabariel *et al.* (2019) menyatakan bahwa ekstrak buah mangrove *X. granatum* mengandung senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (*P. aeruginosa*, *E. coli* dan *V. alginolyticus*) dengan kategori sedang <10 mm. Hasil pengukuran zona bening pada jam ke 72 menunjukkan terjadi penurunan pada semua perlakuan, hal ini diduga bakteri mulai beradaptasi terhadap ekstrak, karena ekstrak metanol biji buah *X. granatum* bersifat bakteristatik karena bahan aktif ekstrak dapat mencegah pertumbuhan bakteri (terutama pada saat fase stasioner pertumbuhan) (Pankey dan Sabath, 2004). Hasil penelitian ini serupa dengan hasil penelitian Dewi (2016), diameter zona hambat ekstrak etanol akar *Rhizopora apiculata* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* mengalami peningkatan pada jam ke 24 tetapi mengalami penurunan diameter zona hambat pada jam ke 48 dan terus menurun hingga jam ke 72. Purwanto (2015) menyatakan bahwa tinggi rendahnya konsentrasi zat aktif yang

terkandung akan memengaruhi diameter zona hambat yang terbentuk. Kontrol positif menggunakan Chloramphenicol 1000 ppm menunjukkan zona hambat kategori kuat (11-20 mm) diantara perlakuan ekstrak biji buah *X. granatum*. *Chloramphenicol* (kontrol positif) menghasilkan zona hambat kategori kuat karena merupakan zat antibakteri murni yang bekerja pada spektrum luas sehingga efektif terhadap bakteri gram positif dan negatif walau dalam konsentrasi kecil (Hendrawan *et al.*, 2015). Kontrol negatif tidak menunjukkan daya hambat terhadap isolat bakteri insang ikan nila, karena akuades tidak mengandung zat penghambat pertumbuhan bakteri. Ekstrak metanol biji buah *X. granatum* dalam penelitian ini menunjukkan hasil yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan isolat bakteri insang ikan nila dengan kategori sedang (>6 mm) dari pada penelitian Hendrawan *et al.* (2015) yang hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* dengan kategori lemah (<5 mm).

Hasil pengujian MIC ekstrak metanol biji buah *X. granatum* didapatkan pada konsentrasi 40 ppm ditandai dengan tabung yang mulai bening (+), hal ini mengindikasikan bahwa telah terjadi penghambatan bakteri insang ikan nila oleh ekstrak metanol biji buah *X. granatum*. Perlakuan dengan konsentrasi yang lebih rendah 10-30 ppm tidak



Figure 1. MIC testing by turbidity method.  
 Gambar 1. Pengujian MIC dengan metode kekeruhan.

Tabel 2. Hasil pengujian MIC ekstrak metanol biji buah *X. granatum* terhadap isolat bakteri insang ikan nila

Table 2. Results of MIC testing of methanol extract of *X. granatum* fruit seeds against tilapia gill bacterial isolates

Test ekstrak	Treatments	Turbidity
<i>Methanol extract of X. granatum fruit seeds</i>	90 ppm	+
	80 ppm	+
	70 ppm	+
	60 ppm	+
	50 ppm	+
	40 ppm	+
	30 ppm	-
	20 ppm	-
	10 ppm	-

Description: (-) sign: cloudy liquid; (+) sign: liquid becomes less turbid (clear).

menunjukkan adanya penghambatan bakteri yang ditandainya dengan terjadinya kekeruhan (-) pada tabung reaksi (Gambar 1 dan Tabel 2).

Hasil pengujian TPC pada konsentrasi ekstrak terendah (hasil uji MIC) yaitu pada konsentrasi 30 dan 40 ppm menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji buah *X. granatum* maka TPC semakin berkurang dari jumlah koloni bakteri awal (Tabel 3).

Konsentrasi ekstrak metanol biji buah *X. granatum* pada konsentrasi 30 ppm terlihat dapat menghambat pertumbuhan bakteri dari jumlah awal  $6 \times 10^8$  CFU/ml berkurang menjadi  $3,6 \times 10^8$  CFU/ml atau terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri sebanyak 59,99% (60%). Konsentrasi ekstrak metanol biji buah *X. granatum* 40 ppm menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri dari jumlah koloni awal  $6 \times 10^8$  CFU/ml berkurang menjadi  $5,5 \times 10^7$  CFU/ml atau terjadi

Tabel 3. Hasil pengujian TPC bakteri dari ikan nila pada ekstrak metanol biji buah *X. Granatum*Table 3. Results of TPC testing of bacteria from tilapia fish on methanol extract of *X. Granatum* fruit seeds

Organism	Extract concentration	Initial bacteria (N0 CFU/ml)	Bacteria after 24 hours incubation (Nt, CFU/ml)	MIC(%) [100-(Nt/N0 x 100)]
Tilapia fish gill bacterial isolates	30 ppm	6×10 <sup>8</sup>	3.6×10 <sup>8</sup>	59.99
	40 ppm	6×10 <sup>8</sup>	5.5×10 <sup>7</sup>	91.67

Description: N0 (initial number of bacterial cells); Nt (Number of bacterial cells at the time of observation), CFU (Colony Forming Unit).

penghambatan pertumbuhan bakteri sebanyak 91,67%. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak metanol biji buah *X. granatum*, maka semakin banyak senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antibakteri dan pada akhirnya semakin besar daya hambat yang ditimbulkannya terhadap bakteri yang ada. Permatasari *et al.* (2021) menyatakan penggunaan ekstrak dalam konsentrasi tinggi akan memiliki kandungan bahan antibakteri yang semakin tinggi sehingga ekstrak menjadi toksik terhadap bakteri. Pariyansyah dan Herliany (2018), mengemukakan buah mangrove *Avicennia marina* dapat digunakan sebagai antibakteri alami dan tidak mempengaruhi nilai protein ikan nila segar. Hal ini terlihat dari penelitian yang menunjukkan bahwa daun mangrove *Sonneratia caseolaris* dapat mempertahankan mutu organoleptik ikan kuawe (*Gnathanodon speciosus*) dan dapat mempertahankan daya simpan ikan (Saimima *et al.*, 2021).

### KESIMPULAN

Ekstrak metanol biji buah *X. granatum* memiliki aktivitas antibakteri dan mampu menghambat pertumbuhan isolat bakteri insang ikan nila. Ekstrak dengan konsentrasi 100 ppm dan 500 ppm memiliki zona hambat kategori sedang dan konsentrasi 1000 ppm dengan kategori kuat pada jam ke 48. Nilai MIC ekstrak metanol biji buah *X. granatum*

terhadap isolat bakteri insang ikan nila adalah pada konsentrasi 40 ppm dengan daya hambat sebesar 91,67%.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih karena penelitian ini terlaksana atas bantuan dari hibah penelitian Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman berdasarkan SK Rektor No. 2289/UN17/HK/2021 DIPA PNBP Universitas Mulawarman.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abrina Anggraini, S.P., S. Yuniningsih, 2016. Optimalisasi penggunaan asap cair dari tempurung kelapa sebagai pengawet alami pada Ikan Segar. *Jurnal Reka Buana* 2, 11–18.
- Batubara U. M., & M. Latief., 2021. Aktivitas antibakteri ekstrak kasar metanol dari daun *Xylocarpus granatum* terhadap bakteri patogen ikan *Staphylococcus epidermidis*. *Berkala Perikanan Terubuk* 49, 763–768.
- Dewi E.R.O.U., 2016. Uji fitokimia dan uji antibakteri dari akar mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *ESCHERICHIA COLI DAN STAPHYLOCOCCUS AUREUS. Studia Rossica Posnaniensia* 40, 285–292.

- Egra, S., Mardhiana,, M. Rofin, Adiwena, N. Jannah, H. Kuspradini, T. Mitsunaga, 2019. Aktivitas antimikroba ekstrak bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam menghambat pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu. *Agrovigor* 12, 26–31.
- Gabariel, E., D. Yoswaty, Nursyirwani, 2019. Daya hambat ekstrak *Xylocarpus granatum* terhadap bakteri patogen *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, dan *Vibrio alginolyticus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 24, 114–118.
- Gazali, M. P.N. Zamani, & I. Batubara, I., 2014. Potensi limbah kulit buah nyirih *Xylocarpus granatum* sebagai inhibitor tirosinase. *Depik* 3, 187–194.
- Harborne, J.B., 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB, Bandung.
- Hendrawan, I. Zuraida, & B.F Pamungkas, 2015. Preliminary studies of antibacterial activity methanol extracts of *Xylocarpus granatum* from the coastal of Muara Badak. *Jurnal Ilmu Perikanan Tropis* 20, 15–22.
- Hidayah, N., Hisan, A.K., Solikin, A., Irawati, & D. Mustikaningtyas, 2016. Uji efektivitas ekstrak *Sargassum Muticum* sebagai alternatif obat bisul akibat aktivitas *Staphylococcus Aureus*. *Journal of Creativity Students* 1, 1–9.
- Holetz, F.B., G.L. Pessini, N.R. Sanches, D.A.G. Cortez, C.V. Nakamura, & B.P.D. Filho, 2002. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases, *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 97(7): 1027-1031.
- Palawe, J.F.P., & J. Antahari, 2018. TPC (Total Plate Count), WAC (Water Adsorbtion Capacity) abon ikan selar dan cooking loss daging ikan selar (*Selaroides Leptolesis*). *Jurnal Ilmiah Tindalung* 4, 57–60.
- Pankey, G.A., & L.D. Sabath, 2004. Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of gram-positive bacterial infections. *Clinical Infectious Diseases*, 38: 864–70.
- Pariyansyah A.N.E. & B.F.N. Herliany, B.F.N., 2018. Aplikasi maserat buah mangrove *Avicennia marina* sebagai pengawet alami ikan nila segar. *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal* 5, 36–44.
- Permatasari, I., J. Jumiati, & M. Zainuddin, 2021. Analisa ekstrak daun mangrove (*Rhizophora mucronata*) sebagai bahan pengawet alami terhadap mutu ikan kuniran (*Upeneus moluccensis*). *Jurnal Miyang: Ronggolawe Fisheries and Marine Science Journal* 1, 20–24.
- Purwani, E., S.W. Hapsari, & R. Rauf, R., 2009. Respon hambatan bakteri Gram positif dan negatif pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diawetkan dengan ekstrak jahe (*Zingiber officinale*). *Jurnal Kesehatan* 2, 61–70.
- Purwanto, S., 2015. UjiJI aktivitas antibakteri fraksi aktif ekstrak daun senggani (*Melastoma malabathricum* L) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Keperawatan Sriwijaya* 2, 84–92.
- Rahman, F.A., T. Haniastuti, T., & T.W. Utami, 2017. Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia* 3 (1).
- Rahmawati, S.I., F.N. Izzati, Y. Hapsari, Y., E, Septiana, E., F. Rachman, Bustanussalam, & P. Simanjuntak, 2019. Endophytic microbes and antioxidant activities of secondary metabolites from mangroves *Avicennia marina* and *Xylocarpus granatum*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 278.
- Rollando, 2019. *Senyawa Antibakteri dari Fungi Endofit*. CV. Seribu Bintang, Malang.
- Saimima, N.A., A. Rahman, & D.N. Manuhutu, 2021. Pengaruh pwewndaman ekstrak daun mangrove (*Sonneratia caseolaris*) terhadap penilaian mutu

- organoleptik ikan kuwe (*Gnathanodon speciosus*) SegarEGAR. *Triton : Jurnal Manajemen Sumberdaya Perairan* 17, 25–34.
- Sangi, M., M.R. J. Runtuwene, H.E.I Simbala, & V.M.A. Makang, 2008. Analisis fitokimia tumbuhan obat di Kabupaten Munahasa Utara, *Chem. Prog.* 1(1): 47-53.
- Saptiani, G., A.N. Asikin, F. Ardhani, E.H. & Hardi, 2018. Tanaman bakau api-api putih (*Avicenia marina*) berpotensi menghambat mikrob patogen dan melindungi post larva udang windu. *Jurnal Veteriner* 19, 45.
- Saptiani, G., S.B. Prayitno, & S. Anggoro, 2013. Potensi antibakteri ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap *Vibrio harveyi* secara in vitro. *Jurnal Kedokteran Hewan - Indonesian Journal of Veterinary Sciences* 7, 17–20.
- Septiani, S., E.N. Dewi, & I. Wijayanti, 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak lamun (*Cymodocea rotundata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (antibacterial activities of seagrass extracts (*Cymodocea rotundata*) Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*). *Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology* 13, 1.
- Soelama, H.J.J., Kepel, B.J., & K.V. Siagian, 2015. Uji minimum inhibitory concentration (MIC) ekstrak rumput laut (*Eucheuma cottonii*) sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. e-GIGI 3.
- Sulistijowati, R., T.J. Ladja, & R.M. Harmain, 2020. Perubahan nilai pH dan jumlah bakteri ikan nila (*Oreochromis niloticus*) hasil pengawetan larutan daun matoa (*Pometia pinnata*). *Media Teknologi Hasil Perikanan* 8, 76–81.
- Sumartini, S., & P.S. Sari, 2021. The ekstrak daun mangrove (*Sonneratia caseolaris*) sebagai pengawet alami ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) selama penyimpanan. *Jurnal Airaha* 10, 109–122.
- Suwantara, I.P.T., N.P.U. Antari, & F Megawati, 2018. Pemanfaatan buah nyirih dan lindur untuk mendorong Masyarakat Melestarikan Hutan Mangrove. *Majalah Aplikasi Ipteks Ngayah* 102–107.